

CAMILA SILVA PERES CANCELA

Incidência e fatores de risco para recidiva
no sistema nervoso central em crianças e
adolescentes com leucemia linfóide aguda:
um estudo retrospectivo (março/2001 a
agosto/2009) no Serviço de Hematologia
do Hospital das Clínicas da UFMG

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

BELO HORIZONTE

2010

CAMILA SILVA PERES CANCELA

Incidência e fatores de risco para recidiva no sistema nervoso central em crianças e adolescentes com leucemia linfóide aguda: um estudo retrospectivo (março/2001 a agosto/2009) no Serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da UFMG

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Área de concentração: Saúde da criança e do adolescente

Orientadora: Prof^a. Benigna Maria de Oliveira

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

BELO HORIZONTE

2010

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Reitor: Prof. Clélio Campolina Diniz

Vice-Reitora: Prof^a. Rocksane de Carvalho Norton

Pró-Reitora de Pós-Graduação: Prof. Ricardo Santiago Gomez

Pró-Reitor de Pesquisa: Prof. Renato de Lima dos Santos

FACULDADE DE MEDICINA

Diretor : Prof. Francisco José Penna

Vice-Diretor : Prof. Tarcizo Afonso Nunes

Coordenador do Centro de Pós-Graduação: Prof. Manoel Otávio da Costa Rocha

Sub-coordenador do Centro de Pós-Graduação: Prof^a Tereza Cristina de Abreu Ferrari

Chefe do Departamento de Pediatria: Prof^a. Maria Aparecida Martins

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE -
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO SAÚDE DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE**

Coordenador: Prof. Joel Alves Lamounier

Sub-coordenadora: Prof^a. Ana Cristina Simões e Silva

Colegiado:

Prof^a. Ivani Novato Silva

Prof. Jorge Andrade Pinto

Prof^a. Lúcia Maria Horta Figueiredo Goulart

Prof^a. Maria Cândida Ferrarez Bouzada Viana

Prof. Marco Antônio Duarte

Prof^a. Regina Lunardi Rocha

Gustavo Sena Sousa (Representante Discente)

*“Lutam melhor os que têm
belos sonhos”*

Ernesto “Che” Guevara

**Para meus pais e para o
Antonio, os maiores
inspiradores e apoiadores dos
meus sonhos.**

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Professora Benigna Maria de Oliveira, pelo apoio, confiança e ensinamentos em todas as etapas do trabalho e de minha formação como hematologista. Obrigada pelo grande exemplo profissional e acadêmico.

Ao nosso querido mestre da Hematologia Pediátrica, Professor Marcos Borato Viana, pela contribuição indispensável na dissertação e por manter sempre o entusiasmo contagiante pela medicina e a pesquisa, mesmo diante das dificuldades que conhecemos, no Brasil.

À Dra. Mitiko Murao, pela paciência e dedicação no ensino da hematologia desde a época da residência médica.

Aos meus pais, meus maiores admiradores, pela presença constante em minha vida e por acreditarem em mim sempre, muitas vezes mais do que eu mesma. Esta vitória é para vocês! Ao meu irmão, Ricardo, e à minha avó, Clara, que tanto me divertem e dão um colorido especial em minha vida.

Ao Antonio, por ser meu grande companheiro na vida e na profissão, compartilhando comigo suas alegrias e tristezas. Obrigada por ser você um dos responsáveis pela escolha da atividade acadêmica em minha vida. Você também é um grande exemplo para mim. À Concessa, pessoa que admiro desde que conheci, pelo exemplo de sucesso como mulher pesquisadora.

Ao meu “tio Chicão”, Professor Francisco José Penna, pela inspiração e incentivo desde a minha escolha inicial de ser médica, pediatra, pesquisadora e professora.

Aos colegas da hematologia pediátrica, pelo carinho e disponibilidade em me ajudar. Aos colegas do Ambulatório Borges da Costa e do Laboratório de Hematologia, por tornarem os momentos de trabalho mais agradáveis com sua companhia.

E aos pacientes, a principal razão deste trabalho, por me darem sempre a certeza de que fiz a escolha certa!

RESUMO

OBJETIVOS: Caracterizar o tipo de infiltração líquórica e a evolução de crianças com leucemia linfóide aguda (LLA) diagnosticadas no Serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da UFMG. Classificar as crianças com LLA de acordo com o grau de infiltração em Sistema Nervoso Central (SNC) e de acordo com a ocorrência, ou não, de sangramento traumático durante a punção líquórica (PL). Avaliar a incidência e identificar os fatores de risco para o acometimento do SNC ao diagnóstico e às recidivas.

PACIENTES E MÉTODOS: Foram estudados, retrospectivamente, os pacientes com idade inferior a 18 anos, diagnosticados com LLA no período de março de 2001 a agosto de 2009, submetidos ao protocolo de tratamento do Grupo Cooperativo Brasileiro para Tratamento da Leucemia Infantil – GBTLI LLA-99. Os dados clínicos e laboratoriais foram coletados por meio da revisão dos prontuários.

RESULTADOS: A população estudada consistiu de 199 pacientes. O tempo de seguimento variou de dois dias a 8,7 anos (mediana de 3,3 anos). Da população estudada, 57% são meninos (114/199). A idade ao diagnóstico variou de dois meses a 16,8 anos (mediana de 5,59 anos). Os dados sobre os resultados do primeiro LCR foram encontrados em 194 pacientes. A distribuição dos pacientes conforme a classificação do LCR ao diagnóstico foi: SNC1 (punção lombar (PL) não traumática, ausência de blastos) - 61%, SNC2 (PL não traumática, contagem de leucócitos inferior a 5/ μ l, presença de blastos) - 1%, SNC3 (PL não traumática, contagem de leucócitos superior ou igual a 5/ μ l, presença de blastos) - 0, PLT *negativa* (PL traumática, ausência de blastos) - 37% e PLT *positiva* (PL traumática, presença de blastos) - 1%. Em 155 pacientes foram coletados dados sobre o local onde a primeira punção foi realizada. O procedimento foi realizado na enfermaria, sem sedação, em 43% dos pacientes (67/155) e, no bloco cirúrgico, sob sedação profunda, em 57% (88/155). Foi avaliada a possível associação entre “punção lombar traumática” e as seguintes variáveis: idade, contagem de leucócitos ao diagnóstico, local onde o procedimento foi realizado, e contagem de plaquetas prévia ao procedimento. Foi observada associação significativa apenas entre idade e PL traumática. A mediana de idade foi de 3,3 anos para os pacientes que apresentaram punção traumática e de 6,1 anos, para aqueles que não a apresentaram ($p=0,0004$). A probabilidade estimada de Sobrevida Global aos 5 anos para todo o grupo foi de 69,5% ($\pm 3,6\%$). A probabilidade estimada de Sobrevida Livre de Eventos aos 5 anos para todo o grupo foi de 58,8% ($\pm 4,0\%$), sendo 76,2% ($\pm 5,4\%$) e 46,6% ($\pm 5,3\%$) para os grupos de baixo e alto risco para recaída, respectivamente ($p=0,00002$). A recidiva em SNC ocorreu em 18 (9%) dos 199 pacientes, em 11 dos quais de forma isolada. A incidência acumulada de recidiva em SNC (isolada ou combinada) para todo o grupo foi 10,9% em 8 anos. A incidência acumulada de recidiva em SNC foi avaliada de acordo com o imunofenótipo ao diagnóstico (B *versus* T), a contagem de leucócitos ao diagnóstico, o intervalo entre o diagnóstico da LLA e a primeira PL, e a presença ou não de trauma na primeira PL. A comparação entre as crianças com leucemia ao diagnóstico acima ou abaixo de 50.000/ mm^3 revelou uma diferença muito

acentuada, sendo a incidência acumulada bem mais elevada nas crianças com hiperleucocitose. As outras comparações não mostraram diferença na incidência de recidiva em SNC entre os grupos.

CONCLUSÕES: A incidência acumulada de recidiva no SNC (isolada ou combinada) no presente estudo foi superior à observada em estudos internacionais. A SLE aos cinco anos foi inferior aos resultados relatados na literatura. Leucometria inicial superior ou igual a 50.000/mm³, classificação em grupo de alto risco para recidiva, e atraso na realização da primeira punção lombar (acima de sete dias) foram fatores de mau prognóstico em relação à SLE. Foi observada, também, alta incidência de punção lombar traumática ao diagnóstico, sendo a idade o único fator associado com trauma na punção. A contagem de leucócitos ao diagnóstico acima de 50.000/mm³ foi o único fator associado a uma maior incidência de recidiva em SNC.

Palavras chave: leucemia linfóide aguda, diagnóstico, terapia, líquido cefalorraquidiano

ABSTRACT

OBJECTIVES: To describe the status of central nervous system (CNS) infiltration and the outcome of children with acute lymphoblastic leukemia (ALL) diagnosed at the Hematology Service, Hospital das Clínicas, Federal University of Minas Gerais (UFMG), Brazil. To classify the children with ALL according to the degree of CNS involvement and the occurrence, or not, of traumatic bleeding due to lumbar puncture (LP). To evaluate the incidence and identify the risk factors for CNS infiltration at diagnosis and at relapse.

PATIENTS AND METHODS: Patients less than 18 years old, with a diagnosis of ALL between March 2001 and August 2009, treated according to the *Grupo Cooperativo Brasileiro para Tratamento da Leucemia Infantil – GBTLI LLA-99*, were enrolled in this retrospective study. Clinical and laboratory data were obtained via chart review.

RESULTS: The study population consisted of 199 patients. The follow up period ranged from two days to 8.7 years (median: 3.3 years). Boys comprised 57% of the studied population (114 out of 199). Median age at diagnosis ranged between two months and 16.8 years (median: 5.59 years). Data on first cerebrospinal fluid results were obtained in 194 patients. Patient distribution with regard to CNS involvement at diagnosis was as follows: CNS1 (atraumatic LP; absence of blasts) - 61%; CNS2 (atraumatic LP; leucocyte count less than 5/ μ l; presence of blasts) - 1%; CNS3 (atraumatic LP; leucocyte count equal or superior to 5/ μ l; presence of blasts) - 0; *negative* TLP (traumatic LP; absence of blasts) - 37%; and *positive* TLP (traumatic LP; presence of blasts) - 1%. Data on place where first LP was performed were collected in 155 patients. In 43% of patients (67 out of 155), LP was performed in the hospital ward, without anesthesia, and, in 57% (88 out of 155), in the operating room, under deep sedation. A possible association between “traumatic lumbar puncture” and the following variables was evaluated: age, leucocyte count at diagnosis, place where LP was first performed, and platelet count before the procedure. The only significant association observed was that between age of the patient and traumatic lumbar puncture. Median age was 3.3 years for the patients who presented traumatic lumbar puncture and 6.1 years, for those who did not ($p=0.0004$). The estimated probability of Overall Survival at 5 years for the whole group was 69.5% ($\pm 3.6\%$). The estimated probability of Event Free Survival (EFS) at 5 years for the whole group was 58.8% ($\pm 4.0\%$). An estimated EFS of 76.2% ($\pm 5.4\%$) and of 46.6% ($\pm 5.3\%$) were observed in the low-risk and the high-risk (for relapse) groups, respectively ($p=0.00002$). CNS relapse occurred in 18 (9%) of the 199 patients, 11 of whom had isolated relapses. The cumulative incidence of CNS (isolated or combined) relapse for the whole group was 10.9% at 8 years. The cumulative incidence of CNS relapse was evaluated according to the immunophenotype (B *versus* T) at diagnosis, the leucocyte count at diagnosis, the interval between diagnosis of ALL and first LP, and the presence or absence of trauma at first LP. There was a significant difference between the children with an absolute leucocyte count of more or of less than 50.000/ mm^3 : The cumulative incidence of CNS relapse

was much greater in those with hiperleucocytosis. The other comparisons between the groups did not show any significant difference as to the occurrence of CNS relapse.

CONCLUSIONS: The cumulative incidence of (isolated or combined) CNS relapse in the present study was superior to that of international studies. The EFS at five years was inferior to the results reported in the literature. Initial leucocyte count greater than or equal to $50.000/\text{mm}^3$, allocation to a high risk group, and delay (over 7 days) in first lumbar puncture were poor prognostic factors regarding EFS. A high incidence of traumatic lumbar puncture at diagnosis was also observed. Age was the only variable associated with trauma in this procedure. A leucocyte count at diagnosis of more than $50.000/\text{mm}^3$ was the only factor associated with a greater incidence of CNS relapse.

Key words: acute lymphoblastic leukemia, diagnosis, drug therapy, radiotherapy, cerebrospinal fluid

ÍNDICE DE ILUSTRAÇÕES

Figura1: Distribuição dos 199 pacientes com LLA por faixa etária.....	40
Figura2: Distribuição dos 198 pacientes com LLA de acordo com a leucometria ao diagnóstico.....	41
Figura3: Distribuição dos 194 pacientes com LLA de acordo com a imunofenotipagem ao diagnóstico.....	41
Figura4: Probabilidade de sobrevida global para 199 crianças tratadas pelo GBTLI-LLA99....	46
Figura5: Probabilidade de sobrevida livre de eventos para 199 crianças tratadas pelo GBTLI-LLA99.....	46
Figura6: Probabilidade de sobrevida livre de eventos para 199 crianças tratadas pelo GBTLI-LLA99, de acordo com grupo de risco para recaída.....	47
Figura7: Probabilidade acumulada de recidiva isolada ou combinada no SNC.....	51
Figura8: Probabilidade acumulada de recidiva isolada ou combinada no SNC, de acordo com o imunofenótipo T (pontos em vermelho) ou B (losangos em azul).....	52
Figura9: Probabilidade acumulada de recidiva isolada ou combinada no SNC, de acordo com o tipo da punção lombar diagnóstica, traumática (em vermelho) ou atraumática (em azul).....	52
Figura10: Probabilidade acumulada de recidiva isolada ou combinada no SNC, de acordo com o intervalo entre o diagnóstico da LLA e a realização da primeira PL, realizada até 7 dias do diagnóstico (em azul) ou 8 ou mais dias do diagnóstico (em vermelho).....	53
Figura11: Probabilidade acumulada de recidiva isolada ou combinada no SNC, de acordo com a leucometria ao diagnóstico, > 50mil/mm ³ (em vermelho) ou < 50mil/mm ³ (em azul).....	53
Tabela 1: Sobrevida livre de eventos (SLE) de acordo com a classificação do líquido cefalorraquidiano (LCR) ao diagnóstico: comparação entre punção lombar não traumática e	

ausência de blastos (SNC1) e punção lombar traumática com presença de blastos (PLT <i>positiva</i>).....	22
Tabela 2: Tratamento da LLA sem radioterapia: resultados dos principais estudos.....	25
Tabela 3: Distribuição dos pacientes de acordo com a classificação do LCR ao diagnóstico...42	42
Tabela 4: Distribuição dos pacientes de acordo com o local da recidiva.....	44
Tabela 5: Características dos pacientes com recidiva em SNC.....	48
Tabela 6: Distribuição dos pacientes com LLA de acordo com categorias de idade em diferentes estudos.....	55
Tabela 7: Comparação entre a classificação do LCR ao diagnóstico de LLA em diferentes estudos.....	58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIEOP: Associazione Italiana di Ematologia ed Oncologia Pediatrica

AR: alto risco

BFM: Berlin-Frankfurt-Münster

CCG: Children's Cancer Group

CF: citometria de fluxo

DCOG: Dutch Childhood Oncology Group

DHVO: doença hepática veno-oclusiva

DRM: doença residual mínima

GBTLI: Grupo Brasileiro para Tratamento de Leucemias na Infância

GBTLI-LLA93: Grupo Brasileiro para Tratamento de Leucemias na Infância LLA-93

GBTLI-LLA99: Grupo Brasileiro para Tratamento de Leucemias na Infância LLA-99

HC – UFMG: Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais

Ig: imunoglobulina

IT: intratecal

LCR: líquido cefalorraquidiano

LLA: leucemia linfóide aguda

MO: medula óssea

6-MP: 6-mercaptopurina

NCI: National Cancer Institute

PCR: reação em cadeia de polimerase

PL: punção lombar

POG: Pediatric Oncology Group

RB: baixo risco

RT: radioterapia

SAME: Serviço de Arquivo Médico

SGLO: sobrevida global

SJCRH: St. Jude Children's Research Hospital

SLE: sobrevida livre de eventos

SNC: sistema nervoso central

TCR: receptores de células T

6-TG: tioguanina

TMO: transplante de medula óssea

UKALL: United Kingdom Acute Lymphoblastic Leukemia Group

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	15
1.1.	REVISÃO DA LITERATURA.....	17
1.1.1.	PRINCÍPIOS DO TRATAMENTO DA LLA.....	17
1.1.2.	LEUCEMIA NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL.....	18
1.1.2.1.	HISTÓRICO.....	18
1.1.2.2.	FISIOPATOLOGIA.....	19
1.1.2.3.	QUADRO CLÍNICO.....	20
1.1.2.4.	DIAGNÓSTICO.....	20
1.1.2.5.	PREVENÇÃO.....	24
1.1.2.5.1.	RADIOTERAPIA.....	24
1.1.2.5.2.	QUIMIOTERAPIA INTRATECAL.....	25
1.1.2.5.3.	QUIMIOTERAPIA SISTÊMICA.....	26
1.1.2.6.	RECIDIVA.....	28
1.1.2.6.1.	FATORES DE RISCO.....	28
1.1.2.6.2.	TRATAMENTO DA RECIDIVA.....	29
2.	OBJETIVOS.....	32
2.1.	OBJETIVO GERAL.....	32
2.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	32
3.	PACIENTES E MÉTODOS.....	33
3.1.	PACIENTES.....	33

3.2.	DADOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS.....	33
3.2.1.	PROTOCOLO DE TRATAMENTO.....	33
3.2.2.	COLETA DOS DADOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS.....	34
3.2.3.	DEFINIÇÃO DE VARIÁVEIS.....	36
3.2.	MÉTODOS ESTATÍSTICOS.....	37
3.3.	ASPECTOS ÉTICOS.....	39
4.	RESULTADOS.....	40
4.1.	CARACTERIZAÇÃO GERAL DA CASUÍSTICA.....	40
4.2.	CARACTERIZAÇÃO DO LCR AO DIAGNÓSTICO.....	42
4.3.	EVOLUÇÃO DOS PACIENTES.....	44
4.4.	RECIDIVA EM SNC.....	47
5.	DISCUSSÃO.....	54
6.	CONCLUSÕES.....	65
7.	REFERÊNCIAS	66
	APÊNDICES.....	78
	Apêndice A.....	78
	Apêndice B.....	83
	Apêndice C.....	85
	ANEXOS.....	87
	Anexo 1.....	87
	Anexo 2.....	96

1. INTRODUÇÃO

A leucemia é a neoplasia mais comum da infância, sendo que a leucemia linfóide aguda (LLA) corresponde a 80% dos casos. A sobrevivência das crianças com LLA melhorou drasticamente nos últimos 40 anos. Na década de 60, as taxas de cura estavam entre 5% a 10%. Atualmente, nos principais centros de tratamento aproximam-se dos 90%. (LANINGHAM *et al*, 2007; PIETERS *et al*, 2010; PUI *et al*, 2006; SEIBEL, 2008)

Apesar de todo o avanço em relação ao tratamento da LLA, ainda existem aspectos a serem melhorados, como a toxicidade das medicações a curto e longo prazo, as neoplasias secundárias e as recidivas. Dentre eles destaca-se a dificuldade de abordagem dos pacientes recidivados, que correspondem a aproximadamente 20% da população tratada. (CARROLL *et al*, 2003; KRISHNAN *et al*, 2010; NGUYEN *et al*, 2008; PUI *et al*, 2008; ZIEGLER *et al*, 2005)

Alguns fatores observados ao diagnóstico já estão comprovadamente relacionados a uma maior chance de recidiva da doença. Entre eles: idade, contagem de leucócitos, imunofenótipo e alterações cromossômicas das células leucêmicas, e a resposta à fase inicial do tratamento. Com base nos fatores de risco, são elaborados os principais protocolos de tratamento, por meio da combinação de quimioterápicos com maior ou menor intensidade. (LANINGHAM *et al*, 2007; PIETERS *et al*, 2010; PUI *et al*, 2006; SEIBEL, 2008).

A recidiva da LLA é a principal causa de falha do tratamento (GAYNON, 2005). Pode ocorrer isolada ou combinadamente na medula óssea e em sítios extramedulares (como sistema nervoso central e testículos).

Os fatores prognósticos para as recidivas não são bem estabelecidos como ao diagnóstico inicial. Sabe-se que os pacientes que apresentam recidiva mais tardiamente e aqueles que apresentam recidiva em sítio extramedular isolado têm maior chance de cura. Porém, a maioria dos pacientes recidivados evolui para óbito.

(GAYNON, 2005; HAGEDORN *et al*, 2007; KRISHNAN *et al*, 2010; NGUYEN *et al*, 2008)

Uma das principais dificuldades em relação à abordagem do paciente recidivado encontra-se na pouca participação destes pacientes em ensaios clínicos e, conseqüentemente, na escassez de protocolos específicos para tratamento das recidivas (GAYNON, 2005). Diante da ineficácia do tratamento atual das recidivas, o enfoque dos estudos está direcionado para a detecção dos fatores de risco ao diagnóstico e a intensificação do tratamento inicial para minimizar os riscos de recaída.

O sistema nervoso central (SNC) é o sítio extramedular mais acometido ao diagnóstico (< 5% dos pacientes) e às recidivas (até 30 a 40% dos pacientes) (PUI, 2003; PUI *et al*, 2008). Os fatores de risco ao diagnóstico de LLA já relacionados com recidiva em SNC são: imunofenótipo T dos blastos leucêmicos, presença de alterações citogenéticas – t(9;22) e t(4;11), hiperleucocitose e presença de infiltração em SNC (PUI *et al*, 2004). O tratamento direcionado ao SNC é um dos marcos na melhora da sobrevida da LLA nas últimas décadas. É realizado através da quimioterapia intratecal (IT), quimioterapia sistêmica em altas doses e/ou radioterapia (RT) (PIETERS *et al*, 2008; SEIBEL, 2008). Apesar de todo avanço, a recidiva em SNC ainda é um obstáculo à cura destes pacientes.

O Serviço de Hematologia Pediátrica do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (HC – UFMG) é referência para tratamento de doenças oncohematológicas, sendo responsável pelo acompanhamento de um número significativo de crianças com LLA (aproximadamente 20 casos novos/ano). Faz parte do Grupo Brasileiro para Tratamento de Leucemias na Infância (GBTLI).

O presente estudo tem como objetivo analisar a incidência de recidiva no SNC e os fatores de risco para sua ocorrência nas crianças tratadas pelo protocolo do Grupo Brasileiro para Tratamento de Leucemias na Infância LLA-99 (GBTLI-LLA99), iniciado em 2001, de acordo com as características citológicas do líquido cefalorraquidiano (LCR) e a classificação quanto à infiltração do SNC ao diagnóstico.

Este estudo dá continuidade à linha de pesquisa do Serviço de Hematologia Pediátrica do HC – UFMG que se dedica ao estudo das leucemias na infância. Com análise retrospectiva dos dados, pretende fornecer subsídios para detecção de fatores de risco para recidiva em SNC nesta população, para elaboração de protocolo específico para tratamento da recidiva em SNC e proposta de novos métodos diagnósticos para detecção de células leucêmicas no LCR.

