

AVALIAÇÃO DA LEUCEMIA LINFÓIDE AGUDA E O PROGNÓSTICO POR CITOGENÉTICA E FISH

Camila Brey¹, Sergio Luiz Bach²

Resumo

A leucemia linfóide aguda é uma neoplasia heterogênea que deriva das células hematopoiéticas. A doença tem início na medula óssea, e em seguida atinge o sangue periférico. É uma patologia resultante da proliferação e diferenciação anormal de uma população clonal de células linfóides mutadas em alguma fase da diferenciação celular. As crianças mais atingidas possuem entre 2 e 5 anos e são principalmente meninos. Muitos critérios podem ser utilizados para classificar as leucemias linfóides agudas (LLA), como a morfologia, aspectos moleculares, citoquímica entre outros. A divisão utilizada atualmente agrupa os subtipos L1 L2 e L3. O diagnóstico clínico é constituído pelos sinais e sintomas apresentados pelo paciente e os achados laboratoriais, os sintomas são relacionados com a infiltração da medula óssea e consequente substituição das células normais. As alterações encontradas pela citogenética convencional e molecular podem ser numéricas ou estruturais e apresentam um importante valor prognóstico, auxiliando também no diagnóstico e na classificação dessa doença. A técnica de citogenética convencional complementada pelos métodos moleculares é muito relevante para classificar a doença e escolher a melhor abordagem terapêutica e o método para monitorar a doença posteriormente. Nos últimos anos houve um avanço nas pesquisas sobre a LLA que possibilitou o esclarecimento de mecanismos responsáveis pela etiologia e patogênese da doença, mais ainda é necessário desenvolver mais as técnicas para otimizar os tratamentos e reduzir os efeitos colaterais e riscos. Conclui-se que a partir deste trabalho foi possível confirmar a importância do estudo citogenético tanto convencional como molecular no diagnóstico, na estratificação de risco e prognóstico de pacientes pediátricos com a doença.

Palavras-chave: Leucemia. Citogenética. Prognóstico. LLA. FISH.

Abstract

Acute lymphoid leukemia is a heterogeneous neoplasm derived from hematopoietic cells. The disease begins in the bone marrow and then reaches the peripheral blood. It is a pathology resultant from the proliferation and abnormal differentiation of a clonal lymphoid cell population mutated at some stage of cell differentiation. Children most affected are between 2 and 5 years and are mainly boys. Many criteria can be used to classify acute lymphoid leukemia (ALL) as morphology, molecular aspects, cytochemistry among others. The division currently used groups the subtypes L1 L2 L3. The clinical diagnosis consists of the signs and symptoms presented by the patient and the laboratory findings, symptoms are related to bone marrow infiltration and consequent replacement of normal cells. Alterations found by conventional and molecular cytogenetic can be numerical or structural and have an important prognostic value, also assisting in the diagnosis and classification of this disease. The conventional cytogenetic technique complemented by molecular methods is very relevant to classify, choose the best therapeutic approach and method for monitoring the disease later. In recent years there has been a breakthrough in ALL research that has enabled the clarification of mechanisms responsible for the etiology and pathogenesis of the disease, more still needs to be developed further to optimize treatments and reduce side effects and risks. It is concluded that from this work it was possible to confirm the importance of both conventional and molecular cytogenetic study in the diagnosis, in risk stratification and prognosis of pediatric patients with the disease.

Keywords: Leukemia, cytogenetic, prognosis, ALL, FISH.

1 Acadêmica do curso de Bacharelado em Biomedicina, Universidade Tuiuti do Paraná, Curitiba, PR. camilaabrey@gmail.com

2 Farmacêutico, professor Doutor, Universidade Tuiuti do Paraná, Curitiba, PR. bach.sergio32@gmail.com

Introdução

As leucemias podem ser identificadas como neoplasias hematológicas. São resultado de uma proliferação desregulada de uma célula com função hematopoética, que substituirá os elementos normais da medula óssea, podendo também extravasar para locais extramedulares (MESQUITA, 2009).

