

Cybele de Andrade Paes

**ESTUDO IMUNOFENOTÍPICO
DA LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA NA CRIANÇA:
associação com a situação sócio-econômica
e outros fatores biológicos ao diagnóstico**

BELO HORIZONTE

2000

Cybele de Andrade Paes

**ESTUDO IMUNOFENOTÍPICO
DA LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA NA CRIANÇA:
associação com a situação sócio-econômica
e outros fatores biológicos ao diagnóstico**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para a obtenção do grau de mestre em Medicina.

Área de concentração: Pediatria
Orientador: Dr. Marcos Borato Viana,
Professor Titular do Departamento de Pediatria
da Faculdade de Medicina da Universidade
Federal de Minas Gerais.

Belo Horizonte
Faculdade de Medicina da UFMG

2000

*Para Dora e Emílio,
meus primeiros mestres nesta arte do viver.*

Às crianças que compõem esta casuística.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Marcos Borato Viana, meu imenso reconhecimento, pelo apoio, amizade e incentivo, que ultrapassam a orientação desta pesquisa.

Foram muitas as pessoas que tornaram possível a realização deste trabalho. Em especial, agradecemos:

ao Dr. Rodrigo Correa-Oliveira , chefe do Laboratório de Imunologia do Centro de Pesquisas René Rachou da FIOCRUZ, que tornou possível a realização do estudo imunofenotípico na primeira fase deste trabalho;

à Prof^a Silvana Maria Elói Santos, Coordenadora do Laboratório de Imunologia/DIP/ Faculdade de Medicina/UFMG, que viabilizou a segunda fase de análise laboratorial desta pesquisa;

aos Drs. Olindo Assis Martins Filho e Diana Cordeiro Taboada cuja assistência técnica foi essencial à execução desta pesquisa;

ao colega Ricardo Villas Freire de Carvalho, pelo auxílio na análise imunofenotípica na fase inicial desta investigação;

à Bióloga Thaís Mesquita Utsch, pelo valioso auxílio no processamento das amostras biológicas;

aos colegas Gilberto Ramos, Rosângela Carrusca Alvim e Cristina Lopes Oliveira, do Serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da UFMG, pelo apoio recebido e pela cobertura às minhas atividades assistenciais na fase de redação desta dissertação;

à colega Benigna Maria de Oliveira, pelo estímulo e amizade e pela revisão dos manuscritos;

à colega Mitiko Murao, pela manutenção dos dados de evolução de cada paciente do Hospital das Clínicas;

à colega Rachel Aparecida Ferreira Fernandes, pelo incentivo e orientação na fase de realização dos questionários sócio-econômicos;

ao colega Vanderson Geraldo Rocha, pelo entusiasmo na fase inicial deste trabalho;

às Dras Hilda Maria de Oliveira, Rosângela Figueiredo, Júnea Mourão, Cristina Lins e Andreia Gonçalves, do Serviço de Hematologia do Hospital Rocho, pelos casos de leucemia linfóide aguda, sob sua assistência, incluídos neste estudo;

aos residentes em Hematologia do Hospital das Clínicas/UFMG e Hospital Felício Rocho pela coleta das amostras analisadas;

às bolsistas Ana Paula O. Anacleto e Patrícia N. Guimarães pela colaboração na realização dos questionários;

ao colega Antônio Alves Duarte pela localização de um paciente em Uberlândia, MG;

ao Dr. Eduardo Nascimento, oncologista da Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte, pela presteza nas informações sobre os pacientes transferidos para aquela instituição;

aos funcionários do Laboratório Central do Hospital das Clínicas/UFMG , pelo companheirismo;

ao Bioquímico Roberto Silva e demais funcionários do Serviço de DIP da Faculdade de Medicina/UFMG, pela colaboração;

aos familiares das crianças desta casuística, pela presteza em responder ao questionário sócio-econômico, mesmo em seus momentos de dor.

RESUMO

O imunofenótipo de 147 casos consecutivos de leucemia linfoblástica infantil (LLA) foi determinado, ao diagnóstico, por citometria de fluxo. As frequências relativas dos diversos subtipos imunológicos foi muito similar àquelas descritas em países desenvolvidos. As LLA foram subclassificadas em pré-B CD10 positivo (70%), pré-B CD10 negativo (12%) e LLA-T (16%), sendo três análises inconclusivas (2%). Os casos de LLA-B maduras foram excluídos do estudo. As LLA pré-B CD 10 positivo apresentaram o típico pico de incidência entre os 2 e 5 anos de idade. As LLA de linhagem T predominaram no sexo masculino e as pré-B CD10 negativo no sexo feminino. A hiperleucocitose mostrou forte associação dos subtipos pré-B CD10 negativo e T em relação ao pré-B CD10 positivo. Não foi verificada associação estatisticamente significativa entre as variáveis sócio-econômicas (renda *per capita* familiar, consumo energético mensal, condições de habitação) e nutricionais (escores z para peso e estatura em relação à idade) e os três subtipos imunológicos estudados. Os resultados sugerem, portanto, que a influência negativa de fatores sócio-econômicos e nutricionais sobre o prognóstico da LLA não se explica por diferenças na distribuição dos imunofenótipos. Este estudo só se completará, entretanto, com o seguimento mais prolongado dos casos e com uma análise de sobrevida que utilize metodologia de ajuste multivariado.

Palavras-chave: Leucemia linfoblástica aguda. Imunofenotipagem. Situação sócio-econômica. Nutrição.

ABSTRACT

Immunophenotypes of one hundred and forty seven cases of childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL) were performed by flow cytometry at diagnosis. The relative frequencies of the immunological subtypes were very similar to those described in developed countries. Cases were subclassified in pre-B CD10 positive (70%), pre-B CD10 negative (12%) and T-ALL (16%); three analysis were inconclusive (2%). Children with ALL of mature B type were not entered into this study. The typical incidence peak at age 2-5 years was observed among the pre-B CD10 positive cases. ALL of T lineage predominated in males, while the pre-B CD10 negative cases were more prevalent in females. The high white cell count had strong independent significance when subtypes pre-B CD10 negative and T were compared to subtype pre-B CD10 positive. There was no significant difference in between the socio-economic status (familial monthly per capita income and daily energy consumption, housing condition) and nutritional variables (height and weight for age z scores) and the three immunological subtypes studied. Therefore, our results suggest that the negative influence of socio-economic status and nutritional condition on the prognosis of ALL is not explained by differences in the distribution of immunological subtypes. This study argues for a prolonged follow-up of the cases and for a disease-free survival multivariate analysis.

Key words: *Acute lymphoblastic leukaemia. Immunophenotyping. Socio-economic status. Nutrition.*

LISTA DE ABREVIATURAS

- BFM:** Grupo cooperativo alemão Berlin-Farnkfurt-München
- CALLA:** antígeno comum da leucemia linfoblástica
- CD:** cluster designation
- cit CD:** expressão antigênica intracitoplasmática
- EST:** estatura
- FAB:** classificação morfológica do grupo cooperativo franco-americano-britânico
- GBTLI-93:** Grupo Brasileiro para Tratamento da Leucemia Linfoblástica Infantil-1993
- HC:** Hospital das Clínicas da UFMG
- HFR:** Hospital Felício Rocho
- IFN:** imunofenótipo
- KWh/dia:** média do consumo familiar de energia elétrica diária
- LEUI:** contagem dos leucócitos dos pacientes ao diagnóstico
- LLA:** leucemia linfoblástica aguda
- LLA CD10⁺:** LLA pré-B CD10 positivo
- LLA CD10⁻:** LLA pré-B CD10 negativo
- LLA-T:** leucemia linfoblástica aguda de linhagem T
- m CD:** expressão antigênica de membrana
- NCHS:** National Center for Health Statistics
- RPC:** renda per capita
- RPMI 1640:** meio utilizado no cultivo celular
- CALLA:** antígeno comum da leucemia linfoblástica aguda
- SBF:** soro bovino fetal
- SSE:** situação sócio-econômica
- STF:** solução tamponada de fosfato
- UFMG:** Universidade Federal de Minas Gerais
- WHO:** World Health Organization
- ZEST:** escore z da estatura da criança em relação ao sexo e à idade ao diagnóstico
- ZPESO:** escore z do peso da criança em relação ao sexo e à idade ao diagnóstico

ÍNDICE GERAL

1	INTRODUÇÃO E OBJETIVOS	10
	
2	REVISÃO DA LITERATURA	12
	
2.1	Imunofenotipagem das células leucêmicas	12
2.2	Distribuição relativa dos imunofenótipos segundo a literatura internacional	20
2.3	Influência prognóstica de fatores sócio-econômicos e nutricionais	28
3	CASUÍSTICA E MÉTODOS	32
	
3.1	Pacientes	32
	
3.2	Amostras utilizadas	33
3.3	Análises morfológicas	33
3.4	Imunofenotipagem	33
3.4.1	Preparação das células de sangue periférico e de medula óssea	33
3.4.2	Anticorpos monoclonais	34
	
3.4.3	Caracterização imunofenotípica das células leucêmicas por imunofluorescência direta	35
	
3.4.4	Citometria de fluxo	36
	
3.4.5	Definição dos subtipos imunológicos	37
	
3.5	Avaliação da condição sócio-econômica familiar	37
3.6	Variáveis definidas	38
3.7	Métodos estatísticos	41
3.8	Caracterização geral da casuística	41
	REFERÊNCIAS	45
	
	ARTIGO	52
	

ANEXO A - Questionário sócio-econômico.....	66
ANEXO B - Resultados das variáveis estabelecidas no estudo de 147 crianças portadoras de LLA	71
ANEXO C – Ata da defesa de dissertação	76

1 INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

A leucemia linfoblástica aguda (LLA) é a neoplasia mais comum na infância. Nos últimos 30 anos houve uma melhora significativa no prognóstico das crianças portadoras de LLA. Atualmente, 60% a 70% das crianças diagnosticadas em países desenvolvidos apresentam uma sobrevida livre de doença prolongada (> 5 anos), sendo que a maioria destes pacientes alcançará a cura (PUI, 1995).

As leucemias agudas são caracterizadas patologicamente como neoplasias dos precursores hematopoiéticos. O emprego de reagentes imunológicos para a identificação de receptores específicos nas membranas e citoplasma das células linfáticas (imunofenotipagem) propiciou o esclarecimento de aspectos particulares da diferenciação celular. Isso é extremamente relevante para caracterizar a história natural da doença e escolher a terapia adequada (CHAN *et al*, 1985).

O conhecimento da distribuição relativa dos imunofenótipos em várias regiões do mundo (GREAVES *et al*, 1993; KAMEL *et al*, 1990; McKINNEY *et al*, 1993; FLEMING, 1993; RAJALEKSHMY *et al*, 1994; BERKOWICZ *et al*, 1994; CABRERA *et al*, 1996) tem, basicamente, duas finalidades: a. inferir a contribuição de fatores etiológicos - étnicos e ambientais - na incidência da leucemia infantil; b. verificar se existe influência prognóstica dos imunofenótipos (MILLER *et al*, 1990).

O País possui apenas um estudo de maior envergadura sobre a incidência dos diversos imunofenótipos da LLA em crianças (REGO *et al*, 1996). Como reconhecido nesse estudo, os dados não podem ser extrapolados para o Brasil, pela restrição da amostra a pacientes da região de Ribeirão Preto. Torna-se importante, portanto, o estudo de outras regiões com características sócio-econômicas diferentes, como é o caso de Minas Gerais, para se desenhar um mapa mais aproximado dos diversos “brasis”.

Essa oportunidade surgiu em julho de 1988 quando foi formado em Belo Horizonte o Grupo Cooperativo Mineiro para Tratamento da Leucemia Linfoblástica na Criança (GCMLLA), constituído por hematologistas do Hospital das Clínicas da UFMG, Hospital Felício Rocho, Fundação Benjamin Guimarães e Santa Casa de Misericórdia, para onde era encaminhada a maioria dos casos de Minas Gerais. Posteriormente, esta última retirou-se do grupo e o Hospital de Base do IPSEMG passou a integrá-lo a partir de novembro de 1989. Em 1994, as duas primeiras instituições, responsáveis por 95% dos casos inscritos no grupo mineiro, decidiram integrar o Grupo Brasileiro para Tratamento da Leucemia Infantil (GBTLI),

aumentando o número de casos tratados de forma similar e possibilitando o desenvolvimento de pesquisas conjuntas e próprias de cada instituição.

Como produto inicial do funcionamento do grupo mineiro, foi publicado em 1994 o estudo que analisou a influência do estado nutricional sobre o prognóstico da LLA (VIANA *et al*, 1994). Neste estudo, concluiu-se pela necessidade de serem controladas variáveis biológicas como a imunofenotipagem e o genótipo das células leucêmicas para que se pudessem avaliar as interações entre esses fatores biológicos e a condição sócio-econômica-cultural, responsável aparente pelos piores resultados no tratamento da LLA em países subsenvolvidos.

Dando continuidade à mesma linha de pesquisa, Viana *et al* (1998) investigaram o impacto das variáveis desnutrição e condição sócio-econômica sobre o prognóstico da LLA infantil, ajustando-as para os fatores biológicos de influência conhecidas. Os autores concluíram que a condição sócio-econômica deveria ser incluída como fator prognóstico na LLA infantil.

O presente estudo teve como objetivos:

1. Verificar a incidência relativa dos diversos fenótipos imunológicos da LLA em criança, comparando-se os dados locais com os nacionais e internacionais.
2. Verificar se há associação entre determinados imunofenótipos e a condição nutricional da criança e a situação sócio-econômica da família.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Imunofenotipagem das células leucêmicas

Os diferentes tipos de células leucêmicas podem ser identificados com relativa segurança por simples análise citológica e citoquímica, mas, em muitos casos, é necessário empregar reagentes imunológicos para identificar aspectos particulares da diferenciação celular.

Avanços nas técnicas imunológicas nas duas últimas décadas permitiram a identificação de receptores específicos nas membranas e citoplasma das células linfáticas. A identificação sensível e específica das células neoplásicas, sua acurada enumeração e caracterização fenotípica representam o principal objetivo da imunofenotipagem. As similaridades entre as células leucêmicas e as células linfáticas normais, medulares ou tímicas, permitem o estabelecimento da linhagem e estágio de maturação das células patológicas, sendo esta informação de grande utilidade para o diagnóstico, classificação e avaliação prognóstica dos diferentes tipos de neoplasias hematológicas (LOKEN *et al*, 1987; ROTHE & SCHMITZ, 1996; CATOVSKY & FOA, 1990).

Classicamente, considera-se que as células leucêmicas refletem as características imunofenotípicas das células normais, “bloqueadas” em um certo estágio de diferenciação. Nos últimos anos, tem sido evidenciado que células patológicas mostram fenótipos aberrantes definidos por expressão antigênica assincrônica, fenótipos ectópicos e padrões anormais de diferenciação (SAN MIGUEL *et al*, 1997; CIUDAD *et al*, 1998-b; VAN DONGEN *et al*, 1995; CIUDAD *et al*, 1999; LUCIO *et al*, 1999). Estes fenótipos aberrantes refletem, em parte, anormalidades genéticas presentes nas células patológicas (ORFAO *et al*, 1999).

Em 1975, Köhler e Milstein descreveram a produção de anticorpos monoclonais (AcMo), assim chamados por serem produzidos pela progênie de uma única célula. Por esta realização receberam o Prêmio Nobel em Fisiologia ou Medicina. Desde a invenção da tecnologia de hibridomas, centenas de AcMo têm sido gerados contra antígenos de células hematopoiéticas humanas. A classificação dos vários anticorpos monoclonais anti-humanos tem sido discutida em diversos seminários internacionais de tipagem de leucócitos (BERNARD *et al*, 1984; KNAPP *et al*, 1989; PALLESEN & PLESNER, 1987; LANZA *et al*, 1994; 6th International Workshop and Conference on Human Leukocyte Differentiation Antigens, 1996). Atualmente, mais de 160 combinações antígenos-anticorpos estão definidas, utilizando a nomenclatura de “cluster designation” (CD) (BARCLAY *et al*, 1993).

O conhecimento da expressão dos marcadores imunológicos, durante a ontogenia das células B e T, é essencial para a compreensão de como estes marcadores podem ser aplicados na determinação da origem e estágio de diferenciação das células neoplásicas (CRIST, 1985). Diversos estudos nas últimas décadas geraram diferentes modelos de maturação das células de linhagem B e T, muitos deles discordantes (LOCKEN, 1987; LeBIEN, 1990; RYAN, 1986). Estas discordâncias podem ser devidas a diferenças na metodologia utilizada, à origem da célula hematopoiética estudada (fígado fetal, medula óssea fetal ou medula óssea pós-natal) e à idade do indivíduo (LUCIO, 1999).

Diversas classificações de LLA têm sido propostas na medida em que há um desenvolvimento da tecnologia e dos reagentes empregados na caracterização das células leucêmicas. A maioria dos termos utilizados para designar os subgrupos imunofenotípicos de LLA baseia-se:

- a) no estágio de diferenciação presuntiva da linfopoiese normal B ou T (REINHERZ *et al*, 1980; NADLER *et al*, 1984; LOKEN *et al*, 1987), sendo definidos de 4 a 6 subgrupos para a linhagem B e de 3 a 4 subgrupos para a linhagem T (REINHERZ *et al*, 1980; NADLER *et al*, 1984; FOON *et al*, 1986; GARAND *et al*, 1989).
- b) na expressão de CD10, da imunoglobulina citoplasmática (cit μ) ou de superfície (κ ou λ), e de diferentes antígenos celulares T (FIRST MIC COOPERATIVE STUDY GROUP, 1986; THIEL *et al*, 1987; CRIST *et al*, 1989; JANOSSY *et al*, 1989).

As tabelas 1 e 2 apresentam os modelos de classificação das LLA de linhagem B e T propostos por Foon & Todd (1986).