1.1. REVISÃO DA LITERATURA

1.1.1. PRINCÍPIOS DO TRATAMENTO DA LLA

O tratamento da LLA nos diversos protocolos de estudo é baseado na quimioterapia sistêmica com intensidade variável de acordo com estratificação de risco. Os pacientes são divididos em grupos de maior ou menor risco de recaída da doença e, assim, os pacientes de maior risco recebem um tratamento mais agressivo e, os pacientes de menor risco recebem tratamento efetivo sem exposição a efeitos colaterais desnecessários. A classificação de risco é baseada em fatores já estabelecidos pela literatura: idade ao diagnóstico, leucometria inicial, imunofenótipo e alterações citogenéticas das células leucêmicas e resposta ao tratamento. A resposta a fase inicial do tratamento é fundamental na avaliação do risco de recaída da doença. Inicialmente era realizada através da observação da diminuição do número de blastos no sangue periférico após uma semana do uso da prednisona e remissão morfológica da doença na medula óssea após uma a três semanas de quimioterapia com múltiplos agentes (PIETERS *et al*, 2008; REITER *et al*, 1994; SCHRAPPE, 2008). Atualmente, a determinação da resposta ao tratamento pode ser realizada pela detecção da doença residual mínima (DRM) na medula óssea através de técnicas de citometria de fluxo e biologia molecular (CAMPANA, 2009; CONTER and BARTRAM *et al*, 2010; KANG *et al*, 2010; SCHRAPPE, 2008; SCRIDELI *et al*, 2004). A pesquisa de DRM nas fases iniciais do tratamento tem grande impacto na estratificação de risco de recaída da LLA e, já foi incorporada na maioria dos protocolos. No Brasil, o GBTLI iniciará em 2010 novo protocolo de tratamento, o LLA-2009, que implementará a pesquisa de DRM (SCRIDELI *et al*, 2009) para todos os pacientes incluídos no estudo.

Independente da estratificação de risco, a base do tratamento para qualquer grupo é a combinação de quimioterápicos com diferentes mecanismos de ação. O tratamento, em geral, é dividido em fases com objetivos específicos: indução da remissão, consolidação e intensificação da remissão, manutenção, associadas à profilaxia e/ou tratamento direcionado para o SNC. A fase de indução tem como objetivo a remissão completa da doença e restauração da hematopoiese normal, atingindo tal resultado em quatro a seis semanas de tratamento em mais de 95% dos pacientes. As fases de consolidação e intensificação são mais intensivas, com uso de vários quimioterápicos, como o metotrexato em altas doses, para minimizar o surgimento de clones resistentes às drogas. A manutenção é a fase mais prolongada, com dois a três anos de duração. Geralmente são utilizadas doses diárias de 6-mercaptopurina (6-MP) e semanais de metotrexato, associadas ou não a pulsos de vincristina e corticóides, com o objetivo de reduzir o risco de recaída da doença. O tratamento pré-sintomático do SNC é componente essencial dos regimes terapêuticos e será detalhado posteriormente. (PIETERS *et al*, 2008; SEIBEL, 2008)

1.1.2. LEUCEMIA NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

1.1.2.1. HISTÓRICO

Na década de 50, descreveu-se uma síndrome de aumento da pressão intracraniana em pacientes com leucemia, a partir do que surgiram os primeiros relatos de infiltração no SNC pela LLA (EVANS *et al*,1970). Vários autores observaram sintomatologia semelhante em seus pacientes, além de outros sintomas, como ganho ponderal acentuado associado à síndrome hipotalâmica (HARDISTY *et al*, 1967). O diagnóstico de infiltração do SNC foi realizado através da observação de células leucêmicas no LCR destes pacientes (EVANS *et al*,1970; HARDISTY *et al*, 1967; WEST *et al*,1972). Coincidentemente com um aumento na sobrevivência dos pacientes com leucemia, foi observado um aumento na incidência de acometimento do SNC, que ocorria em cerca de 50% dos pacientes relatados em estudos dos anos 60-70 (EVANS *et al*,1970). Na

ocasião foi observado que a contagem de plaquetas abaixo de 50.000/mm³, a leucometria ao diagnóstico acima de 10.000/mm³ e a presença de linfadenomegalia e hepatoesplenomegalia eram fatores de risco para a leucemia em SNC (WEST *et al*,1972). Também foi observado que aqueles pacientes que apresentavam remissão medular prolongada, principalmente nos primeiros 18 a 24 meses, tinham grande chance de evoluir com acometimento de SNC.

As primeiras tentativas de tratamento da leucemia em SNC foram realizadas por meio de quimioterapia IT com metotrexato e radioterapia craniana. A maioria dos pacientes apresentava boa resposta inicial, porém rapidamente recidivavam, com sobrevida mediana relatada de 7,5 meses após o primeiro diagnóstico da infiltração meníngea (EVANS *et al*,1970).

Desde então, a leucemia em SNC é preocupação constante no tratamento da LLA, e vários estudos foram realizados na tentativa de detectar fatores de risco para seu acometimento e melhores estratégias para sua prevenção e tratamento.

1.1.2.2. FISIOPATOLOGIA

As células leucêmicas podem infiltrar o SNC através de vários mecanismos, inclusive de forma iatrogênica através de punção lombar traumática. As principais vias de introdução dessas células no SNC seriam: por extensão da medula óssea do crânio ao espaço subaracnóide através das veias comunicantes; entrada no LCR pelo plexo coróide; invasão do parênquima cerebral via capilares cerebrais; ou infiltração direta das leptomeninges via lesões ósseas do crânio. Os blastos ainda podem invadir as raízes nervosas e chegar ao espaço subaracnóide através do forame neural, e os cloromas podem se estender pelo forame intervertebral e entrar no espaço extradural (PINKEL *et al*,1994; PRICE *et al*, 1973; PUI *et al*, 2008; ÜNAL *et al*, 2008). Essencialmente a leucemia em SNC é uma doença da leptomeninge, com progressão para o parênquima nos estágios mais avançados.

1.1.2.3. QUADRO CLÍNICO

A maioria dos pacientes com leucemia no SNC são assintomáticos, sendo a infiltração meníngea descoberta através da punção lombar ao diagnóstico. Nos casos sintomáticos o paciente poderá apresentar cefaléia, vômitos, convulsões, irritabilidade, alterações relacionadas à paralisia dos nervos cranianos (principalmente do III, VI e VII pares), sangramento em SNC, ou compressão da medula espinhal. (LANINGHAM *et al*, 2007; PUI *et al*, 2008)

1.1.2.4. DIAGNÓSTICO

A definição de infiltração leucêmica no LCR classicamente utilizada foi elaborada no *Workshop* de Roma (MASTRANGELO *et al*, 1986), e considera infiltração se houver mais de cinco leucócitos/ μ l e presença inequívoca de linfoblastos na amostra após citocentrifugação. O acometimento de nervos cranianos e a presença de massa cerebral, que pode ocorrer isoladamente ou em combinação com a presença de células leucêmicas no LCR, também é critério diagnóstico para o acometimento do SNC (LANINGHAM *et al*, 2007).

Alguns estudos avaliaram o significado da presença de linfoblastos no LCR com contagem de células abaixo de cinco leucócitos/ μ l. Mahmoud e colaboradores (1993) observaram maior incidência acumulada de recidiva no SNC nos pacientes que apresentavam linfoblastos no LCR com contagem de células abaixo de cinco leucócitos/ μ l quando comparados com os pacientes que não apresentavam linfoblastos no LCR ao diagnóstico (13% *versus* 4%). A partir desses resultados os autores criaram novas categorias para classificação do LCR ao diagnóstico: SNC 1 - ausência de blastos; SNC 2 – contagem de leucócitos < 5/ μ l com presença de blastos e SNC 3 – contagem de leucócitos \geq 5/ μ l com presença de blastos. Pesquisadores do *Berlin-Frankfurt-Münster* (BFM) também observaram maior incidência de recidiva em SNC nos pacientes classificados como SNC2 quando comparados com aqueles classificados como SNC1 (10% *versus* 4%) (BÜRGER *et al*, 2003). Maior incidência de

recidiva no SNC no grupo SNC2 também foi observada por pesquisadores do *Pediatric Oncology Group* (POG), 11.6% versus 5,3% no grupo SNC1 (PUI, 2006). Tal diferença na incidência acumulada de recidiva no SNC não foi encontrada pelos pesquisadores do *Children's Cancer Group* (CCG), SNC1 - 6,5% versus SNC2 – 11,8% (GILCHRIST *et al*, 1994), e do *Dutch Childhood Oncology Group* (DCOG) SNC1 – 3,6% versus SNC2 – 5,4% (Te LOO *et al*, 2006). A discrepância entre os resultados dos diversos protocolos pode ser explicada pela diferença de intensidade do tratamento e na seleção dos grupos de pacientes estudados (PUI, 2003). Em relação à punção lombar traumática (presença de 10 ou mais hemácias/ μ l), vários estudos observaram pior sobrevida livre de eventos (SLE) naqueles pacientes que apresentaram trauma na primeira punção associado à presença de linfoblastos no LCR (Tabela1) (BÜRGER *et al*, 2003; GAJJAR *et al*, 2000; Te LOO *et al*, 2006). Os autores cogitam possíveis explicações para tal observação nos pacientes com punção lombar traumática positiva: introdução iatrogênica de blastos circulantes no sangue periférico para o espaço de circulação do LCR, doença mais avançada, presença de sangue no LCR poderia ocultar o diagnóstico de infiltração no SNC e menor efetividade do tratamento intratecal após punção traumática por formação de hematoma e segmentação da membrana subaracnóide (GAJJAR *et al*, 2000; PUI, 2003).

Para detectar possíveis fatores de risco para punção lombar traumática em pacientes com LLA, foi realizado estudo retrospectivo no *St. Jude Children's Research Hospital* (SJCRH). A punção traumática foi associada com raça negra, crianças menores de um ano de idade, punção realizada sem sedação, realizada por profissional menos experiente, contagem de plaquetas menor ou igual a 100.000/ mm^3 , intervalo inferior a 15 dias entre punção lombar prévia, presença de punção traumática nas duas semanas antecedentes e punção lombar prévia realizada com contagem de plaquetas menor ou igual a 50.000/ mm^3 (HOWARD *et al*, 2002). A partir da observação destes fatores de risco as seguintes medidas foram realizadas para minimizar os efeitos deletérios da punção traumática no SJCRH: punção realizada sob sedação profunda ou anestesia geral, pelo profissional de saúde mais experiente, com transfusão de plaquetas se contagem menor ou igual a 100.000/ mm^3 (PUI, 2003; PUI, 2006). Tais medidas

levaram a uma redução das punções traumáticas ao diagnóstico de 21% para 4% (PUI, 2003).

Tabela 1: Sobrevida livre de eventos (SLE) de acordo com a classificação do líquido cefalorraquidiano (LCR) ao diagnóstico: comparação entre punção lombar não traumática e ausência de blastos (SNC1) e punção lombar traumática com presença de blastos (PLT *positiva*)

Estudo	SNC 1	PLT <i>positiva</i>	Valor de p
GAJJAR et al (1984 a 1991)	77% *	60% *	0,026
BÜRGER et al (1995 a 1999)	80% *	73% *	0,003
Te LOO et al (1988 a 1997)	72,6% **	58% **	<0,01

* SLE em 5 anos; ** SLE em 10 anos

A partir dessas observações, foi elaborada nova classificação do LCR para diagnóstico de infiltração do SNC na LLA (GAJJAR *et al*, 2000; MAHMOUD *et al*, 1993):

- SNC 1 – punção lombar não-traumática (<10 hemácias/ μ l) e ausência de blastos;
- SNC 2 – punção lombar não-traumática (<10 hemácias/ μ l), contagem de leucócitos inferior a 5/ μ l e presença de blastos;
- SNC 3 – punção lombar não-traumática (<10 hemácias/ μ l), contagem de leucócitos superior ou igual a 5/ μ l e presença de blastos;
- PLT *negativa* – punção lombar traumática (\geq 10 hemácias/ μ l) e ausência de blastos;
- PLT *positiva* – punção lombar traumática (\geq 10 hemácias/ μ l) e presença de blastos.

A avaliação citológica do LCR é o método de escolha para diagnóstico da infiltração no SNC, porém pode ser inconclusiva. Tal fato pode ser explicado pela pequena quantidade de células neoplásicas presentes no LCR de pacientes com menor grau de infiltração e pela presença de linfócitos atípicos, com aspectos morfológicos semelhantes aos das células leucêmicas (BROOMBERG *et al*, 2007; FINN *et al*, 1998; HEGDE *et al*, 2005; NÜCKEL *et al*, 2006; SCHINSTINE *et al*, 2006).

Métodos adicionais de avaliação das células presentes no LCR são alvos constantes de estudos nas neoplasias hematológicas com acometimento de SNC. O estudo imunológico de antígenos de superfície das células leucêmicas já foi realizado através de vários métodos desde a década de 70. Alguns estudos realizaram a avaliação através de imunofluorescência ou partículas de látex marcadas com anticorpos (CD10, TdT) (HOMANS *et al*, 1985; HOMANS *et al*, 1990). No entanto, a pequena quantidade de linfócitos nas amostras de LCR é sempre um obstáculo para a realização destes exames. A citometria de fluxo (CF) é amplamente utilizada para pesquisa de células neoplásicas em sangue periférico, medula óssea e outros órgãos. Mais recentemente, tem sido também incorporada à avaliação do LCR. Alguns estudos já mostraram sua utilidade, também, no diagnóstico de neoplasias hematológicas no LCR, em associação com a avaliação citológica. Na maioria das amostras, a avaliação pela CF foi viável, apesar do número pequeno de linfócitos, e houve um aumento na detecção de células leucêmicas em relação ao exame citológico isoladamente (BROOMBERG *et al*, 2007; FINN *et al*, 1998; HEGDE *et al*, 2005; NÜCKEL *et al*, 2006; SAYED *et al*, 2008; SCHINSTINE *et al*, 2006; SUBIRÁ *et al*, 2001). Conforme observado por vários autores, a biologia molecular também pode ser utilizada para detecção de células neoplásicas no LCR, através de técnicas de reação em cadeia de polimerase (PCR) para detecção de rearranjos clonais de gene de imunoglobulina (Ig) e receptores de células T (TCR) presentes nas células leucêmicas (BIOJONE, 2009; HAAS *et al*, 2002; PINE *et al*, 2005; SAYED *et al*, 2008; SCRIDELI *et al*, 2004). É importante ressaltar que nenhum dos métodos exclui a necessidade de realização do exame citológico do LCR. Apesar do aumento da sensibilidade na detecção das células neoplásicas no LCR,

ainda não é claro o impacto da incorporação dessas novas técnicas no prognóstico dos pacientes com LLA.

1.1.2.5. PREVENÇÃO

A partir da observação da presença das células leucêmicas no SNC e da dificuldade de acesso das medicações neste “santuário”, pela presença da barreira hematoencefálica, foram desenvolvidas as principais modalidades de prevenção da recidiva em SNC:

1.1.2.5.1. RADIOTERAPIA

A RT foi inicialmente utilizada como tratamento paliativo em pacientes com leucemia em SNC (CHESSELLS, 1994). Nos anos 60 iniciou-se sua incorporação aos protocolos de tratamento de LLA, como método preventivo de recidiva no SNC. Foi observado que a RT craniana com dose de 24Gy associada ao metotrexato intratecal ou a RT cranioespinhal com 24Gy preveniam a recidiva de SNC em grande parte dos pacientes pediátricos tratados pelos protocolos “Total Therapy” V,VI e VII do SJCRH (AUR *et al*, 1971; HUSTU *et al*, 1973). Esses resultados foram confirmados em outros estudos com maior número de pacientes (CHESSELLS, 1994; INATI *et al*, 1983; ORTEGA *et al*, 1987). À medida que a sobrevida dos pacientes irradiados foi aumentando, começaram a ser observados os efeitos colaterais da irradiação: neoplasias secundárias em SNC, anormalidades neurocognitivas e de crescimento, distúrbios endócrinos e efeitos neurotóxicos (OCHS *et al*, 1994; PUI *et al*, 2008; RIMM *et al*, 1987). Iniciou-se uma preocupação com a redução da dose de irradiação. Estudos mostraram boa eficácia na prevenção da recidiva com doses de 18Gy (NESBIT *et al*, 1981) e 12Gy (CHESSELLS, 1994; SCHRAPPE *et al*, 2000) associadas a protocolos quimioterápicos mais intensivos. Na era atual, os protocolos de tratamento da LLA estão restringindo o uso da RT para pequenos grupos de pacientes, baseados nos fatores de risco já estabelecidos para recidiva no SNC. Já existem protocolos em que a RT foi totalmente abolida, com bons resultados (Tabela 2) (MANERA *et al*, 2000; PUI *et al*, 2008; PUI *et al*, 2009; VEERMAN *et al*, 2009; VILMER *et al*, 2000).

Tabela 2: Tratamento da LLA sem radioterapia: resultados dos principais estudos

Estudo	Número de pacientes	SLE	SGLO	Recidiva SNC (isolada ou combinada)
MANERA et al (2000) “P8609 e P8904”	150	60,7% *	72,6% *	11 (7,3%)
VILMER et al (2000) “CLCG-EORTC 58881”	2065	68,4%*	79%*	129 (6,2%)
PUI et al (2009) “Total XV”	498	85,6%**	93,5%**	15 (3%)
VEERMAN et al (2009) “DCOG ALL-9”	859	81%**	86%**	29 (3,4%)

SLE: sobrevida livre de eventos; SGLO: sobrevida global; SNC: sistema nervoso central

*em 8 anos; **em 5 anos

1.1.2.5.2. QUIMIOTERAPIA INTRATECAL

A quimioterapia IT no tratamento da LLA foi inicialmente utilizada para pacientes com acometimento de SNC, comprovado pela presença de linfoblastos no LCR. Na ocasião, o tratamento do SNC era realizado através de injeções intratecais de metotrexato, radioterapia e/ou uso de corticóides (HARDISTY *et al*, 1967).

De acordo com revisão realizada por Pochedly (1990), as primeiras tentativas de prevenção da leucemia em SNC através de quimioterapia intratecal (IT) foram realizadas com dose única de metotrexato, o que permitiu apenas um adiamento da recidiva. Estudos subsequentes observaram melhores resultados com utilização de punções seriadas com injeção IT de metotrexato em associação ou não à radioterapia e/ou quimioterapia sistêmica (CLARKE *et al*, 2003; NESBIT *et al*, 1981; POCHEDLY, 1990).

Em 1973, foi publicado o primeiro estudo com quimioterapia IT tripla, com utilização de metotrexato e citarabina, duas drogas com boa eficácia na LLA e relativamente seguras para uso intratecal, e de hidrocortisona, utilizada para minimizar o efeito neurotóxico das outras drogas. Tal esquema mostrou boa proteção para os pacientes de risco baixo e intermediário (POCHEDLY, 1990; SULLIVAN *et al*, 1977). Na atualidade ainda não há consenso sobre o uso da quimioterapia IT tripla ou apenas com metotrexato. Estudo recente (MATLOUB *et al*, 2006) comparou as duas modalidades de quimioterapia IT em pacientes de risco padrão. Foi observada menor incidência de recidiva em SNC nos pacientes que receberam quimioterapia tripla, porém a sobrevida livre de eventos (SLE) foi equivalente nos dois grupos. Tal fato explica-se pela presença de maior número de recidivas em medula óssea no grupo que recebeu três medicações.

O uso de medicação IT não é isento de complicações, que podem ocorrer pela neurotoxicidade das medicações ou pelo procedimento da punção lombar (LANINGHAM *et al*, 2007; OCHS *et al*, 1994). No SJCRH, conforme descrito anteriormente, medidas são realizadas para minimizar a punção lombar traumática (PUI, 2003; PUI, 2006). Além disso, cuidados são observados com a administração da medicação intratecal, que deverá ter um volume maior ou igual a seis mililitros para melhor distribuição no LCR (PUI, 2006). Um correto posicionamento após o procedimento também é adotado, mantendo-se o paciente na posição prona por pelo menos 30 minutos para aumentar os níveis das medicações no compartimento intraventricular, conforme demonstrado em modelo animal por Blaney e colaboradores (1995).

1.1.2.5.3 QUIMIOTERAPIA SISTÊMICA

Outra maneira de prevenir a leucemia em SNC é através das medicações sistêmicas com boa penetração pela barreira hematoencefálica. Uma das medicações mais estudadas com este intuito é o metotrexato. Vários protocolos de tratamento avaliaram a eficácia do metotrexato endovenoso em doses altas (até 33,6 g/m²) com diferentes esquemas de resgate com ácido folínico (CLARKE *et al*, 2003; NATHAN *et al*, 2006). A

maioria dos estudos mostra uma redução nas recidivas fora do SNC e melhora na SLE, mas pouco impacto nas recidivas em SNC, quando comparados com as formas tradicionais de prevenção (radioterapia e quimioterapia intratecal) (CLARKE *et al*, 2003; POCHEDLY, 1990). A dose ideal para uso do metotrexato endovenoso e resgate com ácido folínico nos protocolos pediátricos em LLA ainda não está bem estabelecida. Alguns autores, baseados nos resultados descritos e em estudos de farmacogenética e farmacocinética, consideram adequadas doses de 1-2g/m² para os pacientes de baixo risco com LLA de linhagem B e, doses maiores, como 5g/m², para os pacientes de alto risco e aqueles com LLA de linhagem T (PUI *et al*, 2006).

Os corticóides são essenciais no tratamento da LLA. Sabe-se que a dexametasona tem maior concentração no LCR por menor ligação às proteínas plasmáticas, quando comparada à prednisona (CHESSELLS, 1994). Estudos randomizados comparando as duas medicações mostraram redução nas recidivas em SNC e melhor SLE no grupo que usou a dexametasona (PUI *et al*, 2008). Tal resultado não foi encontrado por Igarashi e colaboradores (2005), que compararam doses maiores das duas medicações e não encontraram diferenças na recidiva em SNC e na SLE. Os autores acreditam que nos estudos anteriores as doses de prednisona e dexametasona não eram equivalentes (IGARASHI *et al*, 2005). Mais recentemente, pesquisadores do DCOG publicaram os resultados do protocolo ALL-9, que usou dexametasona na indução e omitiu a radioterapia craniana para todos os pacientes. Os resultados foram excelentes, com SLE em cinco anos de 81% e apenas 2,6% de recidivas isoladas em SNC (VEERMAN *et al*, 2009).