São classificadas separadamente, por serem complexas e diferentes entre si. A divisão depende de como a produção dos leucócitos é afetada. Diferenciam-se os subtipos em linfoproliferativa ou mieloproliferativa, aguda ou crônica. Devido a heterogeneidade da doença, surgiu a necessidade de uma classificação mais específica, pois cada grupo possui características próprias que influenciam no prognóstico e na sobrevivência de cada paciente. A Leucemia Linfóide Aguda (LLA) é uma transformação e proliferação maligna de células progenitoras linfóides na medula óssea, no sangue e que pode extravasar para locais extramedulares. A doença foi dividida em grupos pela organização Franco-Americano-Britânico (FAB), em três subtipos morfológicos: L1, L2 e L3 (SALINA, 2015; ARBER et al, 2016).

De acordo com o INCA – Instituto Nacional de Câncer, no Brasil é estimado 4860 novos casos de leucemia em mulheres e 5940 em homens no ano de 2019. É o câncer mais comum em crianças e jovens, na maioria das populações. As leucemias agudas correspondem cerca de 25 a 30% dos casos de leucemia em criança, com incidência de até 3,19 por 100.000 habitantes (AGUIAR, 2015; PINHEIRO, 2018).

Para o diagnóstico, a Organização Mundial da Saúde recomenda utilizar todas as informações disponíveis, como morfologia, citoquímica, imunofenotipagem, genética e clínica do paciente. Com a evolução das técnicas, a importância da citogenética e dos métodos moleculares aumentou, pois além de serem eficientes para o diagnóstico, estão relacionadas com marcadores de prognóstico. Evidências crescentes sugerem que alterações cromossômicas e anormalidades moleculares estão constantemente presentes em pacientes com LLA, e o progresso do nosso conhecimento das características biológicas e genéticas da doença não apenas melhorou nosso conhecimento da leucemogênese, mas também permitiu a identificação de grupos prognósticos com características celulares e moleculares (FERREIRA *et al.*, 2012; MICHALOWSKI *et al.*, 2012).

A citogenética convencional através do cariótipo (conjunto de cromossomos metafásicos) tem grande importância para identificação das anormalidades cromossômicas, esta técnica detecta alterações microscopicamente visíveis, enquanto a citogenética molecular, como a hibridização “in situ” por fluorescência (FISH) é capaz de esclarecer rearranjos complexos e detectar alterações submicroscópicas, que escapam da identificação no cariótipo. Para uma avaliação completa, utiliza-se a citometria de fluxo, técnicas de biologia molecular, cariotipagem espectral, hibridização genômica comparativa, entre outros (BRATZ, GATZKE E FRIZZO, 2018; PINHEIRO, 2018).

Devido a relevância da doença, este trabalho tem como objetivo explicar a relevância das técnicas de citogenética e FISH para o prognóstico da Leucemia Linfóide Aguda.

Metodologia

Realizou-se uma pesquisa bibliográfica de forma exploratória e de cunho qualitativo com base em artigos científicos. Primeiramente foi elaborada uma pesquisa a partir de obras bibliográficas, que é de extrema importância para o correto detalhamento e investigação do trabalho.

O presente trabalho é uma revisão de literatura sobre LLA, no qual as bases de dados consultadas foram: *NCBI*, *Scielo*, *Science Direct*, *Google Acadêmico* e *Pubmed*. Para selecionar os artigos e textos foram utilizadas as seguintes combinações de palavras chave:

ALL, *cytogenetic diagnosis*, *acute lymphoblastic leukemia*, leucemia linfóide, LLA, leucemias em crianças, diagnóstico para leucemia linfóide aguda, prognóstico das leucemias, entre outros. O período da pesquisa bibliográfica foi realizado entre agosto de 2019 a novembro de 2019, e o recorte temporal da pesquisa bibliográfica foi dos últimos dez anos. Ver figura 1.