Tabela 1 – Classificação imunológica das leucemias linfoblásticas de linhagem B
(segundo Foon & Todd, 1986)

Grupo	Antígenos					
	HLA-DR	CD19	CD10	CD20	Ig citoplasmática	Ig superfície
I	+	–	–	–	–	–
II	+	+	–	–	–	–
III	+	+	+	–	–	–
IV	+	+	+	+	–	–
V	+	+	+	+	+	–
VI	+	+	+ / –	+	–	+

Ig: imunoglobulina

Tabela 2 - Classificação imunológica das leucemias linfoblásticas de linhagem T
(segundo Foon & Todd, 1986)

Grupo	Antígenos						
	CD7	CD5	CD2	CD3	CD4	CD8	CD1
I	+	+	+	–	–	–	–
II	+	+	+	+	+	+	+
III	+	+	+	+	+ / –	+ / –	–

+ : positivo

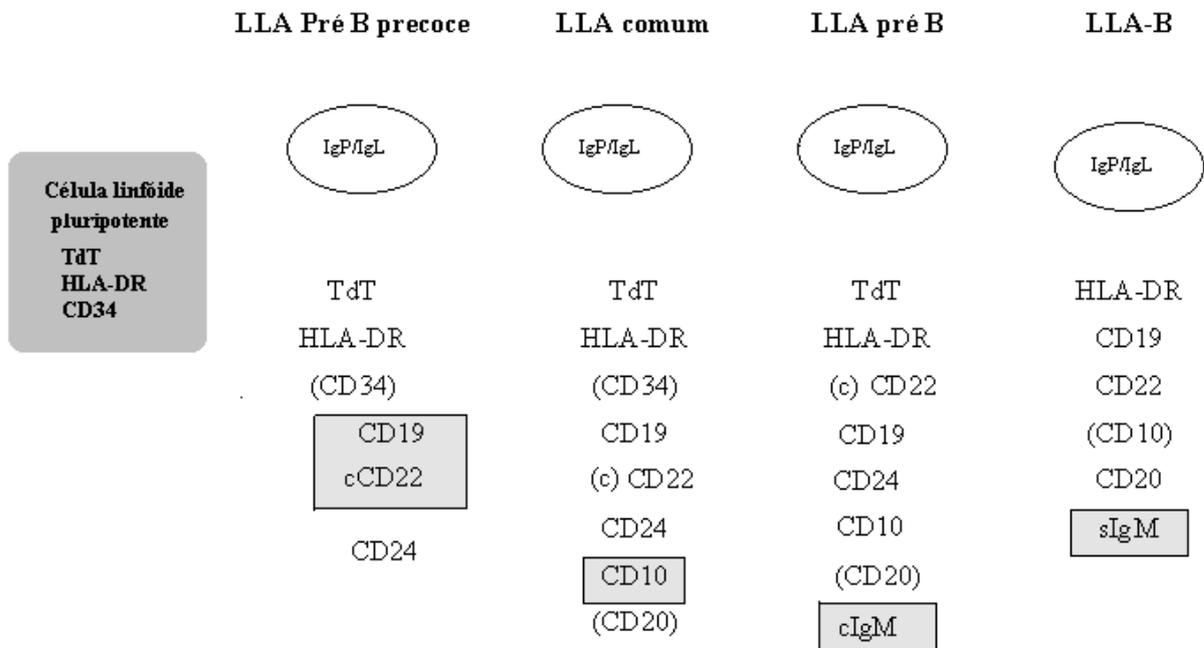
– : negativo

+ / – : positivo ou negativo

Segundo Ludwig *et al* (1994), as LLA de linhagem B se dividem em 3 subgrupos de células precursoras B, tomando-se como referência a análise de CD10 (antígeno comum da LLA), cit IgM (imunoglobulina intracitoplasmática) e sIg (imunoglobulina de membrana ou superfície). O quarto grupo compreende as LLA-B maduras.

A Figura 1 apresenta o esquema de diferenciação das células precursoras linfóides B, segundo modelo proposto por Ludwig *et al*, 1994.

Figura 1 – Representação esquemática da expressão antigênica e dos arranjos gênicos da imunoglobulina nos subtipos imunológicos da LLA de células precursoras B.



Ig: Imunoglobulina; IgP: Rearranjo gênico para a cadeia pesada da imunoglobulina; IgL: Rearranjo gênico para a cadeia leve da imunoglobulina; cIgM: expressão intracitoplasmática da cadeia pesada da imunoglobulina; sIgM: expressão na membrana celular da cadeia pesada da imunoglobulina; cCD22: expressão intracitoplasmática do CD22; antígenos entre parêntesis: nem sempre são expressos; antígenos contidos nos retângulos sombreados: importantes na definição dos distintos subgrupos de LLA-B precursora.

Adaptado a partir de LUDWIG, RAGHAVACHAR & THIEL (1994)

Assim como nas leucemias de linhagem B, a subclassificação das LLA-T não é consensual entre os autores. A princípio, esta classificação era baseada no conceito de que os blastos leucêmicos T diferenciavam-se similarmente às células tímicas normais (REINHERZ *et al*, 1980). Em estudos pediátricos, três subgrupos eram distintos, baseando-se na expressão de membrana de CD1 e CD3 (ROPER *et al*, 1983; CRIST *et al*, 1988). Sumariamente, os diversos imunofenótipos assim se subdividiam, de acordo com o padrão de expressão antigênica:

- timócito precoce: citCD3+, CD7+, CD5+, CD2+/-, CD1- e mCD3-
- timócito comum ou intermediário: CD1+, CD7+, CD2+, mCD3 +/-, CD4+/- e CD8+/-
- timócito maduro: mCD3+, CD7+, CD5+, CD2+, CD1-

Mais recentemente, o Grupo Europeu para a Caracterização de Leucemias (EGIL) (BENE *et al*, 1995), propôs uma uniformização dos critérios de classificação e caracterização das leucemias agudas, assim como uma definição para as leucemias agudas bifenotípicas. A Tabela 3 mostra os dois principais grupos de LLA (linhagem B e T) e os subtipos propostos e na Tabela 4 encontra-se representado o sistema de pontos para a definição de leucemia bifenotípica.

Tabela 3 – Classificação imunológica das leucemias agudas (EGIL, 1995)

Leucemias linfocíticas agudas (LLA)	
Marcadores positivos	
Linagem B ^a	(CD19+ e/ou cit CD79a+ e/ou cit CD22+)
B-I (pró-B)	sem expressão de outro antígeno de diferenciação B
B-II (comum)	CD10+
B-III (pré-B)	cit IgM+
B-IV (B-madura)	cit ou m kappa ou lambda
Linagem T ^b	(citoplasmática / membrana CD3+)
T-I (pró-T)	CD7+
T-II (pré-T)	CD2+ e/ou CD5+ e/ou CD8+
T-III (T cortical)	CD1a +
T-IV (T madura)	m CD3+ , CD1a -
T- α/β (grupo a)	anti-TCR α/β +
T- γ/δ (grupo b)	anti-TCR γ/δ +
LLA com expressão de um ou dois marcadores mielóides (My+ LLA)	

^a Positivo pelo menos com 2 dos 3 marcadores. Maioria dos casos são TdT+, HLA-DR+ exceto B-IV, que geralmente é TdT-

^b Maioria dos casos são TdT+, HLA-DR- , CD34 - , mas estes marcadores não são considerados para o diagnóstico ou classificação da doença.

cit IgM: cadeia μ de imunoglobulina intracitoplasmática

m kappa ou lambda: cadeia kappa ou lambda de imunoglobulinas de superfície ou de membrana

Tabela 4 – Sistema de pontos para a definição de leucemia aguda bifenotípica (LAB) ^a

Pontos ^b	Linhagem B	Linhagem T	Linhagem mielóide
2	cit CD79a cit IgM cit CD22	CD3 (cit / m) anti-TCR α/β anti-TCR γ / δ	anti-mieloperoxidase (anti-lisosima)
1	CD19 CD10 CD20	CD2 CD5 CD8	CD13 CD33 CDw65
0,5	TdT CD24	CD10 TdT CD7 CD1a	CD14 CD15 CD64 CD117

^a LAB é definida quando as somas de pontos são maiores que 2 para a linhagem mielóide e uma das duas linhagens linfóides.

^b Cada marcador conta seu ponto correspondente.

cit: expressão antigênica intracitoplasmática.

m: expressão antigênica de superfície ou membrana.

Os valores percentuais das subpopulações linfocitárias normais de crianças foram estudados por Caldwell *et al* (1991), tendo sido analisados aspirados de medula óssea, obtidos em cirurgias ortopédicas eletivas, empregando o método de lise do sangue total. Foi demonstrado, entre as células linfóides, um predomínio de células B, tendo a percentagem de células CD19+ variado de 22,4% \pm 4,7% a 44,3% \pm 12,2% entre as crianças menores de 15 anos, ao passo que nos adultos foi de 14,5% \pm 3,9%. No grupo de crianças menores de 5 anos de idade, 27% \pm 6,9% das células linfóides apresentaram o fenótipo imaturo CD19+CD10+CD20-, sendo que nos adultos este valor foi de apenas 5,4% \pm 2,2%. Em contrapartida, 33,4% das células linfóides T das crianças abaixo de 5 anos expressaram o antígeno CD2, enquanto que, no caso dos adultos, esta subpopulação foi mais frequente (65,6% \pm 9,4%). A percentagem de células T CD4+ foi maior que as de CD8+ em ambos os grupos etários. Hirch *et al* (1993) demonstraram, com amostras e técnica de preparo similares, que aproximadamente 30% (15% a 50%) das células linfóides das crianças expressavam o antígeno CD10. Andreoni *et al* (1990), estudando amostras de crianças doadoras de medula óssea em

transplantes, separadas por gradiente de densidade (BÖYUM,1968), relataram uma taxa de $13,3\% \pm 8,6\%$ de células CD19+CD10+.

Diversos investigadores relatam que os precursores B mais precoces expressam os antígenos CD10, CD19 e CD34 em suas membranas (PUI *et al*, 1993-b; UCKUN, 1990; CIUDAD *et al*, 1998-a). Durante a ontogenia do linfócito B, o fenótipo CD19+CD10+ é expresso de forma ubíqua por células em estágios diversos de maturação. A sua predominância na medula óssea das crianças, assim como nas células linfóides do fígado e da medula óssea fetais, indica uma persistência do padrão de linfopoiese intra-útero na infância (HOKLAND *et al*, 1983).

O CD10, originalmente conhecido como cALLA (antígeno da leucemia linfoblástica comum), é idêntico à endopeptidase neutra NEP, ou KII-NA, codificada por um gene localizado no cromossomo 3. É uma metalopeptidase, requer zinco para ser eficiente e está presente na membrana celular de diversos tecidos (borda em escova de enterócitos, túbulos renais e glomérulos). A atividade enzimática desta molécula já foi identificada no cérebro, pulmões, neutrófilos, mioepitélio mamário, vesícula biliar, placenta e está envolvida na produção de interleucina 2 pelos linfócitos T (SHIPP & LOOK, 1993). Sua presença foi descrita nos blastos das leucemias agudas, nos linfomas não Hodgkin, na leucemia mielóide crônica e nos mielomas (CALIGARIS-CAPPIO *et al*, 1985; MATUTES *et al*, 1994; LeBIEN & McCORMACK, 1989).

O fenótipo CD19+CD10+ é, também, frequentemente expresso por blastos na leucemia linfóide aguda. O subtipo “comum” caracteriza-se pelo fenótipo CD19+CD10+, ocorrendo em 75% a 93% das LLA infantis e em 60% dos casos de adultos (GREAVES *et al*, 1993; REGO *et al*, 1996; HANN *et al*, 1998; PUI *et al*, 1993b). Na classificação EGIL, a expressão do CD10 está envolvida na definição do estágio B-II, enquanto que é ausente nos blastos B-I. A incidência do grupo B-I varia de 5% a 55%, dependendo do estudo, sendo mais elevada nas análises que incluem crianças com idade inferior a um ano (BENE *et al*, 1995; PUI *et al*, 1993b). O antígeno CD10 é expresso em, aproximadamente, 95% dos casos de LLA pré-B, 90% dos casos de LLA pré-B precoce em crianças acima de 1 ano, 50% dos casos deste subtipo em crianças com idade inferior a um ano e em 15% a 40% das LLA-T (CORTES & KANTARJIAN, 1995; CRIST *et al*, 1986; PUI *et al*, 1993b, CONSOLINI *et al*, 1998).

O caminho normal de diferenciação da célula B, desde as células progenitoras pluripotentes até os linfócitos B maduros, produtores de imunoglobulina, passa por estágios bem definidos caracterizados por rearranjos gênicos de imunoglobulinas, assim como pela expressão de antígenos de superfície restritos às células B. A IgM é a primeira imunoglobulina

produzida no desenvolvimento da célula B e a expressão da cadeia pesada precede a da leve. Portanto, as células que expressam a cadeia pesada no citoplasma celular (cit μ) foram agrupadas no subtipo LLA pré-B ou B-III, enquanto que as negativas foram classificadas como LLA pré-B precoce. As LLA B-maduras expressam os heterodímeros da imunoglobulina na membrana ou superfície celular (mIg ou sIg) e correspondem ao subtipo B-IV da classificação EGIL. Mais recentemente foi descrito um novo subtipo de LLA pré-B, onde os linfoblastos expressam a cadeia pesada da imunoglobulina, tanto no citoplasma quanto na membrana celular ($s\mu$), não estando esta associada às cadeias leves κ ou λ da imunoglobulina. Neste pequeno grupo de pacientes, aproximadamente 5% dos casos de LLA pré-B, as células estão em um estágio de diferenciação intermediário entre o pré-B e o B-maduro, sendo denominadas LLA pré-B transicionais (KOEHLER *et al*, 1993).

Na LLA infantil, o significado prognóstico da expressão de CD10 encontra algumas divergências entre os autores. PUI *et al* (1993b) estudaram a importância clínica da expressão de CD10 em pacientes submetidos a tratamento contemporâneo efetivo. Entre os 408 casos de LLA de linhagem B estudados, apenas 6% foram CD10 negativos. Este grupo apresentou maior frequência de crianças com idade inferior a um ano; maior contagem leucocitária ao diagnóstico; maior índice de infiltração do sistema nervoso central (SNC); maior número de casos com índice de DNA menor que 1,16; maior frequência de ploidia do que de hiperdiploidia > 50 e translocações cromossômicas mais comuns. Entre os casos de LLA-T CD10⁺ e CD10⁻, houve apenas uma menor frequência de envolvimento do SNC nos primeiros. Excluindo-se as crianças menores de um ano de idade da análise, não houve diferença significativa no prognóstico atribuível à ausência de expressão do CD10 nos linfoblastos de linhagem B ($p = 0,15$). Nos casos de LLA-T, pela análise multivariada, a expressão de CD10 foi fator prognóstico adverso independente.

Corroborando estes resultados, Consolini *et al* (1998), estudando 1784 crianças portadoras de LLA de linhagem B e 254 de linhagem T, demonstraram que a expressão de CD10, em ambos os casos, não tinha significado prognóstico independente em uma análise multivariada. Os pacientes com LLA-T evoluíram pior que os de LLA de linhagem B (sobrevida livre de eventos aos 5 e 10 anos: 48,8% vs 68,5% e 44,5% vs 63,7% respectivamente, $p = 0,0001$) e, entre os últimos, as variáveis sexo masculino, leucometria acima de $20.000/\text{mm}^3$ e idade acima de 9 anos associavam-se a um pior prognóstico.

2.2 Distribuição relativa dos imunofenótipos segundo a literatura internacional

A distribuição da frequência dos diversos imunofenótipos da LLA varia nas diferentes regiões do mundo, sendo muito semelhante nos países desenvolvidos.

Na Inglaterra, Greaves *et al* (1981) realizaram estudos imunofenotípicos em 542 casos de LLA, em pacientes com idade inferior a 21 anos, no período de junho de 1975 a dezembro de 1979. Os tipos imunológicos foram divididos em quatro subgrupos: comum ou cLLA (CD10 positivo), T, “null” (CD10 e imunoglobulina de superfície negativos, HLA-DR positivo) e B (imunoglobulina de superfície positiva). Dentre as classificadas como LLA do tipo comum, 30% apresentaram fenótipo pré-B, com presença de imunoglobulina intracitoplasmática μ . Segundo a distribuição etária, as LLA do tipo comum apresentaram um pico de incidência entre 2 e 6 anos de idade, diferentemente das LLA dos tipos T e “null”, onde este pico foi menos pronunciado. Em relação à imunofenotipagem, 73,2% das LLA foram do subtipo comum; 13,5% do subtipo T; 12,6% do subtipo “null” e 0,7% do tipo B. Os autores relataram que não houve diferença estatisticamente significativa entre os subtipos cLLA e “null” em relação ao sexo, leucometria, envolvimento mediastinal, linfadenopatia, hemoglobinemia e contagem plaquetária ao diagnóstico. No entanto, as LLA do subtipo T diferiram substancialmente com respeito ao sexo, leucocitose inicial, presença de massa mediastinal e hemoglobinemia (dados estatísticos não apresentados).

Em 1985, Greaves *et al* relataram os resultados encontrados pelo Grupo Colaborativo em que foi estudada a epidemiologia dos subtipos imunológicos da LLA. Esta investigação incluiu centros médicos da Ásia, África, Oceania, Américas Central e do Sul, Europa e Oriente Médio. Foram analisados 1554 pacientes, de todas as faixas etárias, em 3 períodos distintos: 1975 a 1979, fevereiro de 1980 a dezembro de 1981 e abril de 1983 a fevereiro de 1984. A classificação dos subtipos imunológicos de LLA seguiu os mesmos critérios do estudo acima relatado. Levando-se em conta os 3 períodos de avaliação como um todo, os 1554 pacientes apresentaram os seguintes perfis imunofenotípicos segundo a faixa etária (tabela 5). Analisando-se 623 pacientes de diferentes centros de referência, observa-se grande variação na distribuição dos subtipos de LLA (TABELA 6), ressaltando-se, entretanto, que algumas frequências foram calculadas a partir de um pequeno contingente de pacientes.

Tabela 5 – Distribuição dos subtipos de LLA segundo a faixa etária

n	% de Distribuição		
	cLLA	LLA-T	“Null”
	1151	195	208
	74,1	12,5	13,4
< 1 ano (n=30)	30,0	0	70,0
≤ 15 (n=1062)	81,4	12,2	6,4
10 a 15 (n=234)	69,2	24,3	6,4
≤ 20 (n=1184)	79,5	13,1	7,4
> 20 (n=370)	56,8	10,0	33,2
> 50 (n=157)	45,6	5,7	48,7

Tabela 6 – Distribuição dos imunofenótipos segundo os diversos centros de referência

Centro	% de Distribuição			
	cLLA	“Null”	LLA-T	I-LLA
Londres (n = 357)	71,4	12,6	14,3	1,7
Taiwan (n = 101)	63,4	17,8	15,8	3,0
Japão (n = 37)	56,8	5,4	29,7	8,1
≤ 20 anos (n = 24)	45,8	4,2	45,0	4,2
Cidade do Cabo, África do Sul (n = 43)	34,9	23,2	34,9	7,0
a) Brancos (n = 24)	45,8	20,8	25,0	8,4
b) Negros (n = 11)	18,2	18,2	54,5	0,9
Israel (n = 85)	54,1	3,5	35,3	7,1
1) Chaim, Sheba, Hashomer (n = 31)	38,7	0	48,4	12,9
a) Árabes (n = 18)	27,8	0	55,5	16,7
Árabes ≤ 15 anos (n = 12)	25,0	0	75,0	0
b) Judeus (n = 12)	50,0	0	41,7	0,3
Judeus ≤ 15 anos (n = 5)	60,0	0	20,0	20,0
2) Hadassah, Jerusalem (n = 54)	63,0	5,5	27,8	3,7
a) Árabes (n = 23)	69,9	4,3	26,1	0
Árabes ≤ 15 anos (n = 18)	72,2	5,6	22,2	0
b) Judeus (n = 31)	58,1	6,4	29,0	6,5

I-LLA: LLA de subtipo indeterminado

Os autores concluíram que o pico de incidência da LLA infantil entre 2 e 6 anos de idade era característica exclusiva da LLA do tipo comum; que os diferentes subtipos de LLA podiam ser encontrados em todas as regiões geográficas e grupos étnicos; que a distribuição dos diversos imunofenótipos era muito similar em países “desenvolvidos”; e que a LLA-T era proporcionalmente mais frequente nas crianças negras africanas (Nigéria, Kenya, África do Sul) e nas israelenses árabes (tribos Sheba e Hashomer) do que as LLA do subtipo comum.

O mesmo Grupo Colaborativo (GREAVES *et al*, 1993), em estudo posterior, analisou a distribuição dos diversos imunofenótipos de adultos e crianças, em algumas regiões geográficas distintas do primeiro (TABELA 7).