As tiopurinas são medicações utilizadas há mais de 50 anos no tratamento da LLA. A 6-mercaptopurina (6-MP) é historicamente uma das bases do tratamento na fase de manutenção, mas também é utilizada em outras fases assim como a tioguanina (6-TG) (JACOBS *et al*, 2007). As duas medicações, 6-MP e 6-TG, são pró-drogas que necessitam de conversão intracelular em nucleotídeos de tioguanina para adquirir suas propriedades citotóxicas. A conversão da 6-TG é mais rápida e atinge maior nível de metabólitos ativos nas células leucêmicas em estudos *in vitro* (ADAMSON *et al*, 1994). Alguns estudos randomizados avaliaram a eficácia das duas medicações no tratamento

da LLA. Não foi observada diferença na SLE entre as duas medicações quando usadas na fase de manutenção (HARMS *et al*, 2003; VORA *et al*, 2006). VORA e colaboradores (2006) observaram menor risco de recidiva isolada em SNC no grupo que usou a 6-TG ($p=0,02$). No entanto, entre os pacientes que usaram a 6-TG foi observado maior risco de complicações como trombocitopenia, doença hepática veno-oclusiva (DHVO) e óbitos em remissão (HARMS *et al*, 2003; JACOBS *et al*, 2007; VORA *et al*, 2006). Estudo recente do CCG (STORK *et al*, 2010), comparou uso da 6-TG *versus* 6-MP nos pacientes de LLA risco baixo, pela classificação do *National Cancer Institute* (NCI - idade entre 1 e 9,9 anos e leucometria inicial $< 50.000/mm^3$). Observou-se melhor SLE no grupo que usou a 6-TG, porém a sobrevida global (SGLO) foi a mesma nos dois grupos. Também foi observada alta incidência de DHVO no grupo que fez uso de 6-TG, com relato de dois pacientes evoluindo com hipertensão portal (tal fato levou a suspensão da randomização dos pacientes para uso da 6-TG nesse estudo). Com esses resultados a 6-MP mantém-se como droga de escolha na fase de manutenção da LLA.

1.1.2.6. RECIDIVA

Na década de 70, com a melhora da sobrevida dos pacientes com LLA, a recidiva em SNC tornou-se comum entre os pacientes que se mantinham em remissão medular, ocorrendo em mais de 80% deles (EVANS *et al*, 1970). Atualmente, a recidiva em SNC varia de 2% a 10% nos diversos protocolos de tratamento.

1.1.2.6.1 FATORES DE RISCO

Alguns fatores de risco para recidiva de LLA no SNC já estão bem estabelecidos: imunofenótipo T, hiperleucocitose (acima de $100.000/mm^3$) alterações citogenéticas - t(9;22) e t(4;11), e presença de infiltração em SNC ao diagnóstico (PUI *et al*, 2008).

Outros fatores de risco identificados ainda necessitam de maior reforço na literatura médica para serem considerados.

Conforme descrito anteriormente, foi observado pelo SJCRH que a presença de blastos no LCR ao diagnóstico, independentemente do número de células, ou de trauma na

punção lombar levou a maior risco de recidiva em SNC (GAJJAR *et al*, 2000; MAHMOUD *et al*, 1993). Outro fator de risco também associado a maior risco de recidiva em SNC observado pelo SJCRH foi a presença da t(1;19) com produção do transcrito TCF3/PBX1 nas LLA de precursor B (JEHA *et al*, 2009).

Também no intuito de avaliar fatores de risco para recidiva de SNC na LLA, foi observado pelo grupo BFM que os pacientes com infiltração em SNC ao diagnóstico, assim como aqueles que recidivaram em SNC, apresentaram maior expressão de RNAm para interleucina-15 nas células leucêmicas da medula óssea ao diagnóstico (CARIO *et al*, 2007).

Em pacientes adultos com LLA, a presença de CD56 positivo nas células leucêmicas foi fator de risco para presença de leucemia no SNC ao diagnóstico e às recidivas (RAVANDI *et al*, 2002). Não há tal correlação relatada em crianças.

1.1.2.6.2 TRATAMENTO DA RECIDIVA

As primeiras tentativas de tratamento das recidivas enfocavam a quimioterapia intratecal e a radioterapia cranioespinhal, com resultados ruins, sendo a recidiva medular a principal causa de falha na maioria dos pacientes (BUCHANAN, 1990). Com a evolução do tratamento, foram elaborados protocolos que adiavam a radioterapia em função da realização de quimioterapia sistêmica, na tentativa de prevenir também as recidivas medulares (BARREDO *et al*, 2006; RITCHEY *et al*, 1999).

Já na década de 90, alguns serviços já apresentavam SLE em 5 anos em torno de 70% para estes pacientes, especialmente naqueles que não haviam sido submetidos à radioterapia previamente (RIBEIRO *et al*, 1995). Em 1999, o POG publicou ótimos resultados em 83 pacientes com recidiva isolada em SNC não expostos a radioterapia prévia: SLE de 71% em 4 anos, com uma diferença significativa entre os pacientes que apresentaram remissão completa por tempo maior ou igual a 18 meses e aqueles com período de remissão menor que 18 meses (SLE em 4 anos de 83% e 46%, respectivamente) (RITCHEY *et al*, 1999). Na tentativa de reduzir a intensidade da

irradiação, foi elaborado um novo protocolo de tratamento de recidiva pelo POG, que modificou a radioterapia de 24Gy craniana mais 15Gy espinhal para 18 Gy craniana isoladamente para os pacientes com tempo de remissão maior ou igual a 18 meses. Os resultados publicados em 2006 (BARREDO *et al*, 2006) foram semelhantes aos do protocolo anterior. Além do tempo de remissão completa maior ou igual a 18 meses, observou-se melhor prognóstico naqueles pacientes que preenchiam os critérios de risco baixo do NCI ao diagnóstico inicial (idade entre 1 e 9,9 anos e leucometria inicial $< 50.000/mm^3$).

Krishnan e colaboradores (2010) realizaram estudo retrospectivo comparando os resultados dos pacientes com recidiva no SNC tratados pelos protocolos do Medical Research Council de 1985 a 2001. Com a intensificação dos protocolos, observou-se uma redução nas recidivas no SNC combinadas com medula óssea (MO) e, também, nas recidivas precoces entre 18 e 30 meses do diagnóstico. Já as recidivas muito precoces (inferiores a 18 meses do diagnóstico) e as recidivas isoladas no SNC não se modificaram ao longo dos anos. O resultado do tratamento das recidivas foi melhor nos pacientes com recidiva isolada no SNC ($p=0,04$) (KRISHNAN *et al*, 2010).

Em relação ao transplante de medula óssea (TMO), ainda existem poucos dados na literatura para inclusão desta modalidade terapêutica para os pacientes com recidiva isolada em SNC. Alguns estudos retrospectivos mostraram bons resultados com TMO alogênico para estes pacientes, porém com maior número de complicações e sequelas (EAPEN *et al*, 2008; HARKER-MURRAY *et al*, 2008; YOSHIARA *et al*, 2006). Ainda não existem indicações precisas acerca de quais pacientes seriam candidatos ao TMO e de qual seria o melhor esquema de condicionamento.

Na tentativa de identificar entre os pacientes com recidiva extramedular isolada aqueles que teriam pior evolução, Hagedorn e colaboradores (2007) avaliaram, retrospectivamente, a MO ao diagnóstico da recidiva de 64 pacientes (39 deles com recidiva no SNC) para pesquisa de DRM através de PCR em tempo real para rearranjos dos genes de Ig e TCR. Os autores observaram que em apenas 28% dos pacientes o envolvimento medular foi inferior a 10^{-4} . Observaram, também, maior incidência acumulada de novas recidivas no grupo de pacientes que apresentaram

envolvimento da medula óssea maior ou igual a 10^{-4} . Não houve diferença significativa na SLE (HAGEDORN *et al*, 2007).

Em suma, os pacientes com primeira recidiva isolada em SNC têm chances de cura próximas às de pacientes com LLA ao primeiro diagnóstico, especialmente aqueles que apresentam período de remissão maior ou igual a 18 meses e que não foram previamente submetidos à radioterapia.

Além de tentar identificar fatores de risco para os pacientes com recidiva, os próximos estudos devem buscar melhor sobrevida nos pacientes que apresentam recidiva precoce (inferior a 18 meses) e tentar minimizar as sequelas neurológicas secundárias a própria doença e ao tratamento.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Caracterizar o tipo de infiltração liquórica e a evolução de crianças com leucemia linfóide aguda (LLA) diagnosticadas no Serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da UFMG.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Classificar as crianças com LLA de acordo com o grau de infiltração em SNC ao diagnóstico (LCR SNC1, SNC 2, SNC 3) e de acordo com a ocorrência, ou não, de sangramento traumático durante a punção liquórica (PLT *positiva* ou *negativa*);
- Investigar os fatores de risco para acometimento inicial e para recidiva no SNC (idade ao diagnóstico, leucometria inicial, imunofenótipo e citogenética);
- Avaliar o prognóstico dos pacientes de acordo com a classificação do LCR ao diagnóstico.

3. PACIENTES E MÉTODOS

3.1. PACIENTES

A população estudada consistiu de crianças e adolescentes com diagnóstico de leucemia linfóide aguda, admitidas no Hospital das Clínicas da UFMG e submetidas ao protocolo de tratamento do Grupo Cooperativo Brasileiro para Tratamento da Leucemia Infantil – GBTLI LLA-99, no período de março de 2001 a agosto de 2009. Estão incluídos nesse protocolo todos os pacientes com LLA sem tratamento prévio, com idade inferior a 18 anos, diagnosticados no Serviço de Hematologia a partir de 2001.

Os critérios de exclusão do estudo foram:

- Pacientes tratados de acordo com outros protocolos terapêuticos
- Pacientes que não concordaram em participar do estudo

Trata-se de um estudo de coorte retrospectivo. Dados clínicos e laboratoriais foram coletados por meio da revisão de prontuários arquivados no Serviço de Arquivo Médico (SAME) e no Serviço de Hematologia do HC-UFMG, conforme será detalhado nos demais itens da metodologia.

3.2. DADOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS

3.2.1. PROTOCOLO DE TRATAMENTO

O esquema quimioterápico utilizado no protocolo GBTLI-99 está resumido no anexo 1. Todo o fornecimento dos quimioterápicos aos pacientes foi feito de forma regular e gratuita pela farmácia da instituição. Não foram realizadas modificações no esquema terapêutico em função desta pesquisa.

É preconizado no protocolo GBTLI-99 que a primeira punção lombar, com coleta de LCR para pesquisa de células neoplásicas e injeção intratecal de quimioterápicos (MADIT - metotrexato, citarabina e dexametasona), seja feita na primeira semana do

tratamento. Tal procedimento é realizado preferencialmente no bloco cirúrgico do Hospital das Clínicas da UFMG, com a criança sob sedação. Durante o procedimento ocorre a coleta de LCR para realização do exame citológico. Após a coleta do LCR, é realizada a quimioterapia intratecal, através da infusão de quimioterápicos com dose e volume total variando de acordo com a idade (metotrexato e citarabina) ou superfície corporal (dexametasona) da criança. Durante todas as fases do tratamento, o paciente é submetido a novas punções com injeção intratecal de quimioterápicos, com periodicidade que varia de 15 dias a oito semanas.

A irradiação profilática em SNC não está prevista no protocolo. Nos casos com infiltração do SNC, a quimioterapia intratecal é intensificada. Os pacientes classificados como de Baixo Risco de Recaída (RB – anexo1) com envolvimento leucêmico inicial em SNC, são tratados com doses adicionais de MADIT, sem a realização da radioterapia. Os pacientes do grupo de Alto Risco de Recaída (AR – anexo1) para recidiva, com envolvimento inicial em SNC, recebem irradiação cranioespinhal, ao final do primeiro ano de tratamento, com dose dependente da idade.

No protocolo GBTLI-99, a infiltração do SNC é definida pela “contagem de leucócitos em líquido $\geq 5/\text{mm}^3$ e pela demonstração inquestionável de blastos leucêmicos em preparado por citocentrifugação, ou pela ocorrência de sinais clínicos, como paralisia de par craniano, síndrome hipotalâmica, evidência de compressão medular, mesmo quando os leucócitos no líquido estiverem normais”.

3.2.2. COLETA DOS DADOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS

Cada paciente recebeu um número de identificação no estudo. Os seguintes dados extraídos dos prontuários médicos foram analisados: idade ao diagnóstico, gênero, classificação inicial da doença (RB ou AR), leucometria ao diagnóstico, imunofenótipo, citogenética, data e local da primeira recidiva, data e causa do óbito, situação atual da criança (vivo e em remissão, nova recaída ou óbito), local de realização da primeira punção lombar para coleta de LCR, contagem de plaquetas na data de realização da primeira punção, realização de transfusão de plaquetas na data da punção.

Os resultados da avaliação citológica do LCR de cada paciente foram pesquisados no livro de registro de exames do Laboratório Central do Hospital das Clínicas da UFMG. Os livros são arquivados anualmente e estão disponíveis para consulta. Para todos os pacientes foram coletados os dados referentes ao exame citológico do primeiro LCR.

Os pacientes foram classificados, retrospectivamente, de acordo com o grau de infiltração do SNC e de acordo com a ocorrência, ou não, de sangramento traumático durante a punção líquórica (GAJJAR *et al*, 2000; MAHMOUD *et al*, 1993):

- SNC 1 – punção lombar não-traumática (<10 hemácias/ μ l) e ausência de blastos;
- SNC 2 – punção lombar não-traumática (<10 hemácias/ μ l), contagem de leucócitos inferior a 5/ μ l e presença de blastos;
- SNC 3 – punção lombar não-traumática (<10 hemácias/ μ l), contagem de leucócitos superior ou igual a 5/ μ l e presença de blastos;
- PLT *negativa* – punção lombar traumática (\geq 10 hemácias/ μ l) e ausência de blastos;
- PLT *positiva* – punção lombar traumática (\geq 10 hemácias/ μ l) e presença de blastos.

As recidivas foram confirmadas pelo exame do aspirado de medula óssea, exame do líquido cefalorraquidiano ou biópsia, conforme o sítio de recaída. Os critérios para a caracterização das recidivas foram:

- Recidiva medular: presença de células blásticas na medula óssea em uma proporção superior a 5% das células nucleadas, confirmada, quando necessário, por novo aspirado no qual a proporção de blastos estivesse em clara ascensão. A recidiva foi considerada isolada ou combinada, conforme a ausência ou presença, respectivamente, de outros sítios envolvidos tais como sistema nervoso central (SNC), testículos, olhos.
- Recidiva no SNC: quando células leucêmicas foram encontradas no líquido cefalorraquidiano e/ou quando as crianças apresentavam sinais e sintomas neurológicos provocados pela leucemia.
- Recidiva testicular: presença de infiltração leucêmica em um ou em ambos os testículos, comprovada por biópsia a céu aberto.

- Recidiva em outros órgãos - pele, ovários, útero, ossos, olhos, linfonodos - comprovada pela detecção da infiltração leucêmica nos mesmos por meio de biópsia do órgão correspondente.

3.2.3. DEFINIÇÃO DE VARIÁVEIS

As seguintes variáveis foram associadas a cada criança:

- Idade (IDADEDX): número fracionado em anos, obtido pela subtração da data do diagnóstico de leucemia em relação à data de nascimento.
- Gênero (SEX0): masculino (1) ou feminino (2).
- Leucometria ao diagnóstico (LEUINI): número global de leucócitos no sangue periférico quando do diagnóstico da doença.
- Imunofenótipo (Imuno) : pró-B (1), CALLA ou comum (2), pré-B (3), T (4) ou bifenotípica (5).
- Grupo de Risco de Recaída (RISCO): Baixo Risco - BR (1) ou Alto Risco - AR (2).
- Classificação do LCR ao diagnóstico (CLASS LQR): SNC 1 (1), SNC 2 (2), SNC 3 (3), PLT *negativa* (4) ou PLT *positiva* (5).
- Punção lombar traumática (PLT_{sxn}): não (0) ou sim (1).
- Intervalo entre o diagnóstico e a primeira punção lombar (INT DIAG/LQR): número expresso em dias, obtido pela subtração da data da primeira punção lombar em relação à data do diagnóstico de leucemia.
- Plaquetas: número de plaquetas no sangue periférico quando da primeira punção lombar.
- Transfusão de plaquetas previamente a primeira punção lombar (TX PLAQ): não (0) ou sim (1).
- Local de realização da primeira punção lombar (LOCAL PL): enfermaria (1) ou bloco cirúrgico (2).
- Local da recidiva: ausência de recidiva (0), medula óssea (1), medula óssea + SNC (2), SNC (3), testículos (4), ocular (5) ou ganglionar (6).

- Sobrevida livre de eventos (SLE): tempo decorrido entre o diagnóstico e a ocorrência de qualquer um dos seguintes eventos: óbito em remissão ou ocorrência de recidiva da leucemia em qualquer sítio.
- Variável de censura para sobrevida livre de eventos (CENS1), assim codificada: zero (0), paciente censurado na data da análise dos resultados porque não ocorreu qualquer evento; um (1) ocorrência de evento, como definido acima.
- Sobrevida Global (SGLO): tempo decorrido entre o diagnóstico e o óbito, independente da causa.
- Variável de censura para sobrevida global (CENS2), assim codificada: zero (0), paciente censurado na data da análise dos resultados porque estava vivo; um (1) ocorrência do óbito.
- Tempo de remissão clínica completa (RCC): tempo decorrido entre o dia em que foi obtida a remissão morfológica da doença na medula óssea e a ocorrência de um evento (recidiva da leucemia em qualquer órgão ou óbito em remissão). Foram excluídas, portanto, as crianças que não obtiveram remissão.
- Variável de censura para recidiva em SNC (CENSNC), assim codificada: zero (0), paciente censurado na data da análise dos resultados porque não apresentou recidiva em SNC; um (1) ocorrência de recidiva em SNC (isolada ou combinada).

Estabeleceu-se a data limite para análise em 18/12/2009.

3.3. MÉTODOS ESTATÍSTICOS:

O banco de dados foi construído no programa Excel 2003 (Apêndice C).

A eventual associação entre a variável “punção lombar traumática” e variáveis categóricas foi analisada com o teste do qui-quadrado ou pelo teste exato de *Fisher*, quando o valor esperado em uma ou mais caselas era menor do que 5.

A possível associação entre a variável “punção lombar traumática” com variáveis contínuas que não apresentavam distribuição normal foi analisada com o teste não-paramétrico de Mann-Whitney.

O método de Kaplan-Meier foi utilizado para estimar a probabilidade de sobrevida global e de sobrevida livre de eventos. Para estimar esta última, foram considerados eventos o óbito ou a recidiva da doença, sendo censurados na data da análise dos resultados os pacientes que não sofreram qualquer evento. O teste de *log-rank* foi utilizado para comparação entre as curvas de sobrevida.

Os cálculos e as curvas de sobrevida foram feitos utilizando o programa *Social Program Statistics Science* – SPSS, versão 17.0.

A incidência acumulada de recidiva em SNC foi estimada conforme proposto por Gooley e colaboradores (1999), levando-se em consideração que existiam eventos competitivos à recidiva no SNC (GOOLEY *et al*, 1999; VIANA *et al*, 2010 – apêndice B). Nesta análise as falhas foram classificadas como: a) recidiva isolada em SNC; b) recidiva concomitante em SNC e MO; c) outras recidivas isoladas ou combinadas; d) óbito em remissão. As categorias a e b foram os eventos de interesse para a análise e as restantes (c e d), consideradas eventos competitivos. Os pacientes que não alcançaram a remissão clínica completa (RCC) foram excluídos destas análises.

Para comparação entre as curvas de incidência acumulada de recidiva no SNC (isolada ou combinada), conforme o imunofenótipo (T *versus* B) ou conforme a punção lombar tenha sido traumática ou atraumática, o teste estatístico formal a ser realizado seria o de Gray (1988), para o qual não existe disponível programa estatístico comercial que o calcule. Foi utilizado, como aproximação, o teste de Wald, calculado a partir de um modelo de regressão de Cox.

Em todos os testes estatísticos foi adotado como estatisticamente significativo o valor de $p \leq 0,05$ em relação ao erro alfa.

3.4. ASPECTOS ÉTICOS:

O projeto foi aprovado pela Câmara do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina da UFMG (Parecer nº08/08), pela Diretoria de Ensino e Pesquisa do Hospital das Clínicas da UFMG (Processo nº 027/08) e pelo Comitê de Ética e Pesquisa da UFMG (COEP – UFMG/Parecer nº ETIC 73/08) (Anexo 2).

Para a inclusão dos pacientes ainda em acompanhamento no Serviço de Hematologia foi solicitada a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido aos pais ou responsáveis (Apêndice A).

Todos os dados foram registrados pela equipe de pesquisadores respeitando sempre a privacidade dos pacientes e garantindo o sigilo das informações.

4. RESULTADOS

4.1. CARACTERIZAÇÃO GERAL DA CASUÍSTICA

No período de março de 2001 a agosto de 2009, 199 crianças foram diagnosticadas com LLA, no serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da UFMG. Todas elas foram submetidas a tratamento pelo protocolo do GBTLI LLA-99. Todos os pacientes diagnosticados no período citado foram incluídos no estudo. O tempo de seguimento variou de dois dias a 8,7 anos (mediana – 3,3 anos). Não houve perda de seguimento nesta casuística.

Da população estudada 57% eram meninos (114/199) e 43% meninas (85/199). A idade ao diagnóstico variou de dois meses a 16,8 anos (mediana de 5,59 anos). A distribuição dos pacientes quanto à faixa etária está representada na figura 1.

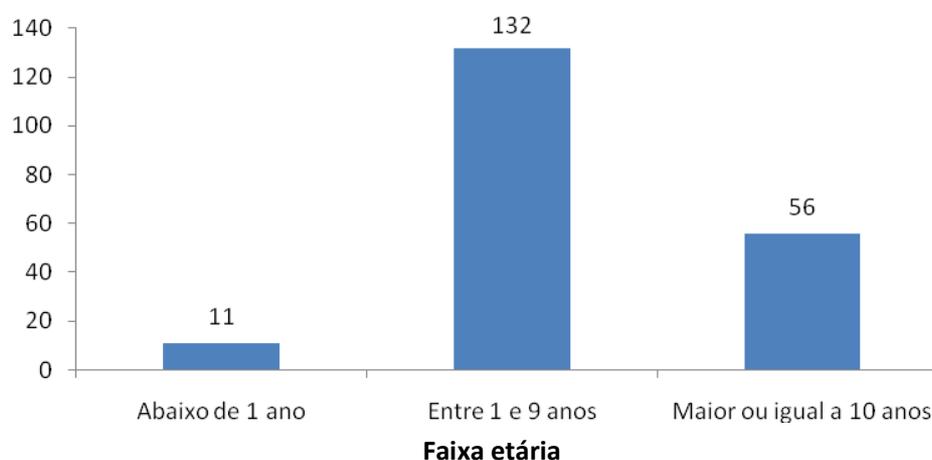


Figura 1: Distribuição dos 199 pacientes com LLA por faixa etária

De acordo com a classificação de risco proposta pelo protocolo GBTLI-LLA99, 42% das crianças foram tratadas como baixo risco (83/199) e 58% como alto risco (116/199).

A contagem de leucócitos ao diagnóstico variou de 200/mm³ a 740.000/mm³ (mediana de 12.580/mm³). Em uma criança esse dado não estava registrado no prontuário. A

figura 2 representa a distribuição dos pacientes de acordo com a leucometria ao diagnóstico, dividida em categorias.