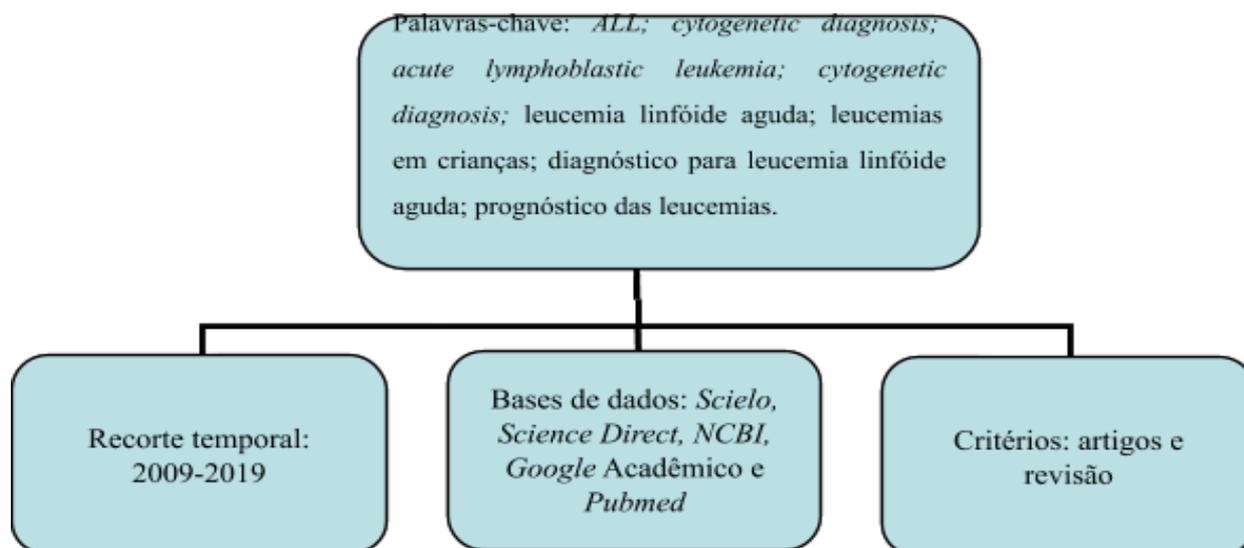


Figura 1: Fluxograma da metodologia de pesquisa. FONTE: o autor, 2019.

Discussão

3.1 Histórico

Tudo começa na medula óssea, a parte interna de certos ossos, onde são produzidas novas células sanguíneas. Geralmente, as células doentes invadem o sangue rapidamente. Às vezes, elas também podem se espalhar para outras regiões do corpo, incluindo os linfonodos, fígado, sistema nervoso central e baço (ALMEIDA, 2009; KHAN, PANDEY E SAMARTHA, 2016).

Em 1960, Peter C. Nowell e David Hungerford descreveram pela primeira vez o cromossomo Filadélfia, resultante de uma translocação do cromossomo 9 com o 22. Esta descoberta foi muito



importante para o desenvolvimento de novos tratamentos e pesquisas para novos métodos de diagnósticos e prognósticos. Quando eles descobriram este cromossomo, foi chamado de Filadélfia (Ph), por causa da cidade onde foi descoberto. Acreditava-se que esta alteração estava associada apenas à leucemia mieloide crônica (LMC), mas mesmo antes do desenvolvimento das técnicas de bandeamento cromossômico, já foi possível identificar o cromossomo Ph em LLA. Segue figura 2 (ALMEIDA, 2009; LALONDE, WERTHEIM e LI, 2017).

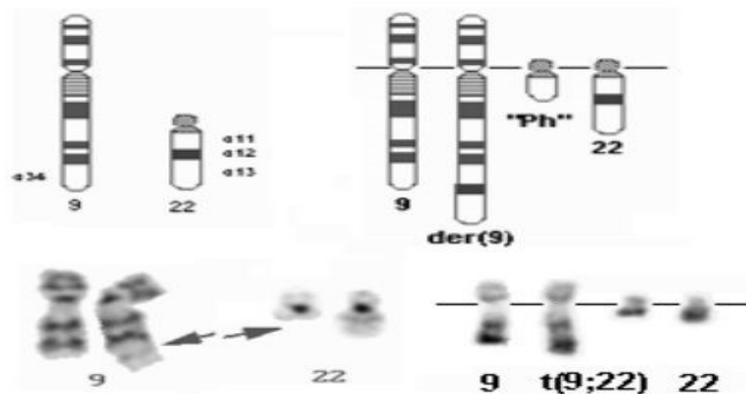


Figura 2: Na parte superior temos os cromossomos 9 e 22 normais e ao lado como eles ficam após a translocação, representados por uma figura mostrando o der(9) e o cromossomo Ph com bandas claras e escuras.

Na parte inferior da figura a translocação é vista através de um exame real de citogenética e as bandas são adquiridas através de bandeamento G.