Tabela 7 - Distribuição dos imunofenótipos em pacientes abaixo de 15 anos, segundo os diversos centros de referência

Centro	Caucasianos				Negros africanos/ Índios Mapuche (Chile)			
	% de Distribuição				% de Distribuição			
	Total	cLLA	“Null”	LLA-T	Total	cLLA	“Null”	LLA-T 46,2
Reino Unido	351	72,6	12,8	14,5				
Chile	264	72,2	18,8	9,0	13	38,5	15,4	46,2
Austrália/Nova Zelândia	107	87,9	2,8	9,3				
África do Sul (Johannesburg)	84	73,8	10,7	15,5	57	60,8	3,9	35,3
África do Sul (Cidade do Cabo)	23	65,2	13,0	21,7	49	50,0	12,5	37,5
Nigéria					10	40,0	0	60,0
Total	829	74,4	13,2	12,4	129	55,8	5,2	

A diferença entre os diferentes centros para o grupo dos caucasianos foi altamente significativa para a classificação em 3 subtipos imunológicos ($p = 0,0004$) e a diferença entre a proporção de cLLA entre os diversos centros foi inteiramente atribuída à Austrália e Nova Zelândia ($p = 0,007$). As percentagens de LLA-T e LLA de células precursoras B (cLLA + “null”) foram relativamente estáveis entre os caucasianos ($p > 0,1$). A proporção entre LLA-T e LLA de precursores B (cLLA + “null”) foi significativamente maior entre os negros, seja quando foram comparados apenas os centros sul-africanos (que proviam dados de caucasianos e não caucasianos) ou quando os centros foram comparados na sua totalidade ($p = 0,005$ e $p < 0,005$, respectivamente). Entre os índios Mapuche chilenos, a proporção de casos de LLA-T foi muito maior do que entre os caucasianos (46,2% *versus* 9,0%; $p < 0,001$), embora se reconheça o pequeno número de casos analisados ($n = 13$). Concluindo, os autores sugerem que a aparente baixa incidência de cLLA em certas áreas geográficas pode estar associada à uma situação sócio-econômica mais desfavorável.

Hann *et al* (1998) relataram os resultados do protocolo britânico de tratamento para a LLA infantil MRC ULALLXI, realizado entre outubro de 1990 e março de 1997. Dos 2090 pacientes estudados, foram realizadas imunofenotipagens de 1934 crianças (93% dos casos), com idades entre 12 meses e 18 anos, sendo subclassificadas em 6 grupos principais: pré-B precoce ou “null” (CD10 negativo, CD19 e TdT positivos); LLA comum (CD10, CD19, TdT positivos); pré-B (perfil da cLLA associado à presença de imunoglobulina citoplasmática) e LLA-T. Os casos de pacientes com características de cLLA, onde a imunoglobulina citoplasmática não foi pesquisada, foram classificados como LLA comum ou pré-B. O sexto grupo foi criado para englobar os casos que expressavam antígenos mielóides (CD13 e/ou CD33), e outros pacientes que não se enquadravam em nenhuma das demais categorias. Estes antígenos não foram estudados em todos os casos analisados. Em relação à distribuição dos imunofenótipos, foram encontrados 60 casos de LLA pré-B precoce (3,1%), 1242 casos de LLA comum (64,2%), 252 casos do tipo pré-B (13,0%), 172 casos do tipo comum ou pré-B (8,9%) e 207 de LLA-T (10,7%). Foram analisadas as correlações entre o imunofenótipo, idade, leucometria inicial, sexo, morfologia FAB e envolvimento do sistema nervoso central (SNC) ao diagnóstico. Como não foi observada nenhuma diferença entre o grupo cLLA e o pré-B, todos os pacientes CD10 e CD19 positivos foram analisados em conjunto. As crianças com imunofenótipo “null” apresentaram idade inferior a 2 anos ou superior a 10 anos ($p < 0,00005$), sem outros fatores de associação significativos. Os pacientes cLLA e pré-B foram mais jovens ($p < 0,00005$), apresentaram leucometria inicial mais baixa ($p < 0,00005$), menor frequência de doença no SNC ao diagnóstico ($p < 0,00005$) e foram mais comumente do tipo L1 da

classificação FAB. As crianças com LLA-T foram mais velhas ($p < 0,00005$), com leucometria inicial mais alta ($p < 0,00005$), tenderam a apresentar morfologia do tipo L2 da classificação FAB ($p < 0,00005$) e envolvimento do SNC ao diagnóstico ($p < 0,00005$). A presença da imunoglobulina citoplasmática não teve associação clínica. Os autores concluíram, após análise multivariada, que nenhum dos subtipos imunofenotípicos estudados apresentou valor prognóstico independente, exceto para um pequeno grupo de pacientes com LLA-T e leucometria inicial baixa ($p = 0,00002$) que tiveram prognóstico pior.

Kamel *et al* (1989) demonstraram, em uma população egípcia, acentuada diferença no padrão imunofenótipo de 186 casos de LLA quando comparado com os relatados em países ocidentais. A população estudada constou de 131 pacientes do sexo masculino e 55 femininos, com idade variando de 18 meses a 64 anos. Destes, 64 eram crianças com idade inferior a 16 anos. A imunofenotipagem foi realizada pela técnica de imunocitoquímica. A definição dos imunofenótipos seguiu o seguinte critério, de acordo com a reatividade aos anticorpos monoclonais: LLA do tipo comum ou cLLA (CD10, CD19 e HLA-DR positivos), LLA null (todos os marcadores negativos exceto por HLA-DR), LLA-T (positividade de pelo menos um marcador de linhagem T e negatividade para CD19, CD20, Kappa e Lambda) e LLA-B (CD19, CD20, HLA-DR e Kappa ou Lambda positivos). Em 62 casos a reatividade aos anticorpos monoclonais CD7 e CD19 não foi testada. A incidência relativa dos imunofenótipos, nos 124 casos testados com painel de anticorpos mais completo, foi assim distribuída: 41,1% de cLLA ($n=51$); 50% de LLA-T ($n=62$); 4,0% de LLA-B ($n=5$) e 4,8% de LLA- Null ($n=6$). Avaliando-se os 186 casos em conjunto, foram verificados 73 casos de cLLA (39,2%), 83 de LLA-T (44,6%), 6 de LLA-B (3,2%) e 24 do subtipo Null (12,9%). Em relação às 79 crianças com idade inferior a 16 anos, 34 (43,0%) apresentaram imunofenótipo cLLA, 39 (49,4%) do tipo LLA-T, 4 do tipo LLA-B (5,1%) e 2 LLA-Null (2,5%). A distribuição em relação ao sexo não foi avaliada discriminando-se a faixa etária. Os casos de cLLA, de LLA-T e de LLA-Null representaram, respectivamente, para o sexo feminino, 54,3%, 42,9% e 2,8%. Para o grupo masculino, 36% foram cLLA, 52,8% LLA-T e 5,6% para LLA-Null. Apenas o grupo masculino apresentou casos de LLA-B (5,6%; $n=5$). Os autores concluíram que o padrão imunofenotípico das LLA no Egito diferiu do dos países ocidentais devido a uma maior proporção de casos de LLA- T em relação aos de cLLA, sem predominância do sexo masculino nos primeiros. Questionaram, também, se esta variabilidade relacionou-se a diferenças na condição sócio-econômica daquela população ou a condições ambientais específicas daquela região.

No Chile, Cabrera *et al* (1996) estudaram, no período de 1984 a 1993, 631 casos de LLA, sendo 500 deles em crianças com idade inferior a 15 anos. As imunofenotipagens foram

realizadas pela técnica de imunofluorescência indireta e os imunofenótipos foram assim classificados: a) LLA pró-B ou Null: TdT, HLA-DR e CD19 positivos; CD10, imunoglobulina de superfície (sIgG) e imunoglobulina citoplasmática (cIgG) negativas.

b) LLA comum: CD10, CD19, TdT, HLA-DR positivos; sIgG e cIgG negativos. Se a expressão de cIgG foi positiva, a LLA foi denominada pré-B.

c) LLA- B madura: CD19, HLA-DR, sIgG positivos; CD10 e cIgG positivos ou negativos

d) LLA-T: TdT, CD7, CD2 positivos; CD1 e CD3 positivos ou negativos.

A distribuição étnica dos 631 casos estudados foi de 95,7% de origem caucasiana e 4,3% de índios mapuche. A distribuição por sexo mostrou, entre as crianças, um discreto predomínio de meninos (55% *versus* 45%). O imunofenótipo nas crianças apresentou-se conforme demonstrado na Tabela 8.

Tabela 8 – Distribuição do imunofenótipo de LLA em crianças chilenas

	Caucasianos		Índios Mapuche	
	%	n	%	n
LLA comum	76	364	36	8
LLA-T	8	40	41	9
LLA pró-B	14	69	5	1
LLA-B	1	5	18	4
Total	100	478	100	22

A expressão de cIgG na LLA comum foi de apenas 3,2%, tanto nas crianças quanto nos adultos. A distribuição dos imunofenótipos por idade mostrou um pico de incidência entre 2 e 5 anos, correspondente aos casos de cLLA, enquanto que a LLA pró-B ou Null foi mais frequente em crianças com idade abaixo de um ano. Em contrapartida, a LLA-T manteve-se constante entre os 2 e 5 anos de idade. A LLA-T associou-se fortemente ao sexo masculino, com uma relação masculino/feminino de 9:1. Considerando-se, exclusivamente, as crianças de raça mapuche, observou-se um excesso de casos de LLA-T ($p < 0,001$) e de LLA-B ($p < 0,001$) e uma diminuição relativa de LLA comum ($p < 0,01$). Diante dos dados encontrados, os autores concluíram que a distribuição dos diferentes subtipos de LLA em crianças chilenas foi similar àqueles relatados por pesquisadores de países desenvolvidos. Salientaram, no entanto, a pequena proporção de casos pré-B (cIgG positiva) e as particularidades apresentadas pela raça mapuche.

No município de Ribeirão Preto, São Paulo, REGO *et al* (1996) estudaram a caracterização imunofenotípica de 153 casos de LLA infantil (crianças com idade inferior a 15 anos) e de 72 casos de LLA em adultos. A classificação imunofenotípica utilizada seguiu, resumidamente, os seguintes critérios: a) LLA comum: CD10, CD19, HLA-DR e TdT positivos; CD20 e CD22 positivos ou negativos; outros marcadores negativos. b) LLA-Null ou pró-B: CD19, HLA-DR e TdT positivos; outros marcadores negativos. c) LLA-T: CD7 e CD3 citoplasmático positivos. d) LLA de linhagem mista ou não classificável. A LLA comum representou 72,6% dos casos infantis, com um pico de incidência entre 2 e 6 anos. A LLA-T foi o segundo tipo mais prevalente (16,4%), seguida pelos subtipos pró-B (6,5%) e B madura (2,6%). Dentre os 11 casos de LLA pró-B detectados, 8 ocorreram em crianças com idade inferior a 2 anos. Em 2 crianças a LLA foi classificada como de linhagem mista, com presença de marcadores mielóides e de linhagem B, e mieloperoxidase negativa. Um caso foi considerado não classificável. Houve uma maior proporção de pacientes (adultos e crianças) do sexo masculino com o fenótipo cLLA ($p \leq 0,037$) e LLA-T ($p \leq 0,05$) em relação à população geral. A maioria dos casos de LLA ocorreu entre os pacientes brancos, com um índice não branco: branco variando de 1:4,25 nas LLA-T a 1:14 nas LLA-B (proporção branco: não branco na população geral 1: 4,1). A taxa de incidência de LLA em crianças brancas foi 29,8 casos/ 10^6 por ano, muito similar às relatadas em países desenvolvidos. A taxa de incidência de cLLA foi significativamente mais baixa entre as crianças não-brancas (4,9 versus 20 casos/ 10^6 por ano, $p \leq 0,03$), em contraste com os casos de LLA-T (1,7 versus 2,6 casos/ 10^6 por ano para não brancos e brancos, respectivamente). Os autores concluíram que as características da LLA na população de crianças brancas em Ribeirão Preto são similares às descritas em países desenvolvidos. Entretanto, houve uma ausência do pico de incidência na idade pré-escolar entre os pacientes não-brancos, assim como um déficit seletivo de casos de LLA comum.

2.3 Influência prognóstica de fatores sócio-econômicos e nutricionais

Poucos estudos investigaram, especificamente, a influência da nutrição e dos fatores sócio-econômicos no prognóstico de crianças com LLA. Em alguns outros onde a relação com os fatores sócio-econômicos é avaliada, a importância prognóstica da variável raça é, em geral, o principal objetivo da análise.

Em estudo australiano, 70 crianças residentes no estado de Queensland e portadoras de LLA, diagnosticadas entre 1975 e 1979, foram estratificadas em 7 classes sociais de acordo com a ocupação dos pais (escala de Congalton). Cinquenta e duas foram incluídas nas 5 classes superiores e 18 nas classes 6 e 7 (trabalhadores não qualificados). As crianças das classes 1 a 5 apresentaram taxa de sobrevida de 5 anos de 57% e as das classes 6 e 7 de 26% ($p = 0,039$). A mediana de sobrevida para as primeiras foi de 65 meses, enquanto que a do grupo menos favorecido foi de 30 meses ($p = 0,039$). Os autores concluíram existir relação direta entre prognóstico e classe social e questionaram sobre a possibilidade de se obter melhora nos resultados do tratamento das crianças oriundas de classes sociais mais baixas, manipulando-se seu ambiente social (Mc WHIRTER *et al*, 1983).

Nos Estados Unidos, o End Results Group comparou a sobrevida livre de eventos no primeiro ano entre 1675 crianças brancas e 126 negras portadoras de LLA, diagnosticadas entre 1955 e 1969. As crianças negras apresentaram sobrevida após um ano do diagnóstico significativamente menor que as brancas (33,3 meses e 48,1 meses, respectivamente; $p < 0,05$). Dentre os pacientes brancos, houve uma diferença significativa entre os tratados em hospitais particulares e aqueles tratados em hospitais públicos, 48,8% e 40,9%, respectivamente ($p = 0,05$). Os autores sugeriram que as variações observadas entre as raças pudessem ser, em parte, devidas ao estado nutricional, às condições de moradia, à precocidade do diagnóstico e à exposição a infecções intercorrentes (PENDERGRASS *et al*, 1975).

Em um estudo conduzido na região metropolitana de Baltimore (USA), no período compreendido entre 1960 e 1975, Szklo *et al* (1978) estudaram as possíveis alterações na sobrevida e compararam o prognóstico de 194 pacientes brancos e de 27 negros portadores de LLA. A probabilidade de sobrevida aos 2 anos foi de 53% para os brancos e de 44% para os negros, sendo que as curvas de sobrevida diferiram significativamente entre si ($p < 0,05$). Para se avaliar a influência das condições sócio-econômicas sobre o prognóstico da doença, os pacientes (45 brancos e 24 negros) foram classificados em 2 níveis, alto e baixo, de acordo com seu local de residência. Estes foram definidos como áreas censitárias baseadas na renda mediana familiar. Quarenta e nove por cento dos brancos e 29% de negros foram classificados como de

nível alto. Dentre as crianças brancas, as de nível alto apresentaram taxa de sobrevivência aos 2 anos de 51%, enquanto que, para as pertencentes ao estrato menos favorecido, esta foi de 28% ($p < 0,005$). Os autores afirmam na discussão do artigo que diferentes condições sócio-econômicas entre as raças possam ser um dos fatores responsáveis pela maior sobrevivência das crianças brancas em relação às negras.

Um estudo retrospectivo comparou trinta crianças paquistanesas e indianas, portadoras de LLA e residentes no Reino Unido, com um grupo controle de 60 inglesas (OAKHILL & MANN, 1983). A probabilidade estimada de remissão completa aos 2 anos foi de 41% e 80% ($p < 0,001$) e a de 5 anos de 27% e 39%, respectivamente ($p < 0,01$). Estas diferenças foram atribuídas, pelos autores, ao fato de que maior número de crianças asiáticas ($n=4$) morreu em remissão em comparação com as inglesas ($n=1$). Os óbitos deveram-se a infecções graves. No entanto, mesmo após censurar as crianças na data do óbito, havia uma diferença significativa na probabilidade estimada de remissão completa aos 2 anos ($p < 0,005$), não mantida após 5 anos. O fator nutricional não foi incluído no pareamento realizado. A média dos escore z (desvios-padrão em relação à média para idade e sexo) para o pareamento altura foi de $-0,26 \pm 1,13$ para as crianças asiáticas e $+0,2 \pm 0,95$ para as inglesas (teste t, $p < 0,05$). Para o peso, a média dos escore z foi de $-0,53 \pm 1,09$ e $-0,16 \pm 1,03$ ($p < 0,2$), respectivamente. Os autores concluem que a situação sócio-econômica, má nutrição e dificuldades de comunicação podem ter contribuído para um pior prognóstico nas crianças asiáticas.

Pesquisadores mexicanos demonstraram, pioneiramente, que a desnutrição influi negativamente sobre o prognóstico da LLA (LOBATO-MENDIZÁBAL *et al*, 1989). Em um estudo prospectivo foram avaliadas 43 crianças portadoras de LLA, com idade abaixo de 15 anos, risco padrão para o protocolo de tratamento utilizado e com critérios para definir a desnutrição que incluíam, além de sinais clínicos gerais, déficit ponderal calculado a partir de tabelas de peso e estatura para crianças mexicanas (Gómez, Ramos-Galván e Cravioto). Dezesesseis pacientes (37%) foram considerados desnutridos ao diagnóstico. As probabilidades de sobrevivência livre de eventos aos 5 anos para desnutridos e eutróficos foram de 26% e 85%, respectivamente ($p < 0,001$), devido a uma maior frequência de recaídas dos desnutridos em relação aos nutridos (56% *versus* 7% , $p < 0,0001$).

O mesmo grupo de investigadores demonstrou que a desnutrição e a condição sócio-econômica exerciam influência negativa no prognóstico da LLA. Neste estudo a definição do nível sócio-econômico dependeu da renda familiar mensal: nível baixo, renda entre 100 e 500 dólares; nível médio, entre 500 e 1000 dólares; nível alto, acima de mil dólares. Dentre as 49 crianças de risco padrão estudadas, 56% pertenciam ao estrato social baixo, 22% ao

intermediário e 22% ao alto; 35% eram desnutridas e 65% bem nutridas. A taxa de sobrevida livre de doença aos 70 meses foi de 50%, considerando-se todo o grupo. Analisando-se os grupos sócio-econômicos, separadamente, elas foram de 91% para o alto, 30% para o médio e 43% para o baixo ($p < 0,02$). A prevalência de desnutrição foi de 0% para as de nível alto, 27% para o intermediário e 54% para os de renda baixa ($p < 0,001$). Excluindo-se os desnutridos, não houve diferenças na sobrevida entre os pacientes provenientes de um nível alto ou baixo (91% para cada grupo). Os autores concluíram que a situação sócio-econômica não era, por si só, fator de mau prognóstico na LLA, mas que estava diretamente relacionada com o estado nutricional dos pacientes. (LOBATO-MENDIZÁBAL *et al*, 1991).

Mais recentemente, outro grupo mexicano demonstrou que a desnutrição pode afetar a taxa de mortalidade precoce na LLA (MEJIA-ARANGURE *et al*, 1999). Crianças cujo peso, ao diagnóstico, era menor do que 80% do esperado para a estatura, tinham risco 2,3 vezes maior (intervalo de confiança 95%: 0,55 a 11,9) de morrerem na fase de indução que os bem nutridos. O risco de morte mostrou tendência a aumentar com a acentuação do grau de desnutrição ($p = 0,048$).

Viana *et al* (1994) estudaram prospectivamente 128 crianças portadoras de LLA, com menos de 15 anos de idade, tratadas com esquema de quimioterapia intensiva baseado no protocolo alemão BFM-83. A avaliação do estado nutricional seguiu recomendações da Organização Mundial de Saúde (OMS), utilizando-se como ponto de corte o escore z para a estatura em relação à idade e sexo igual a -2. A sobrevida livre de eventos para todo o grupo foi de $41\% \pm 7\%$, sendo a estatura em relação à idade e sexo o fator mais importante a afetar a duração da remissão completa. O risco de recidiva foi 8,2 vezes maior para os desnutridos quando comparados ao grupo dos nutridos (intervalo de confiança 95%: 3,1 a 21,9). A recidiva medular, isolada ou combinada, foi a principal causa de interrupção da remissão. Os autores concluíram que a desnutrição deveria ser incluída como fator de risco para recidiva em crianças oriundas de países em desenvolvimento.

Em um segundo estudo prospectivo, Viana *et al* (1998) investigaram o impacto relativo da desnutrição e condição sócio-econômica na evolução de um grupo de 167 crianças com LLA, ajustando-os aos fatores biológicos de influência conhecidos. Para o tratamento foi utilizado esquema intensivo, baseado no protocolo alemão BFM-83. A avaliação do estado nutricional seguiu recomendações da Organização Mundial de Saúde (OMS), utilizando-se como ponto de corte o escore z para a estatura em relação à idade e sexo igual a -1,28. A caracterização da condição sócio-econômica (SSE) baseou-se em três variáveis: renda *per capita* familiar mensal (em salários mínimos), média de consumo energético familiar diário e condições de moradia

(categorizadas em ruim, intermediária e boa). A mediana de seguimento foi de 1623 dias e a sobrevida livre de eventos foi estimada em $43\% \pm 4\%$ aos 8 anos. Numa análise multivariada, a condição sócio-econômica desfavorável e as variáveis nutricionais (escore z para a estatura em relação à idade e sexo) foram os fatores preditivos para a recaída ($p = 0,00001$). A probabilidade de sobrevida livre de eventos aos 8 anos foi de 59% (6%) para o grupo das crianças nutridas com “boa” SSE e de 30% (7%) para o grupo das crianças nutridas com “má” SSE ($p < 0,0002$). As mesmas estimativas para as crianças com “má” SSE (desnutridas *versus* nutridas) não foram diferentes, sob o ponto de vista estatístico ($p = 0,1$). Os autores concluíram que a condição sócio-econômica constituía-se em fator prognóstico mais significativo que o estado nutricional.

Seguindo esta linha de pesquisa, em uma amostragem de 60 casos de LLA infantil, não foi demonstrada nenhuma diferença no estado nutricional ou na distribuição da renda *per capita* familiar de crianças cujos clones anormais apresentavam hiperdiploidia > 50 , comparados aos com 50 ou menos cromossomos ($p = 0,68$) (DUARTE, 1998).

3 CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1 Pacientes

Para este trabalho foram estudados os aspirados de medula óssea e/ou sangue periférico de 147 pacientes portadores de leucemia linfoblástica incluídos no protocolo terapêutico do Grupo Brasileiro para Tratamento da Leucemia Linfoblástica Infantil LLA-93 (GBTLI-93), colhidos entre 10 de junho de 1994 e 30 de dezembro de 1998. Cento e quatro destes pacientes foram atendidos no Serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (HC), e quarenta e três, no Serviço de Hematologia do Hospital Felício Rocho (HFR) de Belo Horizonte.

Um paciente diagnosticado no HC foi transferido, na primeira semana de tratamento, para o Serviço de Oncologia da Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte, enquanto duas crianças, oriundas do HFR, foram transferidas para o Hospital Belo Horizonte e Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, respectivamente.

Os critérios de inclusão no estudo foram os seguintes:

a. Toda criança com idade inferior a 18 anos diagnosticada em uma das instituições acima. O paciente de identificação número 105, apesar da idade superior a 18 anos, foi incluído no estudo, por ter recebido tratamento segundo o protocolo infantil.

b. Diagnóstico de leucemia linfoblástica confirmado por exame de medula óssea corada pela solução de May-Grünwald-Giemsa.

Os critérios de exclusão foram:

a. A administração prévia de quimioterapia, inclusive o uso de corticosteróides.

b. Recusa por parte dos pais ou responsáveis em participar do protocolo de tratamento.

c. Os casos inicialmente tidos como de LLA, mas cuja imunofenotipagem revelou tratar-se de leucemia não-linfoblástica (mieloperoxidase positiva).

d. As leucemias do tipo B maduro, diagnosticadas por critérios clínicos, morfológicos, imunofenotípicos ou citogenéticos.

3.2 Amostras utilizadas

Amostras de 5 ml de sangue periférico foram coletadas por punção venosa em tubo de vidro siliconizado, a vácuo e com EDTA (Vaccuntainer[®]).

Os aspirados de medula óssea (de 1 a 2 ml) foram obtidos a partir de punção de crista ilíaca póstero-superior, após anti-sepsia e anestesia local, em seringa estéril e descartável de 20 ml contendo 0,1 ml de heparina sódica (Liquemine[®]). Quando colhidos em seringa seca, foram imediatamente acondicionados em tubo de vidro siliconizado, a vácuo e contendo EDTA (Vaccuntainer[®]).

A contagem do número de células nucleadas, tanto nas amostras de sangue periférico quanto nas de medula óssea foi determinada pelo aparelho Cell Dyn[®] 3000 (Abbott Laboratories, Abbott Park, Illinois, EUA).

3.3 Análise morfológica

Todos os hemogramas e mielogramas do diagnóstico foram analisados nas instituições de origem. Os esfregaços medulares foram corados pelo May-Grünwald-Giemsa, para o ácido periódico de Schiff (segundo técnica de Hayhoe modificada) e o Sudan Black.

3.4 Imunofenotipagem

3.4.1 Preparação das células de sangue periférico e de medula óssea

Nas amostras de sangue periférico e de medula óssea colhidas entre junho de 1994 e dezembro de 1996, as células mononucleadas foram separadas através de centrifugação em gradiente de Ficoll-Hypaque e, posteriormente, lavadas duas vezes em RPMI 1640 (Sigma Chemicals, St Louis, Michigan, EUA). De janeiro de 1997 a dezembro de 1998, foram utilizadas amostras de sangue total sem separação prévia da camada de células mononucleadas. A concentração final de células a ser usada na caracterização imunofenotípica foi ajustada, em ambos os casos, em 5.000 células / μ l, utilizando-se solução salina tamponada com fosfato (STF) com 5% de soro bovino fetal (SBF).

Todas as amostras foram processadas e analisadas até 24 horas após a colheita.

Tabela 9 - Distribuição dos casos de LLA em relação ao tipo de amostra utilizada.

Amostra utilizada	Com separação por Ficoll	Com uso de sangue total	Total
Medula óssea	57	37	94
Medula óssea + sangue periférico	5	2	7
Sangue periférico	25	16	41
Sem registro	1	4	5
TOTAL	88	59	147

3.4.2 Anticorpos monoclonais

Foram empregados anticorpos monoclonais, aos pares, previamente conjugados com isotiocianato de fluoresceína (FITC) e ficoeritrina (PE), adquiridos da Dako Corporation (Carpinteria, California, EUA). Devido a problemas ocorridos durante o processo de importação dos reagentes utilizados, a inclusão dos anticorpos monoclonais no protocolo ficou assim distribuída:

- a) De junho a dezembro de 1994 (22 casos analisados): CD10-FITC, CD19-PE, CD2-FITC, CD3-PE, CD4-FITC, CD5-FITC, CD8-PE, HLA-DR-PE. As imunoglobulinas de camundongo das classes IgG 1 ou IgG 2a de especificidade irrelevante, conjugadas a FITC e PE foram empregadas como controles.
- b) De janeiro a outubro de 1995 (27 casos analisados): acrescentado ao protocolo anterior CD22-FITC.
- c) De novembro de 1995 a fevereiro de 1997 (42 casos analisados): acrescentados ao protocolo anterior CD20-FITC e CD7-FITC.
- d) De março de 1997 a dezembro de 1998 (56 casos analisados): acrescentados ao protocolo anterior MPO-FITC (mieloperoxidase), CD79a- PE e CD34-FITC.

3.4.3 Caracterização imunofenotípica das células leucêmicas por imunofluorescência direta

Foram empregados 100 µl da suspensão de células medulares e/ou de sangue periférico para determinação de cada imunofenótipo. Todas as etapas de incubação se deram à temperatura ambiente e em ambiente protegido da luz. As amostras foram incubadas com 5µl de anticorpo monoclonal por 20 minutos. A seguir, foi efetuada a lise das hemácias através da incubação da suspensão celular com 2 ml da diluição de 1:10 em água destilada da solução FACS Lysing[®] (Becton Dickinson, San Jose, California, EUA), por 10 minutos. Após centrifugação a 300 g por 5 min, o sobrenadante foi desprezado e o botão celular ressuspense em 2 ml da solução de lavagem (STF com 5% de SBF e 0,1% de azida sódica). Repetindo-se o processo de lavagem, finalmente o botão celular foi ressuspense em 1 ml de solução de fixação (solução de lavagem acrescida de 1% de formol) e levado ao citômetro de fluxo para análise.

A partir de janeiro de 1998 empregou-se a solução de lise OptiLyse C[®] (Immunotech - Coulter, Marselha, França). A lise das hemácias foi efetuada através de sua incubação com 500 µl de OptiLyse C[®] por 10 minutos. A seguir, após adição de 500 µl de solução de lavagem, incubou-se a preparação por 5 minutos. Após centrifugação a 300 g por 5 min, o sobrenadante foi desprezado, o botão celular ressuspense em 2 ml da solução de lavagem e levado à análise no citômetro de fluxo.

Para a detecção intra-citoplasmática dos antígenos CD3, CD22, CD79a e MPO foram utilizados os reagentes Fix & Perm[®] (Caltag Laboratories, Burlingame, California, EUA). Incubou-se 50 µl da suspensão celular com 100 µl do Reagente A (meio fixador) por 15 minutos à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Adicionando-se 5 ml de STF com 5% de SBF e 0,1% de azida sódica, a amostra foi centrifugada a 300 g por 5 minutos. Após remoção do sobrenadante, adicionou-se ao botão celular 100 µl do Reagente B (meio permeabilizador) e 10 µl do anticorpo monoclonal conjugado e previamente titulado. Após incubação por 15 minutos, repetiu-se o processo de lavagem. Finalmente o botão celular foi ressuspense em 2 ml de solução de lavagem e levado ao citômetro de fluxo para análise.

3.4.4 Citometria de fluxo

A análise das amostras deu-se em duas etapas. No período de junho de 1994 a dezembro de 1997 os exames foram realizados no Laboratório de Imunologia do Centro de Pesquisas René Rachou, Fundação Osvaldo Cruz, Belo Horizonte, em um citômetro de fluxo FACScan[®] (Becton Dickinson Immunocytometry Systems, San Jose, California, EUA). De janeiro a dezembro de 1998 as análises foram realizadas no Laboratório de Imunologia e de Imunodeficiências / DIP da Faculdade de Medicina da UFMG, que possui um citômetro de fluxo Coulter Epics XL-MCL[®] (Coulter Corporation, Miami, Florida, EUA).

As amostras preparadas pela técnica de imunofluorescência direta foram analisadas empregando-se o feixe laser de argônio de 488 nm na potência de 15 mW. Em cada amostra foram estudadas uma média de 10.000 células situadas na janela de linfócitos, sendo excluídos os debris, hemácias e células granulocíticas.

Os dados coletados no FACScan[®] foram analisados em um microcomputador Hewlett-Packard 300, empregando-se o programa CONSORT 30 (Becton Dickinson Immunocytometry Systems, San Jose, California, EUA). Quando da utilização do Coulter Epics XL-MCL[®], a análise dos dados deu-se em um microcomputador Sony 486-DX2, empregando-se o programa XL/XL2 DOS 3.0 (Coulter Corporation, Miami, Florida, EUA).

A análise das propriedades físicas das células foi realizada através da determinação do desvio em ângulo reto do feixe de laser (*Forward Scatter Scan* - FSC), proporcional ao volume da célula, representado no eixo das abscissas, e do desvio angular do mesmo (*Side Scatter Scan* - SSC), proporcional à complexidade/granulosidade da célula e representada no eixo das ordenadas.

Os resultados dos estudos de imunofluorescência com os pares de anticorpos monoclonais foram representados em gráficos de contorno. Os valores de intensidade de fluorescência foram representados em escala logarítmica, tendo os anticorpos conjugados ao FITC no eixo das abscissas e os conjugados a PE no das ordenadas. Os valores limítrofes (*cut-off*) para a positividade foram estabelecidos através da análise das amostras incubadas com as imunoglobulinas isotípicas de especificidade irrelevante (controles negativos).

3.4.5 Definição dos subtipos imunológicos

A determinação da linhagem do clone leucêmico dos casos de LLA baseou-se na classificação do Grupo Europeu para a Caracterização Imunológica de Leucemias (EGIL) (BENE *et al*, 1995), com modificações impostas por limitações no painel de anticorpos monoclonais utilizados neste estudo.

Para se considerar uma expressão antigênica positiva, estabeleceu-se como ponto de corte quando 30% das células blásticas foram marcadas com o anticorpo monoclonal.

Desta forma, as LLA foram classificadas em LLA de linhagem B e de linhagem T. A linhagem B foi definida quando havia expressão de pelo menos dois dos seguintes marcadores B: CD19, CD79a e CD22. A LLA de linhagem B foi subclassificada em LLA pré-B CD10 positivo (CD10⁺) ou LLA pré-B CD10 negativo (CD10⁻) por não se dispor do anticorpo anti-imunoglobulina intracitoplasmática (IgM citoplasmática). A LLA B madura foi excluída do estudo.

A LLA de linhagem T foi definida pela expressão de CD3 em membrana ou intracitoplasmática. Quando negativa, a LLA foi considerada T caso apresentasse positividade para CD2 e CD7 e negatividade para CD22 e/ou CD79a e MPO (mieloperoxidase). Não foi possível proceder à subclassificação deste grupo pela indisponibilidade de CD1a, anti-TCR α/β e anti-TCR γ/δ em nosso estudo.

3.5 Avaliação da condição sócio-econômica familiar

A condição sócio-econômica familiar de cada paciente foi analisada através de um questionário elaborado e apresentado por Fernandes (1996) em sua dissertação de mestrado (anexo 1). As entrevistas foram realizadas por três pessoas. Esta autora, juntamente com dois acadêmicos de medicina, bolsistas de iniciação científica, realizaram 93 dos 141 questionários apresentados neste trabalho. Seis questionários não foram aplicados. Em 5 casos as famílias não foram localizadas, 1 por perda de seguimento após suspensão de quimioterapia (número de identificação 3) e 4 após o óbito (números de identificação 1, 14, 26 e 60). Uma família de criança já falecida recusou-se a responder ao questionário (número de identificação 21). Os 48 restantes foram realizados por Duarte (1998) e apresentados em sua dissertação de mestrado.

Sumariamente, a estrutura básica do questionário é a seguinte:

- Identificação do paciente: endereço completo, pessoa entrevistada, entrevistador, data e local da entrevista;
- Identificação das pessoas residentes no domicílio do paciente, grau de parentesco e de escolaridade;
- Identificação das pessoas que trabalham, profissão, ocupação e renda mensal individual em salários mínimos. A partir destes dados foi calculada a renda familiar *per capita*;
- Descrição da moradia: número de cômodos, tipo de construção, existência de rede de água e esgoto e de luz elétrica;
- Consumo de energia elétrica: através da conta de luz da residência foi calculado o consumo em KWh/dia;
- Dados complementares: hábitos alimentares; formas de lazer; atividades culturais; assistência médica familiar; tomada de decisões no núcleo familiar.

As entrevistas foram realizadas com os pais, com o responsável pela criança na instituição de tratamento ou com o próprio paciente. Os mesmos foram visitados durante as internações, nos controles ambulatoriais ou em casa. Nos casos das crianças já falecidas, as visitas domiciliares eram agendadas e efetuadas após contato por telefone ou, na ausência deste, por carta. Na eventualidade de recusa inicial por parte dos responsáveis em participar do estudo, um segundo contato era realizado com o intuito de proporcionar maiores esclarecimentos aos familiares e tentar sensibilizá-los para a importância de sua colaboração.

3.6 Variáveis definidas

1. Identificação (ID): número referente à ordem de registro no estudo.
2. Idade (IDADE): número fracionário em meses, determinado pela subtração da data de nascimento em relação à data em que foi realizado o diagnóstico.

Para a criança de número de identificação 26 a data de nascimento não foi aferida ao diagnóstico, sendo utilizado o código de dado omissivo 999.

3. Instituição na qual a criança foi tratada (INST)
4. Sexo: masculino (1); feminino (2).
5. Leucometria ao diagnóstico (LEUI): número global de leucócitos no sangue periférico, na ocasião do diagnóstico, fornecido pela instituição de origem.

Para uma criança, cuja leucometria não foi aferida ao diagnóstico, foi utilizado o código de dado omissivo 999999 (número de identificação 39).

6. Imunofenótipo (IFN): LLA pré-B CD10 positivo (1); LLA pré-B CD10 negativo (2); LLA-T (3); Não determinado (4).

7. Peso ao diagnóstico (ZPESO): peso aferido por ocasião do diagnóstico na instituição de origem. Foi determinado a quantos desvios padrões (escore z) se encontrava em relação à mediana da população de crianças, da mesma idade e sexo, utilizada como referência, segundo recomendações da Organização Mundial de Saúde (DIBLEY *et al*, 1987). O cálculo do escore z foi obtido através da seguinte fórmula:

$$z = (P - M) / DP, \text{ onde}$$

P = peso do paciente ao diagnóstico, M = Mediana dos pesos da população-referência e DP = desvio-padrão da distribuição das crianças da população-referência.

Para três crianças, cujos pesos não foram aferidos ao diagnóstico, foi utilizado o código de dado omissivo 9,99 (números de identificação 26, 60 e 105).

8. Estatura ao diagnóstico (ZEST): valor correspondente ao escore z para estatura, com mesma definição e população-referência utilizadas para o peso.

Para quatro crianças, cujas estaturas não foram aferidas ao diagnóstico, foi utilizado o código de dado omissivo 9,99 (números de identificação 26, 60, 105 e 140).

Segundo a Organização Mundial de Saúde, o ponto de corte recomendado para determinação da desnutrição é o escore $z = -2$ (WHO WORKING GROUP, 1986). Como a prevalência da desnutrição em nosso meio é maior do que nos países desenvolvidos (MONTEIRO, 1984), foi utilizado o escore $z = -1,28$ (correspondente ao percentil 10), sendo a sensibilidade do ponto de corte aumentada às custas de uma diminuição da especificidade. As crianças foram classificadas como desnutridas se $z < -1,28$.

9. Renda *per capita* familiar mensal (RPC): valor fracionário obtido pela divisão da renda familiar mensal pelo número de membros da família. A renda familiar é expressa em salários mínimos vigentes à época da entrevista.

Em dois casos houve recusa dos pais em informar a renda familiar mensal (números de identificação 9 e 142) sendo utilizado o código de dado omissivo *.

10. Consumo energético familiar diário (KWh/dia): valor fracionário obtido pela divisão do total de KWh consumido durante o mês por 30 dias correspondentes ao consumo. Foi feita uma média do consumo energético dos últimos quatro meses, da conta de luz apresentada pelos familiares.

Em quatro casos os familiares não forneceram as contas de luz solicitadas através de contato pessoal, carta e/ou telefone (números de identificação 90, 96, 107 e 112). A paciente de número 29 reside em um hotel, não havendo consumo discriminado para os aposentos ocupados pela família. Em todas as situações acima foi utilizado o código de dado omissos *.

11. Valor casa: valor correspondente à somatória de valores atribuídos à moradia conforme representado na Tabela 10.

Os seis casos em que os questionários não foram realizados (números de identificação 1,3,14,21,26 e 60) receberam o código de dado omissos *.

Tabela 10 - Escores para definição da variável Valor casa.

Características da moradia	Valor
A - Número de cômodos	
1 - 3	0
4 - 5	1
6 - 8	2
>8	3
B - Tipo de piso	
Terra batida ou cimento	0
Cerâmica, pedra, taco, tábua	1
C - Abastecimento de água	
Não tratada: mina, rio, cisterna	0
Tratada	1
D - Rede de esgoto	
Ausente ou fossa	0
Presente	1

Codificação do valor casa: **0** - moradias cuja soma de pontos foi no máximo igual a 2;

1 - moradias cuja soma de pontos foi igual a 3 ou 4; **2** - moradias cuja soma de pontos foi igual a 5 ou mais.

3.7 Métodos estatísticos

Para o estudo de associação dos imunofenótipos com variáveis contínuas como LEUI, KWh/dia e RPC, que não apresentavam distribuição normal, foram utilizados os testes estatísticos não paramétricos de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis. Para a análise da associação com variáveis categóricas (IDADE, SEXO, ZPESO, ZEST e Valor-casa) foi utilizado o teste do qui-quadrado corrigido por Yates ou o teste de Fisher, quando um dos valores esperados era menor que cinco.

Em todos os testes estatísticos adotou-se o nível de significância de $p=0,05$ (bicaudal) em relação ao erro alfa.

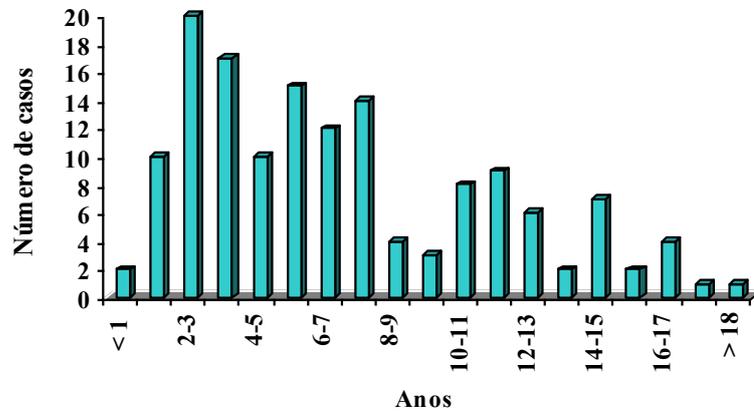
Na análise do estado nutricional, as curvas geradas pelo National Center for Health Statistics – NCHS (DIBLEY *et al*, 1987) foram tomadas como referência para os escores z para o peso e para a estatura. Os cálculos foram realizados pelo subprograma “Nutritional Anthropometry” do programa EPI INFO, versão 6.03 (DEAN *et al*, 1991). O escore $z = -1,28$ (percentil 10) foi definido como ponto de corte para classificar as crianças em eutróficas ou desnutridas.

3.8 Caracterização geral da casuística

A distribuição etária das crianças ao diagnóstico encontra-se representada na figura 2. A mediana de idade ao diagnóstico foi de 5 anos e 9 meses (faixa de 6 meses a 18 anos e 5 meses).

Dos 147 pacientes analisados, 70 são do sexo masculino e 77 do sexo feminino.

Figura 2 - Distribuição etária dos 147 pacientes



A distribuição das crianças conforme a contagem global de leucócitos ao diagnóstico está representada na figura 3. A mediana é de 15.650 leucócitos/ μ l (faixa de 800 a 668.000/ μ l).

A renda *per capita* familiar mensal (RPC) variou de zero a 9,62 salários mínimos, apresentando uma mediana de 0,77 salários mínimos. Sua distribuição encontra-se demonstrada na Figura 4.

Figura 3 - Distribuição dos 146 pacientes segundo a leucometria inicial

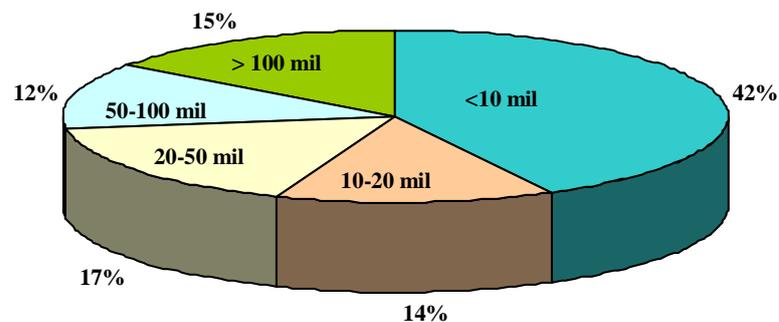
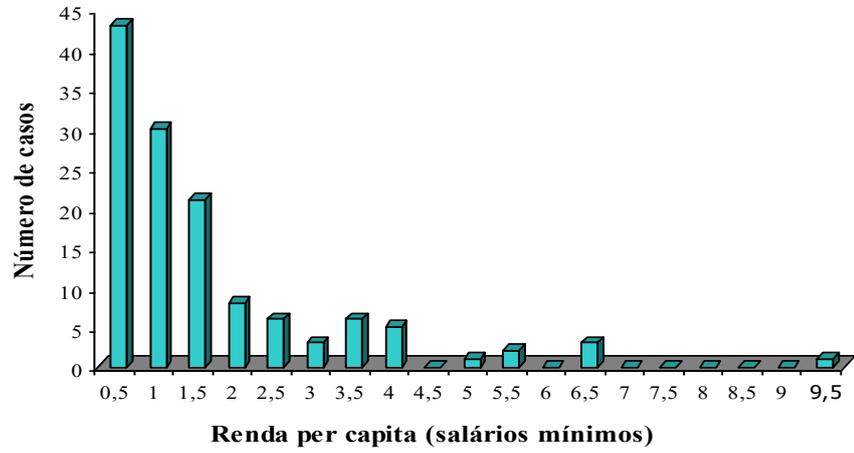
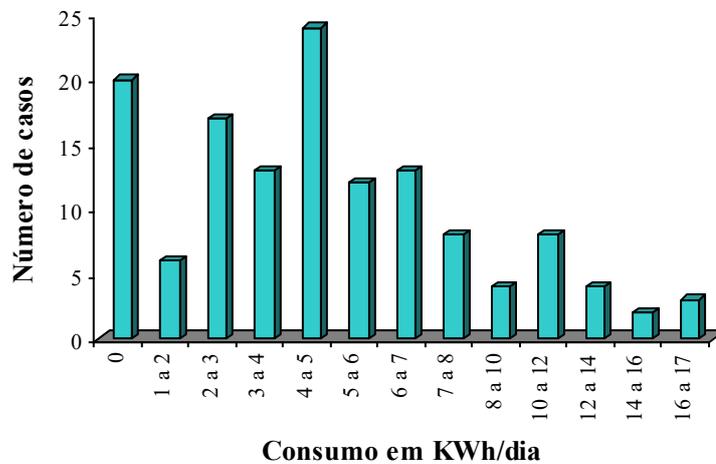


Figura 4 - Distribuição da renda *per capita* mensal de 139 famílias estudadas



O consumo de energia elétrica (KWh/dia) está demonstrado na figura 5. O consumo mínimo foi zero e o máximo de 17,32 KWh/dia, com uma mediana de 4,36 KWh/dia.

Figura 5 - Distribuição do consumo de energia elétrica de 136 famílias estudadas



A

Tabela 11 mostra a distribuição das 141 crianças conforme o valor casa. O valor casa 0

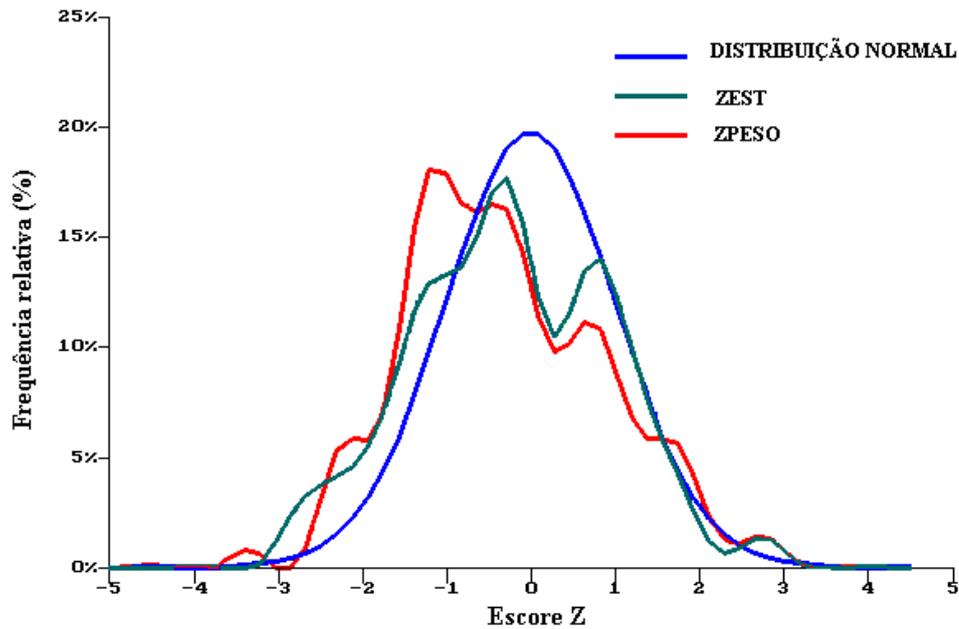
corresponde às moradias de pior qualidade, as de valor 1 às de qualidade intermediária e as de valor 2 às de melhor qualidade.

Tabela 11 - Distribuição dos 141 pacientes conforme a variável Valor casa

Valor casa	Número de crianças
0	29
1	51
2	61
Total	141

Quanto ao estado nutricional das crianças, a Figura 6 mostra a distribuição conforme o escore z do peso para idade e sexo (ZPESO) e da estatura em relação à idade e ao sexo (ZEST). A mediana para ZPESO foi de -0,47 (variação de -3,11 a +2,72) e a mediana para ZEST foi de -0,27 (variação de -2,91 a +2,87).

Figura 6 - Distribuição do escore z da estatura e peso para a idade (ZPESO e ZEST) dos 144 casos de LLA



REFERÊNCIAS

6th International Workshop and Conference on Human Leukocyte Differentiation Antigens. Kobe, Japan, 1996. Abstracts. *Tissue Antigens* 1996;48:352-508.

Andreoni C, Rigal D, Bonnard M, Bernaud J. Phenotypic analysis of a large number of normal human bone marrow samples by flow cytometry. *Blut* 1990;61:271-7.

Barclay NA, Birkleand ML, Brown MH, Beyers AD, Davis SJ, Somoza C, Williams AF. *The leukocyte antigen facts book*. London: Academic Press; 1993.

Bene MC, Castoldi G, Knapp W, Ludwig WD, Matutes E, Orfao A et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. *Leukemia* 1995;9:1783-6.

Berkowicz M, Toren A, Rosner E, Mandel M, Vonsover A, Biniaminov M, et al. Lymphomatous T-cell leukemia in two arab children. Is there a role for an environmental effect? *Leukemia* 1994;8:1995-8.

Bernard A, Boumsell L. Differentiation antigens of malignant leukocytes (2). *Presse Med* 1984;13:2371-4,2379-80.

Bøyum A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. Isolation of mononuclear cells by one centrifugation, and of granulocytes by combining centrifugation and sedimentation at 1g. *Scand J Clin Lab Invest* 1968;21 Suppl 97:77-89.

Caldwell CW, Poje E, Helikson MA. B-cell precursors in normal pediatric bone marrow. *Am J Clin Pathol* 1991; 95: 815-23.

Caligaris-Cappio F, Bergui L, Tesio L, Pizzolo G, Malavasi F, Chilosi M et al. Identification of malignant plasma cell precursors in the bone marrow of multiple myeloma. *J Clin Invest* 1985;76:1243-51.

Catovsky D, Foa R. Immunological markers. In: Catovsky D, Foa R, editors. *The lymphoid leukemias*. London, Butterworths;1990. p. 1-31.

Cabrera MEC, Labra SG, Ugarte SU, Matutes E, Greaves MF. Inmunofenotipo. Características clínicas y laboratorio de la leucemia linfoblástica aguda en Chile. *Rev Méd Chile* 1996;124:293-9.

Chan LC, Pegram SM, Greaves MF. Contribution of immunophenotype to the classification and differential diagnosis of acute leukaemia. *Lancet* 1985;1:475-9.

Ciudad J, Orfao A, Vidriales B, Macedo A, Martínez A, González M et al. Immunophenotypic analysis of CD19+ precursors in normal human adult bone marrow: implications for minimal residual disease detection. *Haematologica* 1998-a;83:1069-75.

Ciudad J, San Miguel JF, Lopez-Berges MC, Vidriales MB, Valverde B, Ocqueteau M et al. Prognostic value of immunophenotypic detection of minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 1998-b;16:3774-81.

Ciudad J, San Miguel JF, Lopez-Berges MC, Garcia-Marcos MA, Gonzalez M, Vazquez L, et al. Detection of abnormalities in B-cell differentiation pattern is a useful tool to predict relapse in precursor-B-ALL. *Br J Haematol* 1999;104:695-705.

Consolini R, Legitimo A, Rondelli R, Guguelmi C, Barisone E, Lippi A et al. Clinical relevance of CD10 expression in childhood ALL. The Italian Association for Pediatric Hematology and Oncology (AIEOP). *Haematologica* 1998;83:967-73.

Cortes JC, Kantarjian HM. Acute lymphoblastic leukemia. A comprehensive review with emphasis on biology and therapy. *Cancer* 1995;76:2393-417.

Crist WM, Grossi CE, Pullen DJ, Cooper MD. Immunologic markers in childhood acute lymphocytic leukemia. *Seminars in Oncology* 1985;12:105-121.

Crist WM, Pullen J, Boyett J, Falletta J, Van Eys J, Borowitz M, Jackson J, Dowell B, Frankel L, Quddus F, Ragab A, Vietti T. Clinical and biological features predict a poor prognosis in acute lymphoblastic leukemias in infants: a Pediatric Oncology Group study. *Blood* 1986;67:135-40.

Crist WM, Shuster JJ, Falletta J, Pullen DJ, Berard CW, Vietti TJ et al. Clinical features and outcome in childhood T-cell leukemia-lymphoma according to stage of thymocyte differentiation: a Pediatric Oncology Group Study. *Blood* 1988;72:1891-7.

Crist W, Boyett J, Jackson J, Vietti T, Borowitz M, Chauvenet A et al. Prognostic importance of the pre-B immunophenotype and other presenting features in B-lineage childhood acute lymphoblastic leukemia: a Pediatric Oncology Group study. *Blood* 1989; 74:1252-9.

Dean AG, Dean JA, Burton AH, Dicker RC. Epi info, version 5.01 a: a word processing, database, and statistics program for epidemiology on microcomputers. USD, Incorporated, Stone mountain, Georgia, 1991.

Dibley MJ, Goldsby, JB, Staehling, NW, Trowbridge FL. Development of normalized curves for the international growth reference: historical and technical considerations. *Am J Clin Nutr* 1987;46:736-48.

Duarte AA. Estudo citogenético das leucemias agudas de crianças: associação com fatores biológicos e sócio-econômicos ao diagnóstico. Belo Horizonte, Minas Gerais. (Dissertação de mestrado). Universidade Federal de Minas Gerais; 1998).

Fernandes RAF. A condição sócio-econômica como fator prognóstico na recidiva da leucemia linfoblástica da criança. Belo Horizonte, Minas Gerais. Dissertação [Mestrado em Medicina]. Universidade Federal de Minas Gerais; 1996.

First MIC Cooperative Study Group. Morphologic, immunologic, and cytogenetic (MIC) working classification of acute lymphoblastic leukemias. Report of the workshop held in Leuven, Belgium, April 22-23, 1985. *Cancer Genet Cytogenet* 1986;23:189-97.

Fleming AF. Leukaemias in Africa. *Leukemia* 1993;7(Suppl 2):S138-41.

Foon KA, Todd R F. Immunologic classification of leukemia and lymphoma. *Blood* 1986; 68:1-31.

Garand R, Vannier JP, Bene MC, Faure GC, Bernard A. Correlations between ALL immunophenotype and clinical and laboratory data at presentation. *Cancer* 1989;64:1437-46.

Greaves MF, Janossy G, Peto J, Kay H. Immunologically defined subclasses of acute lymphoblastic leukaemia in children: their relationship to presentation features and prognosis. *Br J Haematol* 1981;48:179-97.

Greaves MF, Pegram SM, Chan LC. Collaborative group study of the epidemiology of ALL subtypes: background and first report. *Leuk Res* 1985;9:715-33.

Greaves MF, Colman SM, Beard MEJ, Bradstock K, Cabrera ME, Chen PM et al. Geographical distribution of acute lymphoblastic leukaemia subtypes: second report of the Collaborative Group Study. *Leukemia* 1993;7:27-34.

Hann IM, Richards SM, Eden OB, Hill FGH. Analysis of the immunophenotype of children treated on the Medical Research Council United Kingdom Acute Lymphoblastic Leukaemia Trial XI (MRC UKALLXI). *Leukemia* 1998;12:1249-55.

Hirsch K, Zaontz M, Marchildon M, Blumstein L, McCoy Jr JP, Donaldson MH. Immunophenotyping of pediatric bone marrow. *Ann NY Acad Sci* 1993;677:410-12.

Hokland P, Rosenthal P, Griffin JD, Nadler LM, Daley J, Hokland M et al. Purification and characterization of fetal hematopoietic cells that express the common acute lymphoblastic leukemia antigen (CALLA). *J Exp Med* 1983;157:114-29.

Janossy G, Campana D, Akbar A. Kinetics of T lymphocyte development. *Curr Top Pathol* 1989;79:59-99.

Kamel AM, Assem MM, Jaffe ES, Magrath I, Enein MIA, Hindawy DS. Immunological phenotypic pattern of acute lymphoblastic leukaemia in Egypt. *Leuk Res* 1989;7:519-25.

Kamel AM, Ghaleb FM, Assem MM, Hindawy DS, Jaffe ES, Magrath IT. Phenotypic analysis of T-cell acute lymphoblastic leukemia in Egypt. *Leuk Res* 1990;14:601-9.

Knapp W, Rieber P, Dorken B, Schmidt RE, Stein H, Borne AE. Towards a better definition of human leucocyte surface molecules. *Immunol Today* 1989;10:253-8.

Koehler M, Behm FG, Shuster J, Crist W, Borowitz M, Look AT et al. Transitional pre-B acute lymphoblastic leukemia of childhood is associated with favorable prognostic clinical features and an excellent outcome: a Pediatric Oncology Group study. *Leukemia* 1993;7: 2064-8.

Köhler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975;256:495-7.

Lanza F, Moretti S, Papa S, Malavasi F, Castoldi G. Report on the Fifth International Workshop on Human Leukocyte Differentiation Antigens, Boston, November 3-7,1993. *Haematologica* 1994;79:374-86.

LeBien TW, McCormack RT. The common acute lymphoblastic leukemia antigen (CD10)-Emancipation from a functional enigma. *Blood* 1989;73:625-35.

Lobato-Mendizábal E, Ruiz-Argüelles GJ, Marín-López A. Leukaemia and nutrition. Malnutrition is an adverse prognostic factor in the outcome of treatment of patients with standard-risk acute lymphoblastic leukaemia. *Leuk Res* 1989;13:899-906.

Lobato-Mendizábal E, Ruiz-Argüelles GJ, Ganci-Cerrud G. Efecto del estado socioeconómico sobre la respuesta terapéutica de niños com leucemia aguda linfoblástica de riesgo habitual. *Neoplasia* 1991;8:161-5

Loken MR, Shah VO, Dattilio KL, Civin CI. Flow cytometric analysis of human bone marrow. II. Normal B lymphoid development. *Blood* 1987;70:1316-24.

Lucio P, Parreira A, van dem Beemd MWM, van Lochem EG, van Wering ER, Baars E, et al. Flow cytometric analysis of normal B-cell differentiation: a frame of reference for the detection of minimal residual disease in precursor B-ALL. *Leukemia* 1999;13:419-27.

Ludwig WD, Raghavachar A, Thiel E. Immunophenotypic classification of acute lymphoblastic leukaemia. *Baillière's Clinical Haematology* 1994;7:235-63.

- Matutes E, Morilla R, Owusu-Ankomah K, Houliham A, Meeus P, Catovsky D. The immunophenotype of hairy cell leukemia (HCL). Proposal for a scoring system to distinguish HCL from B-cell disorders with hairy or villous lymphocytes. *Leuk Lymphoma* 1994;14 (Suppl 1):57-91.
- Mejia-Arangure JM, Fajardo-Gutierrez A, Reyes-Ruiz NI, Bernaldes-Rios R, Mejia-Dominguez AM, Navarrete-Navarro S, Martinez-Garcia MC. Malnutrition in childhood lymphoblastic leukemia: a predictor of early mortality during the induction-to-remission phase of treatment. *Arch Med Res* 1999;30:150-3.
- McKinney PA, Alexander FE, Cartwright RA, Scott CS, Staines A. Acute Lymphoblastic Leukaemia in the UK by immunophenotype. *Leukemia* 1993;7:1630-4.
- Mc Whirter WR, Smith H, Mc Whirter KM. Social class as a prognostic variable in acute lymphoblastic leukaemia. *Med J Aust* 1983;2:319-21.
- Miller DR, Miller LP. Acute lymphoblastic leukemia in children: an update of clinical, biological, and therapeutic aspects. *Crit Rev Oncol Hematol* 1990;10:131-64.
- Monteiro CA. Critérios antropométricos no diagnóstico da desnutrição em programas de assistência à criança: *Revista de Saúde Pública (São Paulo)* 1984;18:209-17.
- Nadler LM, Korsmeyer SJ, Anderson KC, Boyd AW, Slaughenhaupt B, Park E et al. B cell origin of non-T cell acute lymphoblastic leukemia. A model for discrete stages of neoplastic and normal pre-B cell differentiation. *J Clin Invest* 1984;74:332-40.
- Oakhill A, Mann JR. Poor prognosis of acute lymphoblastic leukaemia in Asian children living in the United Kingdom. *BMJ* 1983;286:839-41.
- Orfao A, Schmitz G, Brando B, Ruiz-Arguelles A, Basso S, Braylan R et al. Clinically useful information provided by the flow cytometric immunophenotyping of hematological malignancies: current status and future directions. *Clin Chem* 1999;45:1708-17.
- Pallesen G, Plesner T. The third international workshop and conference on human leukocyte differentiation antigens with an up-to-date overview of the CD. *Leukemia* 1987; 1:231-4.
- Pendergrass TW, Hoover R, Godwin JD. Prognosis of black children with acute lymphocytic leukemia. *Med Pediatr Oncol* 1975;1:143-8.

Pui CH, Rivera GK, Hancock ML, Raimondi SG, Sandlund JT, Mahmoud HH et al. Clinical significance of CD10 expression in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 1993-b;7:35-40.

Pui CH. Childhood leukemias. *N Engl J Med* 1995;332:1618-30.

Rajalekshmy KR, Abitha AR, Pramila R, Gnanasagar T, Maitreya V, Shanta V. Immunophenotyping of acute lymphoblastic leukaemia in Madras, India. *Leuk Res* 1994;18:183-90.

Rego EM, Garcia AB, Viana SR, Falcão RP. Characterization of acute lymphoblastic leukemia subtypes in Brazilian patients. *Leuk Res* 1996;20:349-55.

Reinherz EL, Schlossman SF. Current concepts in immunology: Regulation of the immune response inducer and suppressor T-lymphocyte subsets in human beings. *N Engl J Med* 1980;303:370-3.

Roper M, Crist WM, Metzgar R, Ragab AH, Smith S, Starling K et al. Monoclonal antibody characterization of surface antigens in childhood T-cell lymphoid malignancies. *Blood* 1983;61:830-7.

Rothe G, Schmitz G. Consensus protocol for the flow cytometric immunophenotyping of hematopoietic malignancies. Working Group on Flow Cytometry and Image Analysis. *Leukemia* 1996;10:877-95.

Ryan D, Kossover S, Mitchell S, Frantz C, Henessy L, Cohen H. Subpopulations of common acute lymphoblastic leukemia antigen-positive lymphoid cells in normal bone marrow identified by hematopoietic differentiation antigens. *Blood* 1986;68:417-25.

San Miguel JF, Martinez A, Macedo A, Vidriales MB, Lopez-Berges MC, Gonzalez M, et al. Immunophenotyping investigation of minimal residual disease is a useful approach for predicting relapse in acute myeloid leukemia patients. *Blood* 1997;90:2465-70.

Shipp MA, Look AT. Hematopoietic differentiation antigens that are membrane-associated enzymes: cutting is the key! *Blood* 1993;15:1052-70.

Szklo M, Gordis L, Tonascia J, Kaplan E. The changing survivorship of white and black children with leukemia. *Cancer* 1978;42:59-66.

Thiel E, Hoelzer D, Dorken B, Loffler H, Messerer C, Huhn D. Clinical relevance of blast cell phenotype as determined with monoclonal antibodies in acute lymphoblastic leukemia of adults. *Hamatol Bluttransfus* 1987;30:95-103.

Uckun FM. Regulation of human B-cell ontogeny. *Blood* 1990;76:1908-23.

Van Dongen JJM, Bartram CR, Wormann B, Biondi A, Orfao A, San Miguel JF. Detection of minimal residual disease (MRD) in acute leukemia (AL). *Trends Oncol Hematol* 1995;3:54-8.

Viana MB, Murao M, Ramos G, Oliveira HM, Carvalho RI, Bastos M et al. Malnutrition as a prognostic factor in lymphoblastic leukaemia: a multivariate analysis. *Arch Dis Child* 1994;71:304-10.

Viana MB, Fernandes RAF, Carvalho RI, Murao M. Low socioeconomic status is a strong independent predictor of relapse in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Int J Cancer* 1998;Suppl 11:56-61.

WHO WORKING GROUP. Use and interpretation of anthropometric indicators of nutritional status. *Bull World Health Org* 1986;64:929-41.

ARTIGO

Estudo imunofenotípico da leucemia linfoblástica na criança: associação com a situação sócio-econômica e outros fatores biológicos ao diagnóstico

RESUMO

O imunofenótipo de 147 casos consecutivos de leucemia linfoblástica infantil (LLA) foi determinado, ao diagnóstico, por citometria de fluxo. As frequências relativas dos diversos subtipos imunológicos foi muito similar àquelas descritas em países desenvolvidos. As LLA foram subclassificadas em pré-B CD10 positivo (70%), pré-B CD10 negativo (12%) e LLA-T (16%), sendo três análises inconclusivas (2%). Os casos de LLA-B maduras foram excluídos do estudo. As LLA pré-B CD 10 positivo apresentaram o típico pico de incidência entre os 2 e 5 anos de idade. As LLA de linhagem T predominaram no sexo masculino e as pré-B CD10 negativo no sexo feminino. A hiperleucocitose mostrou forte associação dos subtipos pré-B CD10 negativo e T em relação ao pré-B CD10 positivo. Não foi verificada associação estatisticamente significativa entre as variáveis sócio-econômicas (renda *per capita* familiar, consumo energético mensal, condições de habitação) e nutricionais (escores z para peso e estatura em relação à idade) e os três subtipos imunológicos estudados. Os resultados sugerem, portanto, que a influência negativa de fatores sócio-econômicos e nutricionais sobre o prognóstico da LLA não se explica por diferenças na distribuição dos imunofenótipos. Este estudo só se completará, entretanto, com o seguimento mais prolongado dos casos e com uma análise de sobrevida que utilize metodologia de ajuste multivariado.

Palavras-chave: Leucemia linfoblástica aguda. Imunofenotipagem. Situação sócio-econômica. Nutrição.

Introdução

A leucemia linfoblástica aguda (LLA) é a neoplasia mais comum na infância. Atualmente, cerca de 70% das crianças diagnosticadas em países desenvolvidos apresentam uma sobrevida livre de doença prolongada, sendo que a maioria destes pacientes alcançará a cura ¹.

O emprego de reagentes imunológicos para a identificação de receptores específicos nas membranas e citoplasma das células linfáticas (imunofenotipagem) propiciou o esclarecimento de aspectos particulares da diferenciação celular. Isso é extremamente relevante para caracterizar a história natural da doença e escolher a terapia adequada ².

O conhecimento da distribuição relativa dos imunofenótipos em várias regiões do mundo ³⁻⁹ tem, basicamente, duas finalidades: a. inferir a contribuição de fatores etiológicos - étnicos e ambientais - na incidência da leucemia infantil; b. verificar se existe influência prognóstica dos imunofenótipos ¹⁰.

O País possui apenas um estudo de maior envergadura sobre a incidência dos diversos imunofenótipos da LLA em crianças ¹¹. Como reconhecido nesse estudo, os dados não podem ser extrapolados para o Brasil, pela restrição da amostra a pacientes da região de Ribeirão Preto. Torna-se importante, portanto, o estudo de outras regiões com características sócio-econômicas diferentes, como é o caso de Minas Gerais, para se desenhar um mapa mais aproximado dos diversos “brasis”.

Essa oportunidade surgiu em julho de 1988, quando foi formado em Belo Horizonte o Grupo Cooperativo Mineiro para Tratamento da Leucemia Linfoblástica na Criança (GCMLLA), reunindo as principais instituições para onde é encaminhada a maioria dos casos de Minas Gerais. Em 1994, o Hospital das Clínicas da UFMG e o Hospital Felício Rocho, responsáveis por 95% dos casos inscritos no grupo mineiro, decidiram integrar o Grupo Brasileiro para Tratamento da Leucemia Infantil (GBTLI), aumentando o número de casos tratados de forma similar e possibilitando o desenvolvimento de pesquisas conjuntas e próprias de cada instituição.

Como produto do funcionamento do grupo mineiro, foram já publicados dois estudos que analisaram a influência do estado nutricional e da situação sócio-econômica sobre o prognóstico da LLA ^{12,13}. Concluiu-se pela necessidade de serem controladas variáveis biológicas como a imunofenotipagem e o genótipo das células leucêmicas para que se pudessem avaliar as interações entre esses fatores biológicos e a condição sócio-econômica-cultural, responsável aparente pelos piores resultados no tratamento da LLA em países subsenvolvidos.

O presente estudo teve como objetivos: a. verificar a incidência relativa dos diversos fenótipos imunológicos da LLA em criança, comparando-se os dados locais com os nacionais e internacionais; b. verificar se há associação entre determinados imunofenótipos e a condição nutricional da criança e a situação sócio-econômica da família.

Pacientes e Métodos

Aspirados de medula óssea e/ou sangue periférico de 147 pacientes portadores de leucemia linfoblástica, consecutivamente incluídos no protocolo terapêutico do Grupo Brasileiro para Tratamento da Leucemia Linfoblástica Infantil LLA-93 (GBTLI-93), colhidos entre 10 de junho de 1994 e 30 de dezembro de 1998, foram submetidos a imunofenotipagem. Cento e quatro destes pacientes foram atendidos no Serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (HC), e quarenta e três, no Serviço de Hematologia do Hospital Felício Rocho (HFR) de Belo Horizonte.

Foram incluídas no estudo todas as crianças não tratadas previamente, com idade inferior a 18 anos ao diagnóstico (tabela 1). Um paciente com idade superior a 18 anos foi incluído no estudo por ter recebido tratamento segundo o protocolo infantil. Os critérios de exclusão foram recusa por parte dos pais em participar do protocolo de tratamento, leucemias inicialmente tidas como LLA cuja imunofenotipagem revelou leucemia não-linfoblástica e leucemias B maduras diagnosticadas por critérios clínicos, morfológicos, imunofenotípicos ou citogenéticos.

Tabela 1 - Características de 147 pacientes ao diagnóstico de LLA

Sexo (M:F)	70:77
Idade em meses	71 (6 a 223)*
Leucometria inicial ($\times 10^9/L$)	15,6 (8 a 620)*
Escore z do peso em relação à idade e ao sexo	- 0,47 (- 3,11 a + 2,72)*
Escore z da estatura em relação à idade e ao sexo	- 0,26 (- 2,91 a + 2,87)*
Renda <i>per capita</i> familiar mensal em salários mínimos	0,77 (0 a 9,62)*
Consumo energético diário (KWh)	4,36 (0 a 17,32)*
Condições de moradia (ruim: intermediária: boa)	29:51:61

*Medianas dos valores (variação)

A imunofenotipagem foi realizada em amostras frescas, heparinizadas, de sangue periférico e/ou medula óssea, por imunofluorescência direta. O painel de anticorpos monoclonais utilizado examinou a expressão dos seguintes marcadores: CD10, CD19, CD20, CD79a, CD22 e CD3 intracitoplasmáticos, CD2, CD4, CD5, CD7, CD8, CD34, HLA-DR, CD13, CD33 e Mieloperoxidase (MPO). Os anticorpos monoclonais CD7, CD20, CD79a,

CD34 e MPO foram analisados em apenas 60% dos casos. Todos os anticorpos foram adquiridos da Dako Corporation (Carpinteria, California, EUA).

De junho de 1994 a dezembro de 1997, os exames foram realizados no Laboratório de Imunologia do Centro de Pesquisas René Rachou, Fundação Osvaldo Cruz, Belo Horizonte, em um citômetro de fluxo FACScan[®] (Becton Dickinson Immunocytometry Systems, San Jose, California, EUA). De janeiro a dezembro de 1998, as análises foram realizadas no Laboratório de Imunologia e de Imunodeficiências / DIP da Faculdade de Medicina da UFMG, que possui um citômetro de fluxo Coulter Epics XL-MCL[®] (Coulter Corporation, Miami, Florida, EUA).

A determinação da linhagem do clone leucêmico dos casos de LLA baseou-se na classificação do Grupo Europeu para a Caracterização Imunológica de Leucemias (EGIL)¹⁴ com modificações devido a limitações no painel de anticorpos monoclonais utilizados neste estudo.

Para se considerar uma expressão antigênica positiva, estabeleceu-se como ponto de corte quando 30% ou mais das células blásticas foram marcadas com o anticorpo monoclonal.

Desta forma, as LLA foram classificadas em LLA de linhagem B e de linhagem T. A linhagem B foi definida quando havia expressão de pelo menos dois dos seguintes marcadores B: CD19, CD79a e CD22. A LLA de linhagem B foi sub-classificada em LLA pré-B CD10 positivo (CD10⁺) ou LLA pré-B CD10 negativo (CD10⁻), por não se dispor do anticorpo anti-imunoglobulina intracitoplasmática (IgM citoplasmática).

A LLA de linhagem T foi definida pela expressão de CD3 em membrana ou intracitoplasmática. Quando negativa, a LLA foi considerada T caso apresentasse positividade para CD2 e CD7 e negatividade para CD22, CD79a e MPO (mieloperoxidase). Não foi possível proceder à subclassificação deste grupo pela indisponibilidade de CD1a, anti-TCR α/β e anti-TCR γ/δ em nosso estudo.

Avaliação da condição sócio-econômica familiar: A condição sócio-econômica de cada paciente foi analisada através de um questionário respondido pelos familiares, elaborado e apresentado por Fernandes¹⁵ em sua dissertação de mestrado. Seis crianças, já falecidas por ocasião das entrevistas, foram excluídas da análise sócio-econômica: duas famílias recusaram responder ao questionário e quatro não foram localizadas. Sumariamente, a estrutura básica do questionário avaliou: número de pessoas residentes no domicílio; renda mensal individual em salários mínimos; descrição da moradia: número de cômodos, tipo de construção, existência de rede de água e esgoto e de luz elétrica; consumo de energia elétrica checado através de uma conta de luz da residência; hábitos alimentares; formas de lazer; atividades culturais; assistência médica familiar; tomada de decisões no núcleo familiar.

Neste estudo foram consideradas três variáveis: renda per capita familiar mensal (RPC), consumo diário de energia elétrica (kWh/dia) e condições de habitação (valor casa). A última foi estratificada em três categorias: ruim, intermediária e boa, com valores de 0, 1 e 2, respectivamente.

Avaliação do estado nutricional: O peso e a estatura foram aferidos por ocasião do diagnóstico na instituição de origem. Três crianças, cujas medidas não foram realizadas, foram excluídas da avaliação nutricional. Os dois índices nutricionais avaliados foram o peso para a idade (ZPESO) e a estatura para a idade (ZEST). Foram determinados a quantos desvios padrões (escore z) se encontravam em relação à mediana da população de crianças, da mesma idade e sexo, utilizadas como referência, segundo recomendações da Organização Mundial de Saúde¹⁶. Segundo esta Organização, o ponto de corte recomendado para determinação da desnutrição é o escore $z = -2$ ¹⁷. Como a prevalência da desnutrição em nosso meio é maior que nos países desenvolvidos¹⁸, foi utilizado o escore $z = -1,28$ (correspondente ao percentil 10), sendo a sensibilidade do ponto de corte aumentada às custas de uma diminuição da especificidade. As crianças foram classificadas como desnutridas se $z < -1,28$. Os cálculos foram realizados pelo subprograma “Nutritional Anthropometry” do programa EPI INFO, versão 6.03.

Métodos estatísticos: Para o estudo de associação dos imunofenótipos com variáveis contínuas como leucometria inicial, kWh/dia e RPC, que não apresentavam distribuição normal, foram utilizados os testes estatísticos não paramétricos de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis. Para a análise da associação com variáveis categóricas (IDADE, SEXO, ZPESO, ZEST e Valor-casa) foi utilizado o teste do qui-quadrado corrigido por Yates ou o teste de Fisher, quando um dos valores esperados era menor que cinco.

Em todos os testes estatísticos adotou-se o nível de significância de $p=0,05$ (bicaudal) em relação ao erro alfa.

Resultados

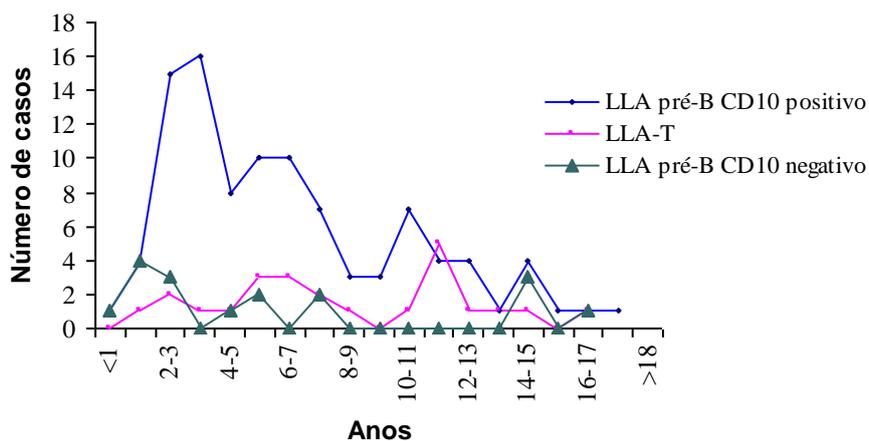
A Tabela 2 mostra a distribuição percentual dos imunofenótipos dos 147 casos de LLA estudados. Em 103 crianças, correspondendo a 70% de todos os casos, o imunofenótipo foi do tipo pré-B CD10⁺. O segundo subtipo mais freqüente correspondeu às LLA de linhagem T (16%), enquanto que o subgrupo das LLA pré-B CD10⁻ representou 12% de todos os casos. Em três casos (2%), os resultados foram inconclusivos.

Tabela 2 - Distribuição dos imunofenótipos e respectivas medianas das idades (meses) em 147 casos de LLA infantil

	Número de casos (n = 147)	Idade em meses (mediana)
Pré-B CD10 ⁺	103 (70%)	70
Pré-B CD10 ⁻	17 (12%)	58
T	24 (16%)	86
Inconclusivo	3 (2%)	

A Figura 1 apresenta a distribuição dos subtipos de LLA em relação à faixa etária. Evidencia-se um pico entre as idades de 2 e 5 anos, correspondendo ao subtipo pré-B CD10 positivo. A tabela 2 mostra a mediana das idades de acordo com o imunofenótipo. Não houve diferença estatisticamente significativa da distribuição das idades por imunofenótipo ($p = 0,14$).

Figura 1 - Distribuição dos imunofenótipos de 144 casos de LLA infantil em relação à faixa etária



A Tabela 3 mostra a distribuição dos imunofenótipos de acordo com o gênero. Foi estatisticamente significativa a maior frequência de crianças do sexo masculino no grupo de LLA-T e a maior frequência de crianças do sexo feminino no grupo de LLA pré-B CD10⁻ (qui-quadrado = 7,44 e $p = 0,024$).

Tabela 3 - Distribuição dos imunofenótipos de 147 casos de LLA infantil conforme o gênero

	Masculino	Feminino	Índice masculino/feminino	Total
LLA pré-B CD10 ⁺	49	54	0,9:1	103
LLA pré-B CD10 ⁻	4	13	0,3:1	17
LLA-T	16	8	2:1	24
Inconclusivo	1	2	0,5:1	3
Total	70	77	0,9:1	147

Quanto à leucometria ao diagnóstico, os casos de LLA pré-B CD10⁺ tiveram uma mediana de 8.500/ μ L, sendo que nos casos de LLA pré-B CD10⁻ e nos de LLA-T, as mesmas foram mais elevadas, com valores de 46.900/ μ L e 81.300/ μ L, respectivamente. A influência desta variável sobre o imunofenótipo mostrou forte associação nos casos de LLA pré-B CD10⁺, em relação às LLA pré-B CD10⁻ ($p = 0,0001$) e às LLA-T ($p < 0,0001$). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os subtipos pré-B CD10⁻ e T ($p = 0,45$).

A Tabela 4 resume os dados dos grupos de pacientes, segundo o estado nutricional e a imunofenotipagem. Não houve associação estatisticamente significativa entre as variáveis.

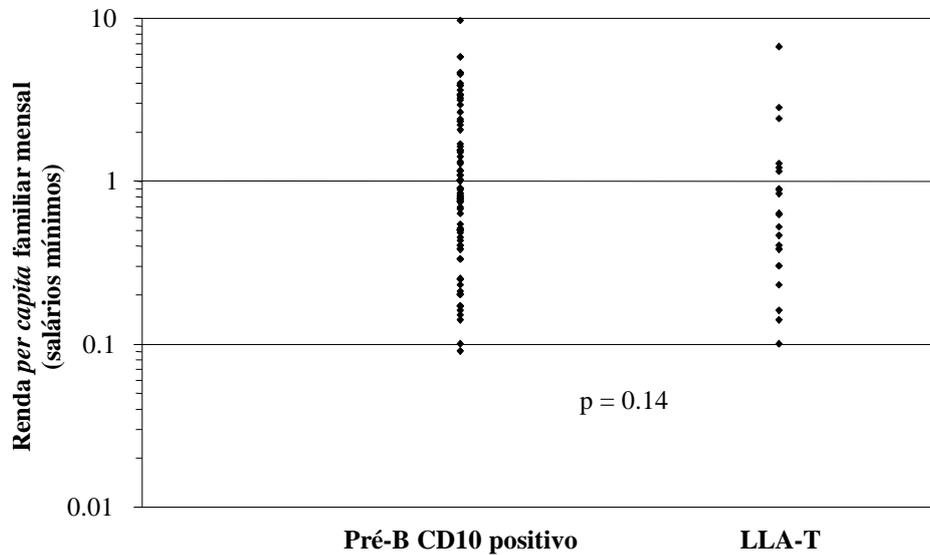
Tabela 4 - Distribuição das variáveis nutricionais, segundo imunofenótipo, em crianças portadoras de LLA

Variáveis nutricionais		Variável imunofenotipagem		
		Pré-B CD10 ⁺ (n = 102)	Pré-B CD10 ⁻ (n = 17)	LLA-T (n = 23)
Peso para a idade	Nutridos	78 (76,4%)	13 (76,5%)	19 (82,6%)
	Desnutridos	24 (23,5%)	4 (23,5%)	4 (17,4%)
Estatura* para a idade	Nutridos	85 (84,1%)	13 (76,5%)	16 (69,6%)
	Desnutridos	16 (15,8%)	4 (23,5%)	7 (30,4%)

* Uma criança pré-B CD10⁺ não teve sua estatura registrada ao diagnóstico (n=101)

A Figura 2 apresenta a distribuição da renda *per capita* familiar mensal de crianças com o fenótipo pré-B CD10⁺ comparado àquelas de fenótipo T, não havendo diferença estatisticamente significativa entre os dois subtipos ($p = 0,14$). Da mesma forma, a comparação entre os fenótipos pré-B CD10⁺ e pré-B CD10⁻ mostrou-se não significante ($p = 0,32$).

Figura 2 - Distribuição da renda *per capita* familiar mensal nos subtipos de LLA pré-B CD10 positivo e LLA-T.



A Tabela 5 mostra as medianas da renda *per capita* familiar mensal, em salários mínimos, do consumo energético diário, em KWh / dia, e da variável valor casa. Como pode ser observado, a comparação entre estas variáveis e os três subtipos de LLA não mostrou diferença estatisticamente significativa.

Tabela 5 - Distribuição dos subtipos de LLA, conforme renda *per capita* familiar mensal (RPC), consumo energético familiar diário (KWh/dia) e variável valor casa

	RPC (salários mínimos)		KWh/dia		Valor casa	
	Mediana	p	Mediana	p	Mediana	p
Pré-B CD10 ⁺	0,83		4,36		1	
x		0,32		0,33		0,64
Pré-B CD10 ⁻	0,57		3,47		1	
Pré-B CD10 ⁺	0,83		4,36		1	
x		0,14		0,88		0,41
	0,57		4,94		1	

Discussão

A incidência relativa de cada subtipo imunológico no presente estudo foi muito semelhante àquela encontrada em países desenvolvidos da Europa e da América do Norte. A frequência do subtipo pré-B CD10 positivo (70%) foi similar àquela descrita na literatura internacional nos países desenvolvidos, com o típico pico de incidência entre os 2 e 5 anos de idade^{3,19-21} e no Brasil, conforme relatado por Rego et al¹¹. Em discordância com alguns países orientais e africanos^{4,7,22} a taxa de prevalência da LLA do subtipo T também foi semelhante a dos países desenvolvidos. Este subtipo ocorreu com maior frequência no sexo masculino^{3, 23-25} e o subtipo pré-B CD10 negativo no sexo feminino²⁶.

A caracterização imunológica incompleta apresentada na presente casuística devido, principalmente, à limitação de recursos financeiros para a aquisição de anticorpos monoclonais, impôs certos ajustes nos critérios de subclassificação das LLA de linhagem B e de linhagem T. No entanto, a impossibilidade de se avaliar a presença da cadeia μ citoplasmática e os estágios de diferenciação dos timócitos nas LLA-T não invalida, na nossa opinião, os resultados aqui apresentados.

Em nosso estudo, 27% das crianças apresentaram leucometria ao diagnóstico acima de $50 \times 10^9/l$, sendo o usual, em países desenvolvidos, uma taxa abaixo de 20%¹⁰. Foi constatada forte associação da hiperleucocitose com os subtipos pré-B CD10 negativo e LLA-T^{21,24,27}. Na Arábia Saudita, 30% de um total de 80 crianças apresentaram leucometria inicial acima de $50 \times 10^9/l$ ²⁸.

Na presente casuística, como esperado, a taxa de prevalência de desnutrição foi mais alta do que a encontrada em países desenvolvidos. Entretanto, não houve associação estatisticamente significativa entre variáveis nutricionais e o imunofenótipo.

O perfil econômico da população aqui estudada é típico dos países subdesenvolvidos, havendo uma grande concentração de famílias com renda *per capita* mensal e consumo energético muito baixos. Este perfil sócio-econômico é muito semelhante ao observado anteriormente pelo mesmo grupo de pesquisadores¹². As condições de moradia, pelo fato de sua avaliação ser mais subjetiva, não se mostraram tão discrepantes quanto as demais variáveis.

Atualmente, na literatura internacional, não há relatos de estudos que avaliaram de forma direta, como no presente estudo, a associação entre o imunofenótipo na LLA infantil e a situação sócio-econômica e a condição nutricional. Alguns estudos^{3,9,11,25,29} sugerem a associação de más condições sócio-econômicas com uma maior incidência de LLA do tipo T a partir da associação deste imunofenótipo com determinados grupos raciais ("negros", "não-brancos",

índios Mapuche), cuja situação sócio-econômica é desfavorável em relação à população caucasiana. O único estudo que relaciona diretamente imunofenótipos com situação sócio-econômica foi o realizado por Ramot & Magrath³⁰, mas o número de casos é muito restrito para conclusões definitivas. Nossas análises indicaram, ao contrário, não haver associação estatisticamente significativa entre as variáveis sócio-econômicas e os três subtipos imunológicos estudados.

Apesar do propósito do presente estudo não ser a avaliação do valor prognóstico da imunofenotipagem na LLA infantil, algumas considerações podem ser feitas. Historicamente, há evidências de que as LLA-T evoluem mais desfavoravelmente que as LLA do tipo comum^{31,32}. Com o advento de esquemas mais agressivos de tratamento, os resultados para a LLA-T têm melhorado, havendo controvérsia atual sobre a influência independente dos imunofenótipos sobre o prognóstico da LLA^{24,27}.

Integrando o esforço de investigação para elucidar as razões pelas quais a situação sócio-econômica precária e a desnutrição constituem fatores desfavoráveis no prognóstico da LLA infantil^{12,13}, os resultados do presente estudo sugerem que esta influência negativa não se explica por diferenças na distribuição dos imunofenótipos, conforme as variáveis econômicas e nutricionais analisadas. Este estudo só se completará, entretanto, com o seguimento mais prolongado dos casos e com uma análise de sobrevida que utilize metodologia de ajuste multivariado.

Concluindo, os resultados da presente investigação, apesar de algumas deficiências no painel de anticorpos monoclonais, impossibilitando uma classificação imunológica mais completa, permitem afirmar que: a) as características imunofenotípicas dos casos de LLA infantil na cidade de Belo Horizonte são similares às encontradas em Ribeirão Preto e em países desenvolvidos; b) não foi observada associação entre o perfil imunofenotípico, o estado nutricional e a situação sócio-econômica das crianças participantes desta pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. Pui CH. Childhood leukemias. *N Engl J Med* 1995;332:1618-30.
2. Chan LC, Pegram SM, Greaves MF. Contribution of immunophenotype to the classification and differential diagnosis of acute leukaemia. *Lancet* 1985;1:475-9.
3. Greaves MF, Colman SM, Beard MEJ, Bradstock K, Cabrera ME, Chen PM et al. Geographical distribution of acute lymphoblastic leukaemia subtypes: second report of the Collaborative Group Study. *Leukemia* 1993;7:27-34.
4. Kamel AM, Ghaleb FM, Assem MM, Hindawy DS, Jaffe ES, Magrath IT. Phenotypic analysis of T-cell acute lymphoblastic leukemia in Egypt. *Leuk Res* 1990;14:601-9.
5. McKinney PA, Alexander FE, Cartwright RA, Scott CS, Staines A. Acute Lymphoblastic Leukaemia in the UK by immunophenotype. *Leukemia* 1993;7:1630-4.
6. Fleming AF. Leukaemias in Africa. *Leukemia* 1993;7(suppl. 2):S138-41.
7. Rajalekshmy KR, Abitha AR, Pramila R, Gnanasagar T, Maitreyan V, Shanta V. Immunophenotyping of acute lymphoblastic leukaemia in Madras, India. *Leuk Res* 1994;18:183-90.
8. Berkowicz M, Toren A, Rosner E, Mandel M, Vonsover A, Biniaminov M, et al. Lymphomatous T-cell leukemia in two arab children. Is there a role for an environmental effect? *Leukemia* 1994;8:1995-8.
9. Cabrera MEC, Labra SG, Ugarte SU, Matutes E, Greaves MF. Inmunofenotipo. Características clínicas y laboratorio de la leucemia linfoblástica aguda en Chile. *Rev Med Chile* 1996;124:293-9.
10. Miller DR, Miller LP. Acute lymphoblastic leukemia in children: an update of clinical, biological, and therapeutic aspects. *Crit Rev Oncol Hematol* 1990;10:131-64.
11. Rego EM, Garcia AG, Viana SR, Falcão RP. Characterization of acute lymphoblastic leukemia subtypes in Brazilian patients. *Leuk Res* 1996;20:349-55.
12. Viana MB, Murao M, Ramos G, Oliveira HM, Carvalho RI, Bastos M et al. Malnutrition as a prognostic factor in lymphoblastic leukaemia: a multivariate analysis. *Arch Dis Childh* 1994;71:304-10.

13. Viana MB, Fernandes RAF, Carvalho RI, Murao M. Low socioeconomic status is a strong independent predictor of relapse in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Int J Cancer* 1998;Suppl 11:56-61.
14. Bene MC, Castoldi G, Knapp W, Ludwig WD, Matutes E, Orfao A et al. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL) : Proposals for the immunological classification of acute leukemias. *Leukemia* 1995;9:1783-6.
15. Fernandes RAF. A condição sócio-econômica como fator prognóstico na recidiva da leucemia linfoblástica da criança (Dissertação de mestrado). Belo Horizonte, Minas Gerais: Universidade Federal de Minas Gerais. 1996.
16. Dibley MJ, Goldsby, JB, Staehling, NW, Trowbridge FL. Development of normalized curves for the international growth reference: historical and technical considerations. *Am J Clin Nutr* 1987;46:736-48.
17. WHO WORKING GROUP. Use and interpretation of anthropometric indicators of nutritional status. *Bulletin of the World Health Organization* 1986;64:929-41.
18. Monteiro CA. Critérios antropométricos no diagnóstico da desnutrição em programas de assistência à criança. *Revista de Saúde Pública (São Paulo)* 1984;18:209-17.
19. Garand R, Bene MC, Gardais J, Leglise MC, Lecalvez G, Bernier M et al. Incidence, clinical and laboratory features, and prognostic significance of immunophenotypic subgroups in acute lymphoblastic leukemia: The GEIL experience. *Recent Results Cancer Res* 1993;131:283-95.
20. Ludwig WD, Raghavachar A, Thiel E. Immunophenotypic classification of acute lymphoblastic leukaemia. *Baillière's Clinical Haematology* 1994;7:235-62.
21. Pui CH, Rivera GK, Hancock ML, Raimondi SC, Sandlund JT, Mahmoud HH et al. Clinical significance of CD10 expression in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 1993;7:35-40.
22. Ramot B, Ben-Bassat I, Many A, Kende G, Neuman Y, Brok-Simoni F et al. Acute lymphoblastic leukemia subtypes in Israel: The Sheba Medical Center experience. *Leuk Res* 1982-b;6:669-73.

23. Pui CH, Boyett JM, Relling MV, Harrison PL, Rivera GK, Behm FG et al. Sex differences in prognosis for children with acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 1999;17:818-24.
24. Pullen J, Shuster JJ, Link M, Borowitz M, Amylon M, Carroll AJ et al. Significance of commonly used prognostic factors differs for children with T cell acute lymphoblastic leukemia (ALL), as compared to those with B-precursor ALL. A Pediatric Oncology Group (POG) study. *Leukemia* 1999;13:1696-707.
25. Greaves MF, Pegram SM, Chan LC. Collaborative group study of the epidemiology of acute lymphoblastic leukaemia subtypes: background and first report. *Leukemia Res* 1985;9:715-33.
26. Lenormand B, Bene MC, Lesesve JF, Bastard C, Tilly H, Lefranc MP et al. PreB1 (CD10⁺) acute lymphoblastic leukemia: immunophenotypic and genomic characteristics, clinical features and outcome in 38 adults and 26 children. *Leu Lymphoma* 1998; 28:329-42.
27. Hann IM, Richards SM, Eden OB, Hill FGH. Analysis of the immunophenotype of children treated on the Medical Research Council United Kingdom Acute Lymphoblastic Leukaemia Trial XI (MRC UKALLXI). *Leukemia* 1998;12:1249-55.
28. Aur RJA, Hanna M, Sabbah R, Sackey K, Willoughby S, Atwood J. Effective prevention of central nervous system leukemia with intrathecal methotrexate, cytosine arabinoside, and hydrocortisone in childhood acute lymphocytic leukemia. *Haematology and blood transfusion* 1990;33:504-10.
29. Kamel AM, Assem MM, Jaffe ES, Magrath I, Enein MIA, Hindawy DS. Immunological phenotypic pattern of acute lymphoblastic leukaemia in Egypt. *Leuk Res* 1989;7:519-25.
30. Ramot B, Magrath I. Hypothesis: the environment is a major determinant of the immunological sub-type of lymphoma and acute lymphoblastic leukaemia in children. *Br J Haematol* 1982-a;52:183-9.
31. Greaves MF, Janossy G, Peto J, Kay H. Immunologically defined subclasses of acute lymphoblastic leukaemia in children: their relationship to presentation features and prognosis. *Br J Haematol* 1981;48:179-97.
32. Pui CH, Behm FG, Singh B, Schell MJ, Williams DL, Rivera GK et al. Heterogeneity of presenting features and their relation to treatment outcome in 120 children with T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1990;75:174-179.

II. CARACTERIZAÇÃO DA MORADIA

II.1. NÚMERO DE COMODOS/FUNÇÃO

TOTAL DE COMODOS	Quantidade	Sala	Quarto	Banheiro	Cozinha	Copa	Dep. E.	Garagem
	Por Função							

II.2. DIMENSÕES E PADRÃO DA MORADIA (se possível, ver IPTU)

Terreno	Construção	Paredes:	Total do Imóvel: lote construção
área:	área:	Pisos:	tipo/padrão:
valor:	valor:	Cobertura:	valor:

fonte dos dados:.....

II.3. SERVIÇOS DE SANEAMENTO

ÁGUA			ESGOTO			ENERGIA
origem	rede/percurso	armazenamento	inst/doméstica	rede/percurso	destinação	

II.4. COMPLEMENTOS

P/ CASAS		Pomar:	Galinheiro:	Chiqueiro:	Horta:
P/ APTO.	Elevador:	Salão de Festas:	Play Ground:		

II.5. LOCALIZAÇÃO

Cidade	Distância da capital		Bairro	Distância do centro	
	Km:	tempo de ônibus:		Km:	tempo de ônibus:

II.6. SITUAÇÃO DA OCUPAÇÃO DA MORADIA

Alugada valor aluguel	Própria/Financ. valor prestação	Própria/Já paga data aquisição	Própria/herdada de quem	Cedida por quem	Vila/favela	Outra situação Qual ?

III. ACESSO A CONSUMO

III.1. CONSUMO DE ENERGIA (pela conta de luz)

KW/mês:	KW/média:	Luz puxada?	No de famílias/conta:
---------	-----------	-------------	-----------------------

III.2. TRANSPORTE USADO PELA FAMÍLIA (no geral)

Locomoção	ônibus	a pé	taxi	próprio	outros	distância	tempo gasto	vale transporte
Crianças p/ escola								
Adultos p/ trabalho								
P/ as compras								
P/ ir ao hospital								

III.3. EQUIPAMENTOS DA CASA E VEÍCULOS DA FAMÍLIA (quantidade)

Fogão:	Rádio:	Som:	Telefone:	Secret. eletrônica:
Ferro Elétrico:	Liquidificador:	Vídeo-cassete:	Freezer:	Automóvel:
Geladeira:	Televisão:	Gravador:	Micro-ondas:	

III.4. SERVIÇOS DE SAÚDE (S = sempre, M = maioria das vezes, V = às vezes)

Tipos	SUS	Convênio	Particular
Consultas médicas			
Exames laboratoriais			
Internações			
Dentistas			

OBS.

III.5. EDUCAÇÃO (quantos estudam atualmente)

Escola pública:	Escola privada:	Outros cursos:
-----------------	-----------------	----------------

IV. ALIMENTAÇÃO

IV.1. CONSUMO DE ALIMENTOS

Tipo de alimento	Quantid / freq. consumo	Origem	Nº pessoas que consomem	Tem cesta básica?
Leite				
Carne				
Frutas				
Verduras				

OBS.

V. COMPORTAMENTO

V.1. ACESSO A INFORMAÇÃO

Veículo Comunicação	Quem ouve ou lê mais?	Qual?	Frequência	Tipo programa/sessão preferida
Rádio				
Televisão				
Jornal				
Revista				

OBS.:

V.2. PROGRAMAÇÕES CULTURAIS E DE LAZER

(cinema, shows, teatro, jogos esportivos, parques, clubes, visitar/receber, igreja, passear, etc)

Quem faz?	O que faz?	Frequência

OBS.:

VI. TOMADA DE DECISÕES

VI.1. QUANDO VOCÊ TEM PROBLEMAS, QUEM AJUDA MAIS? (hierarquizar)

Quem ajuda?	Cônjuge	Parente	Amigo	Vizinho	Patrão	Médico	Padre	Outros
Problemas								
De família								
De dinheiro								
De saúde								

OBS.:

VI.2. De que maneira foi feito o diagnóstico do paciente e de como foi feita a indicação para o tratamento atual?

.....
.....
.....
.....

VI.3. É difícil conseguir que a criança se alimente?

.....
.....
.....
.....

VI.4. Qual é sua opinião sobre causas que provocam a piora e a melhora do paciente?

.....
.....
.....
.....

VI.5. O que causa mais problemas para a família na doença e no tratamento do paciente?

.....
.....
.....
.....

VI.6. Quando perguntam qual a doença da criança, como você explica?

.....
.....
.....
.....

ANEXO B - Resultados das variáveis estabelecidas no estudo de 147 crianças portadoras de LLA

ID	SEXO	IDADE	INST	IFN	LEUI	ZPESO	ZEST	RPC	KWh/dia	RPCxKw/d	Valor casa
1	2	30	HC	1	30000	-1,57	-0,56	*	*	*	*
2	2	34	FR	2	46900	0,66	0,01	1,15	4,46	5,14	2
3	2	150	HC	1	107200	-1,9	-2,61	*	*	*	*
4	1	66	FR	3	73400	-2,24	-2,56	0,46	0,00	0,00	0
5	2	141	FR	1	2600	-1,73	-1,29	1,54	1,32	2,02	1
6	1	41	HC	1	2300	-0,29	-0,35	0,23	4,53	1,03	1
7	1	47	HC	1	1500	-1,56	-1,02	0,21	0,00	0,00	0
8	1	139	HC	1	3200	1,14	-0,27	0,74	6,74	4,97	2
9	1	32	HC	1	5300	1,08	0,84	*	4,99	*	2
10	2	19	HC	1	4000	-1,44	-0,29	1,15	4,33	4,99	2
11	2	67	HC	2	6900	0,65	0,84	0,96	6,63	6,37	1
12	1	49	FR	1	17700	-0,45	-0,13	0,20	3,02	0,60	0
13	2	80	HC	1	3800	2,72	1,21	0,79	2,57	2,04	0
14	2	69	HC	1	5500	0,12	-0,13	*	*	*	*
15	2	23	FR	4	365000	0,22	1,51	5,38	10,25	55,19	2
16	1	86	HC	1	5100	-1,35	-0,5	0,50	2,67	1,33	1
17	1	176	FR	1	15300	0,18	0,82	4,50	13,28	59,74	5
18	2	27	HC	1	6700	-0,26	-0,61	0,67	4,30	2,86	2
19	1	39	HC	1	14700	-0,86	-0,65	0,75	4,60	3,46	1
20	2	58	FR	1	12400	-0,73	-0,07	1,01	6,60	6,68	2
21	1	63	FR	3	139600	-0,68	-2,04	*	*	*	*
22	2	175	FR	2	38000	-1,83	-0,94	1,78	17,32	30,79	2
23	1	34	FR	3	280000	-0,17	0,68	0,30	3,02	0,90	1
24	2	110	FR	1	113800	-1,09	0,57	0,20	6,03	1,21	1
25	2	78	HC	1	800	2,53	0,46	2,92	14,98	43,80	2
26	1	999	FR	3	668000	9,99	9,99	*	*	*	*
27	1	187	HC	1	1400	-2,27	-0,64	1,08	4,04	4,35	2
28	1	143	HC	3	1400	-0,25	-1,29	1,20	4,37	5,24	2
29	2	124	FR	1	22300	0,23	-0,5	3,85	*	*	2
30	1	118	FR	1	8100	-0,32	0,4	3,59	16,15	57,96	2
31	2	90	HC	1	2000	1,53	0,26	5,75	7,61	43,75	2
32	1	92	FR	1	27200	1,29	1,1	0,88	7,28	6,37	2
33	2	70	FR	1	120000	1,52	1,53	2,05	5,48	11,23	2
34	1	139	HC	3	42500	-1,28	-0,13	0,40	7,68	3,07	2

ID	SEXO	IDADE	INST	IFN	LEUI	ZPESO	ZEST	RPC	KWh/dia	RPCxKw/d	Valor casa
35	1	48	HC	1	13600	-0,84	0,48	1,00	2,61	2,61	1
36	2	123	HC	3	26700	1,65	-0,13	2,82	7,53	21,24	2
37	2	17	HC	1	47100	-0,47	-0,96	0,50	5,55	2,77	1
38	2	106	HC	1	82900	0,1	-0,19	0,51	3,53	1,80	2
39	2	27	HC	1	999999	0,84	1,47	0,69	4,48	3,11	1
40	2	84	HC	1	13200	-1,29	-0,84	2,20	8,89	19,55	1
41	2	71	HC	1	404000	2,17	2,03	4,60	4,09	18,82	2
42	2	82	HC	1	1400	-2	-1,41	0,20	4,36	0,87	0
43	2	70	HC	1	24300	-0,27	0,91	3,13	5,71	17,84	1
44	1	65	HC	1	2600	0,96	1,57	0,10	0,00	0,00	0
45	1	58	HC	2	64600	-0,89	-1,28	0,50	5,40	2,70	1
46	2	58	HC	1	16900	-1,79	-0,99	0,80	3,85	3,08	1
47	2	130	HC	1	2200	-1,84	-2,11	0,20	4,23	0,85	0
48	1	93	HC	3	9100	-1,23	-1,07	0,10	0,00	0,00	0
49	2	102	HC	1	99500	-1,43	-2,91	0,90	3,60	3,24	1
50	2	210	HC	1	53300	0,1	-0,23	3,23	12,14	39,22	2
51	1	101	HC	1	2700	1,08	1,07	1,68	16,54	27,71	2
52	2	145	HC	3	82400	-1,28	-0,45	2,40	11,88	28,51	2
53	1	28	HC	1	28300	-0,64	-1,72	0,17	4,93	0,82	2
54	2	27	HC	1	9500	-0,18	1,47	1,50	2,86	4,28	0
55	2	14	FR	2	133000	-0,21	2,87	3,08	3,96	12,17	2
56	2	80	HC	1	2200	1,56	1,02	0,25	0,00	0,00	0
57	2	6	HC	2	325000	-1,39	-0,73	0,17	0,00	0,00	0
58	2	21	HC	3	349000	-1,14	-2,45	0,88	5,78	5,05	1
59	2	85	HC	2	205000	1,51	1,89	0,33	0,00	0,00	2
60	1	153	FR	4	6600	9,99	9,99	*	*	*	*
61	1	164	FR	1	50200	-0,49	0,59	1,27	3,93	4,98	1
62	1	149	HC	1	4300	-0,62	-1,08	1,00	5,80	5,80	2
63	1	26	FR	1	109000	0,33	0,83	0,90	6,48	5,83	2
64	2	89	HC	1	8700	-2,08	-1,05	5,75	11,88	68,33	2
65	1	122	HC	1	29700	-0,01	-0,39	0,33	1,82	0,60	1
66	2	29	HC	1	4600	-2,38	-0,48	0,16	0,00	0,00	0
67	1	32	HC	1	27500	0,06	0,15	0,14	0,00	0,00	0
68	1	124	HC	1	53800	-1,1	-1,01	0,09	0,00	0,00	0
69	2	96	HC	1	1800	0,31	-1,06	0,75	3,88	2,91	1

ID	SEXO	IDADE	INST	IFN	LEUI	ZPESO	ZEST	RPC	KWh/dia	RPCxKw/d	Valor casa
70	2	38	HC	1	1300	0,08	0,72	0,90	2,64	2,38	0
71	2	172	HC	1	10900	-0,5	-1,34	0,50	2,83	1,41	1
72	2	17	HC	2	10600	-0,55	0,03	0,63	11,36	7,10	2
73	2	154	HC	1	27100	-2,25	-2,44	0,15	0,00	0,00	0
74	1	77	HC	1	1800	-0,44	-0,1	1,00	2,71	2,71	0
75	1	8	HC	1	6900	0,71	0,77	0,38	4,22	1,58	0
76	2	177	HC	2	1300	-1,36	-1,42	0,57	1,78	1,01	1
77	1	14	HC	1	1600	-0,05	-1,56	0,50	4,49	2,24	2
78	2	143	HC	3	53500	-1,45	-1,24	0,30	0,00	0,00	0
79	1	54	HC	1	21700	0,64	-0,8	0,50	4,49	2,25	2
80	1	180	FR	1	5200	-2,2	-2,86	0,82	4,20	3,42	2
81	1	152	HC	1	24900	-1,44	-0,58	0,75	1,41	1,05	0
82	1	33	HC	1	5600	-0,32	-0,47	1,00	6,29	6,29	1
83	2	27	HC	1	11800	-0,34	0,58	1,00	5,39	5,39	1
84	2	16	HC	2	46200	-1,27	-2,29	0,33	1,25	0,42	0
85	2	40	HC	1	42300	-1,77	-1,73	0,50	3,34	1,67	1
86	1	160	HC	3	289000	0,8	0,5	1,14	6,55	7,48	1
87	1	30	HC	1	800	-1,09	-0,69	0,25	0,00	0,00	1
88	2	29	HC	1	31500	1,01	1,25	1,00	3,50	3,50	2
89	2	89	FR	2	365000	0,93	-0,18	6,63	6,24	41,40	2
90	1	160	FR	1	1800	-1,51	-0,8	0,84	*	*	2
91	2	172	HC	1	187000	-0,81	0,15	0,43	2,33	1,01	0
92	1	39	FR	1	13800	-1,28	-0,26	4,61	10,13	46,63	2
93	2	67	HC	1	6400	-1,15	-0,87	0,25	0,00	0,00	0
94	2	114	FR	1	1600	2,45	0,56	3,97	11,74	46,66	2
95	1	143	FR	3	61300	0,32	1,33	0,38	0,00	0,00	0
96	2	178	FR	2	275000	-1,13	-1,43	0,20	*	*	2
97	1	75	FR	3	10100	-0,8	0,09	0,16	0,82	0,13	0
98	2	60	HC	3	80200	-0,6	-1,67	0,62	11,18	6,87	2
99	2	37	FR	1	2900	0,62	0,91	3,38	10,52	35,59	2
100	2	89	FR	4	5200	-0,66	0	0,48	2,78	1,35	0
101	1	143	HC	1	1000	0,28	0,46	2,38	2,09	4,97	1
102	1	89	FR	1	20000	1,15	1,36	0,63	5,57	3,51	2
103	2	65	FR	1	1500	-0,93	-0,22	3,37	5,00	16,84	2

ID	SEXO	IDADE	INST	IFN	LEUI	ZPESO	ZEST	RPC	KWh/dia	RPCxKw/d	Valor casa
104	1	77	HC	3	92200	-1,34	-1,91	0,63	7,08	4,42	1
105	1	223	HC	1	6100	9,99	9,99	1,40	7,44	10,44	2
106	2	204	HC	1	2600	0,27	0,46	0,17	3,38	0,56	2
107	1	42	FR	1	2800	-0,55	2,7	0,45	*	*	1
108	2	135	HC	1	2200	0,69	-1,22	0,77	3,45	2,65	2
109	2	92	HC	1	8600	-2,08	-1,62	0,33	4,89	1,63	1
110	1	40	HC	1	2600	0,62	0,57	1,08	2,43	2,63	2
111	1	130	HC	1	2600	-0,48	-0,34	1,31	5,75	7,52	1
112	2	86	HC	3	264000	-0,45	0,62	0,14	*	*	1
113	2	73	HC	1	10300	1,86	0,78	0,33	2,04	0,67	2
114	1	67	FR	3	60000	1,62	1,24	6,67	11,38	75,88	2
115	1	184	HC	3	480800	-0,6	0,17	0,89	7,53	6,68	0
116	2	80	FR	3	33800	0,78	1,02	0,38	3,78	1,45	1
117	2	97	HC	3	1000	-1,42	-1,62	0,23	0,95	0,22	1
118	1	32	FR	1	11800	-0,61	-1,65	0,77	4,51	3,47	1
119	1	32	FR	2	27000	0,06	1,12	1,06	2,50	2,64	2
120	2	20	HC	1	56700	-1,41	-1,55	0,17	0,00	0,00	0
121	1	196	HC	2	96900	-1,22	-0,96	0,50	2,97	1,48	1
122	1	39	HC	1	8400	-0,86	0,75	9,62	13,98	134,42	2
123	1	40	HC	1	36100	1,15	0,32	2,31	8,63	19,92	2
124	2	81	HC	1	5100	1,8	1,85	3,85	4,16	15,98	1
125	1	56	FR	1	17000	1,23	1,85	2,31	6,16	14,21	2
126	1	54	FR	1	28400	-0,09	0,78	3,85	6,48	24,93	2
127	1	35	HC	1	22300	-0,92	-0,72	0,48	2,81	1,35	1
128	2	41	FR	1	60000	0,51	1,22	1,54	13,31	20,47	2
129	2	131	HC	1	4700	0,2	0,47	1,54	9,62	14,79	1
130	1	25	HC	2	16000	-3,11	-1,67	0,00	0,00	0,00	1
131	1	195	HC	1	2000	-2,03	-1,49	1,15	2,84	3,28	1
132	1	42	HC	1	16300	-1,35	-1,01	0,77	8,04	6,18	1
133	1	200	HC	3	87000	-0,69	0,06	0,83	5,13	4,27	2
134	1	69	FR	1	7400	-0,08	-0,55	1,62	5,38	8,68	1
135	1	26	HC	3	390000	-0,61	-0,38	0,52	4,94	2,58	2

ID	SEXO	IDADE	INST	IFN	LEUI	ZPESO	ZEST	RPC	KWh/dia	RPCxKw/d	Valor casa
136	1	127	FR	1	2600	-0,89	-0,9	1,15	2,82	3,25	2
137	2	58	HC	1	1300	-0,99	0,51	3,35	6,55	21,92	1
138	2	18	HC	2	272000	0,6	-0,63	0,35	1,66	0,59	1
139	2	38	HC	1	88100	0,52	-0,08	0,40	0,40	0,16	1
140	2	69	HC	1	24300	-1,4	9,99	0,38	4,80	1,84	1
141	2	71	HC	2	19600	-0,61	-1,05	1,17	6,88	8,02	1
142	2	42	FR	1	7400	-0,67	-2,04	*	4,18	*	1
143	1	37	HC	3	132400	1,47	-0,16	1,28	4,21	5,39	1
144	1	70	HC	1	6100	-0,15	-0,44	0,54	15,08	8,11	1
145	2	73	HC	1	17800	0,09	-0,43	0,50	2,67	1,33	2
146	1	84	HC	1	25300	0,59	-0,53	0,40	6,02	2,41	0
147	2	50	HC	1	6100	-0,14	0,42	2,64	7,16	18,88	2

ID: número de identificação; SEXO: sexo; IDADE: idade em meses; INST: instituição na qual a criança foi admitida para tratamento; IFN: imunofenótipo; LEUI: leucometria ao diagnóstico; ZPESO: escore z do peso para idade e sexo ao diagnóstico; ZEST: escore z da estatura para idade e sexo ao diagnóstico; RPC: renda *per capita* familiar mensal; KWh/dia: média de consumo energético familiar diário; RPC x KWh/d: produto de RPC por KWh/dia; Valor casa: padrão de moradia (0 = padrão ruim; 1 = padrão intermediário; 2 = padrão melhor).