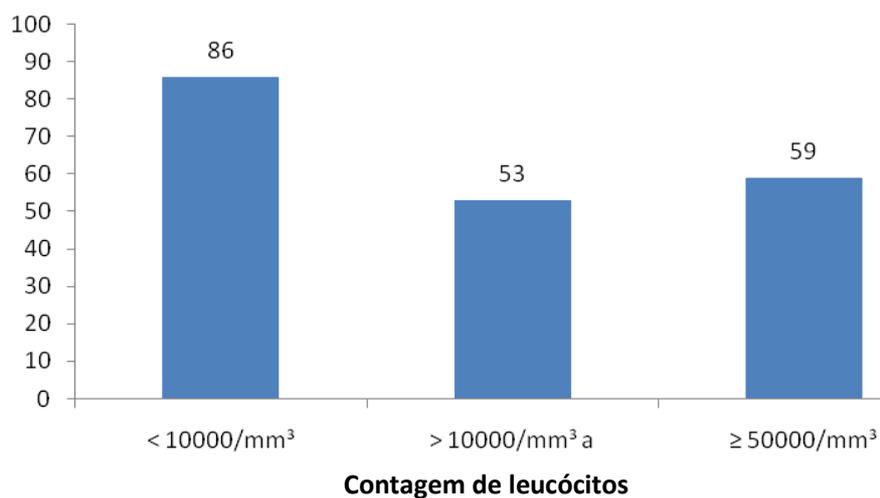


Figura 2: Distribuição dos 198 pacientes com LLA de acordo com a contagem de leucócitos ao diagnóstico

A imunofenotipagem ao diagnóstico foi realizada em 194 pacientes; os resultados estão representados na figura 3.

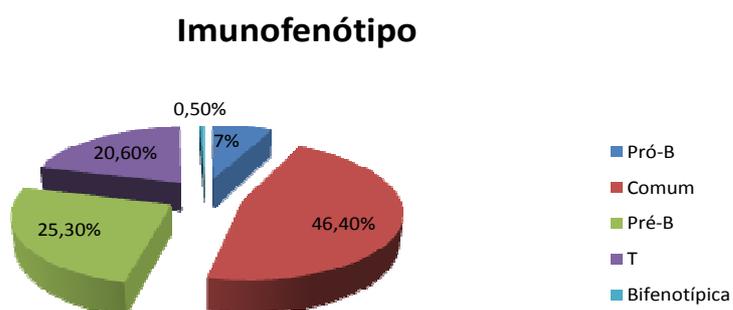


Figura 3: Distribuição dos 194 pacientes com LLA de acordo com a imunofenotipagem ao diagnóstico

4.2. CARACTERIZAÇÃO DO LCR AO DIAGNÓSTICO

Os dados sobre os resultados do primeiro LCR foram encontrados em 194 pacientes. Em dois pacientes os resultados não foram registrados nos prontuários médicos, nem nos livros do laboratório. Três pacientes faleceram antes da primeira punção lombar (PL) com coleta do LCR. A classificação do LCR ao diagnóstico, conforme definido na seção 3.2.2, está representada na tabela 3.

O intervalo entre o diagnóstico e a primeira PL variou de dois a 33 dias (mediana de sete dias). Em 77 pacientes a primeira PL foi realizada após a primeira semana de tratamento. Os principais motivos de atraso da primeira PL foram: hiperleucocitose (29 pacientes), tentativa prévia de punção sem sucesso (7 pacientes), síndrome de lise tumoral (3 pacientes), distúrbio de coagulação (2 pacientes) e varicela (1 paciente). Em 35 pacientes não foi possível determinar a causa do atraso na punção lombar.

Tabela 3: Distribuição dos pacientes de acordo com a classificação do LCR ao diagnóstico

Classificação	Número de pacientes (%)
SNC 1	119 (61%)
SNC 2	2 (1%)
SNC 3	0
PLT <i>negativa</i>	71 (37%)
PLT <i>positiva</i>	2 (1%)
Total	194 (100%)

Em 155 pacientes foram coletados dados sobre o local onde a primeira punção foi realizada. O procedimento foi realizado na enfermaria, sem sedação, em 43% dos pacientes (67/155) e, no bloco cirúrgico sob sedação profunda em 57% (88/155). Das punções realizadas no bloco cirúrgico, 60% (53/88) ocorreram a partir de 2006.

A contagem de plaquetas no momento da primeira PL foi determinada em 158 pacientes e variou de 1.000/mm³ a 482.000/mm³ (mediana de 49.000/mm³). Em 53% dos pacientes (84/158) a PL foi realizada após transfusão de plaquetas.

Dos 194 pacientes em que foram encontrados os dados sobre a primeira PL observou-se que em 38% deles a punção foi traumática (73/194). Estas 73 crianças constituíram o “grupo com punção lombar traumática”, o qual foi comparado com as 121 crianças que constituíram o “grupo sem punção lombar traumática”. Foi avaliada a possível associação entre “punção lombar traumática” e as seguintes variáveis: idade, contagem de leucócitos ao diagnóstico, local onde o procedimento foi realizado (enfermaria ou bloco cirúrgico) e contagem de plaquetas prévia ao procedimento.

Foi observada associação significativa entre idade e PL traumática. A mediana de idade foi de 3,3 anos para os pacientes que apresentaram punção traumática e 6,1 anos para aqueles que não apresentaram ($p=0,0004$).

Para avaliar a relação entre PL traumática e a plaquetometria, os pacientes que receberam transfusão de plaquetas antes do procedimento (84/158) foram excluídos. A mediana da contagem de plaquetas foi de 109.500/mm³ e 96.000/mm³ nos pacientes que apresentaram PL não-traumática e traumática, respectivamente. Não houve diferença significativa da plaquetometria entre os pacientes que tiveram PL traumática ou não ($p=0,56$).

A contagem de leucócitos ao diagnóstico também não se associou à PL traumática ($p=0,30$), com mediana de 10.500/mm³ nos pacientes com punção não-traumática e 13.760/mm³ naqueles com punção traumática. Também não foi observada associação quando a variável “contagem de leucócitos ao diagnóstico” foi categorizada – abaixo de 10.000 células/mm³, entre 10.000 e 50.000 células/mm³, superior ou igual a 50.000/mm³ ($p=0,31$).

Não foi observada associação significativa entre a presença de PL traumática e o local em que a punção foi realizada (bloco cirúrgico *versus* enfermaria, $p=0,24$).

4.3 EVOLUÇÃO DOS PACIENTES

Entre os 199 pacientes diagnosticados com LLA, 191 entraram em remissão (96%). Até o momento da análise dos dados, ocorreram 59 recidivas e 55 óbitos (5 óbitos em remissão e 50 relacionados à doença). A tabela 4 representa a distribuição dos pacientes segundo o local da recidiva. Um dos pacientes classificado ao diagnóstico como SNC2 não entrou em remissão e faleceu seis meses após o diagnóstico (ID58). O outro encontrava-se em remissão no momento da análise dos dados (ID154). Entre os pacientes que apresentaram punção lombar traumática positiva (PLT *positiva*) ao diagnóstico, um deles (ID35) apresentou recidiva medular 12 meses após o diagnóstico e evoluiu para óbito. O outro (ID134) apresentou recidiva ocular isolada após o término da quimioterapia e encontrava-se em tratamento no momento da análise dos dados. Importante ressaltar que os dois grupos de pacientes (classificados como SNC2 e PLT *positiva*) receberam intensificação do tratamento direcionado ao SNC através de maior número de punções com quimioterapia intratecal.

Tabela 4: Distribuição dos pacientes de acordo com o local da recidiva

Local da recidiva	Número de pacientes
Medula óssea	38
Medula óssea + SNC	7
SNC	11
Testículos	1
Ocular	1
Ganglionar	1
Total	59

A probabilidade estimada de SGLO aos 5 anos para todo o grupo foi de 69,5% ($\pm 3,6\%$) (Figura 4).

A probabilidade estimada de SLE aos 5 anos para todo o grupo foi de 58,8% ($\pm 4,0\%$), sendo 76,2% ($\pm 5,4\%$) e 46,6% ($\pm 5,3\%$) para os grupos de baixo e alto risco, respectivamente ($p=0,00002$) (Figuras 5 e 6).

Na categorização da variável "contagem de leucócitos ao diagnóstico", os pacientes foram divididos em três grupos. A probabilidade estimada de SLE para o grupo de pacientes com leucometria inicial abaixo de $10.000/\text{mm}^3$ foi de 73,2% ($\pm 5,6\%$), de 63,4% ($\pm 7,5\%$) para o grupo com contagem de leucócitos entre 10.000 e $50.000/\text{mm}^3$ e de 35,1% ($\pm 7,1\%$) para o grupo com leucometria superior ou igual a $50.000/\text{mm}^3$ ($p=0,00000002$).

Quanto ao intervalo entre o diagnóstico da LLA e a primeira PL, os pacientes foram divididos em dois grupos - punção realizada até sete dias do diagnóstico, conforme preconizado no protocolo GBTLI-99 (grupo 1) *versus* punção realizada oito ou mais dias do diagnóstico (grupo 2). A probabilidade SLE para o grupo 1 foi de 66,2% (5,3%) e de 50,9% (6,2%) para o grupo 2 ($p=0,003$).

Não houve diferença estatisticamente significativa na probabilidade de sobrevida livre de eventos com relação à idade quando consideradas as três categorias - abaixo de um ano, entre um e nove anos, maior ou igual a dez anos ($p=0,45$). Também não houve diferença estatisticamente significativa na SLE quando os pacientes foram agrupados de acordo com o imunofenótipo ($p=0,58$) ou com presença, ou não, de PL traumática ($p=0,4$).

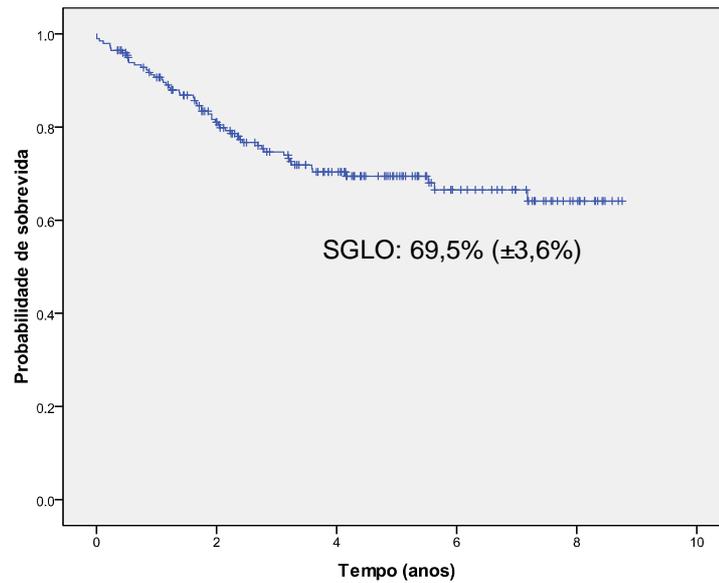


Figura 4: Probabilidade de sobrevivida global (SGLO) para 199 crianças tratadas pelo protocolo GBTLI-LLA99 – As marcas sobre a curva representam o tempo de seguimento de cada um dos pacientes vivos.

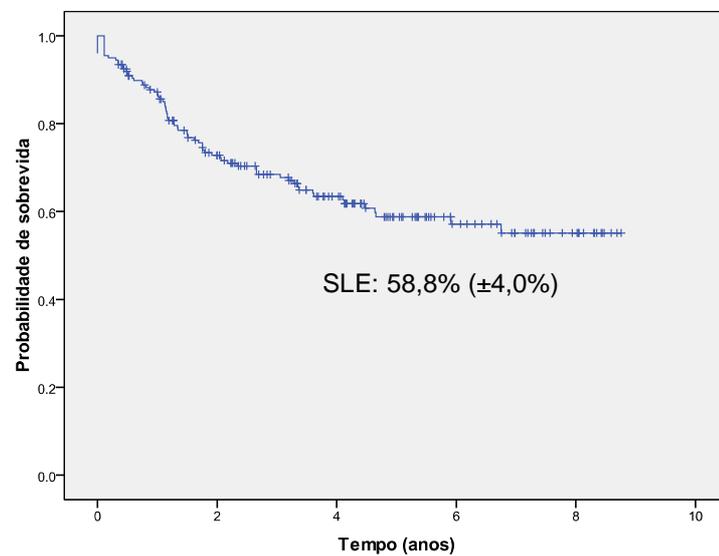


Figura 5: Probabilidade de sobrevivida livre de eventos (SLE) para 199 crianças tratadas pelo protocolo GBTLI-LLA99. As marcas sobre a curva representam o tempo de seguimento de cada um dos pacientes vivos, sem qualquer recaída.

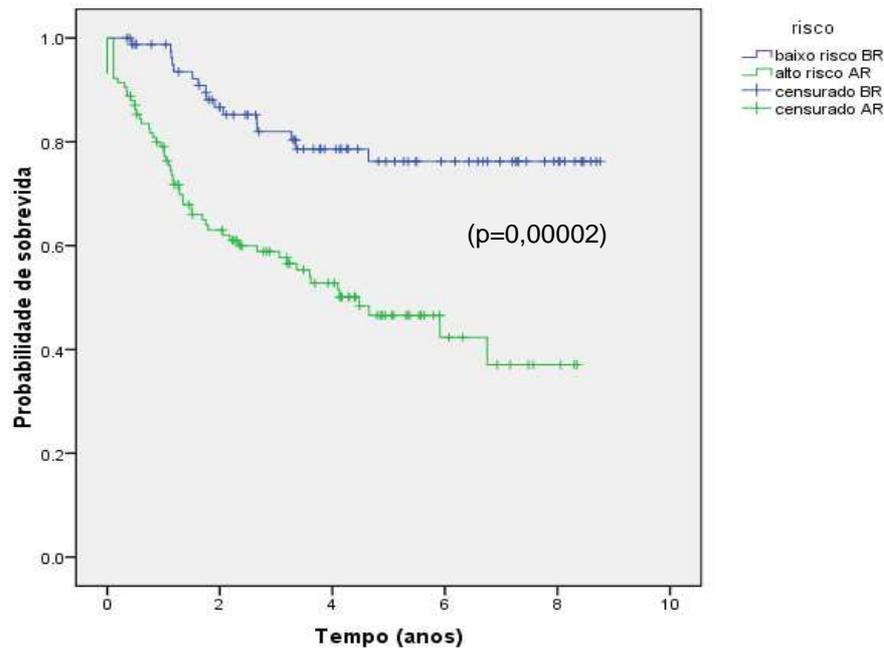


Figura 6: Probabilidade de sobrevida livre de eventos para 199 crianças tratadas pelo GBTLI-LLA99, de acordo com grupo de risco para recaída.

4.4. RECIDIVA EM SNC

A recidiva em SNC ocorreu em 18 (9%) dos 199 pacientes, sendo que em 11 deles ocorreu de forma isolada. A caracterização desses pacientes encontra-se na tabela 5. Os esquemas utilizados para tratamento da recidiva foram variados e não foi objetivo do estudo analisá-los. Dois dos pacientes recidivados foram submetidos ao TMO alogênico com doador aparentado e se encontravam em remissão à data final do estudo.

Até o momento da análise dos dados, ocorreram 12 óbitos, sendo que um dos pacientes estava em remissão (choque séptico).

Entre os pacientes com recidiva, nenhum apresentou infiltração em SNC ao diagnóstico e nenhum deles foi submetido à radioterapia no primeiro tratamento.

Tabela 5: Características dos pacientes com recidiva em SNC

Identificação	Tipo de recidiva	Idade ao diagnóstico (anos)	Leucometria inicial (leucócitos/mm ³)	Imunofenótipo	Citogenética	LCR ao diagnóstico
8	SNC isolada	6,69	539.000	T	NR	PLT <i>negativa</i>
27	SNC isolada	2,2	52.200	COMUM	46,XY,t(1;19)(q23;p13)[16]/46,XY[4]	SNC 1
43	SNC isolada	6,36	90.000	COMUM	SMA	PLT <i>negativa</i>
46	SNC isolada	2,2	3.890	COMUM	46,XX,del(7)(q32),-9,t(9;7)?(p12;q11)([15]/46,XX[2]	SNC 1
49	SNC isolada	4,6	286.000	COMUM	SMA	NE
62	SNC + MO	6,62	92.900	COMUM	46,XY,t(9;22)(q34;q11)[13]/46,XY[2]	SNC 1
66	SNC + MO	14,55	3.400	PRÉ-B	SMA	PLT <i>negativa</i>
75	SNC + MO	10,71	460.000	T	SMA	PLT <i>negativa</i>
82	SNC isolada	5,01	25.100	PRÓ-B	SMA	SNC 1
88	SNC+ MO	0,77	226.000	PRÓ-B	46,XY[10]	PLT <i>negativa</i>
89	SNC isolada	3,41	310.000	PRÓ-B	SMA	SNC 1
91	SNC+ MO	5,2	7.500	PRÉ-B	46,XX[20]	SNC 1

97	SNC+ MO	8,16	12.200	PRÉ-B	46,XX[19]	SNC1
99	SNC isolada	7,35	207.000	COMUM	SMA	SNC 1
108	SNC+ MO	2,64	351.000	T	SMA	PLT <i>negativa</i>
135	SNC isolada	10,10	6.500	COMUM	SMA	SNC 1
160	SNC isolada	11,22	31.480	PRÉ-B	46XY,+X,+1del(1)dep1p(?q12), del(1)(q12q31)ad(4)(q35)ad(8)(q24). 9,del(9p)-12,add(18)(q23)[cp10]/ 46XY[14]	PLT <i>negativa</i>
179	SNC isolada	7,94	620.000	T	SMA	PLT <i>negativa</i>

SNC (sistema nervos central); MO (medula óssea); LCR (líquido cefalorraquidiano); SMA (sem metáfase para análise); NR (não realizado); NE (não encontrado)

A incidência acumulada de recidiva em SNC (isolada ou combinada) para todo o grupo foi de 10,9% em 8 anos (Figura 7). A incidência acumulada de recidiva em SNC isolada para todo o grupo foi de 6,8% em 8 anos.

A incidência acumulada de recidiva em SNC (isolada ou combinada) para o grupo de pacientes com leucemia de linhagem T foi de 12% e de 11,2% no grupo de linhagem B (Figura 8).

Quando os pacientes foram comparados conforme a punção lombar tenha sido traumática ou não, a incidência acumulada de recidiva em SNC foi de 11,8% para o primeiro grupo e de 9,6% para o segundo (Figura 9).

Quanto ao intervalo entre o diagnóstico da LLA e a primeira PL, a incidência acumulada de recidiva em SNC foi de 10,4% tanto no grupo 1 (pacientes com punção realizada até sete dias do diagnóstico) como no grupo 2 (pacientes com punção realizada oito ou mais dias do diagnóstico) (Figura 10).

Em relação à contagem de leucócitos ao diagnóstico, a incidência acumulada de recidiva em SNC (isolada ou combinada) no grupo de pacientes com leucometria acima de $50.000/\text{mm}^3$ foi de 23,0% e de 6,0% no grupo com leucometria abaixo de $50.000/\text{mm}^3$ (Figura 11).

A comparação entre as curvas de incidência acumulada de recidiva no SNC (isolada ou combinada), conforme o imunofenótipo (T *versus* B) ou conforme a punção lombar tenha sido traumática ou atraumática, não parece indicar nenhuma diferença significativa, embora testes estatísticos formais não tenham sido efetuados. Já a comparação entre as crianças com leucometria ao diagnóstico, acima ou abaixo de 50 mil/ mm^3 , parece revelar uma diferença muito acentuada, sendo a incidência acumulada bem mais elevada nas crianças com hiperleucocitose. O teste estatístico formal que deveria ser realizado é o de Gray (1988), para o qual não existe disponível programa estatístico comercial que o calcule. Lançando mão da regressão de Cox como tentativa de aproximação para um teste comparativo, a estatística de Wald resultou em testes altamente significativos ($P < 0,0001$) quando o evento considerado na regressão foi a recidiva no SNC (isolada ou combinada) ou, alternativamente, qualquer tipo de evento

(recidiva ou óbito em remissão). Quando cada um dos eventos foi analisado separadamente (recidiva isolada no SNC, recidiva simultânea no SNC e na medula, recidiva medular isolada ou combinada com outra exceto no SNC, e óbito em remissão), apenas nesta última análise a leucometria ao diagnóstico não foi variável significativa. O conjunto dessas regressões de Cox sugere que a leucometria acima de $50.000/\text{mm}^3$ parece, realmente, ser fator prognóstico significativo na maior incidência de recidiva no SNC.

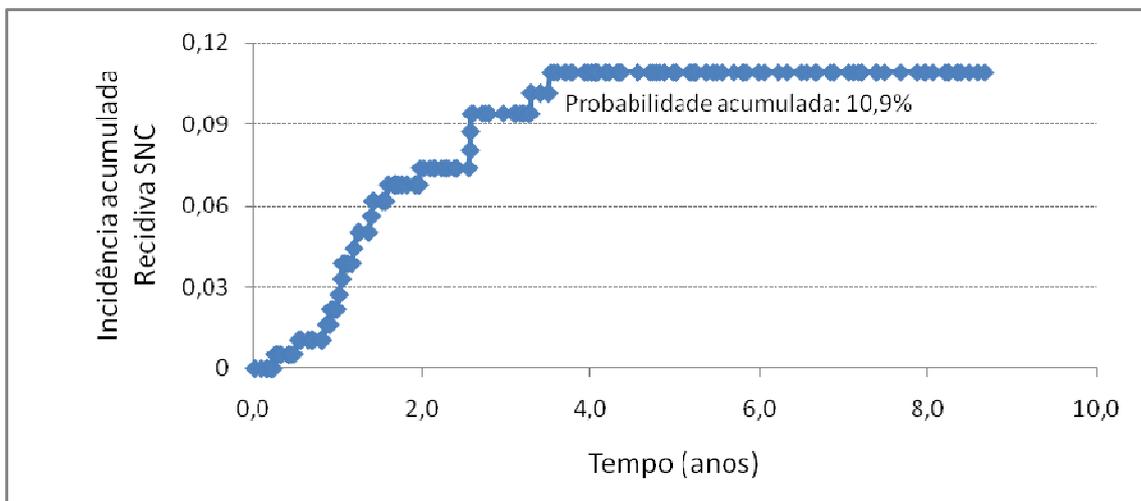


Figura 7: Probabilidade acumulada de recidiva isolada ou combinada no SNC. Ao final de 4 anos a curva se estabiliza em 10,9% (calculada de acordo com GOOLEY et al, 1999).