FONTE: ALMEIDA, 2009.

Somente em 1917 a prevalência da leucemia aguda na infância foi registrada. Atualmente a taxa de sobrevivência livre de doença da LLA em pediatria é superior 80% nos países desenvolvidos. Esse progresso é devido aos avanços no diagnóstico, no estabelecimento de fatores prognósticos e na utilização de tratamentos específicos para grupos de risco de recaída (MESQUITA, 2009).

3.2 Patogênese

A patogênese da LLA compreende a proliferação e a diferenciação anormal de uma população clonal de células linfóides. Estudos na população pediátrica identificaram síndromes genéticas que predisõem a uma minoria de casos de LLA, como síndrome de Bloom, anemia de Fanconi, síndrome de Down, ataxia telangiectasia e síndrome de ruptura de Nijmegen (BRATZ, GATZKE E FRIZZO, 2018).

A etiologia da doença ainda não é clara, no entanto teorias dizem que pode ser resultado da interação entre a herança genética, fatores imunológicos e ambientais. Alguns fatores predisponentes incluem exposição à radiação ionizante, pesticidas, certos solventes ou vírus. Alguns vírus continuam sendo objeto de estudos como possíveis fatores relacionados, mas nenhum

foi confirmado até o momento. Apesar disso, na maioria dos casos, aparece como malignidade em indivíduos previamente saudáveis (CHOUGULE *et al.*, 2019).

Os principais sintomas da LLA são causados pela falta de células sanguíneas normais em circulação. A apresentação pode ser inespecífica, com uma combinação de sintomas constitucionais e sinais de insuficiência da medula óssea, como a síndrome anêmica: fraqueza, palidez cutânea e taquicardia, devido a diminuição na produção das hemácias; a síndrome trombocitopênica que causa sangramento gengival, petéquias, hematomas e outras manifestações hemorrágicas; síndrome leucopênica levando a febre em razão das infecções associadas à neutropenia, e presença de infiltração leucêmica medular causando dores ósseas e artralgia. Os sintomas comuns incluem febre, perda de peso, suores noturnos, sangramento ou hematomas, fadiga, dispneia e infecção. O envolvimento de locais extramedulares quando ocorre pode causar linfadenopatia, esplenomegalia ou hepatomegalia em 20% dos pacientes. A LLA se desenvolve rapidamente, de modo que as pessoas geralmente ficam indispostas apenas por um curto período antes de serem diagnosticadas (NAITHANI, 2016; BARBOSA *et al.*, 2018).

O processo tumoral está ligado com a alteração do ciclo celular. A leucemia é um processo de inúmeras etapas, no momento em que a célula mutada sofre divisões, produz um clone de células que apresentam a mesma mutação. Diversas mutações podem ocorrer a cada estágio da proliferação, até o momento em que a célula adquire número de mutações suficientemente necessário para a transformação maligna. A doença surge a partir das mutações espontâneas que podem ocorrer durante o desenvolvimento normal dos linfócitos, pois a atividade mutagênica no processo de rearranjo gênico e a taxa de multiplicação dessas células é elevada (BELOTO, 2010; ZHANG *et al.*, 2016).

3.3 Classificação

As leucemias são classificadas separadamente, por serem complexas e diferentes entre si. A divisão depende de como a produção dos leucócitos é afetada. Diferencia-se os subtipos em linfoproliferativa ou mieloproliferativa, aguda ou crônica. As leucemias agudas têm alterações genéticas que causam o estacionamento na maturação e na diferenciação dos leucócitos, acarretando a produção de leucócitos anômalos chamados de blastos (ALVES, 2012).

O primeiro ensaio para classificar a LLA foi o critério morfológico franco-americano-britânico (FAB) que propôs dividir a LLA em três subtipos: L1, L2 e L3, com base no tamanho celular, citoplasma, nucléolo, vacuolização e basofilia. No subtipo L1 os linfoblastos são pequenos, sem nucléolos, com contorno nuclear regular, com pouco citoplasma e basofilia. O subtipo L2 apresenta células de tamanhos diversos com citoplasma que varia de tamanho e basofilia, pode apresentar nucléolos e irregularidades no contorno. E no subtipo L3, as células são grandes com nucléolos, vacúolos e basofilia citoplasmática. Em 1997, a Organização Mundial da Saúde (OMS) propôs uma classificação composta na tentativa de explicar a morfologia e o perfil citogenético, identificando três

tipos de LLA: linfoblástica T, linfoblástica B e leucemia de Burkitt. Revisada mais tarde em 2008, a leucemia de células Burkitt foi eliminada por não ser mais separada do linfoma de Burkitt. Em 2016 foi publicada uma nova versão dessa classificação, com a adição de alterações moleculares (ARBER et al, 2016; CHOUGULE et al., 2019).

3.4 Citogenética

A citogenética estuda os cromossomos, sua estrutura e sua herança. Os cromossomos são estruturas complexas, constituídos por vários genes. São formados por DNA e algumas proteínas, podem ser visualizados em microscópio na fase da divisão celular que é conhecida por metáfase. Os cromossomos humanos são compostos por duas cromátides unidas pelo centrômero, que os divide em parte superior e inferior. Os braços superiores são conhecidos por p (petit) e os inferiores pela letra q e as extremidades dos braços cromossômicos são conhecidos por telômeros. Cada espécie possui um conjunto de cromossomos, que formam o cariótipo. São 46 cromossomos que constituem 23 pares, sendo 22 comuns em ambos os sexos, e o par restante determina os cromossomos sexuais. Ver figura 1 (GIL, 2011; AGUIAR, 2015).



Figura 3: Cariótipo normal com bandeamento G, evidenciando as bandas analisadas no exame.

FONTE: AGUIAR, 2015.

A citogenética é capaz de detectar alterações clonais, estruturais e numéricas, e mesmo que estejam presentes em um número pequeno de células, já são suficientes para detectar um clone neoplásico. Esta técnica também pode detectar evoluções clonais, que antes não estavam presentes, sendo útil para monitorar a doença (DANTAS et al., 2015).

As alterações genéticas que acontecem nas leucemias, podem abranger alterações cromossômicas estruturais, como as inversões e as translocações, ou alterações da expressão gênica. As translocações nos cromossomos derivam da modificação de posição de um gene de uma região cromossômica para outra, derivando em genes mutados com funções anormais. Quando

ocorre uma translocação que compreende mudança de uma região regulatória de um gene para outro, situado no mesmo cromossomo ou em um cromossomo diferente, causa modificação do nível de expressão neste gene translocado. Outras modificações, como as deleções, onde ocorre a perda de um gene ou fragmento do cromossomo, ou inversões também estão relacionadas ao aparecimento das leucemias. As alterações que a leucemogênese causa também podem afetar as sequências de DNA modificando o genoma e ativando oncogenes ou inativando genes com atividade supressora de tumor. Dentre estas alterações, as translocações apresentam grande importância, pois permitem que oncogenes, que não estavam ativos, acabem sendo ativados após a fusão com outros genes (GIL, 2011; FERREIRA *et al.*, 2012).

O método não é muito útil para a detecção da doença residual mínima (DRM), pois tem sensibilidade baixa. É necessária uma preparação na amostra para que a qualidade das metáfases seja suficiente para uma análise correta e segura, que pode não ser fácil de obter. Além disso é preciso que muitas metáfases sejam analisadas para poder afirmar, que não há células residuais (NAITHANI, 2016).

3.5 Hibridização Fluorescente In Situ (FISH)

Esta técnica é considerada citogenética molecular, é o resultado de um aperfeiçoamento da hibridização in situ (HIS). O método é realizado através da hibridização do preparado cromossômico com sondas específicas de DNA, marcadas pela inclusão da fluorescência e visualizados em microscópio específico. O princípio da técnica é baseado nas características moleculares do DNA, formado por duas fitas complementares que são unidas pelo pareamento de bases. Estas fitas são complementares e podem ser separadas por aquecimento ou tratamento do meio. As fitas desnaturadas podem ser renaturadas, voltando à sua forma original de fita dupla. A técnica utiliza esse conhecimento e disponibiliza após a separação das fitas, moléculas complementares marcadas (sondas), que irão competir pela ligação, sendo hibridizadas no lugar da fita original (FOPPA, 2009; AGUIAR, 2015).