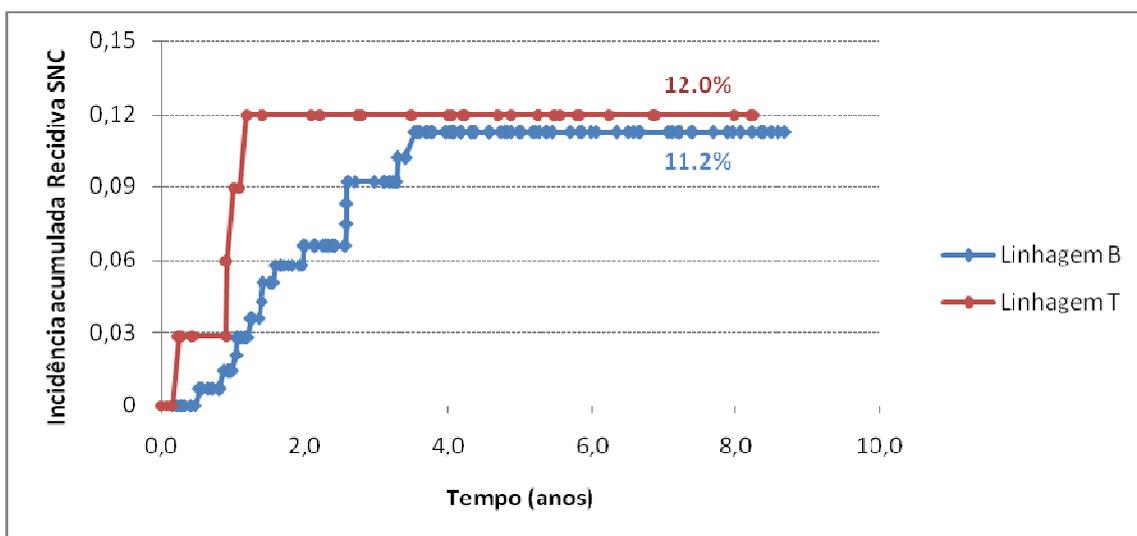


Figura 8: Probabilidade acumulada de recidiva isolada ou combinada no SNC, de acordo com o imunofenótipo T (pontos em vermelho) ou B (losangos em azul). Ao final de 4 anos as curvas se estabilizam em 12,0% e 11,2%, respectivamente (calculadas de acordo com GOOLEY et al, 1999).

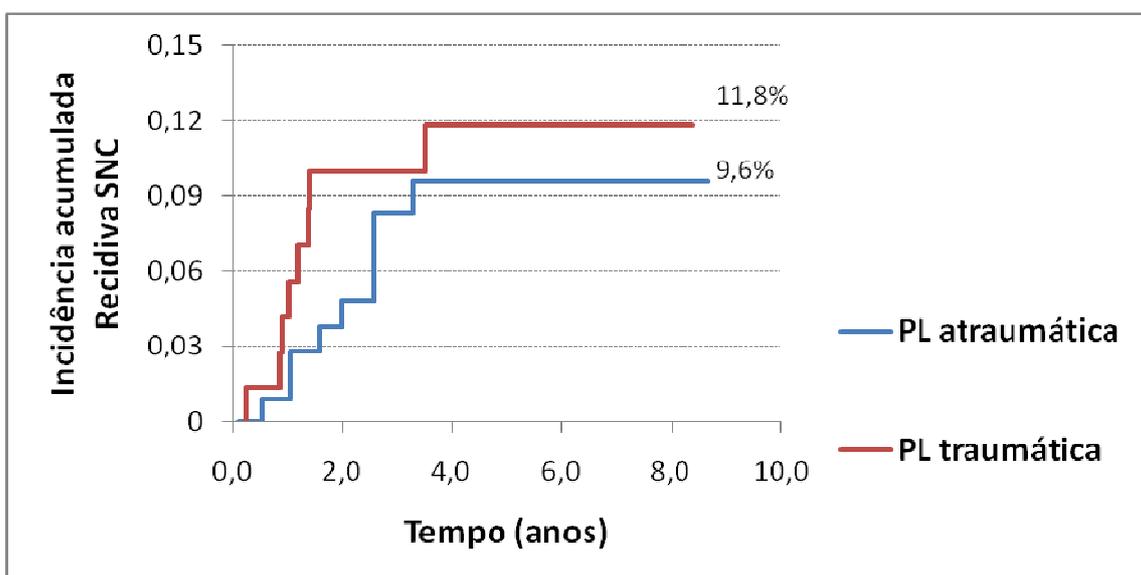


Figura 9: Probabilidade acumulada de recidiva isolada ou combinada no SNC, de acordo com o tipo da punção lombar diagnóstica, traumática (em vermelho) ou atraumática (em azul). Ao final de 4 anos as curvas se estabilizam em 11,8% e 9,6%, respectivamente (calculadas de acordo com GOOLEY et al, 1999).

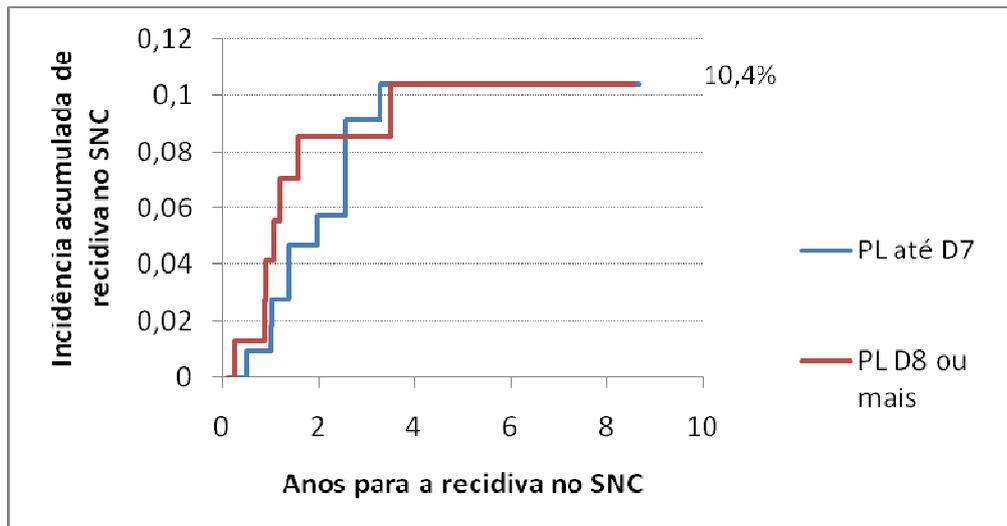


Figura 10: Probabilidade acumulada de recidiva isolada ou combinada no SNC, de acordo com o intervalo entre o diagnóstico da LLA e a realização da primeira PL, realizada até 7 dias do diagnóstico (em azul) ou 8 ou mais dias do diagnóstico (em vermelho). Ao final de 4 anos as curvas se estabilizam em 10,4% para os dois grupos (calculadas de acordo com GOOLEY et al, 1999)

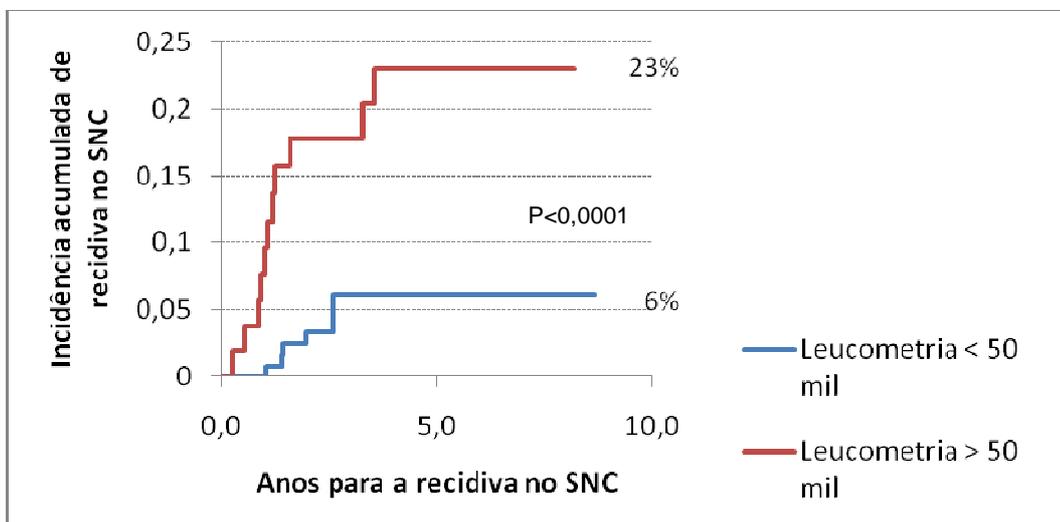


Figura 11: Probabilidade acumulada de recidiva isolada ou combinada no SNC, de acordo com a leucometria ao diagnóstico, > 50mil/mm³ (em vermelho) ou < 50mil/mm³(em azul). Ao final de 4 anos as curvas se estabilizam em 23,0% e 6,0%, respectivamente (calculadas de acordo com GOOLEY et al, 1999)

5. DISCUSSÃO

Este estudo retrospectivo permitiu a análise das características da infiltração no SNC em crianças e adolescentes com LLA, tratados pelo protocolo do GBTLI-LLA99, no Serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da UFMG. Trata-se de avaliação já realizada em vários estudos internacionais (BÜRGER *et al*, 2003; GAJJAR *et al*, 2000; GILCHRIST *et al*, 1994, MANABE *et al*, 2001; PUI, 2006; Te LOO *et al*, 2006) porém com poucos relatos de trabalhos brasileiros (BIOJONE, 2009; RECH *et al*, 2005). É importante que cada serviço conheça a sua casuística e as características da sua população para um melhor entendimento dos resultados dos protocolos terapêuticos, possibilitando o aperfeiçoamento do diagnóstico e da resposta ao tratamento.

Por se tratar de uma avaliação retrospectiva, uma das principais limitações do estudo foi a dificuldade de revisão dos prontuários médicos - que, não raro, apresentavam informações ausentes ou incompletas - e a localização dos dados dos pacientes já falecidos. Outra limitação foi o número de pacientes no estudo.

As características dos pacientes estudados são semelhantes às de outros estudos realizados no Serviço de Hematologia do HC/UFMG e em outros centros nacionais e internacionais de tratamento de LLA.

A proporção de pacientes de acordo com o gênero revelou um discreto predomínio da LLA no sexo masculino (1,3:1). Distribuição semelhante foi observada por Souza (2006) e Viana e colaboradores (1998) em pacientes do Serviço de Hematologia do HC/UFMG. Os dados do GBTLI-LLA93 (SOBOPE, 2000), no qual foram analisados 853 pacientes tratados em diversas cidades brasileiras, mostraram distribuição praticamente igual entre os gêneros feminino e masculino (49% e 51%, respectivamente). Na maioria dos estudos internacionais, ocorre distribuição equivalente dos pacientes conforme o gênero, com discreto predomínio do sexo masculino, principalmente nos pacientes acima de 10 anos de idade e leucemia de linhagem T (PULLEN *et al*, 1999; UCKUN *et al*, 1997).

A faixa etária entre um e nove anos abarcou o maior número de pacientes em todos os estudos de LLA, correspondendo a aproximadamente 80% dos pacientes (Tabela 6). Sabe-se que o pico de incidência de LLA na infância ocorre entre os dois e cinco anos de idade. No presente estudo, a maioria dos pacientes encontrava-se com idade entre um e nove anos ao diagnóstico da LLA (66,3%). No entanto, quando comparado com outros estudos (CONTER *et al*, 2010; KAMPS *et al*, 2010; MITCHELL *et al*, 2010; MÖRICKE *et al*, 2010; SOBOPE, 2000), observou-se maior incidência de pacientes nas faixas etárias relacionadas a pior prognóstico (5,5% menores de um ano e 28,2% acima de 10 anos).

Tabela 6: Distribuição dos pacientes com LLA de acordo com categorias de idade em diferentes estudos

Estudo	< 1 ano	Entre 1 e 9 anos	≥ 10 anos
PUI et al, 2010	34 (4%)	663 (69%)	261 (27%)
SJCRH (1984-1998)			
KAMPS et al, 2010	17 (2%)	716 (82%)	142 (16%)
DCOG (1984-1997)			
MITCHELL et al, 2010	48 (1%)	4328 (79%)	1086 (20%)
UKALL (1980-2001)			
MÖRICKE et al, 2010	149 (3%)	5175 (78%)	1285 (19%)
BFM (1981-2000)			
CONTER et al, 2010	84 (2%)	3956 (82%)	782 (16%)
AEIOP (1982-2000)			
SOBOPE (2000)	23 (2%)	637 (75%)	193 (23%)
GBTLI-LLA93			
CANCELA (2010)	11 (5,5%)	132 (66,3%)	56 (28,2%)

De acordo com o grupo de risco (Anexo 1), observou-se um predomínio de pacientes classificados como de alto risco (1,4:1). Nos estudos internacionais (CONTER *et al*, 2010; ESCHERICH *et al*, 2010; GAYNON *et al*, 2010; KAMPS *et al*, 2010; LIANG *et al*, 2010; MITCHELL *et al*, 2010; MÖRICKE *et al*, 2010; PUI *et al*, 2010; SCHMIEGELOW *et al*, 2010; SILVERMAN *et al*, 2010), quando utilizada a classificação de risco proposta pelo NCI, a maioria dos pacientes com LLA apresenta-se no grupo de risco padrão. Com o advento da pesquisa de DRM, os determinantes para maior risco de recidiva (idade, imunofenótipo e alterações citogenéticas das células leucêmicas, leucometria ao diagnóstico) estão sendo revistos e a presença de DRM passa a ser um dos principais fatores na avaliação do risco de recidiva (CONTER and BARTRAM *et al*, 2010).

A distribuição dos pacientes de acordo com o imunofenótipo mostrou que 20,6% das leucemias eram de linhagem T e 78,7% de linhagem B. Este resultado é semelhante ao encontrado em outros estudos brasileiros (LEITE *et al*, 2007; PAES *et al*, 2003; REGO *et al*, 1996; SOUZA, 2006), e ao observado por STARK e colaboradores (2010) em pacientes israelitas (23%). No entanto, a incidência do imunofenótipo T observada em estudos internacionais, em geral, é menor, variando de 10% a 16% (CONTER *et al*, 2010; ESCHERICH *et al*, 2010; GAYNON *et al*, 2010; KAMPS *et al*, 2010; LIANG *et al*, 2010; MITCHELL *et al*, 2010; MÖRICKE *et al*, 2010; PUI *et al*, 2010; SCHMIEGELOW *et al*, 2010; SILVERMAN *et al*, 2010).

Em relação às análises de sobrevida, observou-se um pior resultado na probabilidade de SLE para o grupo de pacientes estudados (58,8% aos cinco anos), quando comparado com outros centros de tratamento (72% a 81%) (CONTER *et al*, 2010; ESCHERICH *et al*, 2010; GAYNON *et al*, 2010; KAMPS *et al*, 2010; LIANG *et al*, 2010; MITCHELL *et al*, 2010; MÖRICKE *et al*, 2010; PUI *et al*, 2010; SALZER *et al*, 2010; SCHMIEGELOW *et al*, 2010; SILVERMAN *et al*, 2010) e com os resultados do GBTLI-LLA93 (69%) (SOBOPE, 2000) e GBTLI-LLA99 (68,0%) (resultados preliminares - comunicação pessoal).

Conforme referido anteriormente, a população estudada compreendeu maior número de pacientes com fatores de risco sabidamente relacionados à recaída da doença e,

portanto, classificados como de alto risco (58% da casuística). Quando avaliada a SLE separadamente para os grupos de baixo e alto risco, observou-se diferença significativa entre os mesmos ($p=0,00002$). A contagem de leucócitos ao diagnóstico superior ou igual a $50.000/\text{mm}^3$ também foi considerada fator de mau prognóstico ($p= 0,00000002$). LEITE e colaboradores (2007) também observaram a leucometria ao diagnóstico como principal fator associado à pior SLE em 108 pacientes tratados pelo protocolo GBTLI-LLA93, em Pernambuco. Outros fatores de risco para recidiva estabelecidos na literatura, como imunofenótipo T e idade ao diagnóstico abaixo de um ano e acima de nove anos, não foram associados, no presente estudo, com pior SLE. Provavelmente, o número de pacientes com estas características não foi suficiente para se constatar tal diferença. Sabe-se que os resultados do tratamento da LLA nos países em desenvolvimento ainda não é o ideal, porém o predomínio de pacientes no grupo de alto risco para recaída também pode ter contribuído para o pior resultado observado neste estudo.

No presente estudo não foi observado nenhum paciente com a definição clássica de infiltração leucêmica no LCR ao diagnóstico elaborada no *Workshop* de Roma (MASTRANGELO *et al*, 1986), posteriormente reclassificada como SNC3 por Mahmoud e colaboradores (1993).

Em apenas 1% dos pacientes, o LCR ao diagnóstico foi classificado como SNC2 e, em 1%, como PLT positiva. A maioria dos pacientes (98%) não apresentou linfoblastos ao exame morfológico do LCR ao diagnóstico, sendo 61% classificados como SNC1 e 37%, como PLT negativa. Resultado semelhante foi observado por Manabe e colaboradores (2001) em 359 pacientes com LLA: em 351 (97,7%) não foram detectados linfoblastos no exame do LCR ao diagnóstico. Apenas 0,3% dos pacientes foram classificados como SNC3. Ambos os estudos apresentam resultados diferentes da maior parte da literatura, conforme observado na tabela 7. As taxas de incidência de pacientes com infiltração do SNC (SNC3) ao diagnóstico nos estudos brasileiros foram de 1,7% no GBTLI-LLA93 (SOBOPE, 2000) e 2,6% no GBTLI-LLA99 (resultados preliminares - comunicação pessoal), concordantes com o restante da literatura, com taxas variando de 1,6% a 3,2% (CONTER *et al*, 2010; ESCHERICH *et al*, 2010;

GAYNON *et al*, 2010; KAMPS *et al*, 2010; LIANG *et al*, 2010; MITCHELL *et al*, 2010; MÖRICKE *et al*, 2010; PUI *et al*, 2010; SCHMIEGELOW *et al*, 2010; SILVERMAN *et al*, 2010).

Uma das possíveis explicações para tal diferença na incidência de infiltração no SNC ao diagnóstico seria o intervalo entre o diagnóstico da LLA e a realização da primeira PL que, no presente estudo, foi maior do que sete dias em 40% dos pacientes, intervalo semelhante ao de estudo japonês que preconizava a sua realização no oitavo dia de indução em todos os pacientes (MANABE *et al*, 2001). Outro fator que pode ter contribuído para a baixa incidência de infiltração no SNC ao diagnóstico nos pacientes estudados seria a dificuldade de avaliação da presença de linfoblastos no LCR, especialmente diante de hemorragia (observada alta incidência de punção traumática). Mesmo considerando que a quase totalidade dos exames foi realizada por um único profissional, com grande experiência na análise do LCR e, sempre que necessário, reanalisados por médico hematologista, a avaliação do líquido obtido por punção traumática pode ter sido prejudicada.

Tabela 7: Comparação entre a classificação do LCR ao diagnóstico de LLA em diferentes estudos

Estudo	Número de pacientes	SNC1	SNC2	SNC3	PLT <i>negativa</i>	PLT <i>positiva</i>
GAJJAR <i>et al</i> (2000)	546	336 (61,5%)	80 (14,6%)	16 (2,9%)	54 (10%)	60 (11%)
Te LOO <i>et al</i> (2006)	526	304 (57,8%)	111 (21,1%)	10 (1,9%)	39 (7,4%)	62 (11,8%)
BÜRGER <i>et al</i> (2003)	2021	1605 (79,5%)	103 (5%)	58 (2,9%)	111 (5,5%)	135 (6,7%)
MANABE <i>et al</i> (2001)	356	324 (91%)	2 (0,6%)	1 (0,3%)	27 (7,6%)	2 (0,6%)
CANCELA (2010)	194	119 (61%)	2 (1%)	0	71 (37%)	2 (1%)

A avaliação da incidência de PL traumática foi uma preocupação do estudo, visto que o acidente de punção pode interferir no prognóstico dos pacientes com LLA. A punção traumática ao diagnóstico ocorreu em 38% dos pacientes, resultado semelhante ao encontrado por Rech e colaboradores (2005) no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (36%) e por Biojone (2009), no Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto (27%). Em centros de referência internacionais, observa-se menor incidência de punção traumática, com variação de 3,4% a 21% das punções ao diagnóstico (BÜRGER *et al*, 2003; GAJJAR *et al*, 2000; LIANG *et al*, 2010; MANABE *et al*, 2001; PUI *et al*, 2010; SILVERMAN *et al*, 2010; Te LOO *et al*, 2006).

Howard e colaboradores (2001) identificaram fatores de risco para PL traumática. Dentre os fatores por eles identificados, no presente estudo apenas a idade foi associada com trauma de punção (mediana de idade para os pacientes com PL traumática foi de 3,3 anos *versus* 6,1 anos para PL não traumática). Um dos cuidados recomendados pelo SJCRH para evitar a punção traumática é a realização da PL pelo profissional mais experiente, sob sedação. Na avaliação do local onde a punção foi realizada (enfermaria *versus* bloco cirúrgico), não foi encontrada nenhuma associação com acidente de punção. Isso pode ser explicado pelo tamanho da amostra e pelo fato de o HC/UFMG ser um Hospital Universitário, em que, muitas vezes, a punção lombar no bloco cirúrgico é realizada pelo médico residente (da hematologia ou da anestesiologia). Atualmente, no nosso serviço, existe um esforço para que a primeira punção dos pacientes diagnosticados com LLA seja realizada no bloco cirúrgico, sob sedação profunda, pelo médico mais experiente da equipe.

Apesar do grande número de punções traumáticas ao diagnóstico, sua presença não foi associada com pior SLE ($p=0,4$) ou com maior incidência de recidivas em SNC. Rech e colaboradores (2005) também não observaram diferença na SLE entre os pacientes que apresentaram PL traumática ou não. No entanto, ocorreu maior número de recidivas no SNC nos pacientes do grupo de alto risco com PL traumática que receberam quimioterapia intratecal com atraso (após dois dias da primeira punção). A associação do acidente de punção ao diagnóstico com menor probabilidade de SLE foi primeiramente observada por Gajjar e colaboradores (2000) e posteriormente

confirmada em vários estudos (BIOJONE, 2009; BÜRGER *et al*, 2003; Te LOO *et al*, 2006), principalmente nos casos em que havia sido detectada a presença de linfoblastos no LCR (PLT positiva). Porém, com a intensificação do tratamento, tal diferença na SLE pode ser eliminada, conforme já relatado por pesquisadores do SJCRH nos resultados do estudo “Total Therapy XIII B” (PUI *et al*, 2004). Na presente casuística não foi possível avaliar separadamente os pacientes com PLT positiva, pois a amostra era muito pequena (apenas dois pacientes), e os mesmos receberam quimioterapia intratecal intensificada na tentativa de minimizar o risco de recidiva. O mesmo ocorreu com os pacientes classificados como SNC2. Provavelmente por estes motivos, não foi observado pior prognóstico nos pacientes com punção traumática.

Em grande parte dos pacientes estudados (77/194), ocorreu um atraso na primeira punção lombar, que foi realizada após sete dias do diagnóstico da LLA. Na análise da SLE, observou-se pior resultado no grupo de pacientes em que a PL foi realizada após sete dias ($p=0,003$). Deve ser ressaltado que o principal motivo para o adiamento da primeira PL foi a presença de hiperleucocitose. Outras causas citadas como síndrome de lise tumoral e distúrbios de coagulação também sugerem que os pacientes com atraso na PL estariam incluídos no grupo de pacientes classificados como de AR ou com quadro clínico mais grave no momento do diagnóstico. Apesar disso, a incidência acumulada de recidiva no SNC não se alterou com o atraso das punções (10,4%).

Por um lado, o atraso da punção poderia interferir no prognóstico destes pacientes por atrasar, também, a quimioterapia intratecal e por diminuir a possibilidade de detecção de linfoblastos no LCR em pacientes já em tratamento de indução por, pelo menos, uma semana. Rech e colaboradores (2005) observaram, num pequeno número de pacientes, que a quimioterapia intratecal precoce (no dia do diagnóstico) foi um fator protetor contra a recidiva no SNC nos pacientes de alto risco com PL traumática. Por outro lado, o adiamento de procedimentos invasivos no SNC poderia diminuir o risco de introdução iatrogênica de linfoblastos no espaço subaracnóide, por redução das células leucêmicas circulantes no sangue periférico. Este foi o raciocínio utilizado por Manabe e colaboradores (2001), que optaram por realizar a primeira PL no oitavo dia de indução com corticóide. Os autores observaram SLE em seis anos de 68,7% e

incidência acumulada de recidiva no SNC de 5,1% (ressalta-se que 80% dos pacientes foram submetidos a radioterapia).

Em relação aos fatores de risco para recidiva da LLA no SNC observados na literatura (imunofenótipo T, hiperleucocitose, alterações citogenéticas e presença de infiltração no SNC ao diagnóstico), apenas o imunofenótipo e a contagem de leucócitos ao diagnóstico foram avaliados quanto à incidência acumulada de recidiva no SNC.

As alterações citogenéticas não foram avaliadas por ausência deste resultado em 48% dos pacientes (destes, em 33% o exame não foi realizado; em 67%, o material foi inadequado para análise). No entanto, entre os pacientes com recidiva no SNC, um apresentava t(9,22) (ID27), e outro apresentava t(1,19) (ID62) ao diagnóstico da LLA, anormalidades relacionadas com maior risco de recidiva em SNC (PUI *et al*, 2008; JEHA *et al*, 2009).

A presença de infiltração no SNC não foi avaliada como fator prognóstico, pois, conforme relatado anteriormente, nenhum paciente da amostra estudada apresentou tal alteração. A hiperleucocitose foi o único fator associado à maior incidência de recidiva no SNC, quando comparados os pacientes que apresentaram contagem de leucócitos ao diagnóstico maior ou menor que 50.000/mm³. Apesar de a população estudada apresentar maior número de pacientes com imunofenótipo T (20,6%) do que o descrito na literatura, não foi encontrada maior incidência acumulada de recidiva no SNC neste grupo de pacientes quando comparados com os pacientes com LLA de linhagem B. No protocolo de tratamento do GBTLI-LLA99, não é preconizada nenhuma diferença na profilaxia do SNC entre as leucemias de linhagem T e B. Dos pacientes de linhagem B que apresentaram recidiva no SNC (isolada ou combinada), metade apresentava leucometria ao diagnóstico acima de 50.000/mm³.

Até a análise dos dados, 18/199 pacientes (9%) apresentaram recidiva no SNC de forma isolada ou combinada, dado concordante com o resultado geral do GBTLI-LLA99, no qual foi encontrada recidiva no SNC em 8,4% dos pacientes (96/1135) (resultados preliminares - comunicação pessoal). Porém quando avaliada a incidência acumulada de recidiva no SNC (isolada e combinada) para a população estudada

observa-se pior resultado em relação ao resultado geral do GBTLI-LLA99, 10,9% *versus* 6,4%, em oito anos (resultados preliminares - comunicação pessoal). Estes resultados são ruins quando comparados, também, com centros internacionais de tratamento de LLA que apresentam, atualmente, taxas de incidência acumulada de recidiva no SNC (isolada e combinada) variando de 2,3% a 6,8% em cinco anos (CONTER *et al*, 2010; ESCHERICH *et al*, 2010; GAYNON *et al*, 2010; KAMPS *et al*, 2010; LIANG *et al*, 2010; MITCHELL *et al*, 2010; MÖRICKE *et al*, 2010; PUI *et al*, 2010; SCHMIEGELOW *et al*, 2010; SILVERMAN *et al*, 2010).

Quando avaliada apenas a incidência acumulada de recidiva isolada no SNC no presente estudo (6,8% em oito anos), também destaca-se o pior resultado em relação ao GBTLI-LLA99 (4,7% em cinco anos; resultados preliminares - comunicação pessoal) e outros centros de tratamento (0,4% a 4% em cinco anos) (CONTER *et al*, 2010; ESCHERICH *et al*, 2010; GAYNON *et al*, 2010; KAMPS *et al*, 2010; LIANG *et al*, 2010; MITCHELL *et al*, 2010; MÖRICKE *et al*, 2010; PUI *et al*, 2010; SCHMIEGELOW *et al*, 2010; SILVERMAN *et al*, 2010).

O pior resultado observado no presente estudo pode estar relacionado a diversos fatores, e não é possível uma conclusão definitiva. Ressalta-se a alta incidência de pacientes com leucometria maior ou igual a 50.000/mm³ ao diagnóstico (30% da casuística), fator associado a recidiva no SNC e a pior SLE, conforme relatado anteriormente.

Uma das possíveis explicações para a pior SLE observada em relação ao resultado geral do GBTLI-LLA99 (58,8% *versus* 68%) pode ser o fato de que no HC-UFMG não tenha sido disponibilizado o uso da 6-TG conforme determinado pelo protocolo em algumas fases do tratamento (Bloco A, intensificação e consolidação tardia). Na ausência desta medicação, a 6-MP foi utilizada como alternativa, na dose equivalente. Sabe-se que a 6-TG já se mostrou, em diversos estudos, mais eficaz no tratamento da LLA quando comparada à 6-MP, especialmente na prevenção de recidivas no SNC. Seu uso é limitado pela hepatotoxicidade. (ADAMSON *et al*, 1994; HARMS *et al*, 2003; STORK *et al*, 2010; VORA *et al*, 2006). Apesar da pior SLE, o percentual de recidivas no SNC no presente estudo foi semelhante ao do GBTLI-LLA99 (9% *versus* 8,4%).

A suspensão da radioterapia profilática para a maioria dos pacientes, como determinado pelo protocolo GBTLI-LLA99, no qual a radioterapia está indicada apenas para os pacientes com acometimento do SNC ao diagnóstico, também pode ter contribuído para esse resultado. A exclusão da radioterapia profilática na LLA, preconizada pela literatura médica atual, além de proteger o paciente dos seus efeitos deletérios também oferece outras vantagens. A boa resposta dos pacientes com recidiva isolada no SNC que não foram submetidos a RT no tratamento inicial reforça o seu uso na terapia de resgate destes pacientes. A suspensão da RT profilática pode, ainda, permitir um melhor reconhecimento dos fatores de risco diretamente relacionados à recaída no SNC. Por ser a recidiva no SNC um evento competitivo frente à recidiva medular, sua proteção por meio da RT poderia aumentar as recidivas na MO, que, sabidamente, têm pior prognóstico (PUI *et al*, 2009). Assim, a restrição da radioterapia apenas aos pacientes com alto risco de recidiva no SNC parece ser o caminho para o melhor aproveitamento desta modalidade de tratamento, minimizando a exposição desnecessária aos riscos a ela inerentes.

Considerações finais

A abordagem da infiltração no SNC nos últimos 40 anos evoluiu drasticamente, com melhora importante na sobrevida dos pacientes de LLA e redução do acometimento desse sítio extramedular. O presente estudo permitiu a avaliação das recomendações atuais sobre a análise do LCR ao diagnóstico e levantou considerações sobre a profilaxia do SNC na população estudada.

Os seus resultados reforçam a necessidade de intensificação do tratamento direcionado ao SNC nos protocolos brasileiros, especialmente naqueles pacientes com leucometria inicial acima de $50.000/\text{mm}^3$. Além disso, a realização de estudos para melhorar a detecção de células leucêmicas no LCR pode ser de grande utilidade na seleção de pacientes candidatos ao tratamento mais intensivo direcionado ao SNC. Indicam, também, novas direções e linhas de investigação a serem seguidas pelo Serviço de Hematologia do HC/UFMG que, resumidamente, seriam:

1. Elaboração de um protocolo para a primeira punção lombar dos pacientes diagnosticados com LLA, no qual seja recomendado o seguimento rigoroso do prazo estabelecido no protocolo de tratamento para sua realização. Além disso, devem constar orientações sobre o local de realização do procedimento, indicações para sedação, realização por profissional experiente, critérios para transfusão de plaquetas e padronização da análise do LCR.
2. Analisar a evolução das crianças com recidiva da LLA em SNC diagnosticadas e tratadas no Serviço de Hematologia do HC/UFMG e avaliar a influência de fatores prognósticos para a ocorrência de uma segunda recidiva e para a sobrevida global.
3. Inclusão de novos métodos, como imunofenotipagem e técnicas de reação em cadeia de polimerase (PCR), para detecção de células leucêmicas no LCR ao diagnóstico e no momento da recidiva, através de protocolos de pesquisa.
4. Inclusão da avaliação de DRM na medula óssea dos pacientes com recidiva isolada no SNC (ou outro sítio extramedular isolado), também através de protocolos de pesquisa.

6. CONCLUSÕES

- Não foi possível avaliar a evolução dos pacientes de acordo com a classificação do LCR. Não foi observado nenhum paciente com acometimento do SNC ao diagnóstico de acordo com a definição clássica. Apenas 2% dos pacientes apresentaram linfoblastos ao exame morfológico do LCR ao diagnóstico, sendo 1% classificado como SNC2 e 1%, como punção lombar traumática positiva.
- A ocorrência de punção lombar traumática ao diagnóstico foi associada apenas com baixa idade do paciente. O local onde o procedimento foi realizado (bloco cirúrgico *versus* enfermaria), a contagem de plaquetas e a contagem de leucócitos não se associaram com o acidente de punção.
- A sobrevida livre de eventos (SLE) em cinco anos para todo o grupo estudado foi inferior aos resultados internacionais e do próprio GBTLI- LLA93 e 99.
- Os pacientes com leucometria inicial igual ou superior a $50.000/\text{mm}^3$, classificação em grupo de alto risco para recidiva e atraso na realização da primeira punção lombar (acima de sete dias) apresentaram piores resultados em relação à SLE. A idade, o imunofenótipo e a presença, ou não, de punção lombar traumática não influenciaram a SLE no presente estudo.
- A incidência acumulada de recidiva no SNC (isolada ou combinada) no presente estudo encontra-se acima do observado em estudos internacionais.
- Os resultados sugerem que a contagem de leucócitos ao diagnóstico acima de $50.000/\text{mm}^3$ parece, realmente, ser fator prognóstico significativo na maior incidência de recidiva no SNC. As demais variáveis analisadas (imunofenótipo (T *versus* B), o intervalo entre o diagnóstico da LLA e a primeira punção lombar (até sete dias *versus* oito ou mais dias) e a presença ou não de punção traumática) não interferiram na incidência de recidiva no SNC.

7. REFERÊNCIAS

Adamson PC, Poplack DG, Balis FM. The cytotoxicity of thioguanine vs mercaptopurine in acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Res* 1994; 18(11): 805-810.

Aur RJA, Simone J, Hustu HO, Walters T, Borella L, Pratt C, et al. Central nervous system therapy and combination chemotherapy of childhood lymphocytic leukemia. *Blood* 1971; 37(3): 272-281.

Barredo JC, Devidas M, Lauer SJ, Billett A, Marymont M, Pullen J, et al. Isolated CNS relapse of acute lymphoblastic leukemia treated with intensive systemic chemotherapy and delayed CNS radiation: a Pediatric Oncology Group Study. *Journal of Clinical Oncology* 2006; 24(19): 3142-3149.

Biojone, ER. Detecção de doença residual mínima através de técnica de PCR em amostras de líquido cefalorraquidiano de crianças e adolescentes com diagnóstico de leucemia linfóide aguda. 2009. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.

Blaney SM, Poplack DG, Godwin K, McCully CL, Murphy R, Balis FM. Effect of body position on ventricular csf methotrexate concentration following intralumbar administration. *Journal of Clinical Oncology* 1995; 13(1): 177-179.

Bromberg JEC, Breems DA, Kraan J, Bikker G, van der Holt B, Sillevius Smitt P, et al. CSF flow cytometry greatly improves diagnostic accuracy in CNS hematologic malignancies. *Neurology* 2007; 68: 1674-1679.

Buchanan GR. Diagnosis and management of relapse in acute lymphoblastic leukemia. *Hematology Oncology Clinics of North America* 1990; 4(5): 971-995.

Bürger B, Zimmermann M, Mann G, Kühl J, Löning L, Riehm H, et al. Diagnostic cerebrospinal fluid examination in children with acute lymphoblastic leukemia: significance of low leukocyte counts with blasts or traumatic lumbar puncture. *Journal of Clinical Oncology* 2003; 21:184-188.

Campana D. Minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia. *Semin Hematol* 2009; 46(1): 100–106.

Cario G, Izraeli S, Teichert A, Rhein P, Skokowa J, Möricke A, et al. High interleukin-15 expression characterizes childhood acute lymphoblastic leukemia with involvement of the CNS. *J Clin Oncol* 2007; 25(30):4813-4820.

Carroll WL, Bhojwani D, Min DJ, Raetz E, Relling M, Davies S, et al. Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia. *Hematology* 2003; 102-131.

Chessells JM. Central nervous system directed therapy in acute lymphoblastic leukaemia. *Baillière's Clinical Haematology* 1994; 7(2): 349-363.

Clarke M, Gaynon P, Hann I, Harrison G, Masera G, Peto R, et al. CNS-Directed therapy for childhood acute lymphoblastic leukemia: childhood all collaborative group overview of 43 randomized trials. *Journal of Clinical Oncology* 2003; 21(9): 1798-1809.

Conter V, Bartram CR, Valsecchi MG, Schrauder A, Panzer-Grumayer R, Moricke A, et al. Molecular response to treatment redefines all prognostic factors in children and adolescents with B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: results in 3184 patients of the AIEOP-BFM ALL 2000 study. *Blood* 2010, DOI 10.1182/blood-2009-10-248146.

Conter V, Arico M, Basso G, Biondi A, Barisone E, Messina C, et al. Long-term results of the Italian Association of Pediatric Hematology and Oncology (AIEOP) Studies 82, 87, 88, 91 and 95 for childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2010; 24: 255–264.

Eapen M, Zhang M-J, Devidas M, Raetz E, Barredo JC, Ritchey AK, et al. Outcomes after HLA-matched sibling transplantation or chemotherapy in children with acute lymphoblastic leukemia in a second remission after an isolated central nervous system relapse: a collaborative study of the Children's Oncology Group and the Center for International Blood and Marrow Transplant Research. *Leukemia* 2008; 22: 281–286.

Escherich G, Horstmann MA, Zimmermann M, Janka-Schaub GE. Cooperative study group for childhood acute lymphoblastic leukaemia (COALL): long-term results of trials 82,85,89,92 and 97. *Leukemia* 2010; 24, 298–308.

Evans AE, Gilbert ES, Zandstra R. The increasing incidence of central nervous system leukemia in children (Children's Cancer Study Group A). *Cancer* 1970; 26(2): 404-409.

Finn WG, Peterson LC, James C, Goolsby CL. Enhanced detection of malignant lymphoma in cerebrospinal fluid by multiparameter flow cytometry. *American Journal of Clinical Pathology* 1998; 110: 341-346.

Gajjar A, Harrison PL, Sandlund JT, et al. Traumatic lumbar puncture at diagnosis adversely affects outcome in 146 American Society of Hematology childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2000; 96: 3381-3384.

Gaynon PS. Childhood acute lymphoblastic leukemia and relapse. *British Journal of Haematology* 2005; 131: 579-587.

Gaynon PS, Angiolillo AL, Carroll WL, Nachman JB, Trigg ME, Sather HN, et al. Long-term results of the children's cancer group studies for childhood acute lymphoblastic leukemia 1983–2002: A Children's Oncology Group Report. *Leukemia* 2010; 24: 285–297.

Gilchrist GS, Tubergen DG, Sather HN, Coccia PF, O'Brien RT, Waskerwitz MJ, et al. Low numbers of CSF blasts at diagnosis do not predict for the development of CNS leukemia in children with intermediate-risk acute lymphoblastic leukemia: a Children's Cancer Group report. *Journal of Clinical Oncology* 1994; 12: 2594-2600.

Gooley TA, Leisenring W, Crowley J, Storer BE. Estimation of failure probabilities in the presence of competing risks: new representations of old estimators. *Stat Med* 1999; 18: 695-706.

Haas V, Vet RJWM., Verhagen OJHM, Kroes W, van den Berg H, van der Schoot VE. Early detection of central nervous system relapse by polymerase chain reaction in children with B-precursor acute lymphoblastic leukemia. *Ann Hematol* 2002; 81:59–61.

Hagedorn N, Acquaviva C, Fronkova E, von Stackelberg A, Barth A, Stadt U, et al. Submicroscopic bone marrow involvement in isolated extramedullary relapses in childhood acute lymphoblastic leukemia: a more precise definition of "isolated" and its possible clinical implications, a collaborative study of the Resistant Disease Committee of the International BFM study group. *Blood* 2007; 110: 4022-4029.

Hardisty RM, Norman PM. Meningeal leukaemia. *Arch Dis Child* 1967; 42: 441-447.

Harker-Murray PD, Thomas AJ, Wagner JE, Weisdorf D, Luo X, DeFor TE, et al. Allogeneic hematopoietic cell transplantation in children with relapsed acute lymphoblastic leukemia isolated to the central nervous system. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008; 14(6): 685-92.

Harms DO, Göbel U, Spaar HJ, Graubner UB, Jorch N, Gutjahr P, et al. Thioguanine offers no advantage over mercaptopurine in maintenance treatment of childhood ALL: results of the randomized trial COALL-92. *Blood* 2003; 102(8): 2736-2740.

Hegde U, Filie A, Little RF, Janik JE, Grant N, Steinberg SM, et al. High incidence of occult leptomeningeal disease detected by flow cytometry in newly diagnosed aggressive B-cell lymphomas at risk for central nervous system involvement: the role of flow cytometry versus cytology. *Blood* 2005; 105(2): 496-502.

Homans AC, Forman EN, Barker BE. Use of monoclonal antibodies to identify cerebrospinal fluid lymphoblasts in children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1985; 66(6): 1321-1325.

Homans AC, Barker BE, Forman EN, Cornell CJ, Dickerman JD, Truman JT. Immunophenotypic characteristics of cerebrospinal fluid cells in children with acute lymphoblastic leukemia at diagnosis. *Blood* 1990; 76(9):1807-1811.

Howard SC, Gajjar AM, Cheng C, Kritchevsky SB, Somes GW, Harrison PL, et al. Risk Factors for Traumatic and Bloody Lumbar Puncture in Children With Acute Lymphoblastic Leukemia. *JAMA* 2002; 288(16): 2001-2007.

Hustu HO, Aur RJA, Verzosa MS, Simone JV, Pinkel D. Prevention of central nervous system leukemia by irradiation. *Cancer* 1973; 32(3): 585-597.

Igarashi S, Manabe A, Ohara A, Kumagai M, Saito T, Okimoto Y, et al. No advantage of dexamethasone over prednisolone for the outcome of standard- and intermediate-risk childhood acute lymphoblastic leukemia in the Tokyo Children's Cancer Study Group L95-14 protocol. *J Clin Oncol.* 2005; 23(27):6489-98.

Inati A, Sallan SE, Cassady JR, Hitchcock-Bryan S, Clavell LA, Belli JA, et al. Efficacy and morbidity of central nervous system "prophylaxis" in childhood acute lymphoblastic leukemia: eight years' experience with cranial irradiation and intrathecal methotrexate. *Blood* 1983; 61(2): 297-303.

Jacobs SS, Stork LC, Bostrom BC, Hutchinson R, Holcenberg J, Reaman GH, et al. Substitution of oral and intravenous thioguanine for mercaptopurine in a treatment regimen for children with standard risk acute lymphoblastic leukemia: a Collaborative Children's Oncology Group/National Cancer Institute Pilot Trial (CCG-1942). *Pediatr Blood Cancer* 2007; 49:250-255.

Jeha S, Pei D, Raimondi SC, Onciu M, Campana D, Cheng C, et al. Increased risk for CNS relapse in pre-B cell leukemia with the t(1;19)/TCF3-PBX1. *Leukemia* 2009; 23: 1406-1409.

Kamps WA, van der Pal-de Bruin KM, Veerman AJP, Fiocco M, Bierings M, Pieters R. Long-term results of Dutch Childhood Oncology Group studies for children with acute lymphoblastic leukemia from 1984 to 2004. *Leukemia* 2010; 24: 309–319.

Kang H, Chen IM, Wilson CS, Bedrick EJ, Harvey RC, Atlas SR, et al. Gene expression classifiers for relapse-free survival and minimal residual disease improve risk classification and outcome prediction in pediatric B-precursor acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2010; 115 (7): 1394-1405.

Krishnan S, Wade R, Moorman AV, Mitchell C, Kinsey SE, Eden TOB, et al. Temporal changes in the incidence and pattern of central nervous system relapses in children with acute lymphoblastic leukaemia treated on four consecutive Medical Research Council trials, 1985–2001. *Leukemia* 2010; 24: 450–459.

Laningham FH, Kun LE, Reddick WE, Ogg RJ, Morris EB, Pui CH. Childhood central nervous system leukemia: historical perspectives, current therapy, and acute neurological sequelae. *Neuroradiology* 2007; 49(11): 873–888.

Leite EP, Muniz MTC, Azevedo ACAC, Souto FR, Maia ACL, Gondim CMF. Fatores prognósticos em crianças e adolescentes com Leucemia Linfóide Aguda. *Rev. Bras. Saúde Matern. Infant.* 2007; 7 (4): 413-421.

Liang D-C, Yang C-P, Lin D-T, Hung I-J, Lin K-H, Chen J-S, et al. Long-term results of Taiwan Pediatric Oncology Group studies 1997 and 2002 for childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2010; 24: 397–405.

Mahmoud HH, Rivera GK, Hancock ML, Krance RA, Kun LE, Behm FG, et al. Low leukocyte counts with blast cells in cerebrospinal fluid of children with newly diagnosed acute lymphoblastic leukemia. *New England Journal of Medicine* 1993; 329(5): 314-319.

Manabe A, Tsuchida M, Hanada R, Ikuta K, Toyoda Y, Okimoto Y, et al. Delay of the diagnostic lumbar puncture and intrathecal chemotherapy in children with acute lymphoblastic leukemia who undergo routine corticosteroid testing: Tokyo Children's Cancer Study Group Study L89-12. *Journal of Clinical Oncology* 2001; 19(13): 3182-3187.

Manera R, Ramirez I, Mullins J, Pinkel D. Pilot studies of species-specific chemotherapy of childhood acute lymphoblastic leukemia using genotype and immunophenotype. *Leukemia* 2000; 14: 1354–1361.

Mastrangelo R, Poplack D, Bleyer A, Riccadi R, Sather H, D'Angio G. Report and recommendations of the Rome workshop concerning poor-prognosis acute lymphoblastic leukemia in children: biologic basis for staging, stratification, and treatment. *Medical and Pediatric Oncology* 1986; 14: 191-194.

Matloub Y, Lindemulder S, Gaynon PS, Sather H, La M, Broxson E, et al. Intrathecal triple therapy decreases central nervous system relapse but fails to improve event-free survival when compared to intrathecal methotrexate: results of the Children's Cancer Group (CCG) 1952 study for standard-risk acute lymphoblastic leukemia. A report from the Children's Oncology Group. *Blood* 2006; 108(4): 1165-1173.