Uma vantagem deste método é a possibilidade de analisar um número grande de células em metáfase e intérfase com rapidez e de identificar alterações estruturais que não são visíveis na citogenética convencional. Mas além ser um método caro, é necessário ter conhecimento prévio da alteração a ser pesquisada e ter à disposição as sondas necessárias para cada alteração. Pode ser considerado uma limitação a marcação inespecífica de fundo, que gera uma proporção variante de falso-positivo, conforme o sistema utilizado. Também não é capaz de verificar evoluções clonais, na maioria dos casos. Estes fatores são muito importantes na hora de escolher o método para detectar a doença residual mínima (ALMEIDA, 2009; SALINA, 2015).

As sondas mais utilizadas são centroméricas, cromossomos inteiros e loco específica. Sondas centroméricas são usadas para verificar numeração de cópias dos cromossomos, enquanto as sondas loco específicas detectam a presença de um gene específico. As sondas para cromossomo

inteiro, compreendem múltiplas sequências descontínuas de DNA, que são utilizadas para colorir o cromossomo inteiramente. As sondas centroméricas, podem não detectar algumas alterações estruturais se o segmento do cromossomo onde elas se encontram não é avaliado por esta determinada sonda. Uma grande vantagem da técnica de FISH é que se pode usar tanto os cromossomos em metáfase quanto os núcleos em interfase (BELOTO, 2010; DANTAS *et al.*, 2015).

A translocação entre os cromossomos 12 e 21 (p12;q22), no braço longo do 21 (q22) e no braço curto do 12 (p12), provoca a fusão entre o gene TEL do cromossomo 12 e o gene AML1 do cromossomo 21 gerando a fusão TEL/AML1. É a mais comum na LLA infantil, presente em 25% dos casos. A translocação do cromossomo 9 com o 22 (9;22)(q34;q11) agrega o proto-oncogene ABL ao gene BCR gerando a fusão BCR/ABL. No cromossomo 11, está localizado o gene MLL, na região 11q23, a fusão com o cromossomo 4 constitui o MLL-AF4, geralmente é associada a LLA B em lactentes. A translocação t(1;19) gera a fusão E2A/PBX1, o gene E2A presente no cromossomo 19 e o PBX1 no cromossomo 1 (TIAN *et al.*, 2017; FOPPA, 2009; BARBOSA *et al.*, 2018).

3.6 Fatores prognósticos

A avaliação acertada do prognóstico é fundamental para o monitoramento da LLA. A estratificação de risco da doença permite ao médico escolher o tratamento adequado, e verificar a necessidade do transplante de células tronco. As alterações citogenéticas são consideradas fatores de impacto prognóstico na maioria dos protocolos terapêuticos utilizados internacionalmente (GIL, 2011; ZHANG *et al.*, 2016).

A idade e a contagem dos glóbulos brancos são utilizadas para estratificação inicial dos pacientes quando o diagnóstico é feito. O aumento da idade prediz um pior prognóstico. Na clínica do paciente os fatores utilizados são: idade, contagem de leucócitos, sexo, imunofenótipo, anormalidades citogenéticas e moleculares e a resposta aos medicamentos, permitem dividir os pacientes em grupos diferentes relacionados ao risco, sendo baixo, intermediário ou alto risco, induzindo a diferentes táticas de tratamento, como a quimioterapia, radioterapia e transplante de medula óssea (ARBER *et al.*, 2016; BOMMANNAN *et al.*, 2016).

A positividade do cromossomo Philadelphia causa implicações no prognóstico e no tratamento. A LLA do tipo Ph-positiva é conhecida por ter fraca resposta à quimioterapia, doença residual mínima elevada e baixa sobrevida. De acordo com a citogenética, o cromossomo Ph é igual ao encontrado na leucemia mielóide crônica (LMC), a diferença é que o Ph presente na LMC pode permanecer visível durante toda a doença e na LLA quando em remissão, já não é mais visível pela citogenética. Recentemente, um subconjunto da LLA de alto risco sem translocação (9; 22) foi identificado com um perfil genético semelhante ao da LLA Ph-positiva (KHAN, PANDEY E SAMARTHA, 2016; LALONDE, WERTHEIM e LI, 2017).

Crianças com menos de 12 meses geralmente têm desfechos desfavoráveis devido à alta leucometria, maior frequência de acometimento do SNC e alto percentual de rearranjo do gene MLL/

AF4 t(4;11). Devido a esta translocação a chance de recaída é alta. Em crianças com idade maior que 9 anos, os registros têm mais frequência de LLA T, apresentam alta leucometria, menor incidência de anormalidades citogenéticas de bom prognóstico e uma maior frequência do cromossomo Ph t(9; 22), que acarreta pior prognóstico. Adolescentes também apresentam mais complicações com tratamento quimioterápico (BELOTO, 2010; TIAN *et al.*, 2017).

Com relação às alterações citogenéticas na estratificação de risco de recaída temos: a fusão TEL/AML1 t(12, 21) e hiperdiploidia (mais de 50 cromossomos) e que são associadas a um prognóstico mais favorável. A translocação entre o cromossomo 1 e o 19, geralmente associada a baixa resposta ao tratamento quimioterápico, mas se o tratamento for intenso, geralmente o prognóstico é bom. As anomalias cromossômicas de alto risco são: a hipodiploidia, rearranjos do gene MLL no cromossomo 11q23, principalmente a translocação do 4 com 11, que gera a fusão MLL-AF4 e a presença do cromossomo Filadélfia t(9; 22) (ALVES, 2012; KHAN, PANDEY E SAMARTHA, 2016).

Conclusão

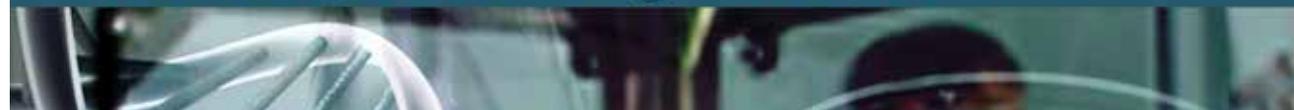
A LLA é uma doença de rápida evolução, que afeta principalmente crianças, podendo ser fatal, por isso é necessário que o diagnóstico e tratamento ocorram rapidamente. Com a capacidade de caracterizar a doença de cada paciente, é presumível que a terapia direcionada ocasione melhorias na sobrevida e remissão da leucemia.

A citogenética molecular e convencional ocupa um importante papel na LLA pois oferecem evidências de significado diagnóstico, prognóstico, e na classificação, assim como traz a possibilidade de entender melhor a doença. A técnica de FISH é complementar a citogenética convencional, pois identifica alterações que não são por ela detectáveis. Sendo assim, se usadas simultaneamente, o diagnóstico e prognóstico serão corretos e seguros.

A LLA tem sido apontada como uma importante história de sucesso em oncologia pediátrica através da implementação de novos métodos para diagnóstico e tratamento. Os avanços técnicos no diagnóstico diferencial contribuem para um melhor prognóstico e tratamento, se tornando cada vez mais eficazes e menos agressivos. Portanto, é inquestionável a relevância e necessidade de maiores pesquisas na área biomédica, para que os exames e tratamentos continuem evoluindo desta forma, diminuindo os riscos e efeitos colaterais do tratamento e alcançando a cura.

Referências

- AGUIAR, R. A. L. Alterações citogenéticas em crianças portadoras de leucemia linfóide aguda B no Amazonas. Manaus. p. 1 – 38, 2015.
- ALMEIDA, T. J. B. AVANÇOS E PERSPECTIVAS PARA O DIAGNÓSTICO DA LEUCEMIA LINFÓIDE AGUDA. Candombá – *Revista Virtual*, v. 5, n. 1, p. 40-55, jun, 2009.



ALVES, G. V. A. Caracterização hematológica e imunofenotípica em pacientes com leucemia linfoblástica aguda. *Natal*. p. 1-205, 2012.

ARBER, D. A. ORAZI, A., HASSERJIAN, R., THIELE, J., BOROWITZ, M. LE BEAU M.M, BLOOMFIELD, C.D., CAZZOLA, M., VARDIMAN, J. W. The 2016 Revision to the World Health Organization (WHO) Classification of Myeloid Neoplasms and Acute Leukemia. *Blood*, v. 127, n. 20 p. 2391-2405, 2016.

BARBOSA, T. C., LOPES B. A., BLUNCK, C. B., MANSUR, M. B., DEYL, A. V. S., EMERENCIANO, M. A novel PAX5 rearrangement in TCF3-PBX1 acute lymphoblastic leukemia: A case report. *BMC Medical Genomics*, v. 11, n. 1, p. 1-5, 2018.

BELOTO N. C. P. Leucemia linfóide aguda em crianças: revisão histórica, diagnóstico e alternativas de tratamento. P. 1-41, 2010.

BOMMANNAN, K., SACHDEVA, M. UP S., VARMA, N., BOSE, P., BANSAET, D. Role of Mid-induction Peripheral Blood Minimal Residual Disease Detection in Pediatric B-Lineage Acute Lymphoblastic Leukemia. *Indianpediatrics*, v. 53, n. 12, p. 1065–1068, 2016.

BRATZ, B.S.G., GATZKE, M., FRIZZO, M.N. Aspectos moleculares na leucemia linfóide aguda. P. 1-16, 2018.

CHOUGULE, R. A., SHAH, K., MOHARRAM, S. A., CHRISTERSSON, J. V., KAZI, J. U.K. Glucocorticoid resistant B cell acute lymphoblastic leukemia displays receptor tyrosine kinase activation. *Genomic Medicine*.v. 4, P.1-7, n. 1, 2019.

DANTAS, G. K., SILVA, L. T. A., PASSOS. X. S., CARNEIRO, C. C. Diagnóstico diferencial da leucemia linfóide aguda em pacientes infanto-juvenis. *Revista da Universidade Vale do Rio Verde*, v. 13, n. 2, p. 3-18, 2015.

FERREIRA J. D., COUTO A. C., ALVES L. C., KOIFMAN S. Exposições ambientais e leucemias na infância no Brasil: uma análise exploratória de sua associação. P. 477–492; 2012.

FOPPA, C., E. Aplicações da metodologia FISH em citogenética de neoplasias. P. 1-36, 2009.

GIL, Erica Aires. Investigação das alterações citogenéticas em pacientes pediátricos com leucemia linfóide aguda do Rio Grande do Norte. P. 1-97, 2011.

INCA: Instituto Nacional de Câncer. Incidência de Câncer no Brasil. Disponível em: <<http://www1.inca.gov.br/estimativa/2018/sintese-de-resultados-comentarios.asp>>. Acesso em: outubro, 2018.

KHAN Z., PANDEY M., SAMARTHA R. M. Role of cytogenetic biomarkers in management of chronic kidney disease patients: A review; p. 576–589; 2016.

LALONDE, E.; WERTHEIM, G.; LI, M. M. Clinical impact of genomic information in pediatric leukemia. *Frontiers in Pediatrics*, p.1-8, v. 5, 2017.

MESQUITA, D.R. Diagnóstico Citogenético e Molecular das Alterações Genéticas Recorrentes em Leucemias da Infância, no Distrito Federal. Tese de Mestrado. Brasília, p.1-93, 2010.

MICHALOWSKI M. B., LOREA, C.F., RECH, A., SANTIAGO, P., LORENZONI, M., TANIGUCHI, A., PEREIRA, W. V., DAUDT, L. E. Early diagnosis in pediatric oncology: a medical emergency. *Bol Cient Pediatr*. P. 13-18. 2012.

NAITHANI, R. Minimal Residual Disease in Pediatric Precursor-B Acute Lymphoblastic Leukemia. *Indian pediatrics*, v. 53, n. 12, p. 1063–1064, 2016.

PINHEIRO, M., L., A. Citogenética no diagnóstico da Leucemia Linfocítica aguda em crianças. p 1-62, Natal, 2018.



SALINA, T. D. C. Study of minimal residual disease and its relationship with acute lymphoblastic leukemia risk stratification criteria in childhood. Dissertação, Amazonas, p. 1-93, 2015.

TIAN, L., CAO, J., JI, Q., ZHANG, C., QIAN, T., SONG, X., HUANG, B., TIAN, X. The downregulation of miR-3173 in B-cell acute lymphoblastic leukemia promotes cell invasion via PTK2. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 494, n. 3–4, p. 569–574, 2017.

ZHANG, L. HONG, J., ZHONG, Z., GHOORUN, R., XU, L., CHEN, H., LIU, J., TANG, W. B-acute lymphoblastic leukemia occurring in two pediatric patients with a history of prior wilms tumors. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, v. 9, n. 11, p. 22434–22443, 2016.