Mitchell C, Richards S, Harrison CJ, Eden T. Long-term follow-up of the United Kingdom medical research council protocols for childhood acute lymphoblastic leukaemia, 1980–2001. *Leukemia* 2010; 24: 406–418.

Möricke A, Zimmermann M, Reiter A, Henze G, Schrauder A, Gadner H, et al. Long-term results of five consecutive trials in childhood acute lymphoblastic leukemia performed by the ALL-BFM study group from 1981 to 2000. *Leukemia* 2010; 24: 265–284.

Nathan PC, Whitcomb T, Wolters PL, Steinberg SM, Balis FM, Brouwer P, et al. Very high-dose methotrexate (33.6 g/m²) as central nervous system preventive therapy for childhood acute lymphoblastic leukemia: results of National Cancer Institute/Children's Cancer Group trials CCG-191P, CCG-134P and CCG-144P. *Leukemia & Lymphoma* 2006; 47(12): 2488 – 2504.

Nesbit Jr ME, Robison LL, Littman PS, Sather HN, Ortega J, D'Angio GJ, et al. Presymptomatic central nervous system therapy in previously untreated childhood acute lymphoblastic leukaemia: comparison of 1800 rad and 2400 rad. A report for Children's Cancer Study Group. *The Lancet* 1981; 28: 461-465.

Nguyen K, Devidas M, Cheng S-C, La M, Raetz EA, Carroll WL, et al. Factors influencing survival after relapse from acute lymphoblastic leukemia: a Children's Oncology Group study. *Leukemia* 2008; 22: 2142–2150.

Nüchel H, Novotny JR, Noppeney R, Savidou I, Dührsen U. Detection of malignant haematopoietic cells in the cerebrospinal fluid by conventional cytology and flow cytometry. *Clin Lab Haem* 2006; 28: 22-29.

Ochs J, Mulhern R. Long-term sequelae of therapy for childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Baillière's Clinical Haematology* 1994; 7(2): 365-376.

Ortega JA, Nesbit ME, Sather HN, Robison LL, D'Angio GJ, Hammond D. Long-term evaluation of a CNS prophylaxis trial-treatment comparisons and outcome after CNS relapse in childhood ALL: a report from the Childrens Cancer Study Group. *Journal of Clinical Oncology* 1987; 5(10): 1646-1654.

Paes CA, Viana MB, Freire RV, Martins-Filho OA, Taboada DC, Rocha VG. Direct association of socio-economic status with T-cell acute lymphoblastic leukaemia in children. *Leukemia Research* 2003; 27: 789–794.

Pieters R, Carroll WL. Biology and treatment of acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Clin N Am* 2008; 55:1–20.

Pieters R, Carroll WL. Biology and treatment of acute lymphoblastic leukemia. *Hematology Oncology Clinics of North America* 2010; 24: 1–18.

Pine SR, Yin C, Matloub YH, Sabaawy HE, Sandoval C, Levendoglu-Tugal O, et al. Detection of central nervous system leukemia in children with acute lymphoblastic leukemia by real-time polymerase chain reaction. *Journal of Molecular Diagnostics* 2005; 7(1): 127-132.

Pinkel D, Woo S. Prevention and treatment of meningeal leukemia in children. *Blood* 1994; 84(2): 355-366.

Pochedly C. Prevention of meningeal leukemia. *Hematology Oncology Clinics of North America* 1990; 4(5): 951-969.

Price R, Johnson WW. The central nervous system in childhood leukemia: I. The arachnoid. *Cancer* 1973; 31(3): 520-533.

Pui CH. Toward optimal central nervous system-directed treatment in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Journal of Clinical Oncology* 2003; 21(2): 179-181.

Pui CH, Schrappe M, Ribeiro RC, Niemeyer CM. Childhood and adolescent lymphoid and myeloid leukemia. *Hematology* 2004: 118-145.

Pui CH, Sandlund JT, Pei D, Campana D, Rivera GK, Ribeiro RC, et al. Improved outcome for children with acute lymphoblastic leukemia: results of Total Therapy Study XIII B at St Jude Children's Research Hospital. *Blood* 2004; 104(9): 2690-2696.

Pui CH. Central nervous system disease in acute lymphoblastic leukemia: prophylaxis and treatment. *Hematology* 2006; 142-146.

Pui CH, Relling MV, Evans WE. Is mega dose of methotrexate beneficial to patients with acute lymphoblastic leukemia? *Leukemia & Lymphoma* 2006; 47(12): 2431 – 2432.

Pui CH, Evans WE. Treatment of Acute Lymphoblastic Leukemia. *The New England Journal of Medicine* 2006; 354: 166-178.

Pui CH, Howard SC. Current management and challenges of malignant disease in the CNS in paediatric leukaemia. *Lancet Oncol* 2008; 9: 257–68.

Pui CH. Prophylactic cranial irradiation: going, going, gone. *The Lancet Oncology* 2009; 10: 932-933.

Pui, CH, Campana, D, Pei D, Bowman WP, Sandlund JT, Kaste SC, et al. Treatment of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia Without Prophylactic Cranial Irradiation. *N Engl J Med.* 2009; 360(26): 2730–2741.

Pui CH, Pei D, Sandlund JT, Ribeiro RC, Rubnitz JE, Raimondi SC, *et al.* Long-term results of St Jude Total Therapy Studies 11, 12, 13A, 13B, and 14 for childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2010; 24: 371–382.

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 lymphocytic leukemia (ALL), as compared to those with B-precursor ALL. A Pediatric Oncology Group (POG) study. *Leukemia* 1999; 13: 1696–1707.

Ravandi F, Cortes J, Estrov Z, Thomas D, Giles FJ, Huh YO, et al. CD56 expression predicts occurrence of CNS disease in acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia Research* 2002; 26: 643–649.

Rech A, De Carvalho GP, Meneses CF, Hankins J, Howard S, Brunetto AL. The influence of traumatic lumbar puncture and timing of intrathecal therapy on outcome of pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Pediatric Hematology Oncology* 2005; 22(6): 483-488.

Rego EM, Garcia AB, Viana SR, Falcão RP. Characterization of acute lymphoblastic leukemia subtypes in brazilian patients. *Leukemia Research* 1996; 20(4): 349-355.

Reiter A, Schrappe M, Ludwig WD, Hiddemann W, Sauter S, Henze G, et al. Chemotherapy in 998 unselected childhood acute lymphoblastic leukemia patients. Results and conclusions of the multicenter trial ALL-BFM 86. *Blood* 1994; 84: 3122–3133.

Ribeiro RC, Rivera GK, Hudson M, Mulhern RK, Hancock ML, Kun L, et al. An intensive re-treatment protocol for children with an isolated CNS relapse of acute lymphoblastic leukemia. *Journal of Clinical Oncology* 1995; 13(2): 333-338.

Rimm IJ, Li FC, Tarbell NJ, Winston KR, Sallan SE. Brain tumors after cranial irradiation for childhood acute lymphoblastic leukemia a 13-year experience from the Dana-Farber Cancer Institute and The Children's Hospital. *Cancer* 1987; 59:1506-1508.

Ritchev K, Pollock BH, Lauer SJ, Andejeski Y, Buchanan GR. Improved survival of children with isolated CNS relapse of acute lymphoblastic leukemia: a Pediatric Oncology Group Study. *Journal of Clinical Oncology* 1999; 17(12): 3745-3752.

Salzer WL, Devidas M, Carroll WL, Winick N, Pullen J, Hunger SP, et al. Long-term results of the pediatric oncology group studies for childhood acute lymphoblastic leukemia 1984–2001: a report from the children's oncology group. *Leukemia* 2010; 24: 355–370.

Sayed D, Badrawy H, Ali AM, Shaker S. Immunophenotyping and immunoglobulin heavy chain gene rearrangement analysis in cerebrospinal fluid of pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia Research* 2009; 33:655–661.

Schinstine M, Filie AC, Wilson W, Stetler-Stevenson M, Abati A. Detection of malignant hematopoietic cells in cerebral spinal fluid previously diagnosed as atypical or suspicious. *Cancer (Cancer Cytopathology)* 2006; 108(3): 157-162.

Schmiegelow K, Forestier E, Hellebostad M, Heyman M, Kristinsson J, Söderhäll S, et al. Long-term results of NOPHO ALL-92 and ALL-2000 studies of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* (2010) 24, 345–354.

Schrappe M, Reiter A, Ludwig WD, Harbott J, Zimmermann M, Hiddemann W, et al. Improved outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia despite reduced use of anthracyclines and cranial radiotherapy: results of trial ALL-BFM 90. *Blood* 2000; 95(11): 3310-3322.

Schrappe M. Risk-adapted stratification and treatment of childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Radiation Protection Dosimetry* 2008; 132(2): 130–133.

Scrideli CA, Queiroz RP, Takayanagui OM, Bernardes JE, Melo EV, Tone LG. Molecular diagnosis of leukemic cerebrospinal fluid cells in children with newly diagnosed acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica* 2004; 89(8): 1013-1015.

Scrideli CA, Queiroz RP, Kashima S, Sankarankutty BO, Tone LG. T cell receptor γ rearrangements in Brazilian children with acute lymphoblastic leukemia: a analysis and implications for the study of minimal residual disease. *Leukemia Research* 2004; 28: 267-273.

Scrideli CA, Assumpção JG, Ganazza MA, Araújo M, Toledo SR, Lee MLM, *et al.* A simplified minimal residual disease polymerase chain reaction method at early treatment points can stratify children with acute lymphoblastic leukemia into good and poor outcome groups. *Haematologica* 2009; 94(6): 781-789.

Seibel NL. Treatment of acute lymphoblastic leukemia in children and adolescents: peaks and pitfalls. *Hematology* 2008: 374-380.

Silverman LB, Stevenson KE, O'Brien JE, Asselin BL, Barr RD, Clavell L, *et al.* Long-term results of Dana-Farber Cancer Institute ALL Consortium protocols for children with newly diagnosed acute lymphoblastic leukemia (1985–2000). *Leukemia* (2010) 24, 320–334.

Sociedade Brasileira de Oncologia Pediátrica. Protocolo de Tratamento da Leucemia Linfoblástica Aguda na Infância- GBTLI-LLA-1999. Campinas; 2000.

Souza C. Recidiva da leucemia linfoblástica na criança: experiência do Serviço de Hematologia do Hospital das clínicas da UFMG (1988-2005). 2006. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2006.

Stark B, Nirel R, Avrahami G, Abramov A, Attias D, Ballin A, *et al.* Long-term results of the Israeli National Studies in childhood acute lymphoblastic leukemia: INS 84, 89 and 98. *Leukemia* (2010) 24, 419–424;

Stork LC, Matloub Y, Broxson E, La M, Yanofsky R, Sather H, *et al.* Oral 6-mercaptopurine vs. Oral 6-thioguanine and veno-occlusive disease in children with standard risk acute lymphoblastic leukemia: report of the Children's Oncology Group CCG-1952 clinical trial. *Blood* 2010, DOI: 10.1182/blood-2009-07-230656.

Subirá D, Castañón S, Román A, Aceituno E, Jiménez-Garófano C, Jiménez A, et al. Flow cytometry and the study of central nervous disease in patients with acute leukemia. *British Journal of Haematology* 2001; 112: 381-384.

Sullivan MP, Moon TE, Trueworthy R, Vietti TJ, Humphrey GB, Komp D. Combination intrathecal therapy for meningeal leukemia: two versus three drugs. *Blood* 1977; 50(3): 471-479.

Te Loo DM, Kamps WA, van der Does-van den Berg A, van Wering ER, Graaf SSN. Prognostic significance of blasts in the cerebrospinal fluid without pleiocytosis or a traumatic lumbar puncture in children with acute lymphoblastic leukemia: experience of the Dutch Childhood Oncology Group. *Journal Clinical Oncology* 2006; 24(15): 2332-2336.

Uckun FM, Gaynon PS, Sensel MG, et al. Clinical features and treatment outcome of childhood T-lineage acute lymphoblastic leukemia according to the apparent maturational stage of T lineage leukemic blasts: A Children's Cancer Group study. *Journal of Clinical Oncology* 1997; 15: 2214–2221.

Ünal S, Tuncer AM, Çetin M, Yetgin S. The absence of peripheral blood blasts at diagnosis may predict CNS involvement or CNS relapse in pediatric acute lymphoblastic leukemia patients. *The Turkish Journal of Pediatrics* 2008; 50: 537-541.

Veerman AJ, Kamps WA, van den Berg H, van den Berg E, Bökkerink JPM, Bruin MCA, et al. Dexamethasone-based therapy for childhood acute lymphoblastic leukaemia: results of the retrospective Dutch Childhood Oncology Group (DCOG) protocol ALL-9 (1997–2004). *Lancet Oncol* 2009; 10: 957–66.

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: Supplement* 1998; 11: 56–61.

Vilmer E, Suciú S, Ferster A, Bertrand Y, Cavé H, Thyss A, et al. Long-term results of three randomized trials (58831, 58832, 58881) in childhood acute lymphoblastic leukemia: a CLCG-EORTC report. *Leukemia* 2000; 14: 2257–2266.

Vora A, Mitchell CD, Lennard L, Eden TOB, Kinsey SE, Lilleyman J, et al. Toxicity and efficacy of 6-thioguanine versus 6-mercaptopurine in childhood lymphoblastic leukaemia: a randomised trial. *Lancet* 2006; 368: 1339–48.

West RJ, Graham-Pole J, Hardisty RM, Pike MC. Factors in pathogenesis of central nervous system leukaemia. *British Medical Journal* 1972; 3: 311-314.

Yoshihara T, Morimoto A, Kuroda H, Imamura T, Ishida H, Tsunamoto K, et al. Allogeneic stem cell transplantation in children with acute lymphoblastic leukemia after isolated central nervous system relapse: our experiences and review of the literature. *Bone Marrow Transplantation* 2006; 37: 25–31.

Ziegler DS, Dalla Pozza L, Waters KD, Marshall GM. Advances in childhood leukaemia: successful clinical-trials research leads to individualised therapy. *MJA* 2005; 182(2): 78-81.

APÊNDICES

Apêndice A

TCLE 1

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO INFORMAÇÕES DOS PESQUISADORES AOS REPRESENTANTES LEGAIS

Pacientes diagnosticados no período de março de 2001 a agosto de 2009

Título da pesquisa: Caracterização e evolução das crianças com infiltração líquórica pela leucemia linfocítica aguda: um estudo retrospectivo (março/2001 a março/2008) e prospectivo no Serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da UFMG.

Antes de você aceitar participar desta pesquisa é necessário que você compreenda as explicações a seguir. Esta declaração esclarece o objetivo, procedimentos, benefícios, riscos, desconfortos e cuidados durante o estudo. Também estabelece o seu direito de desistir de sua participação a qualquer momento.

Os pacientes com diagnóstico de leucemia linfocítica aguda (LLA) podem apresentar infiltração do Sistema Nervoso Central pela doença. A presença de alterações causadas pela leucemia no Sistema Nervoso Central pode ocorrer no momento do diagnóstico ou quando há recaída da doença.

Esta pesquisa tem como objetivo avaliar a presença de infiltração do Sistema Nervoso Central nas crianças com LLA, caracterizar o tipo de infiltração e a evolução dessas crianças. Queremos também introduzir um novo exame, que parece auxiliar no diagnóstico da infiltração do Sistema Nervoso Central pela leucemia. Esse novo exame é chamado imunofenotipagem. Pretendemos verificar se a realização desse exame auxiliará no diagnóstico mais precoce da infiltração do Sistema Nervoso Central.

Como seu filho, ou do paciente pelo qual você é responsável, já se encontra em tratamento, caso concorde com a sua participação na pesquisa você estará dando o seu consentimento para que os prontuários médicos do paciente sejam consultados

pelos pesquisadores para obtenção de dados clínicos (diagnóstico, tipo de tratamento, resposta ao tratamento) e laboratoriais (resultados de exames).

O exame de imunofenotipagem somente será realizado para pacientes admitidos no estudo a partir de abril de 2008 e que não tenham iniciado o tratamento. Os benefícios da utilização desse exame ainda não estão comprovados.

O tratamento do paciente não será alterado em função da pesquisa. O paciente continuará a ser atendido no Serviço, sem prejuízo ao seu cuidado, mesmo que não concorde com a sua inclusão no estudo ou, ainda, que desista de participar em qualquer momento. Você e seu filho não receberão remuneração por participar do estudo.

A sua participação é muito importante. Esperamos que os resultados dessa pesquisa ajudem a melhorar o tratamento e as chances de cura dos pacientes com leucemia. Os dados coletados neste trabalho serão confidenciais. Apenas os responsáveis pela pesquisa terão acesso aos dados coletados.

Nós responderemos a qualquer questão relativa ao estudo, agora ou em qualquer momento que for necessário. Os telefones de contato do Serviço de Hematologia são os seguintes: 34099397 e 34099207. Os nomes dos pesquisadores responsáveis são: Dr^a Camila Silva Peres Cancela e Prof^a Benigna Maria de Oliveira. Você também poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (Avenida Antônio Carlos, 6627, Unidade Administrativa II, 2º andar, sala 2005. Telefone 34094592).

CONSENTIMENTO PÓS-INFORMADO

Eu, _____ abaixo assinado, declaro que após ter sido convenientemente esclarecido sobre a pesquisa "**Caracterização e evolução das crianças com infiltração liquórica pela leucemia linfocítica aguda: um estudo retrospectivo (março/2001 a março/2008) e prospectivo no Serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da UFMG**", consinto em participar na qualidade de responsável pelo paciente-----, até que eu decida em contrário.

Belo Horizonte, ____ de _____ de 200__

Assinatura do responsável: _____

Assinatura do paciente (crianças de 7 a 12 anos): _____

Assinatura do pesquisador: _____

TCLE 2**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO****INFORMAÇÕES DOS PESQUISADORES AO PACIENTE****Pacientes diagnosticados no período de março de 2001 a agosto de 2009**

Título da pesquisa: Caracterização e evolução das crianças com infiltração líquórica pela leucemia linfocítica aguda: um estudo retrospectivo (março/2001 a março/2008) e prospectivo no Serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da UFMG.

Antes de você aceitar participar desta pesquisa é necessário que você compreenda as explicações a seguir.

Durante o seu tratamento você faz um exame chamado punção lombar. Durante esse exame será colhido um líquido que vem do seu Sistema Nervoso Central. Esse exame é feito para verificar se existem sinais da sua doença neste líquido.

Caso você e seus pais, ou responsáveis, concordem com a participação na pesquisa, o seu prontuário médico (ficha médica) será consultado pelos pesquisadores para que eles obtenham informações sobre os resultados de seus exames e do seu tratamento. O seu tratamento não será modificado.

Você continuará a ser atendido no Serviço, sem prejuízo ao seu cuidado, mesmo que não concorde com a sua participação no estudo ou, ainda, que desista de participar em qualquer momento. A sua participação é muito importante. Apenas os responsáveis pela pesquisa terão acesso aos seus dados.

Nós responderemos a qualquer dúvida que você tiver sobre a pesquisa. Os telefones de contato do Serviço de Hematologia são os seguintes: 34099397 e 34099207. Os nomes dos pesquisadores responsáveis são: Dr^a Camila Silva Peres Cancela e Prof^a Benigna Maria de Oliveira. Você também poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (Avenida Antônio Carlos, 6627, Unidade Administrativa II, 2^o andar, sala 2005. Telefone 34094592).

CONSENTIMENTO PÓS-INFORMADO

Eu, _____ abaixo assinado, declaro que entendi as informações sobre a pesquisa “**Caracterização e evolução das crianças com infiltração liquórica pela leucemia linfocítica aguda: um estudo retrospectivo (março/2001 a março/2008) e prospectivo no Serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da UFMG**”, consinto em participar na qualidade de paciente, até que eu decida em contrário.

Belo Horizonte, ____ de _____ de 200__

Assinatura do paciente (idade \geq 13 anos): _____

Assinatura do pesquisador: _____

Apêndice B

Viana MB, Oliveira BM, Cancela CSP. Kaplan–Meier method is inappropriate for estimating cumulative incidence of graft-versus-host disease in the presence of competing events. *American Journal of Hematology*. Published online 16 February 2010 in Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com). DOI: 10.1002/ajh.21681

Kaplan–Meier method is inappropriate for estimating cumulative incidence of graft-versus-host disease in the presence of competing events

To the Editor: As clinicians and researchers in Pediatric Hematology we have read with much interest the article that appeared in 2008 in the Journal [1].

We noticed that the authors, as stated in the corresponding statistical section, estimated the probability of acute and chronic graft-versus-host disease (GvHD) by the Kaplan–Meier method. The figures for these cumulative incidence of GvHD were 37 and 17%, respectively. Our point is that they are overestimated.

We feel, as others [2–4], that using the complement of the Kaplan–Meier estimate (1-KM) in this setting is inappropriate because patients who fail of competing risks (death or graft rejection) are treated as censored observations, similar to those who are alive and event-free. If a patient fails from a competing event, GvHD is no longer possible. In other words, failures from competing risks reduce the number of patients at risk of failure from GvHD, as pointed out by Kalbfleisch and Prentice [5].

Let us illustrate the point with our own data on central nervous system (CNS) relapse for children treated with the Brazilian protocol GBTLI-99 (unpublished data). The protocol has been briefly described in reference [6]. Out of 199 children who were enrolled in our institution from March 2001 to August 2009, 191 entered into remission and were analyzed for CNS

relapse as their first event. Failures were classified as: (a) isolated CNS relapse: 11 children; (b) simultaneous CNS and marrow relapses: 7; (c) other isolated or combined relapses: 41; and (d) death in remission: 5 children. Categories a and b are the events of interest for this analysis and the remaining should be considered competing events.

Figure 1A illustrates the estimates based on the 1-KM method, calculated with SPSS® software, and Fig. 1B those based on the formula given on page 700 by [2], manually calculated (supporting information table available online) with the aid of a simple Excel (Microsoft®) sheet because commercially available programs do not include this option. Adapting our data to the examples given by Kim in his excellent paper [4], in the second method, unlike the KM method, only children who were alive and relapse-free were considered at risk for CNS primary relapse (first term of the formula given in [2]); children first relapsing in non-CNS sites and those who died in remission were counted as events when calculating event-free survival (second term of the formula).

The difference between the two estimates is about 20% (12.9 vs. 10.9%, respectively). It could be larger if the incidence of CNS relapses were higher and, very importantly, if more competing-risk events preceded occurrences of CNS relapses. If all competing events had occurred after the last CNS relapse, or no competing events were present, the alternative calculations would give identical results.

In conclusion the calculated incidences of GvHD in Di Bartolomeo's report [1] are surely overestimated because there were 8 graft rejections and 12 deaths, competing events that had occurred the majority of them before the episodes of GvHD. It is not possible to calculate how much Bartolomeo's estimates would change without having his primary data. Testing the difference of incidence of acute GvHD, according to the used prophylactic protocol, with the log-rank statistic ($p = 528$) is inadequate for the same reason. Gray's method would be an adequate way of testing differences [4]. We feel that appropriate methods should have been used because cumulative incidences of GvHD are significantly influenced by the presence of competing events.

MARCOS B. VIANA*
BENIGNA M. OLIVEIRA
CAMILA S.P. CANCELA

Departamento de Pediatria, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

*Correspondence to: Marcos B. Viana, Departamento de Pediatria, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

E-mail: vianamb@gmail.com

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article.

Published online 16 February 2010 in Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com).

DOI: 10.1002/ajh.21681

Conflict of interest: Nothing to report.

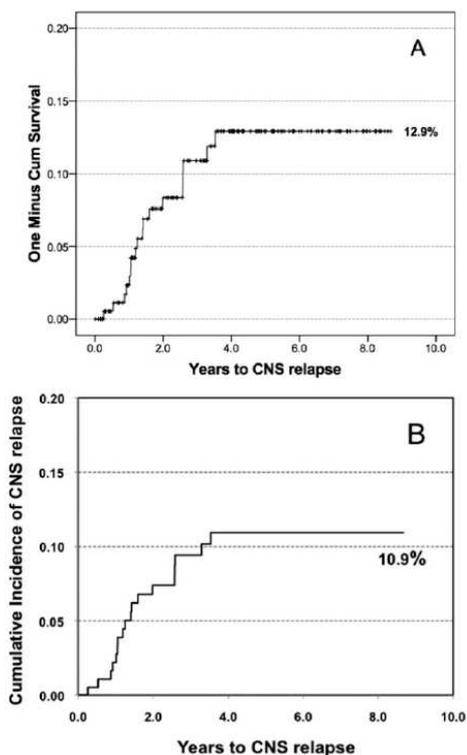


Fig 1. Estimates of central nervous system (CNS) relapse (isolated or simultaneous with bone marrow relapse) in 191 children with ALL treated with the Brazilian GBTLI-99 protocol; A: Kaplan–Meier method; B: Kalbfleisch and Prentice method [5].

© 2010 Wiley-Liss, Inc.

American Journal of Hematology

1

<http://www3.interscience.wiley.com/cgi-bin/jhome/35105>

Apêndice C

Banco de Dados (em CD-ROM)

Legenda:

Ident - Número de identificação

Risco - Grupo de risco (código: 1: baixo risco; 2: alto risco)

IdadeDX - Idade ao diagnóstico em anos

cat.idade - 1: < 1 ano; 2: ≥ 1 ano < 10 anos; 3: ≥ 10 anos

sle - Sobrevida livre de eventos

rcc - Tempo de remissão clínica completa

sglo - Sobrevida Global

cens1 - Variável de censura para sobrevida livre de eventos (código: 0: paciente censurado na data da análise dos resultados porque não ocorreu qualquer evento; 1: ocorrência de evento – óbito ou recidiva)

cens2 - Variável de censura para sobrevida global (código: 0: paciente censurado na data da análise dos resultados porque estava vivo; 1: ocorrência do óbito)

leuini - Leucometria global ao diagnóstico

cat.leuin – 1: < 10.000; 2: ≥ 10.000 < 50.000; 3: ≥ 50.000

sexo - 1: masculino; 2: feminino

Imunofenótipo - 1: pró-B; 2: CALLA ou comum; 3: pré-B; 4: T; 5: bifenotípica

CLASS LQR - Classificação do LCR ao diagnóstico (código: 1: SNC 1; 2: SNC 2; 3: SNC 3; 4: PLT *negativa*; 5: PLT *positiva*)

PLTsxn - Punção lombar traumática (código: 0: não; 1: sim)

Local recidiva - Local da recidiva (código: 0: ausência de recidiva; 1: medula óssea; 2: medula óssea + SNC; 3: SNC; 4: testículos; 5: ocular; 6: ganglionar)

Tiprecid - Local da recidiva de acordo com acometimento do SNC (código: 0: ausência de recidiva; 1: SNC puro; 2: medula óssea + SNC; 3: outras recidivas, sem acometimento do SNC; 4: morte em remissão)

Censnc - Variável de censura para recidiva em SNC (código: 0: paciente censurado na data da análise dos resultados porque não apresentou recidiva em SNC; 1: ocorrência de recidiva em SNC - isolada ou combinada).

PLAQUETAS - Número de plaquetas no sangue periférico quando da primeira punção lombar

TX PLAQ - Transfusão de plaquetas previamente a primeira punção lombar (código: 0: não; 1: sim)

LOCAL PL - Local de realização da primeira punção lombar (código: 1:enfermaria; 2: bloco cirúrgico)

INT DIAG/LQR - Intervalo entre o diagnóstico de leucemia e a primeira punção lombar (em dias)

Intervalo cat - Intervalo entre o diagnóstico de leucemia e a primeira punção lombar (código: 0: ≤ 7 dias; 1: > 7 dias; 9: não avaliado)

Para todas as variáveis:

SR – sem remissão

NR – primeira punção lombar não realizada (óbito antes da realização)

NE – dado não encontrado

ANEXOS

Anexo 1

GBTLI LLA – 99

DEFINIÇÃO DOS GRUPOS DE RISCO:

Grupo de Baixo Risco de Recaída (RB)

Os doentes de baixo risco são aqueles com idade acima de 1 ano e ≤ 9 anos de idade e/ou com leucometria inicial inferior a $50.000/\text{mm}^3$. Adicionalmente, os pacientes de Baixo Risco de Recaída serão aqueles que apresentarem no sangue periférico do 7º dia $\text{GB} < 5000/\text{mm}^3$ e ausência de blastos no sangue periférico no 14º dia da indução (ou entre o 13º e 15º dias), mais medula M1/M2 no dia 14 (ou entre 13º e 15º dias). Adicionalmente, todos os doentes devem apresentar medula M1 no dia 28 da terapia. Aqueles doentes, com envolvimento leucêmico extramedular ao diagnóstico, deverão estar sem qualquer evidência daquele comprometimento no dia 14, assim como, no dia 28 da terapia.

Grupo de Alto Risco de Recaída (AR)

Serão considerados de AR os pacientes que apresentarem ao diagnóstico, idade inferior a 1 ano ou superior a 9 anos e/ou contagem leucocitária $\geq 50.000/\text{mm}^3$ e/ou adicionalmente os seguintes achados:

- Contagens leucocitárias em sangue periférico colhido no dia 7, iguais ou superiores a $5.000/\text{mm}^3$
- Presença de blastos leucêmicos no sangue periférico no dia 14, (ou entre o 13º e 15º dias), em qualquer número
- Medula M3 no dia 14 da indução (ou entre o 13º e 15º dias)
- Medula M2/M3 no dia 28 da terapia da indução e/ou evidência de acometimento extramedular da doença
- Com evidência de blastos positivos em LCR avaliado no dia 14, (ou entre o 13º e 15º dias) nos doentes inicialmente com envolvimento em SNC (CNS-3).

ESQUEMA TERAPÊUTICO (GBTLI LLA - 99)

GRUPO DE BAIXO RISCO DE RECAÍDA

Terapia de indução para o grupo de baixo risco de recaída

Drogas	Dose e via de administração	Dias de administração
Prednisona (PDN)	40mg/m ² /dia –via oral	1 a 28
Vincristina (VCR)	1,5mg/m ² /dose - endovenoso	1, 8, 15 e 22
Daunoblastina (DNB)	25 mg/m ² /dose - endovenoso	1, 8, 15 e 22
L-asparaginase (L-ASP)	5000 UI/m ² /dose – intramuscular	9 doses
Ciclofosfamida	1g/m ² – via endovenosa com MESNA 300mg/m ² /dose na hora 0 e 4	28
Citarabina (ARA-C)	75/mg/m ² /dose SC	28 a 31, 35 a 38 (total: 8 doses)
6-MP	50mg/m ² /dia – via oral	28 ao 42
MADIT (Metotrexato / ARA-C/ Dexametasona)	intratecal	0, 14, 28

* **MADIT**: metotrexato (MTX), 8 mg para crianças <1 ano, 10 mg para 2 anos, 12 mg para 3 a 8 anos, e 15 mg para ≥ 9 anos; ARA-C: 16 mg para crianças <1 ano, 20 mg para 2 anos, 24 mg para 3 a 8 anos, e 30 mg para ≥ 9 anos; dexametasona (DXM): 2 mg/m², dose máxima de 2 mg

Terapia de intensificação para o grupo de baixo risco de recaída

Drogas	Dose e via de administração	Semana do tratamento
MTX	2g/m ² /EV (infusão em 6 horas), a cada 2 semanas, com leucovorin 15mg/ m ² /dose, EV de 6 em 6 horas, a partir da hora 36	7, 9, 11,13
6-MP	50mg/m ² /dia – via oral	7 a 13
MADIT	intratecal	8,10, 12, 14

Terapia da consolidação tardia para o grupo de baixo risco de recaída

Drogas	Dose e via de administração	Semana do tratamento
Dexametasona (DXM)	6mg/m ² /dia –via oral	14, 16, 18 (7 dias / semana)
Vincristina (VCR)	1,5mg/m ² /dose - endovenoso	14 a 18 (1 dose/semana total: 5 doses)
Doxorrubicina	30 mg/m ² /dose - endovenoso	15 e 17 (1 dose/semana total: 2 doses)
L-asparaginase (L-ASP)	5000 UI/m ² /dose – intramuscular	15 e 16 (2 doses/semana total: 4 doses)
Ciclofosfamida	1g/m ² –via endovenosa com MESNA 300mg/m ² /dose na hora 0 e 4	19 (dose única)
Citarabina (ARA-C)	75/mg/m ² /dose SC	19, 20, 21 (4 doses/semana total: 12 doses)
6-Mercaptopurina*	50mg/m ² /dia – via oral	19 a 21 (21 dias)
MADIT	Intratecal	14, 18, 22

* No protocolo original: tioguanina (6-TG) - 60 mg/m²/dia, VO, por 21 dias

Terapia de manutenção para o grupo de baixo risco de recaída

Grupo 1:

- 6-MP: 50 mg/m²/dia, administrada por via oral, diariamente (dose máxima de 100 mg/m²/dia), ingerido longe do horário das refeições, no sentido de evitar interferências dos alimentos na absorção das droga
- MTX: 25 mg/m²/dose (dose máxima de 40 mg/m²), administrado por via intramuscular, semanalmente.
- A cada 8 semanas, iniciando-se na 30^a semana, era introduzido o pulso de vincristina (VCR) e dexametasona, completando um total de 7 pulsos
- **Tripla terapia intratecal (MADIT: ARA-C, MTX e DXM) realizada a cada 8 semanas, durante toda a manutenção.**

Grupo 2

- MTX: 200mg/m², administrado por via endovenosa, em infusão de 6 horas, administrado a cada 21 dias. O resgate com ácido folínico (leucovorin) foi de 5mg/m²/dose, administrado por via oral, nas horas 36 e 42 após o início do MTX.
- 6-MP: 100mg/m²/dia, administrada por via oral, durante 10 dias, iniciando 24 horas após a primeira dose do MTX. Dose máxima diária de 175mg.
- A cada 8 semanas, iniciando-se na 30^a semana, pulso de vincristina (VCR) e dexametasona, completando um total de 7 pulsos
- **Tripla terapia intratecal (MADIT: ARA-C, MTX e DXM) realizada a cada 8 semanas, durante toda a manutenção.**

ESQUEMA TERAPÊUTICO (GBTLI LLA - 99)

GRUPO DE ALTO RISCO DE RECAÍDA

Terapia de indução para o grupo de alto risco de recaída

Drogas	Dose e via de administração	Dia da administração
Prednisona (PDN)	40mg/m ² /dia –via oral	1 a 28
Vincristina (VCR)	1,5mg/m ² /dose - endovenoso	1, 8, 15 e 22
Daunoblastina (DNB)	25 mg/m ² /dose - endovenoso	1, 8, 15 e 22
L-asparaginase (L-ASP)	5000 UI/m ² /dose – intramuscular	9 doses
Ciclofosfamida	1g/m ² – via endovenosa com MESNA 300mg/m ² /dose na hora 0 e 4	28
Citarabina (ARA-C)	75/mg/m ² /dose SC	28 a 31, 35 a 38 (total: 8 doses)
6-MP	50mg/m ² /dia – via oral	28 ao 42
MADIT (Metotrexato / intratecal		0, 14, 28
ARA-C/ Dexametasona)		

* **MADIT**: metotrexato (MTX), 8 mg para crianças <1 ano, 10 mg para 2 anos, 12 mg para 3 a 8 anos, e 15 mg para ≥9 anos; ARA-C: 16 mg para crianças <1 ano, 20 mg para 2 anos, 24 mg para 3 a 8 anos, e 30 mg para ≥9 anos; dexametasona (DXM): 2 mg/m², dose máxima de 2 mg

Terapia de intensificação para o grupo de alto risco de recaída - BLOCO A

Drogas	Dose e via de administração	Dia da administração (semana 8)
MTX	2g/m ² , via endovenosa (infusão em 6 horas)	1
Leucovorin	15mg/m ² /dose, EV, 6/6h (4 doses), a partir da hora 36 do início do MTX	
6-mercaptopurina*	75 mg/m ² /dia – via oral	2 a 5
Citarabina (ARA-C)	2g/m ² , dose única, via endovenosa	5
Ciclofosfamida	200mg/m ² /dose, 12/12h (total: 5 doses), via endovenosa	6 a 8
MADIT	intratecal	8

* No protocolo original: tioguanina (6-TG) - 100 mg/m²/dia, VO, por 4 dias

Terapia de intensificação para o grupo de alto risco de recaída - BLOCO B

Drogas	Dose e via de administração	Dia da administração (semana 10)
MTX	2g/m ² , via endovenosa (infusão em 6 horas)	1
Leucovorin	15mg/m ² /dose, EV, 6/6h (4 doses), a partir da hora 36 do início do MTX	
6-MP	150mg/m ² /dia, via oral	2 a 5
Citarabina (ARA-C)	2g/m ² , dose única, via endovenosa	5
MTX	50mg/m ² , via endovenosa (infusão em 4 horas)	7
MADIT	intratecal	8

Terapia de intensificação para o grupo de alto risco de recaída

Drogas	Dose e via de administração	Semana do tratamento
Dexametasona (DXM)	6mg/m ² /dia – via oral	12,14,16 (7 dias / semana)
Vincristina (VCR)	1,5mg/m ² /dose – endovenoso	12 a 16(1dose/semana total: 5 doses)
Doxorrubicina	30 mg/m ² /dose – endovenoso	13 e 15(1dose/semana total: 2 doses)
L-asparaginase (L-ASP)	5000 UI/m ² /dose – intramuscular	13 e 14(2doses/semana total: 4 doses)
Ciclofosfamida	1g/m ² –via endovenosa com MESNA 300mg/m ² /dose na hora 0 e 4	17 (dose única)
Citarabina (ARA-C)	75/mg/m ² /dose SC	17, 18, 19 (4 doses/ semana total: 12 doses)
6-Mercaptopurina*	50mg/m ² /dia – via oral	17 a 19 (21 dias)
MADIT	Intratecal	17, 20

* No protocolo original: tioguanina (6-TG) - 60 mg/m²/dia, VO, por 21 dias

Terapia de intensificação para o grupo de alto risco de recaída - BLOCO C

Drogas	Dose e via de administração	Dia da administração (semana 21)
MTX	2g/m ² , via endovenosa (infusão em 6 horas)	1
Leucovorin	15mg/m ² /dose, EV, 6/6h (4 doses), a partir da hora 36 do início do MTX	
6-MP	150mg/m ² /dia, via oral	2 a 5
Etoposídeo	150mg/m ² /dia, via endovenosa	5,6,7 (total:3doses)
Citarabina (ARA-C)	2g/m ² , dose única, via endovenosa	8

Terapia de intensificação para o grupo de alto risco de recaída - BLOCO D

Drogas	Dose e via de administração	Dia da administração (semana 23)
Ifosfamida	1,8 g/m ² /dia – via endovenosa, com MESNA 400mg/m ² /dose, na hora 0, 4 e 8	1 ao 4 (total: 4 doses)
Etoposídeo	150mg/ m ² /dia - via endovenosa	1 ao 4 (total: 4 doses)
MADIT	Intratecal	8

Terapia da consolidação tardia para o grupo de alto risco de recaída

Drogas	Dose e via de administração	Semana do tratamento
Dexametasona (DXM)	6mg/m ² /dia –via oral	25, 27, 29 (7 dias / semana)
Vincristina (VCR)	1,5mg/m ² /dose – endovenoso	25 a 29 (1 dose/semana total: 5 doses)
Doxorrubicina	30 mg/m ² /dose – endovenoso	26 e 28 (1 dose/semana total: 2 doses)
L-asparaginase (L-ASP)	5000 UI/m ² /dose – intramuscular	26,27,28 (2 doses/semana total: 6 doses)
Ciclofosfamida	1g/m ² –via endovenosa com MESNA 300mg/m ² /dose na hora 0 e 4	36 (dose única)
Citarabina (ARA-C)	75/mg/m ² /dose SC	36, 37, 38 (4 doses/semana total: 12 doses)
6-Mercaptopurina*	50mg/m ² /dia – via oral	36 a 38 (21 dias)
MADIT	Intratecal	30, 32

* No protocolo original: tioguanina (6-TG) - 60 mg/m²/dia, VO, por 21 dias

Terapia de manutenção para o Grupo de Alto Risco:

- 6-MP: 50 mg/m²/dia, administrada por via oral, diariamente (dose máxima de 100 mg/m²/dia), ingerido longe do horário das refeições, no sentido de evitar interferências dos alimentos na absorção das droga
- MTX: 25 mg/m²/dose (dose máxima de 40 mg/m²), administrado por via intramuscular, semanalmente.
- A cada 8 semanas, iniciando-se na 42^a semana, pulso de vincristina (VCR) e dexametasona, completando um total de 7 pulsos. **Tripla terapia intratecal (MADIT: ARA-C, MTX e DXM) realizada a cada 8 semanas, durante toda a manutenção.**

Anexo 2

Aprovação do projeto: Câmara do Departamento de Pediatria, Diretoria de Ensino, Pesquisa e Extensão do HC-UFMG e Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG.

**CÂMARA DO DEPARTAMENTO DE PEDIATRIA
PARECER Nº 08/08**

TÍTULO DO PROJETO:

CARACTERIZAÇÃO E EVOLUÇÃO DAS CRIANÇAS COM INFILTRAÇÃO LIQUÓRICA PELA LEUCEMIA LINFOCÍTICA AGUDA: UM ESTUDO RETROSPECTIVO (MARÇO/2001 A MARÇO/2008) E PROSPECTIVO NO SERVIÇO DE HEMATOLOGIA DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UFMG.

INTERESSADOS:

Profa. Benigna Maria de Oliveira
Mestranda Camila Silva Peres Cancela

HISTÓRICO:

A leucemia linfocítica aguda (LLA) é a neoplasia mais comum da infância. Acometimento do Sistema Nervoso Central (SNC) ocorre em 5% a 10% dos pacientes ao diagnóstico. O exame citológico do líquido, método mais frequentemente utilizado para avaliar a infiltração do SNC, é considerado pouco sensível. Apesar de ainda não haver consenso na literatura de qual melhor critério para definição de infiltração leucêmica, vários estudos têm demonstrado a utilidade da imunofenotipagem das células leucêmicas pela citometria de fluxo, para identificar neoplasia hematológica no líquido céfalo-raquidiano (LCR).

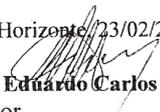
O presente estudo tem como objetivo caracterizar o tipo de infiltração líquórica e a evolução de crianças com LLA, diagnosticadas no Serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da UFMG e padronizar e introduzir a técnica de imunofenotipagem por citometria de fluxo, como método complementar de avaliação do LCR ao diagnóstico, em crianças com LLA.

MÉRITO:

Trata-se de projeto para um estudo retrospectivo, complementado por uma coorte prospectiva onde será acrescentado o método de imunofenotipagem aos exames utilizados no acompanhamento das crianças com LLA. Os critérios de inclusão e exclusão estão bem estabelecidos. Não foi apresentado o cronograma da pesquisa, havendo relato apenas de que seu início, está programado para março de 2008, após o aceite do COEP. A introdução e a justificativa da pesquisa estão bem fundamentadas, apresentando significativa lista de referências bibliográficas. A metodologia, incluindo a análise estatística, está bem explicitada e parece adequada aos objetivos propostos. Quanto à questão ética, os pesquisadores garantem a participação voluntária e assumem o compromisso de divulgar os resultados sejam eles favoráveis ou não, preservando o sigilo em relação à identificação dos indivíduos avaliados. Em anexo foi apresentado quatro modelos de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, muito bem elaborados e de acordo com o que preconiza a Resolução 196 do Conselho Nacional de Saúde, inclusive respeitando a autonomia das crianças com 7 anos ou mais de idade.

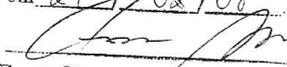
CONCLUSÃO: Diante do exposto, consideramos o projeto relevante e somos pela sua aprovação, sem ressalvas.

Belo Horizonte, 23/02/2008


Prof. Eduardo Carlos Tavares
Relator

Aprovado o parecer do relator

em 29/02/08


Prof.ª Cleonice de Carvalho Coelho Mota
Chefe do Departamento de Pediatria
Faculdade de Medicina / UFMG



Universidade Federal de Minas Gerais
Hospital das Clínicas
Diretoria de Ensino, Pesquisa e Extensão - DEPE

UFMG

Belo Horizonte, 29 de abril de 2008.

PROCESSO Nº 027/08

TÍTULO: "CARACTERIZAÇÃO E EVOLUÇÃO DAS CRIANÇAS COM INFILTRAÇÃO LIQUÓRICA PELA LEUCEMIA LINFOCÍTICA AGUDA: UM ESTUDO RETROSPECTIVO (MARÇO/2001 A MARÇO/2008) E PROSPECTIVO NO SERVIÇO DE HEMATOLOGIA DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UFMG".

Sr(a) Pesquisador(a):

Reportando-nos ao projeto de pesquisa acima referenciado, considerando sua concordância com o parecer da Comissão de Avaliação Econômico-financeira de Projetos de Pesquisa do HC e a aprovação pelo COEP/UFMG em 16/04/2008, esta Diretoria aprova seu desenvolvimento no âmbito institucional. Solicitamos enviar à DEPE **relatório** parcial ou final, após um ano.

Atenciosamente,


PROF. HENRIQUE VITOR LEITE
Diretor da DEPE/HC-UFMG

À Sr^a.
Prof^a Benigna Maria de Oliveira
Depto. Pediatria
Faculdade de Medicina- UFMG

CGC: 17.217.985/0034-72 - Av. Prof. Alfredo Balena, 110 - 1º andar
Bairro Santa Efigênia - CEP 30130-100 - Belo Horizonte - MG
Telefone: (31) 3409-9379 - 3409-9375 - FAX: (31) 3409-9380 - depe@hc.ufmg.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

Parecer nº. ETIC 73/08

Interessado(a): Profa. Benigna Maria de Oliveira
Departamento de Pediatria
Faculdade de Medicina - UFMG

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 16 de abril de 2008, o projeto de pesquisa intitulado **"Caracterização e evolução das crianças com infiltração liquórica pela leucemia linfocítica aguda: um estudo retrospectivo (março/2001 a março 2008) e prospectivo no Serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da UFMG"** bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.

Profa. Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG