

Universidade de Lisboa

Faculdade de Farmácia



Leucemia Linfoblástica Aguda: Fisiopatologia, Diagnóstico e Abordagens Terapêuticas

Nídia Maria Antunes Matias

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

2019

Universidade de Lisboa

Faculdade de Farmácia



**Leucemia Linfoblástica Aguda: Fisiopatologia,
Diagnóstico e Abordagens Terapêuticas**

Nídia Maria Antunes Matias

**Monografia de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
apresentada à Universidade de Lisboa através da Faculdade de Farmácia**

**Orientador: Professora Doutora Isabel Bettencourt Moreira da
Silva**

2019

Resumo

A leucemia linfoblástica aguda (LLA) é uma neoplasia maligna das células precursoras linfoides. Caracteriza-se pela proliferação excessiva de blastos na medula óssea e a linhagem celular mais frequentemente afetada é a linhagem das células B. Apesar de as crianças constituírem a faixa etária mais afetada por esta neoplasia, o prognóstico é mais desfavorável em idosos.

Os mecanismos envolvidos na fisiopatologia da doença ainda não são totalmente conhecidos. Ainda que as mutações genéticas constituam um importante marcador de suscetibilidade à doença, outros processos que estimulem a oncogénese podem estar envolvidos, assim como a exposição a fatores de risco. Das alterações genéticas destacam-se as mutações cromossómicas, nomeadamente, aneuploidia e mutações estruturais, que, por desregularem diversos processos moleculares, perturbam o desenvolvimento da linhagem linfóide e culminam no aparecimento de células neoplásicas.

O diagnóstico da LLA é determinado pela presença de, pelo menos, 20% de linfoblastos neoplásicos na medula óssea, e o método padrão utilizado para a detetar é a imunofenotipagem. A classificação *French-American-British* (FAB), que utilizava apenas critérios morfológicos, constituiu o primeiro sistema de classificação da LLA. A classificação da Organização Mundial de Saúde (OMS), publicada em 2008 e revista em 2016, é considerada a mais atual, e, por combinar várias características biológicas da doença, nomeadamente, características clínicas, morfológicas, imunofenotípicas e genéticas, torna-se bastante relevante, não só para a classificação mas, também, para o prognóstico e seleção da abordagem terapêutica a seguir.

A terapêutica da LLA é uma área em renovação. Tratamentos inovadores, com maior especificidade para o alvo terapêutico e menor grau de toxicidade para o organismo, têm vindo a substituir a quimioterapia convencional. É o caso da imunoterapia, que utiliza anticorpos monoclonais contra os marcadores de superfície expressos pelas células neoplásicas, como CD20, CD19 e CD22, conjugados, ou não, com fármacos citotóxicos. Outras terapêuticas emergentes incluem os inibidores do proteossoma e os inibidores de tirosina-cinase. O transplante alogénico de células estaminais hematopoiéticas ainda constitui o tratamento padrão para os casos de doença refratária, mas o transplante autólogo de células T CAR constitui uma alternativa promissora e tem vindo a ser autorizado em alguns países europeus, nomeadamente Portugal.

Palavras-chave: linfoblastos, mutações genéticas, quimioterapia, transplante alogénico de células estaminais hematopoiéticas, células T CAR.

Abstract

Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL) is a malignant neoplasm of lymphoid precursor cells. It is characterized by excessive proliferation of bone marrow blasts and the most commonly affected cell line is the B cell lineage. Although children are the most affected age group by this neoplasm, the prognosis is more unfavorable in the elderly.

The mechanisms involved in the pathophysiology of the disease are not fully known yet. Although genetic mutations are an important marker of susceptibility to the disease, other processes that stimulate oncogenesis may be involved, as well as exposure to risk factors. Genetic alterations include chromosomal mutations, namely aneuploidy and structural mutations, which, by deregulating various molecular processes, disturb the development of the lymphoid lineage and culminate in the appearance of neoplastic cells.

The diagnosis of ALL is determined by the presence of at least 20% of neoplastic lymphoblasts in the bone marrow, and the standard method used to detect it is immunophenotyping. The French-American-British (FAB) classification, which used only morphological criteria, was the first ALL system of classification. The World Health Organization (WHO) classification, published in 2008 and updated in 2016, is considered the most current, and, because it combines several biological characteristics of the disease, namely clinical, morphological, immunophenotypic and genetic characteristics, it becomes quite relevant, not only for classification, but also for the prognosis and selection of the therapeutic approach to follow.

ALL therapy is an area under renovation. Innovative treatments, with greater specificity for the therapeutic target and lower toxicity to the body, have been replacing conventional chemotherapy. This is the case of immunotherapy, which uses monoclonal antibodies against surface markers expressed by neoplastic cells, such as CD20, CD19 and CD22, combined or not with cytotoxic drugs. Other emerging therapies include proteasome inhibitors and tyrosine kinase inhibitors. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation is still the standard treatment for refractory disease, but autologous CAR T cells transplantation is a promising alternative and has been authorized in some European countries, remarkably Portugal.

Keywords: lymphoblasts, genetic alterations, chemotherapy, allogenic hematopoietic stem cells transplantation, T CAR cells.

“Porque se o caminho é longo, o objetivo é bem maior.”

David Carreira

Agradecimentos

A realização desta monografia reflete o culminar de um percurso de 5 anos, de trabalho árduo e muitas emoções. O meu maior sonho, que se torna agora realidade, não teria sido alcançado sem as pessoas abaixo mencionadas, que estiveram sempre ao meu lado.

Em primeiro lugar, à professora doutora Isabel Bettencourt da Silva, o meu agradecimento especial, por me ter transmitido o seu gosto e interesse por esta temática desde o primeiro dia, bem como por toda a sua ajuda e disponibilidade, que tanto contribuíram para realização desta monografia.

Aos meus pais, por todo apoio, por terem sido sempre os primeiros a acreditar em mim e por me terem ensinado que nada se consegue sem esforço, coragem e perseverança. À minha irmã, por elevar sempre a fasquia dos meus objetivos e ao Joel, por me ter transmitido o gosto por esta área profissional. À minha madrinha, Sandra, e ao John, por terem sempre demonstrado o orgulho que têm em mim. Ao Patrick e ao Andrew, por serem das maiores alegrias que a vida me deu. Ao meu avô, que, apesar dos seus sábios 95 anos, sempre me ajudou em tudo o que mais precisei.

À Margarida, a minha pessoa, por estar sempre presente, em todas as etapas da minha vida. Um obrigada nunca será suficiente para agradecer tudo o que tens sido para mim.

À Sara, a minha irmã do coração, por toda a força e luz que me deu. O que Lisboa une, ninguém separa.

À Sofia, por ter vivido comigo o sonho de entrar na faculdade e por me ter acompanhado ao longo destes últimos anos. O nosso objetivo, que tão distante parecia, foi agora alcançado.

Às minhas colegas de curso, Ana, Marta, Nieto, Raquel, Ângela, Inês e Carolina por toda a entreatajuda e companheirismo. Convosco ao meu lado, foi tudo muito mais fácil e divertido.

Às minhas colegas de casa, Livesay, Ana Margarida, Catarina, Caroline e Paiva, por todos os momentos partilhado e por toda a cumplicidade e união. Viver com vocês foi uma aventura, que vou guardar para sempre no meu coração.

À equipa da farmácia Matos Coelho, por todos os ensinamentos, não só a nível profissional, como também a nível pessoal. Obrigada por me terem feito sempre sentir como parte integrante do vosso grupo. Uma palavra especial à Dra. Elsa Rocha, por todo o saber que me transmitiu e por ter sempre acreditado em mim. Sei que não poderia ter tido melhor mentora.

Índice

1. Introdução	14
2. Objetivos	15
3. Materiais e Métodos	16
4. Neoplasias Hematológicas	17
5. Leucemia Linfoblástica Aguda	19
6. Epidemiologia	20
7. Etiologia	21
7.1. Componente Genética	21
7.1.1. Polimorfismos de nucleótido único	21
7.1.2. Síndromes genéticas: a síndrome de Down	21
7.2. Desenvolvimento <i>in utero</i>	22
7.3. Componente infecciosa	23
7.4. Componente ambiental	23
8. Fisiopatologia	25
8.1. LLA-B: Linhagem Celular dos Linfócitos B	25
8.2.1. Hiperdiploidia e Hipodiploidia	27
8.2.2. Translocação t(12;21)(p13;q22) [<i>ETV6-RUNX1</i>].....	28
8.2.3. Translocação t(9;22)(q34;q11) [<i>BCR-ABL1</i>].....	28
8.2.4. Translocação t(1;19)(q23;p13) [<i>TCF3-PBX1</i>].....	28
8.2.5. Translocação t(v;11q23) [rearranjo do gene <i>MLL</i>].....	28
8.3. LLA-T: Linhagem Celular dos Linfócitos T	29
8.4. LLA-T: Mutações Genéticas	30
8.4.1. Mutações ativadoras do oncogene <i>NOTCH1</i>	30
8.4.2. Deleção do <i>locus CDKN2A</i>	31
9. Manifestações clínicas e laboratoriais	32
10. Classificação	33
10.1. Classificação FAB	33
10.2. Classificação OMS	34
11. Diagnóstico	36
11.1. Avaliação inicial	36
11.2. Avaliação morfológica	36
11.3. Imunofenotipagem	37
11.4. Avaliação citogenética/molecular	37
11.5. Avaliação citoquímica	38

12. Prognóstico	39
13. Tratamento Convencional	40
13.1. Tratamento de suporte	40
13.1.1. Tratamento de suporte hematológico.....	40
13.1.2. Síndrome de lise tumoral	40
13.1.3. Profilaxia e tratamento de infecções.....	41
13.1.4. Terapia antiemética.....	42
13.2. Tratamento específico	42
13.2.1. Fase de indução.....	43
13.2.2. Fase de consolidação	44
13.2.3. Fase de manutenção	44
13.2.4. Profilaxia e tratamento da invasão neoplásica do SNC	45
13.2.5. Transplante alogénico de células estaminais hematopoiéticas	45
13.2.5.1. O “bebé-medicamento”	46
13.3. Monitorização	47
13.4. Toxicidade	48
14. Terapêuticas promissoras	50
14.1. Linfócitos T com recetor antigénico quimérico	50
14.2. Anticorpos	52
14.1.1. Anticorpos monoclonais anti-CD20	53
14.1.2. Anticorpos monoclonais anti-CD19	53
14.1.3. Anticorpos monoclonais anti-CD22	55
14.1.4. Anticorpos monoclonais anti-CD52	56
14.3. O Bortezomib, um inibidor do proteossoma	56
14.4. Inibidores de tirosina-cinase	57
15. Conclusões e Perspetivas futuras	59
16. Referências Bibliográficas	62

Índice de Figuras

Figura 1: Hematopoiese.....	15
Figura 2: Leucemia linfoblástica aguda.....	17
Figura 3: Desenvolvimento dos linfócitos B, na medula óssea.....	24
Figura 4: Desenvolvimento dos linfócitos T, no timo.....	28
Figura 5: Classificação FAB.....	31
Figura 6: Abordagem terapêutica da LLA, utilizando os linfócitos T CAR.....	50

Índice de Tabelas

Tabela 1: Classificação OMS da LLA (2016).....	34
---	----

Lista de Abreviaturas, Siglas e Acrónimos

BCR – Recetor dos linfócitos B (*B-cell receptor*)

CAR – Recetores de antígenos quiméricos (*Chimeric antigen receptor*)

CNPMA – Conselho Nacional de Procriação Medicamente Assistida

DNA – Ácido desoxirribonucleico (*Deoxyribonucleic acid*)

DN – Duplamente negativas

DP – Duplamente positivas

DRM – Doença residual mínima

ETP – Precusores jovens dos linfócitos T (*Early T-cell precursor*)

FAB - *French-American-British*

FDA – *Food and Drug Administration*

FISH – Hibridização fluorescente *in situ* (*Fluorescence in situ hybridization*)

G-CSF – Fator estimulador de colónias de granulócitos (*Granulocyte colony-stimulating factor*)

GM-CSF – Fator estimulador de colónias de granulócitos e macrófagos (*Granulocyte macrophage colony-stimulating factor*)

GVHD – Doença do enxerto versus hospedeiro (*Graft-versus-host disease*)

GVT – Enxerto versus tumor (*Graft-versus-tumor*)

HLA – Antígeno leucocitário humano (*Human leukocyte antigen*)

IPO – Instituto Português de Oncologia

LCR – Líquido cefalorraquidiano

LLA (ALL) – Leucemia Linfoblástica Aguda (*Acute lymphoblastic leukemia*)

LLA-B – Leucemia Linfoblástica Aguda de Linfócitos B

LLA-T – Leucemia Linfoblástica Aguda de Linfócitos T

LMA – Leucemia Mieloide Aguda

MHC – Complexo principal de histocompatibilidade (*Major histocompatibility complex*)

NK – *Natural Killer*

OMS (WHO) – Organização Mundial de Saúde (*World Health Organization*)

PCR – Reação em cadeia da polimerase (*Polymerase chain reaction*)

PNU – Polimorfismos de nucleótido único

Pré-BCR – Recetor dos linfócitos pré-B (*Pre-B cell receptor*)

Pré-TCR – Recetor dos linfócitos pré-T (*Pre-T cell receptor*)

RT-PCR – Reação da transcriptase reversa, seguida de reação em cadeia da polimerase
(*Reverse transcription polymerase chain reaction*)

SD – Síndrome de Down

SNC – Sistema nervoso central

TCR – Recetor dos linfócitos T (*T-cell receptor*)

1. Introdução

A leucemia linfoblástica aguda (LLA) é uma neoplasia maligna das células precursoras linfoides que proliferam de forma anormal na medula óssea (1). Pode ter origem na linhagem precursora das células B ou, embora menos frequentemente, na linhagem precursora das células T e o seu diagnóstico é estabelecido pela presença de 20% ou mais de linfoblastos malignos na medula óssea (2,3).

Esta neoplasia ocorre mais frequentemente em crianças do que em adultos (1). Contudo, enquanto no primeiro grupo se verifica uma taxa de cura que ultrapassa os 90%, a LLA em adultos representa uma doença mais devastadora, com uma taxa de sobrevivência entre 30 a 55% (2,4).

Relativamente ao tratamento da LLA, apesar de estarem a surgir novas abordagens, com estratégias terapêuticas cada vez mais direcionadas e individualizadas, a principal abordagem utilizada centra-se na quimioterapia (5). Em circunstâncias especiais, consideram-se como alternativas o transplante alogénico de células estaminais hematopoiéticas e a imunoterapia (1,5,6).

2. Objetivos

Esta monografia tem como principal objetivo a caracterização de toda a temática subjacente à leucemia linfoblástica aguda, sendo evidenciados os mecanismos fisiopatológicos da doença, os métodos de classificação e diagnóstico, as terapêuticas convencionais e também as emergentes, que se encontram ainda em desenvolvimento.

Além dos assuntos supramencionados, esta monografia tem também como objetivo descrever a epidemiologia da doença, as principais alterações genéticas associadas a esta neoplasia, que ocupam um papel cada vez mais relevante no desenvolvimento de terapêuticas inovadoras, as alterações clínicas e laboratoriais ocorridas e também o tratamento de suporte, uma importante abordagem terapêutica não específica.

É, portanto, elaborada uma revisão bibliográfica desta neoplasia, com destaque para os temas considerados mais relevantes no mundo científico, assim como uma reflexão sobre o presente e o futuro do tratamento da leucemia linfoblástica aguda.

3. Materiais e Métodos

A pesquisa bibliográfica, executada para a redação da presente monografia, decorreu entre fevereiro e agosto de 2019, tendo sido utilizados os motores de busca *Google Scholar*, *PubMed* e *B-on*, para a consulta de livros digitais e artigos científicos fiáveis. Para tal, foram utilizados os seguintes termos gerais: *acute lymphoblastic leukemia*, *hematological malignancies*, *childhood leukemia*, *adult acute lymphoblastic leukemia*. Estes termos gerais foram também utilizados em associação com termos mais restritivos, tais como: *epidemiology*, *etiology*, *Down's syndrome*, *risk factors*, *b-cell development*, *t-cell development*, *pathogenesis*, *genetic basis*, *cytogenetics*, *molecular genetics*, *genetic predisposition*, *genomic characterization*, *clinical presentation*, *laboratory abnormalities*, *FAB classification*, *OMS classification*, *diagnosis*, *cell morphology*, *cytomorphology*, *immunophenotyping*, *cytochemistry*, *risk stratification*, *prognostic factors*, *supportive care*, *chemotherapy*, *induction therapy*, *consolidation therapy*, *central nervous system prophylaxis*, *central nervous system directed treatment*, *stem cells transplantation*, *saviour child*, *minimal residual disease*, *toxicity management*, *adverse effects*, *advanced therapies*, *novel therapies*, *CAR T cells*, *monoclonal antibodies*, *proteasome inhibitors*, *tyrosine kinase inhibitors*.

A seleção dos artigos científicos baseou-se na credibilidade e relevância da informação presente, bem como na atualidade dos factos, tendo sido publicados por revistas científicas como *Nature*, *Blood Journal*, *The Lancet*, *American Journal of Hematology*, *The New England Journal of Medicine*. Tanto os livros digitais como os artigos científicos consultados encontravam-se redigidos em inglês e foram publicados entre os anos 2005 e 2019. Além destes recursos, foram também consultados alguns sítios eletrónicos, nomeadamente da *American Cancer Society* e do jornal *Público*.

4. Neoplasias Hematológicas

As neoplasias hematológicas são um grupo heterogêneo de doenças com diversas incidências, prognósticos e etiologias (7). Caracterizam-se por se tratarem de doenças clonais, dada a sua origem numa única célula da medula óssea, timo ou tecido linfoide periférico, a qual foi alvo de uma ou mais mutações genéticas. Essa célula sofre divisões mitóticas contínuas, culminando no desenvolvimento de um clone com proliferação desmedida e resistente à apoptose (8,9).

Dentro deste grupo de neoplasias, destacam-se os linfomas, os mielomas e as leucemias. Nos primeiros ocorre uma proliferação clonal de linfócitos que se acumulam nos gânglios linfáticos e em outros tecidos linfoides, sendo que, ocasionalmente, essas células malignas podem invadir o sangue ou outros órgãos. Os mielomas são neoplasias dos plasmócitos que se caracterizam por uma aglomeração destas células na medula óssea e também pela presença de uma paraproteína monoclonal no soro e/ou na urina. Por fim, as leucemias são alterações da série branca que se traduzem na proliferação de leucócitos malignos na medula óssea, que podem invadir o sangue periférico e infiltrarem-se noutros órgãos (8,9).

As leucemias são classificadas em agudas ou crônicas, de acordo com o estágio de diferenciação em que as células mutadas permanecem. As agudas progridem num curto espaço de tempo e as células tumorais são geralmente imaturas, como as células estaminais ou as células precursoras iniciais, denominadas blastos. Por outro lado, as crônicas progridem mais lentamente, podendo mesmo permanecer estacionárias, com células tumorais difíceis de distinguir morfológicamente das células consideradas normais (8,9). Por terem origem em células constituintes do sangue, as leucemias têm uma capacidade inerente de proliferação e de mobilização na corrente sanguínea, culminado no extravasamento para outros tecidos (10).

Em seguida, as leucemias podem ainda subdividir-se em linfoides ou mieloides, de acordo com a linhagem celular envolvida, linhagens essas detalhadas na figura 1 (8,11). Assim, as leucemias mais comuns são a LLA, a leucemia linfocítica crônica, a leucemia mieloide aguda (LMA) e a leucemia mieloide crônica (9,11).

A LLA é a neoplasia mais comum na infância (12). A maioria das crianças diagnosticadas com esta neoplasia é considerada curada, no entanto, em adultos, a LLA continua a ser uma das neoplasias malignas mais desafiantes, especialmente no que diz respeito à terapêutica da mesma (10,13).

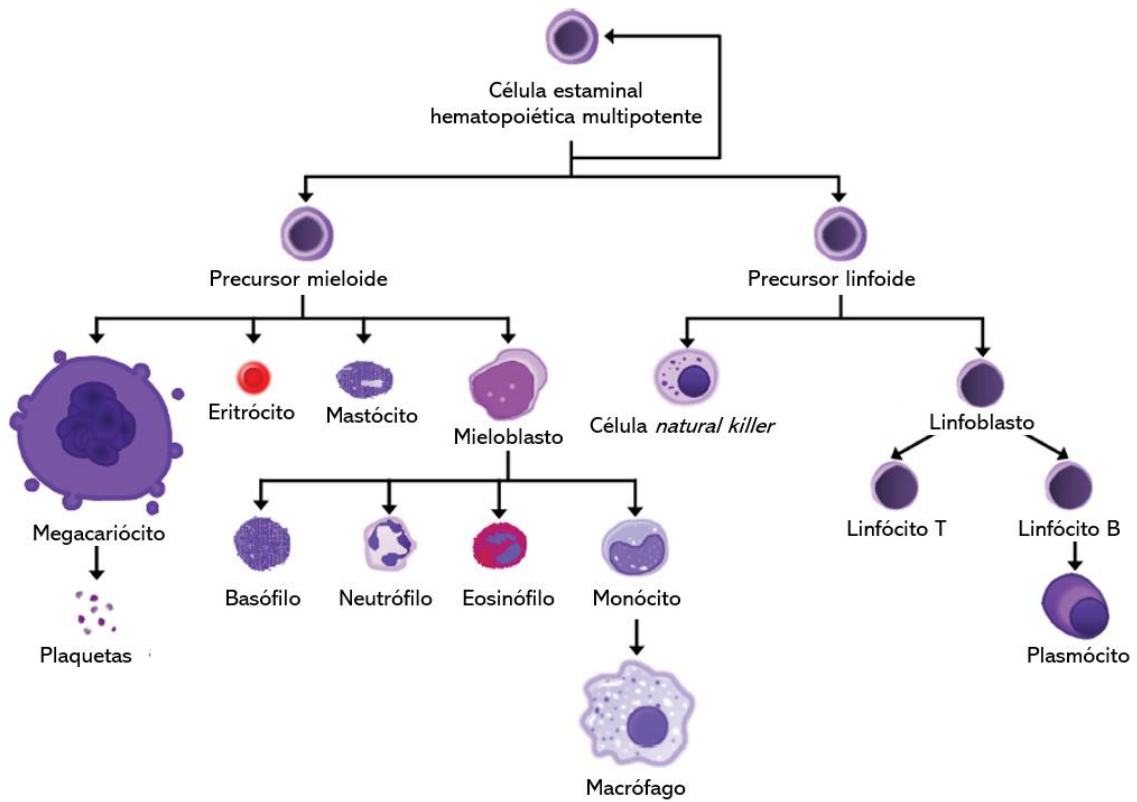


Figura 1: Hematopoiese: processo de formação dos elementos figurados do sangue.

Adaptado de (14).

5. Leucemia Linfoblástica Aguda

A LLA é uma neoplasia maligna das células hematopoiéticas e caracteriza-se por um largo espectro de mutações genéticas, incluindo aneuploidia e translocações cromossômicas em genes envolvidos no desenvolvimento das células linfoides e na regulação do ciclo celular (15). Assim, a diferenciação celular fica comprometida, que, aliada à proliferação excessiva, culmina na acumulação de blastos, não só na medula óssea mas, também, na corrente sanguínea e em locais extramedulares, como elucidado na figura 2 (1,13). Dado que a proliferação ocorre ao nível das células precursoras linfoides, verificar-se-á uma acumulação de linfoblastos B ou, menos frequentemente, de linfoblastos T (2).

A rápida progressão desta doença, em combinação com o grau de imaturidade das células tumorais, exige a necessidade de intervenção terapêutica imediata, especialmente em adultos diagnosticados com esta neoplasia (9,13).

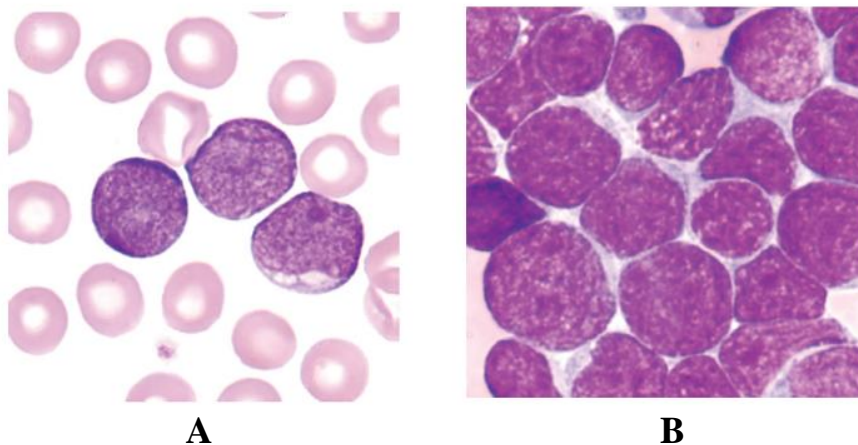


Figura 2: Leucemia linfoblástica aguda.

Coloração de Wright-Giemsa. Ampliação de 1000x.

Legenda:

A: Amostra de sangue periférico, observando-se pequenos linfoblastos, com citoplasma escasso.

B: Aspirado de medula óssea, com elevado número de linfoblastos de tamanho homogêneo.

Retirado de (16) .

6. Epidemiologia

A LLA é considerada, sobretudo, como uma leucemia pediátrica, com 75% dos casos a ocorrerem antes dos 6 anos de idade. Ainda assim, a taxa de incidência ajustada por idade desta neoplasia segue uma distribuição bimodal, tanto em homens como em mulheres, com o primeiro pico a ocorrer entre os 0 e 4 anos de idade e um segundo pico a surgir por volta dos 75 anos. Aos 65 anos de idade, verifica-se um aumento da taxa de incidência no sexo masculino, relativamente ao sexo feminino (17).

Atendendo a localizações geográficas, a incidência ajustada por idade da LLA nos Estados Unidos da América é de 1,7 por 100.000 indivíduos por ano, enquanto que na Europa se estima que este valor seja menor, cerca de 1,3 por 100.000 indivíduos por ano (7,13).

Como supramencionado, a ocorrência desta neoplasia apresenta variações significativas relacionadas com a idade. A incidência é mais elevada entre os 0 e os 14 anos, com um valor de 3,59 por 100.000 indivíduos, diminuindo depois para 0,53 por 100.000 indivíduos. Por fim, entre os 75 e os 99 anos, a taxa de incidência volta a aumentar, registando-se um valor de 1,45 por 100.000 indivíduos (7).

A incidência varia também de acordo com a população, bem como com a localização geográfica, sendo a LLA mais frequente em crianças de origem latina/hispânica. Em adultos, verifica-se o mesmo padrão, com a LLA a ser mais comum em indivíduos caucasoides, relativamente à população negroide. Assim, é na América do Sul que se verifica maior número de casos desta neoplasia, destacando-se países como Equador, Costa Rica e Colômbia (18,19).

A leucemia linfoblástica aguda de linfócitos B (LLA-B) é a mais comum, ocorrendo em 85% dos casos diagnosticados e apresenta uma igual incidência por sexo. Em contraste, os restantes 15% dos casos, que são classificados como leucemia linfoblástica aguda de linfócitos T (LLA-T), apresentam uma predominância o sexo masculino, com uma incidência que é cerca de duas vezes superior nos homens (8,13,20). Para além destes fatores, de acordo com um estudo retrospectivo efetuado nos Estados Unidos da América, jovens diagnosticados com LLA-B têm maior possibilidade de sobrevivência do que aqueles que têm um diagnóstico de LLA-T, enquanto que nos adultos ocorre o oposto (20).

7. Etiologia

A LLA, assim como outras neoplasias, se não mesmo todas, parecem resultar da combinação de exposições ambientais cruciais com suscetibilidade genética, que pode ser ou não hereditária (21,22).

Para determinar a etiologia das leucemias agudas em crianças, diversos estudos têm sido conduzidos, examinando possíveis fatores de risco ambientais, genéticos e infecciosos (22). Todavia, apesar de alguns dos doentes diagnosticados com LLA terem, de facto, um ou mais fatores de risco identificados, a verdade é que muitos outros doentes não têm. E mesmo quando uma pessoa tem um fator de risco conhecido, pode revelar-se muito difícil confirmar a relação de causalidade entre o fator e a neoplasia (23).

7.1. Componente Genética

A maioria dos casos de LLA caracteriza-se pela existência de mutações cromossômicas adquiridas, nomeadamente translocações e aneuploidias. Estas alterações, exclusivas das células tumorais, serão detalhadas mais adiante. Não obstante, os doentes podem também possuir mutações genéticas hereditárias, respeitantes à linha germinativa, que poderão estar presentes em todas as células e que têm vindo a revelar-se importantes marcadores de suscetibilidade à doença (24)

7.1.1. Polimorfismos de nucleótido único

Os polimorfismos de nucleótido único (PNU) incluem-se nas mutações genéticas hereditárias. Alguns PNU foram encontrados nos genes *ARID5B*, *IKZF1*, *DDC* e *CEBPE*. Enquanto que o primeiro gene parece estar associado ao padrão da expressão génica em linfoblastos neoplásicos, o segundo codifica para proteínas com função relevante no desenvolvimento da linhagem linfóide, bem como na supressão de tumores. Quanto aos restantes, o gene *DDC* regula o desenvolvimento e maturação da série branca e o gene *CEBPE* está envolvido no desenvolvimento e diferenciação de várias linhagens celulares. Assim, as alterações destes genes, bem como a desregulação da expressão dos mesmos, poderá culminar no desenvolvimento de células anormais, e, eventualmente, na ocorrência de neoplasia (12,24–27).

7.1.2. Síndromes genéticas: a síndrome de Down

A incidência da LLA encontra-se muito aumentada em algumas síndromes genéticas, tais como na Síndrome de Down (SD), Neurofibromatose, Síndrome de Bloom, Anemia de Fanconi, Síndrome de Li-Fraumeni, Síndrome de Klinefelter e Ataxia-telangiectasia. Estas síndromes

são caracterizadas pela ocorrência de defeitos nos mecanismos de reparação do ácido desoxirribonucleico (DNA; deoxyribonucleic acid), e, apesar de terem sido identificadas nestas situações excessivas mutações germinativas, as síndromes genéticas, no seu conjunto, explicam menos de 5% dos casos diagnosticados. De todas, destaca-se a SD, na qual os portadores apresentam um risco de desenvolver LLA cerca de 20 a 30 vezes superior, relativamente à população em geral (8,13,22,24,28).

Quanto ao imunofenótipo da LLA, em portadores de SD, os casos diagnosticados são maioritariamente de LLA-B, com a ocorrência de LLA-T a ser extremamente rara (29). No que diz respeito às bases genéticas, estas ainda não são totalmente conhecidas. Uma elevada proporção dos doentes tem cariótipo normal. No entanto, há que notar que um cariótipo considerado normal na SD tem um cromossoma 21 adicional, pelo que poderão não ser necessárias outras mutações cromossómicas para estabelecer o desenvolvimento da doença. Relativamente a alterações moleculares, a elevada expressão do recetor CRLF2, frequentemente associada a mutações do gene que codifica para a proteína JAK2, constituem duas modificações já identificadas em cerca de metade dos casos diagnosticados (30–32). Também foi demonstrado que o gene *IKZF1* está frequentemente deletado nestes doentes, sendo considerado um fator de mau prognóstico clínico. Assim, a constante identificação destas alterações moleculares e genéticas poderão contribuir não só para a explicação da patogénese da LLA na SD, como também para a identificação de potenciais alvos terapêuticos (33).

7.2. Desenvolvimento *in utero*

Uma parte dos casos diagnosticados com LLA parecem ser causados por mutações genéticas que ocorrem durante o desenvolvimento *in utero*. De facto, a deteção de LLA concordante em gémeos monozigóticos suporta essa hipótese. Estudos efetuados nestes gémeos idênticos mostram que ambos podem nascer com a mesma anomalia cromossómica. Presume-se que essa alteração surja espontaneamente numa célula precursora, que, depois, passou de um gémeo para o outro, através da circulação placentária compartilhada (8,34).

O elevado peso do bebé, aquando do nascimento, é outro dos poucos fatores perinatais associado ao risco de desenvolvimento de leucemia infantil (21). Uma vez que durante o desenvolvimento *in utero*, as células precursoras linfoides e mieloides não se encontram totalmente diferenciadas, tornam-se assim particularmente suscetíveis à transformação maligna, podendo dar origem a células pré-neoplásicas. À medida que o feto cresce, os linfoblastos proliferam rapidamente e são expostos a elevados níveis de fatores de crescimento que circulam durante a embriogénese (35). Esses fatores têm, então, a capacidade de estimular

a proliferação e a persistência dessas células pré-neoplásicas. Em bebês de elevado peso à nascença, pensa-se que essa estimulação que ocorre durante o crescimento intrauterino seja mais elevada, podendo assim as células persistir e, mais tarde, darem origem à manifestação da doença (34).

7.3. Componente infecciosa

A ideia de que a exposição a infecções, aliada ao desenvolvimento imunológico, pode estar entre as causas de LLA em crianças não é uma conclusão recente, sendo fundamentada, em parte, pela semelhança observada entre a distribuição etária da neoplasia e das doenças infecciosas comuns da infância. Além do mais, muitos doentes tinham também em comum um historial de infecções que antecedia ou coincidia com o momento do diagnóstico (36).

Estes dados permitiram a construção de duas hipóteses explicativas da origem da LLA, habitualmente referenciadas pelos nomes dos seus autores. São elas a hipótese de Greaves e a hipótese de Kinlen. Ambas postulam que esta leucemia advém de uma resposta anómala a uma dada infecção e são suportadas por dados epidemiológicos e biológicos (6,28,37).

Kinlen propôs como causa uma origem infecciosa associada a uma mistura populacional. Esta dita mistura surge com a deslocação de famílias para outros ambientes, o que promove a ocorrência de novos contactos entre indivíduos suscetíveis e infetados. Tal hipótese é, assim, compatível com o aumento da incidência de LLA observado nesses locais (6,28,38). Por outro lado, Greaves adota uma perspetiva do indivíduo e não da população. Este autor observou que crianças com níveis inferiores de estimulação imunológica tinham um maior risco de desenvolver LLA, pelo que pressupôs que é a ausência dessa estimulação o fator desencadeante de respostas anormais do organismo, perante uma exposição tardia a agentes infecciosos. Assim, a exposição a infecções durante a infância seria protetora, dado o seu contributo essencial para o desenvolvimento do sistema imunológico. Greaves também considera que risco de neoplasia, nestas circunstâncias, se encontra influenciado pela existência de células pré-neoplásicas formadas aquando do desenvolvimento *in utero*, já supramencionado (28,36,37).

7.4. Componente ambiental

Relativamente aos fatores de risco ambientais, a radiação ionizante foi o principal fator significativamente associado à LLA. Esta radiação origina mutações DNA, aumentando assim o risco do desenvolvimento desta doença hematológica (9,22). A restante maioria, como a radiação eletromagnética e o tabagismo, foram relacionados de forma fraca ou inconsistente

com qualquer forma de leucemia (22). Quanto à exposição química, esta está mais fortemente associada a um risco aumentado de ocorrência de leucemia mieloide aguda do que de LLA (19).

8. Fisiopatologia

Os avanços tecnológicos mais recentes, ao nível da sequenciação do genoma, têm permitido a realização de vários estudos acerca dos mecanismos fisiopatológicos da LLA. Assim, têm sido identificadas diversas mutações que parecem contribuir para o fenótipo desta doença. No entanto, embora determinantes para o estabelecimento, diagnóstico e estratificação do risco de LLA, estas mutações, por si só, não são suficientes para a gerar, pelo que outros mecanismos, estimulantes da oncogénese, deverão estar envolvidos (15,39,40).

A LLA caracteriza-se essencialmente por mutações cromossómicas, nomeadamente, aneuploidia, mutações estruturais e, também, inserções e deleções de sequências de DNA. Estas alterações causam desregulação da expressão génica e levam, também, à expressão de proteínas de fusão. Podem ainda comprometer inúmeros processos moleculares, tais como o desenvolvimento da linhagem linfóide, diferentes vias de transdução de sinal e regulação do ciclo celular e também da expressão de genes supressores de tumores (2,15,40).

As mutações genéticas associadas a esta neoplasia irão transmitir às células-filhas as suas capacidades de autorrenovação ilimitada e também de bloqueio da diferenciação celular no estágio de blastos. Dependendo das mutações identificadas, bem como da linhagem em que se localizam, na linhagem progenitora dos linfócitos B ou dos linfócitos T, teremos, de um modo geral, uma classificação em LLA-B ou em LLA-T, respetivamente (41,42).

8.1. LLA-B: Linhagem Celular dos Linfócitos B

Para além de detalhar as mutações ocorridas nas células neoplásicas, torna-se também relevante abordar as diferentes etapas do desenvolvimento e maturação às quais os linfócitos estão sujeitos.

Os linfócitos têm origem em células hematopoéticas pluripotentes, que passam por um processo de maturação controlado, através da seleção e expressão rigorosas de determinados fatores de transcrição (43).

Durante o desenvolvimento na medula óssea, as células da linhagem progenitora dos linfócitos B passam por um rearranjo dos *loci* da sua imunoglobulina (Ig), no qual ocorre recombinação dos segmentos VDJ deste gene, sendo que as células que se encontram neste estágio se denominam de linfócitos pró-B. Este processo culmina na expressão do recetor dos linfócitos pré-B (pré-BCR; *pre-B cell receptor*), composto por uma cadeia pesada de IgM combinada com os constituintes substitutos da cadeia leve, $\lambda 5$ e VpreB, que leva, então, ao avanço para o estágio dos linfócitos pré-B. O desenvolvimento, nos linfócitos pró-B, é, em parte, regulado pela via

de transdução de sinal iniciada pelo recetor da interleucina 7 (IL-7R). Quanto aos linfócitos pré-B, para além desta última via, atua também a sinalização efetuada pelo pré-BCR, contribuindo, assim, ambas as vias para a proliferação e sobrevivência destas células. De facto, as células neoplásicas, detetadas na LLA, poderão ser ou não dependentes desta sinalização iniciada pelos IL-7R e/ou pré-BCR para a sua sobrevivência descontrolada (43–45).

De seguida, os linfócitos pré-B iniciam um novo processo de recombinação, ocorrendo o rearranjo das cadeias leves. Estas cadeias leves associam-se às cadeias pesadas e formam o recetor dos linfócitos B (BCR, B-cell receptor) funcional, que permite a distinção dos linfócitos B imaturos dos seus precursores. Ainda na medula óssea, estas células são submetidas a um processo de seleção positiva e negativa, para que sejam eliminadas as células autorreativas. Estas células, quando detetadas, passam por uma nova recombinação dos segmentos VDJ, especialmente dos *loci* que codificam para a cadeia leve ou, então, sofrem apoptose, como demonstrado na figura 3. Assim, apenas os linfócitos B que expressam um BCR não autorreativo saem para a periferia, onde passam por um processo de seleção adicional, que lhes permite tornarem-se linfócitos B maduros, com a capacidade de responder a antígenos (44–46).

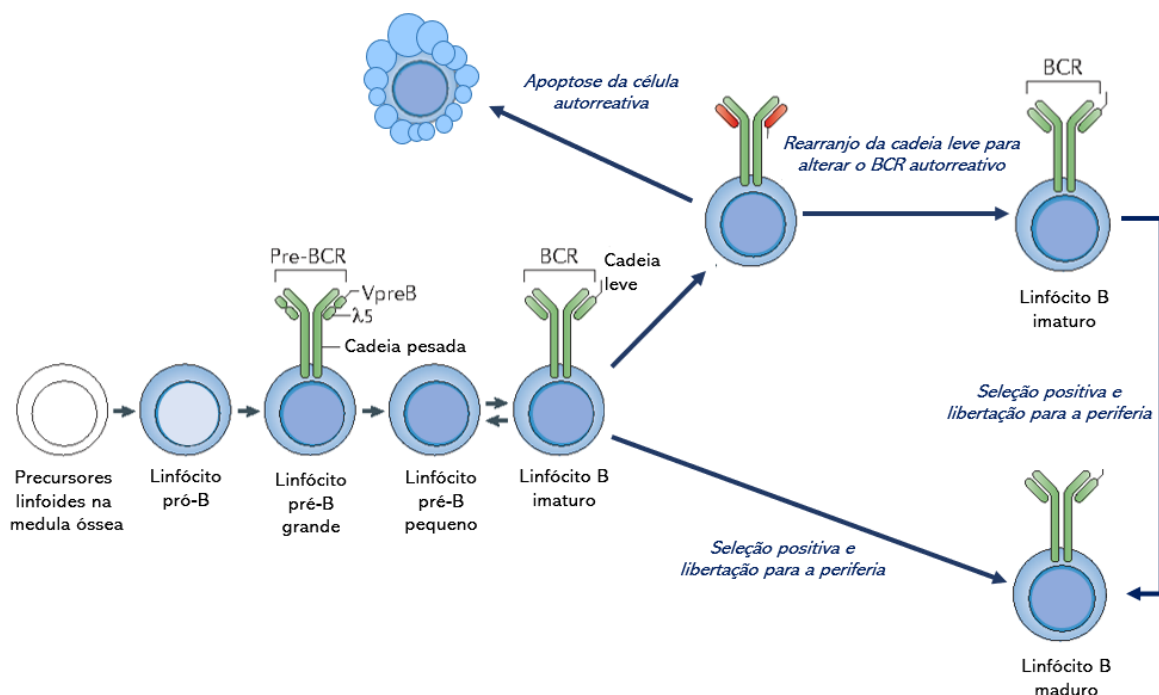


Figura 3: Desenvolvimento dos linfócitos B, na medula óssea.

Adaptado de (46).

8.2. LLA-B: Mutações Genéticas

A LLA caracteriza-se, em grande parte, pela presença de translocações cromossômicas. No entanto, tal como abordado anteriormente, as mutações genéticas, apesar de serem importantes potenciadores do desenvolvimento da neoplasia, por si só, parecem não ser suficientes para a ocorrência da LLA.

As mutações mais comuns associadas ao desenvolvimento de LLA-B são as seguintes: hiperdiploidia, hipodiploidia, t(12;21)(p13;q22) [*ETV6-RUNX1*], t(9;22)(q34;q11) [*BCR-ABL1*], t(1;19)(q23;p13) [*TCF3-PBX1*] e t(v;11q23) [rearranjo do gene *MLL*]. Estas mutações têm sido associadas à perda de genes supressores de tumor e também a outras alterações, tanto ao nível do desenvolvimento da linhagem celular dos linfócitos B bem como da ativação aberrante de vias de transdução de sinal (1,6,43).

8.2.1. Hiperdiploidia e Hipodiploidia

A elevada hiperdiploidia, com mais de 51 e até 67 cromossomas, ocorre em 25 a 30% dos casos de LLA-B, constituindo um padrão de anormalidade citogenética bastante comum nesta leucemia. O aumento do cariótipo, que não ocorre de forma aleatória, pode envolver qualquer cromossoma. Não obstante, mais de 70% dos casos envolvem os cromossomas X, 4, 6, 10, 14, 17, 18 ou 21. Ainda não são totalmente conhecidos os mecanismos pelos quais o aumento do número de cromossomas contribui para o desenvolvimento da neoplasia. Embora tenha sido descrito que as cópias de cromossomas presentes na hiperdiploidia levam ao aumento da expressão dos genes, tanto dos que estão contidos nesse cromossoma, como de outros que sejam regulados por estes, sabe-se que nem todos os genes adquiridos após a mutação são afetados (47,48).

A hipodiploidia não é tão comum, ocorrendo em cerca de 5 a 8% dos casos de LLA-B. Na sua maioria, as células leucémicas deste tipo de LLA apresentam um cariótipo com 45 cromossomas, exibindo uma retenção não aleatória dos cromossomas X/Y, 14, 18 e 21. De facto, os casos com menos de 45 cromossomas são raros, caracterizam-se por múltiplas perdas cromossômicas e estão associados a um pior prognóstico do que o associado aos doentes com cariótipo de 45 cromossomas ou mais. Os mecanismos fisiopatológicos deste tipo de LLA ainda não são totalmente conhecidos, mas sabe-se que estes cromossomas apresentam mutações em determinados genes, como nos genes *IKZF3* e *TP53*. Por outro lado, também são observadas nas células leucémicas hipodiploides ativações de algumas vias de transdução de sinal, como as vias RAS e PI3K (49–51).

8.2.2. Translocação t(12;21)(p13;q22) [*ETV6-RUNX1*]

A translocação t(12;21)(p13;q22) é a mutação mais frequentemente identificada na LLA-B, em crianças, ocorrendo em 25% dos casos. Esta mutação dá origem à fusão dos genes *ETV6* e *RUNX1*, genes estes que codificam fatores de transcrição envolvidos na hematopoiese (52,53).

O aumento da expressão deste gene de fusão em células estaminais hematopoiéticas apresenta diversas consequências, que contribuem para o desenvolvimento das células neoplásicas. De facto, ocorre um aumento da proliferação de blastos e também uma disrupção na diferenciação dos linfócitos B, observando-se um bloqueio parcial do desenvolvimento celular no estágio dos linfócitos pró-B. (43,52,53).

8.2.3. Translocação t(9;22)(q34;q11) [*BCR-ABL1*]

A translocação t(9;22)(q34;q11), que gera a fusão dos genes *BCR* e *ABL1*, é também referenciada como cromossoma *Philadelphia* positivo e codifica para a proteína de fusão BCR-ABL1. Quando a proteína ABL1 se encontra fundida à BCR, a sua atividade de tirosina-cinase torna-se constitutivamente ativa (54,55).

A presença desta translocação no genoma está associada a alterações dos genes que codificam para os fatores de transcrição linfoides e, também, à ativação aberrante de numerosas vias de transdução de sinal, alterações essas que contribuem para o crescimento e sobrevivência desmedidos das células (2,55,56).

É encontrada mais frequentemente em casos de LLA em adultos, rondando os 25%, contra os 3% observados nos casos infantis. Em ambos, a presença desta translocação remete para um prognóstico desfavorável (43).

8.2.4. Translocação t(1;19)(q23;p13) [*TCF3-PBX1*]

Os genes *TCF3* e *PBX1* codificam fatores de transcrição necessários à diferenciação e maturação dos linfócitos B. Esta translocação cromossômica, ao fundir os dois genes, leva à produção de um fator de transcrição oncogénico, com capacidade de causar expressão génica aberrante. Desta forma, é promovida a autorrenovação e a desregulação da diferenciação das células hematopoiéticas, o que contribui para o desenvolvimento da neoplasia (43,56–59).

8.2.5. Translocação t(v;11q23) [rearranjo do gene *MLL*]

O gene *MLL*, localizado na região 11q23, está envolvido em várias translocações cromossômicas associadas à LLA. Estas translocações ocorrem mais frequentemente em crianças e a mais comum é a t(4;11)(q21;q23). Assim, surge o gene de fusão *MLL-AF4*, que é encontrado em aproximadamente 50% dos casos em que ocorre rearranjo do *MLL*. Com esta

mutação, são produzidas oncoproteínas de fusão com capacidade de regular positivamente a expressão dos genes *HOXA* e *MEIS1*, o que contribui para indução das alterações neoplásicas nas células precursoras linfoides (6,43,56,60,61).

8.3. LLA-T: Linhagem Celular dos Linfócitos T

Os precursores linfoides, que derivam das células estaminais pluripotentes, entram no timo, no qual ocorrerão as subsequentes etapas de diferenciação, em compartimentos específicos. Nesta fase inicial, as células são ainda imaturas, não expressando as glicoproteínas CD4 nem CD8. Tais precursores, ao entrarem no timo, migram da junção corticomedular para a região subcapsular do córtex e, de modo sequencial, diferenciam-se nos seguintes estádios: timócitos duplamente negativos (DN) 1 ($CD44^+ CD25^-$), DN2 ($CD44^+ CD25^+$), DN3 ($CD44^- CD25^+$), DN4 ($CD44^- CD25^-$). Estas células são as precursoras dos timócitos duplamente positivos (DP) ($CD4^+ CD8^+$) (62,63).

No estágio DN1, dada a imaturidade das células, incluem-se os precursores, não só dos linfócitos T, mas também das células dendríticas e das células *natural killer* (NK). A restrição à linhagem dos linfócitos T é alcançada posteriormente, no estágio DN3, no qual as células expressam à sua superfície o recetor das linfócitos pré-T (pré-TCR; *pre-T cell receptor*), constituído por uma cadeia invariável pré-TCR α e uma cadeia TCR β rearranjada. Com a expressão deste recetor, ocorre a proliferação dos timócitos DN4, seguindo-se a sua maturação para o estágio de células DP ($CD4^+ CD8^+$). Adicionalmente, ocorre uma elevada expressão dos genes alvos da via de sinalização NOTCH1, assim como a produção de outros fatores de transcrição, como as proteínas Runx1, GATA-3 e E-box, que contribuem para a diferenciação dos timócitos (63–65).

À medida que as células terminam a sua proliferação, ocorre o rearranjo do gene *TCRA*. Este rearranjo permite a expressão do recetor dos linfócitos T (TCR; *T-cell receptor*) completo, composto por TCR α TCR β , que interage com o complexo principal de histocompatibilidade (MHC; *Major histocompatibility complex*) das células epiteliais presentes no timo. Esta interação determina os processos de seleção positiva e negativa, de acordo com a avidéz da ligação. Caso o TCR reconheça ativamente o MHC, dá-se a seleção positiva, com a emissão de sinais de sobrevivência para essa célula. A mesma tornar-se-á um linfócito T citotóxico ($CD8^+$), se reconhecer o MHC de classe I, ou um linfócito T auxiliar ($CD4^+$), se reconhecer o MHC de classe II, tal como elucidado na figura 4. Não obstante, se a interação entre o TCR e o MHC apresentado pelas células dendríticas da zona medular do timo for demasiado forte, é induzida a apoptose destas células, o que constitui o processo de seleção negativa. Findos estes

processos, os linfócitos saem do timo e seguem para a circulação, preenchendo os órgãos linfoides periféricos. (63,64)

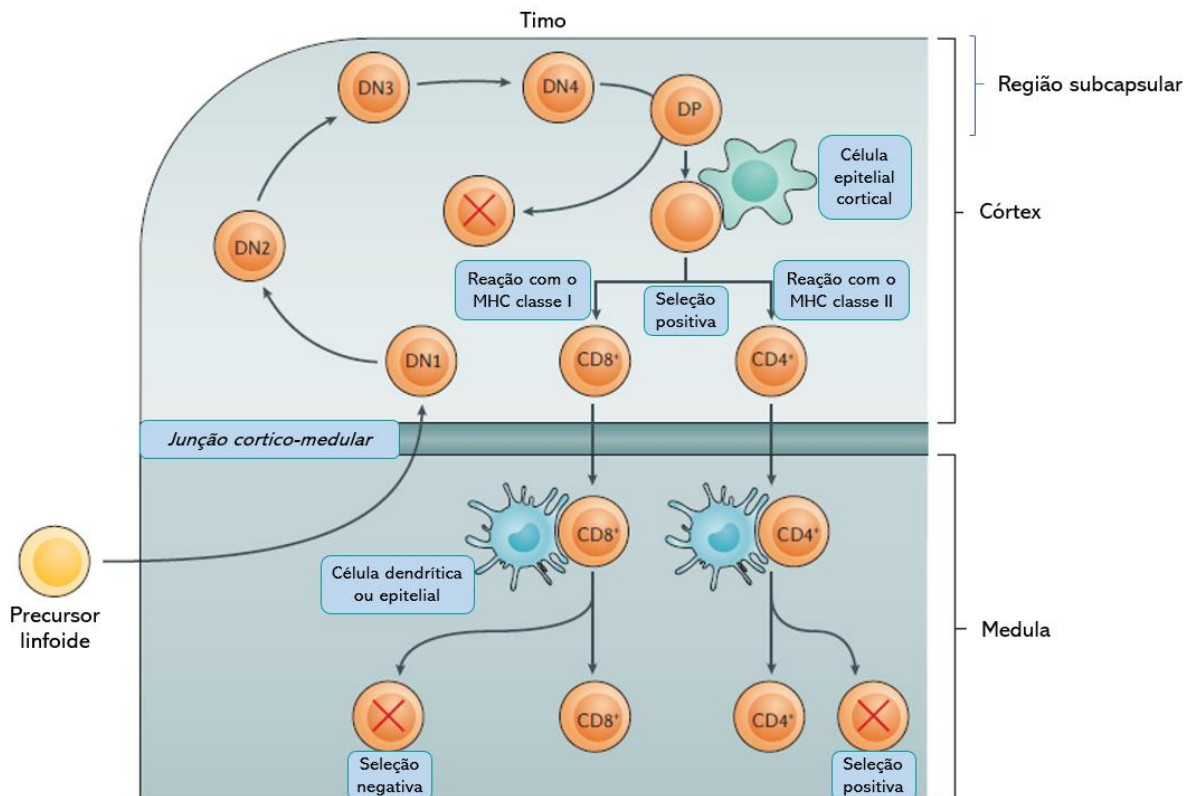


Figura 4: Desenvolvimento dos linfócitos T, no timo.

Adaptado de (64).

8.4. LLA-T: Mutações Genéticas

À LLA-T, à semelhança da LLA-B, estão associadas determinadas mutações genéticas, das quais se destacam as translocações e deleções. Estas alterações têm a capacidade de desregular vias de transdução de sinal e a expressão de genes supressores de tumor, o que contribui para o descontrolo do crescimento celular e para a sobrevivência dos precursores dos linfócitos T (66).

As alterações centrais na patogénese da LLA-T constituem a ativação constitutiva da via de sinalização NOTCH1, associada à deleção do *locus CDKN2A*. Além destas, observam-se translocações cromossômicas que envolvem o TCR (67,68).

8.4.1. Mutações ativadoras do oncogene *NOTCH1*

Cerca de 60% dos casos de LLA-T evidenciam uma ativação aberrante da via de transdução de sinal NOTCH1. Na maioria dos casos, esta alteração não surge pela ocorrência de translocações cromossômicas, mas sim, como resultado de mutações ativadoras desta via de sinalização, que alteram os domínios responsáveis pelo controlo do início e término da mesma. Assim, *NOTCH1*

é considerado um oncogene prevalente nesta neoplasia, que revela capacidade de regular o desenvolvimento das células neoplásicas, controlando numerosos genes envolvidos no seu crescimento e metabolismo. De facto, ocorre a ativação oncogénica do gene *MYC*, que contribui para a proliferação celular desmedida e, também, a regulação positiva de diferentes vias anabólicas, o que desregula o metabolismo celular (64,67,69).

8.4.2. Deleção do locus *CDKN2A*

Na LLA-T pediátrica, a mutação mais comum é a deleção do locus *CDKN2A*. Este gene localiza-se na região 9p21 e a sua deleção está presente em cerca de 70% dos casos diagnosticados. Este locus abriga os genes supressores de tumor *P16INK4A* e *P14ARF*, responsáveis pela regulação do ciclo celular e pela apoptose mediada pelo gene *TP53*, respetivamente. Com a deleção destes genes, ocorre descontrolo destes processos, o que é determinante para o desenvolvimento da leucemia (68,70,71).

8.4.3. Translocações cromossómicas que envolvem o TCR

As translocações cromossómicas associadas ao TCR são identificadas em cerca de 40% dos doentes. Ocorre, frequentemente, a justaposição de promotores dos genes que codificam para o TCR nos cromossomas 7 (*TCRB* e *TCRG*) e 14 (*TCRA* e *TCRD*) com genes que codificam para fatores de transcrição, nomeadamente para os fatores *TAL1*, *LMO2*, *TLX1*. Estes rearranjos desregulam a expressão destes fatores de transcrição, tornando-os oncogénicos, o que, por sua vez, resulta em alterações críticas do ciclo celular, proliferação e diferenciação dos linfócitos T (67,70,72).

9. Manifestações clínicas e laboratoriais

A apresentação clínica e laboratorial da LLA é inespecífica. No entanto, a maior parte dos sinais e sintomas identificados relacionam-se com a acumulação de células neoplásicas no interior de determinados órgãos, nomeadamente, na medula óssea, o que causa a falência da mesma. A nível extramedular, verifica-se o extravasamento destas células para a circulação sanguínea periférica, ocorrendo hepatoesplenomegalia e linfadenopatia em cerca de 20% dos casos diagnosticados (1,8,13).

De entre a sintomatologia inespecífica, destacam-se febre, mal-estar geral, anorexia e sudorese noturna. Poderá ocorrer inchaço testicular, sendo um sintoma identificado mais frequentemente em crianças e adolescentes. O envolvimento do sistema nervoso central (SNC) está presente em menos de 10% dos doentes, podendo ocorrer neuropatia craniana e infiltração das membranas meníngeas, às quais podem estar associadas náuseas, emese, cefaleias e diploidia. Em casos mais graves, pode estar presente obstrução do fluxo do líquido cefalorraquidiano (LCR), com aumento da pressão intracraniana. Também podem surgir dores osteoarticulares, assim como lesões osteolíticas, sobretudo na LLA infantil (1,8,13,73,74).

Relativamente à apresentação laboratorial da doença, é frequente a identificação, nas análises sanguíneas, de anemia normocítica normocrómica, leucopenia e trombocitopenia. À anemia estão associados diversos sintomas, como a palidez, letargia e dispneia. A leucopenia poderá resultar no aparecimento de infeções, sejam na cavidade oral, na pele ou no sistema respiratório, e, com a trombocitopenia, poderão surgir equimoses, petéquias e hemorragias espontâneas, tais como epistaxes ou gengivorragias (1,8,73).

Outras análises bioquímicas poderão revelar alterações, nomeadamente, poderá observar-se hiperuricemia, assim como uma elevação da enzima lactato desidrogenase, achados estes compatíveis com o elevado *turnover* celular e também com a lise tumoral, presentes nesta neoplasia (8,73).

Por fim, especificamente na LLA-T, poderá observar-se, na radiografia do tórax, uma massa na região mediastínica, resultante do aumento de volume, não só do timo, mas, também, dos respetivos gânglios linfáticos. Esta massa poderá causar a presença de sibilos, efusões pericárdicas e síndrome da veia cava superior (8,74).

10. Classificação

A classificação da LLA tem sido alvo de alterações, à medida que surgem novos factos sobre esta neoplasia. O primeiro sistema que surgiu para classificar a LLA denomina-se classificação *French-American-British* (FAB) e utiliza critérios morfológicos, sem valor prognóstico. Ao longo dos últimos tempos, esta classificação passou a ter pouco significado, tendo sido substituída pela classificação da Organização Mundial de Saúde (OMS), que, para além da morfologia, engloba também as características citogenéticas e imunofenotípicas das células neoplásicas (1,13,75,76).

10.1. Classificação FAB

A classificação FAB, criada por um grupo de hematologistas franceses, americanos e ingleses, foi pela primeira vez publicada em 1976, sendo posteriormente sujeita a clarificações. Neste subsistema, os subtipos de LLA baseiam-se na observação da morfologia da célula neoplásica ao microscópio, nomeadamente do seu tamanho, citoplasma, nucléolo, basofilia e vacuolização. Assim, podemos ter linfoblastos neoplásicos classificados como L1, L2 e L3, elucidados na figura 5 (1,13,75,76).

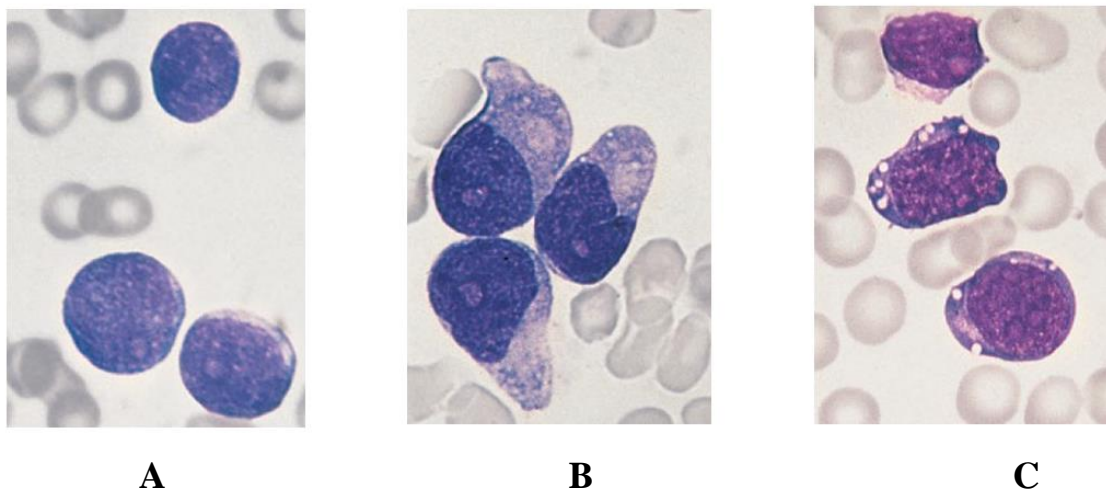


Figura 5: Classificação FAB.

Coloração de May–Grunwald–Giemsa. Ampliação de 100x.

Legenda:

A: Linfoblastos L1. Amostra de sangue periférico, observando-se pequenos linfoblastos, com citoplasma escasso, núcleo regular e com nucléolo pequeno, nem sempre visível.

B: Linfoblastos L2. Aspirado de medula óssea, com linfoblastos heterogéneos, de tamanho superior aos anteriores (L1), com citoplasma abundante, núcleo irregular e nucléolo visível.

C: Linfoblastos L3. Amostra de sangue periférico, na qual são visíveis linfoblastos de tamanho médio, núcleo regular, nucléolo proeminente, citoplasma basófilas e com vacúolos.

Adaptado de (76).

10.2. Classificação OMS

A classificação da OMS assenta na combinação de características clínicas, morfológicas, imunofenotípicas, genéticas, assim como outras características biológicas que se considerem relevantes. Desta forma, este sistema torna-se útil, não só para a classificação, mas, também, para o diagnóstico e escolha do protocolo terapêutico a seguir (77).

A primeira classificação da OMS para a LLA surgiu em 1997. Utilizando como critérios apenas a morfologia e o perfil citogenético das células neoplásicas, distinguia três tipos de LLA: LLA-B, LLA-T e Leucemia de Células Burkitt. Em 2008, esta última categoria deixa de ser uma forma de LLA, passando a estar associada ao Linfoma de Burkitt. Para além desta alteração, ocorre também uma subdivisão da LLA-B em LLA-B com anomalias genéticas e LLA-B/Linfoma não especificado separadamente. Por fim, em 2016, a classificação foi novamente atualizada, tendo sido adicionadas novas mutações à lista de alterações genéticas já consideradas. Para algumas destas categorias, o mecanismo pelo qual ocorre a neoplasia ainda não está totalmente descrito (1,78,79).

Na classificação da OMS de 2008 e 2016, para a LLA, estão também incluídos os linfomas linfoblásticos. Estes partilham muitas características com a LLA, diferindo no local de apresentação inicial da neoplasia. O termo linfoma é utilizado quando a neoplasia está confinada a uma lesão extramedular, sem ou com um mínimo envolvimento da medula óssea e do sangue periférico. Quando ocorre um marcado envolvimento da medula e sangue, estamos perante uma leucemia (76,80).

Relativamente às categorias enunciadas na tabela abaixo para a classificação da LLA-B, todas as mutações genéticas correspondentes são referidas no capítulo da fisiopatologia, à exceção das entidades provisórias, por não estarem ainda totalmente definidas, e também à exceção da alteração $t(5;14)(q31.1;q32.3)$; *IL3-IGH*, por se tratar de uma forma rara de LLA-B, inferior a 1% dos casos. Ainda assim, torna-se relevante o destaque desta categoria, uma vez que poderá ser confundida com leucemia eosinofílica. Com esta mutação, ocorre desregulação da expressão do gene *IL3*, o que resulta em eosinofilia. Estas células eosinófilas, apesar de poderem apresentar alterações citológicas, não fazem parte do clone leucémico, sendo o mecanismo neoplásico ainda desconhecido (76).

Na leucemia/linfoma linfoblástico de linfócitos T, existe uma fraca relação entre o imunofenótipo e as anomalias citogenéticas. Relativamente à sua classificação, diversos estudos têm surgido no sentido de identificar novas categorias genéticas, combinadas com os estádios de diferenciação celular. No entanto, ainda há controvérsia relativamente a estes subgrupos propostos, pelo que são ainda apenas consideradas duas entidades provisórias, destacando-se a Leucemia/Linfoma linfoblástico de precursores jovens dos linfócitos T (ETP; *Early T-cell precursor*) (76,78).

A LLA-T dos ETP caracteriza-se pela falta da expressão dos marcadores da linhagem celular T, CD1 e CD8, e, também, pela expressão aberrante de marcadores de células estaminais e/ou mieloides, nomeadamente CD13, CD33, CD34 e CD117. Os ETP correspondem às células na fase DN1, que, assim, têm a capacidade de se diferenciar em células das linhagens T e mieloides, mas não em células da linhagem B. Quanto às mutações genéticas, estas são diferentes das referidas no capítulo da fisiopatologia, comuns à maioria dos casos de LLA-T. Aqui, há uma maior prevalência de mutações ativadoras de genes que regulam vias de transdução de sinal, como por exemplo, *NRAS*, *KRAS* e *FLT3* (64,81).

Leucemia/Linfoma Linfoblástico de Linfócitos B:

Leucemia/Linfoma Linfoblástico de Linfócitos B, não especificado

Leucemia/Linfoma Linfoblástico de Linfócitos B com alterações genéticas recorrentes:

Leucemia/Linfoma Linfoblástico de Linfócitos B com t(9;22)(q34.1;q11.2); *BCR-ABL1*

Leucemia/Linfoma Linfoblástico de Linfócitos B com t(v;11q23.3); rearranjo do *MLL*

Leucemia/Linfoma Linfoblástico de Linfócitos B com t(12;21)(p13.2;q22.1); *ETV6-RUNX1*

Leucemia/Linfoma Linfoblástico de Linfócitos B com hiperdiploidia

Leucemia/Linfoma Linfoblástico de Linfócitos B com hipodiploidia

Leucemia/Linfoma Linfoblástico de Linfócitos B com t(5;14)(q31.1;q32.3); *IL3-IGH*

Leucemia/Linfoma Linfoblástico de Linfócitos B com t(1;19)(q23;p13.3); *TCF3-PBX1*

[Entidade provisória] Leucemia/Linfoma Linfoblástico de Linfócitos B, “*BCR-ABL1* like”

[Entidade provisória] Leucemia/Linfoma Linfoblástico de Linfócitos B com *iAMP21*

Leucemia/Linfoma Linfoblástico de Linfócitos T:

[Entidade provisória] Leucemia/Linfoma Linfoblástico de precursores dos Linfócitos T

[Entidade provisória] Leucemia/Linfoma Linfoblástico de Células NK

Tabela 1: Classificação OMS da LLA (2016).

Adaptado de (78).

11. Diagnóstico

Como já referenciado, o diagnóstico da LLA requer a presença de, pelo menos, 20% de linfoblastos neoplásicos na medula óssea. No entanto, é necessária uma avaliação adicional para a confirmação do diagnóstico e também para a estratificação do risco. São requeridos diversos estudos, nomeadamente estudos morfológicos, citoquímicos, genéticos e de imunofenotipagem, conforme detalhado na classificação mais recente da OMS (2016), supramencionada (1,13,75,82).

11.1. Avaliação inicial

A análise microscópica cuidada dos esfregaços de sangue periférico e de aspirado da medula óssea é um passo importante a realizar numa primeira avaliação laboratorial, pelo que devem ser corretamente preparados. Os linfoblastos observados são atípicos e indiferenciados, sendo a sua proporção circulante variável. Na maioria dos casos, a contagem celular é elevada. Noutros, poderá mesmo ocorrer pancitopenia, o que torna o diagnóstico mais desafiante, por escassez de células para análise. A avaliação fenotípica é também essencial numa primeira abordagem, pois permite determinar a linhagem envolvida, bem como o estadiamento celular (41,73,82).

A avaliação do envolvimento do SNC, pela análise do LCR, obtido através de punção lombar, não é ainda consensual. De facto, alguns estudos consideram que a realização de uma punção lombar traumática poderá promover a propagação das células tumorais para o SNC. Para além disso, relativamente à classificação, bem como à estratificação deste envolvimento, ainda não existe acordo sobre quais os critérios a utilizar. Enquanto alguns autores apenas consideram a contagem de leucócitos, outros invocam o uso da imunocitoquímica para identificar os linfoblastos neoplásicos presentes no LCR de forma mais precisa (1,8,73,83).

11.2. Avaliação morfológica

A morfologia dos linfoblastos neoplásicos pode ser variável. A maioria apresenta um tamanho pequeno a intermédio, com núcleo redondo a oval e citoplasma escasso. A cromatina está condensada e os nucléolos indistintos ou ausentes, correspondendo esta descrição à categoria L1 da classificação FAB. Em alguns casos, os linfoblastos são maiores e apresentam uma cromatina mais heterogénea, referidos como L2 da classificação FAB. Este sistema, como já abordado, caiu em desuso, sendo utilizado apenas para fins descritivos (73,84).

A principal limitação da análise morfológica é a impossibilidade de identificar se estamos perante um caso de LLA-B ou LLA-T. Para além disso, estes critérios também nem sempre são suficientes para distinguir linfoblastos B neoplásicos de linfoblastos B normais (75).

11.3. Imunofenotipagem

O estudo do imunofenótipo é considerado o método chave para o diagnóstico e subclassificação da LLA (75,82). Esta avaliação permite determinar qual a linhagem celular envolvida no processo neoplásico, o que a torna essencial para confirmar um diagnóstico que tenha sido baseado apenas em critérios morfológicos (75).

Para a realização destes estudos são colhidos aspirados de medula óssea e amostras de sangue periférico, cujo material celular é submetido a imunofenotipagem. A citometria de fluxo, utilizando marcadores citoplasmáticos e de superfície celular, é a técnica mais utilizada (73). Nos casos em que há poucas células disponíveis para análise, considera-se a utilização da imunocitoquímica (85).

Esta tipologia de análise recorre à utilização de anticorpos marcados, que irão reconhecer os epítomos dos antígenos celulares. Para a linhagem B, utilizam-se anticorpos sensíveis para determinados marcadores expressos pelos linfócitos B, nomeadamente, CD19 e CD22. O CD79a também é utilizado, apesar de não ser considerado específico, uma vez que é expresso também em alguns casos de LLA-T. Os marcadores CD20 e CD24 são outros dos marcadores a considerar na análise, mas nem sempre dão resultados positivos (84,85).

Quanto à linhagem T, os marcadores utilizados são também os associados às células da linhagem celular T, nomeadamente CD3, CD2, CD4, CD5 e CD7. O CD3 é o marcador mais específico das células T, pelo que é no resultado positivo para este marcador que se baseia o diagnóstico da LLA-T (75,84,85). Nesta LLA é também frequente a expressão de marcadores característicos de células mieloides, como CD11b, CD13, CD15 e CD33 (84).

11.4. Avaliação citogenética/molecular

A importância das componentes citogenética e molecular desta doença não se limita apenas ao diagnóstico e classificação. De facto, a caracterização de mutações cromossómicas e genéticas recorrentes na LLA assume um papel relevante na previsão do prognóstico e, também, na escolha do tratamento (75,85).

As principais técnicas empregues nesta análise são a análise citogenética convencional, hibridização fluorescente *in situ* (FISH; *fluorescence in situ hybridization*), reação em cadeia da polimerase (PCR; *polymerase chain reaction*) e reação da transcriptase reversa, seguida de

reação em cadeia da polimerase (RT-PCR; *reverse transcription polymerase chain reaction*) (73,75,85).

A análise citogenética convencional permite a identificação de mutações cromossômicas, nomeadamente translocações e aneuploidia, mediante a observação microscópica dos cromossomas de células que se encontram em metáfase. A dependência da divisão celular constitui uma limitação do método, dado que nem todas as células neoplásicas entram nesta fase mitótica. O método alternativo é a FISH, mais rápido e sensível que o anterior, no qual dispomos de sondas marcadas, que hibridam com cromossomas metafásicos ou núcleos em interfase, sendo de seguida detetadas com fluorocromos (73,75,85,86).

Quanto à avaliação a nível molecular, os métodos PCR e RT-PCR são também métodos rápidos e sensíveis que permitem detetar rearranjos genéticos específicos. Estes, juntamente com a FISH, são especialmente relevantes nos casos em que não é possível encontrar células metafásicas analisáveis (73,85,86). De facto, estas técnicas moleculares revelam-se essenciais para detetar e confirmar determinadas mutações genéticas recorrentes, já abordadas nesta monografia. A título de exemplo, permite a identificação das translocações t(12;21)(p13;q22) [*ETV6-RUNX1*] e t(9;22)(q34;q11) [*BCR-ABL1*], encontradas em grande parte dos casos diagnosticados com LLA-B (86).

11.5. Avaliação citoquímica

Devido ao aparecimento da imunofenotipagem e da análise genética, com resultados mais objetivos, a coloração citoquímica caiu em desuso, tornando-se a diferenciação entre a LLA e LMA, por meio deste método, apenas de interesse histórico. Neste tipo de análise utilizam-se corantes como o Negro de Sudão e outros que reagem com peroxidases, como a cloroacetato esterase, ou com esterases não específicas, sendo estas reações negativas para linfoblastos neoplásicos (75,84,85).

12. Prognóstico

A avaliação do prognóstico da LLA é um procedimento importante a realizar na abordagem terapêutica da doença (1). Para tal, procede-se à estratificação do risco, que permitirá escolher o protocolo terapêutico mais adequado a cada doente, incluindo a avaliação da necessidade de transplante das células estaminais hematopoiéticas (1). Esta abordagem permitiu, não só reduzir a terapêutica administrada a doentes com bom prognóstico, como também melhorar os resultados obtidos, pois permite escolher um tratamento direcionado ao risco de cada caso (8,87).

Entre os principais fatores de prognósticos temos a idade, as características clínicas encontradas aquando do diagnóstico, como a contagem de leucócitos, as alterações biológicas e genéticas das células neoplásicas e a resposta precoce ao tratamento (15). A linhagem celular afetada e o envolvimento do SNC também são considerados fatores, sendo o prognóstico pior em doentes diagnosticados com LLA-T e nos casos em que haja envolvimento do SNC (15,74). Quanto à idade, verifica-se uma maior taxa de cura em crianças do que em adultos, pelo que a idade avançada constitui um fator de mau prognóstico (2,4). A avaliação da doença residual mínima (DRM) constitui também um fator a considerar, sendo detalhado mais à frente nesta monografia (1). Dentro dos casos de LLA-B, os doentes com hiperleucocitose são considerados de alto risco, pelo que se espera um prognóstico mais desfavorável. Para a LLA-T, a idade e a contagem de leucócitos têm um valor de prognóstico limitado, sendo mais importantes outros fatores, abaixo enunciados (1,8,15).

A análise citogenética permite a identificação de várias mutações, estratificando os casos de acordo com as mutações cromossómicas e genéticas. De facto, as frequências destas mutações diferem consoante o grupo etário, o que poderá explicar os diferentes prognósticos encontrados em crianças e adultos (8). Quando à LLA-B, casos em que seja identificada hiperdiploidia, de modo geral, têm um bom prognóstico, enquanto casos com hipodiploidia nem tanto (8). Relativamente às mutações genéticas, as translocações $t(v;11q23)$ [rearranjo do gene *MLL*] e $t(9;22)(q34;q11)$ [*BCR-ABL1*] estão associadas a um mau prognóstico, enquanto que à $t(12;21)(p13;q22)$ [*ETV6-RUNX1*] está associado um prognóstico favorável (43). No que diz respeito à LLA-T, as mutações ativadoras do oncogene *NOTCH1* também apresentam um prognóstico promissor, ao contrário da leucemia/linfoma linfoblástico dos ETP que, por apresentar células que expressam marcadores de células mieloides e estaminais, apresentam mau prognóstico (76,78,87).

13. Tratamento Convencional

Os novos avanços tecnológicos têm permitido melhorar o tratamento das neoplasias hematológicas ao longo dos últimos anos. Tais avanços resultaram no desenvolvimento dos protocolos terapêuticos específicos, bem como dos protocolos terapêuticos de suporte, igualmente importantes, não só para o controle da doença, como também para o sucesso do tratamento específico. Ambos devem estar incluídos na terapia do doente e serão abordados em seguida (8,88).

13.1. Tratamento de suporte

Os doentes com neoplasias hematológicas, por si só, já apresentam uma perturbação da hematopoiese normal, por infiltração da medula óssea com células neoplásicas, que é depois ainda agravada pela terapêutica específica, ocorrendo assim uma insuficiência medular. Assim sendo, é necessária terapêutica de suporte, que inclui a administração de hemoderivados e também a prevenção da síndrome de lise tumoral. A profilaxia emética é também parte integrante deste tratamento, assim como outros cuidados, nomeadamente, a nível psicológico, nutricional e também da dor (8).

13.1.1. Tratamento de suporte hematológico

Dada a insuficiência medular, são necessárias transfusões de eritrócitos e plaquetas para tratamento da anemia e trombocitopenia. No entanto, há alguns fatores a considerar antes de proceder a esta terapêutica de suporte. As transfusões eritrocitárias têm o objetivo de evitar valores de hemoglobina inferiores a 8 mg/dL, mas não devem ser administradas em doentes com uma contagem de leucócitos muito elevada, dado o risco de causar hiperviscosidade e, conseqüentemente, episódios trombóticos. Quanto às transfusões plaquetárias, estas devem ser administradas para valores de plaquetas abaixo dos $10 \times 10^9/L$, de forma a aumentar este valor, e assim, reduzir o risco de hemorragia. Pode ser ainda considerada a administração de fatores de crescimento hematopoiéticos, como eritropoietina, fator estimulador de colónias de granulócitos (G-CSF; *granulocyte colony-stimulating factor*) e fator estimulador de colónias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF; *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*) (8,88,89).

13.1.2. Síndrome de lise tumoral

A síndrome de lise tumoral ocorre frequentemente em adultos e crianças diagnosticados com neoplasias hematológicas, principalmente em tumores com rápida divisão celular, como é o caso da LLA e da LMA. Dentro da LLA, há um maior risco de ocorrência desta síndrome em

casos de LLA-T, em crianças com hiperleucocitose e em doentes com insuficiência renal previamente instalada (8,88).

Esta síndrome caracteriza-se pelo aumento, de forma aguda, das concentrações de ácido úrico, potássio e fosfato no plasma, em consequência da intensa lise tumoral, espontânea ou associada à quimioterapia. Também se verifica hipocalcemia, secundária à hiperfosfatemia, por formação de complexos de fosfato de cálcio. Assim, as células libertam o seu conteúdo na corrente sanguínea, provocando distúrbios eletrolíticos e metabólicos, que poderão ter consequências adversas graves (8,88).

A administração intravenosa de fluidos e eletrólitos é uma das primeiras medidas a tomar. Caso o débito urinário esteja diminuído após esta reposição, é recomendada a administração de diuréticos da ansa. Para profilaxia da hiperuricemia, recorre-se à administração de alopurinol. Este fármaco não tem ação na hiperuricemia já instalada, pelo que, para o tratamento desta condição, se recorrem a outros fármacos, como a rasburicase ou flebuxostate. Quanto à hipercaliemia, para valores superiores a 6 mmol/L, administram-se agonistas β -adrenérgicos e insulina com glucose, de modo a evitar a ocorrência de arritmias. O gluconato de cálcio também pode ser administrado para corrigir, não só a hipercaliemia, mas também, a hipocalcemia, responsável por determinados efeitos adversos, como hipotensão, tetania e câibras. Para correção da hiperfosfatemia são utilizados quelantes orais do fosfato, como o hidróxido de alumínio e o carbonato de cálcio, mas estes são pouco eficazes. Por fim, a alcalinização da urina já não é uma medida recomendada, uma vez que está associada à precipitação de fosfato de cálcio nos túbulos renais, com formação de cálculos (8,90).

13.1.3. Profilaxia e tratamento de infeções

O controlo das infeções, fúngicas e bacterianas, é muito importante no tratamento da LLA, dado que constituem uma causa principal de morbilidade e mortalidade. À semelhança de outras neoplasias hematológicas, há um défice imunitário inerente, observando-se neutropenia e hipogamaglobulinemia, o que potencia ainda mais o aparecimento de infeções (8,91,92).

De facto, existem protocolos para controlo das infeções bacterianas e fúngicas. Quanto às primeiras, geralmente, não está incluído o uso de antibióticos profiláticos, dado o risco de desenvolvimento de resistência. Assim, os antibióticos têm a sua utilização reservada para a profilaxia em casos de elevado risco, como os doentes transplantados, e também para os casos em que há uma infeção diagnosticada. Apesar da antibioterapia ser iniciada após realização das culturas microbiológicas, a verdade é que nem sempre se conseguem isolar microrganismos.

Quanto às infecções fúngicas, à semelhança das anteriores, também poderá ser feita profilaxia com a administração de determinados antifúngicos, em casos de elevado risco. O tratamento também deverá ser escolhido sempre de acordo com o microrganismo em causa (8,92).

Ainda assim, é importante não esquecer que a administração concomitante de antibioterapia, medicamentos antifúngicos e quimioterápicos poderá desencadear toxicidade, especialmente renal e hepática, podendo mesmo haver necessidade de adiar o tratamento específico por este motivo (91).

13.1.4. Terapia antiemética

A administração de terapia antiemética é muito importante, uma vez as alterações gastrointestinais, como náuseas e emese, são efeitos adversos muito comuns na administração de protocolos de quimioterapia. Os sintomas podem ir de náuseas e mal-estar geral a emese intensa e persistente, que podem levar a desidratação, distúrbios eletrolíticos, desnutrição e hematemeses (8,93).

A terapêutica antiemética deverá ser profilática, uma vez que os sintomas já instalados são mais difíceis de controlar. Estão indicados o uso de antagonistas dos recetores da serotonina (5-HT₃), como o ondansetron e também de antagonistas dos recetores da neuroquinina-1 (NK1), como o aprepitant. Os antagonistas dos recetores da dopamina foram os primeiros a fazer parte desta terapia e ainda hoje são utilizados, destacando-se a metoclopramida. Também poderá ser considerado o uso de benzodiazepinas, nomeadamente o lorazepam, e ainda os canabinoides (8,93,94).

Por fim, é importante destacar os corticosteroides, que apresentam um papel relevante na terapia antiemética. De facto, quando combinados com outros antieméticos, ocorre potenciação da atividade, com elevação do limiar emético. A dexametasona é o fármaco mais utilizado, e encontra-se frequentemente associado aos outros fármacos presentes nesta terapêutica, podendo aumentar o efeito antiemético até cerca de 20% (8,93,94).

13.2. Tratamento específico

O tratamento específico da LLA inclui a administração de diversos fármacos quimioterápicos, em sequências específicas de dose e duração. Assim, divide-se em várias fases, nomeadamente, indução, consolidação e manutenção a longo prazo. A profilaxia da invasão do SNC por células neoplásicas é outra fase relevante do tratamento, que é detalhada mais adiante nesta monografia e o transplante alogénico de células estaminais hematopóéticas poderá também ser considerado, em casos de elevado risco. O objetivo do tratamento específico é erradicar a doença, restaurar

a hematopoiese e impedir o desenvolvimento de células neoplásicas resistentes, que poderão levar à recaída. (1,13,88).

13.2.1. Fase de indução

A primeira fase do tratamento consiste na indução da remissão da doença e tem uma duração entre 4 a 6 semanas (9,15). A remissão é definida como a presença de um valor de blastos na medula óssea inferior a 5%, contagem celular no sangue periférico dentro dos limites de referência e ausência de outros sinais ou sintomas da neoplasia (8). Para atingir a remissão, esta fase combina elevadas doses de quimioterapia intensiva, de forma a eliminar o maior número possível de células neoplásicas presentes na medula óssea e assim permitir o restabelecimento do processo normal da hematopoiese (1,8,9,13,80).

Os protocolos terapêuticos incluem uma associação de diversos fármacos, nomeadamente, um glucocorticoide, como a dexametasona ou a prednisona, asparaginase e vincristina. Geralmente, estes fármacos são os mais utilizados e permitem alcançar a remissão em mais de 95% das crianças e em cerca de 80 a 90% dos adultos. Pode ser também ponderado o uso de uma antraciclina, como a daunorrubicina e a doxorrubicina e, também, o uso de ciclofosfamida (8,13,15,95).

Os glucocorticoides foram dos primeiros fármacos a ser utilizados no tratamento da LLA, e, ainda, são considerados uma parte essencial da terapêutica. Têm a capacidade de inibir a produção de citocinas, alterar a expressão génica, induzir a paragem do ciclo celular e causar apoptose. Dentro desta classe, a dexametasona tem vindo a substituir a prednisona, devido ao seu tempo de semivida elevado e também à sua capacidade de penetrar a barreira hematoencefálica. Deste modo, o uso da dexametasona permite atingir concentrações mais elevadas no SNC. No entanto, é necessário ter em conta que este fármaco está associado a um maior risco de desenvolvimento de efeitos adversos, nomeadamente, risco de infeção, osteonecrose, miopatia e alterações de humor e comportamento (1,13,95,96).

A asparaginase é uma enzima que catalisa a hidrólise do aminoácido asparagina em ácido aspártico, diminuindo a concentração de asparagina no soro. Ora, a asparagina é um aminoácido essencial para as células neoplásicas, uma vez estas não conseguem sintetizá-la, ao contrário das células saudáveis. Assim, a depleção da asparagina, por este fármaco, leva à redução da síntese de DNA, RNA e proteínas nos blastos neoplásicos, o que culmina na morte celular. Existem três formulações de asparaginase, derivadas de bactérias diferentes. Todas as formulações têm o mesmo modo de ação, mas as características farmacocinéticas são distintas.

Dada a origem biológica do fármaco, os doentes poderão desenvolver reações de hipersensibilidade, com o desenvolvimento de anticorpos com capacidade de neutralizar a enzima. Assim, a ação do fármaco diminui, o que prejudica a resposta ao tratamento (97,98).

É importante referir que a adição da asparaginase no tratamento da LLA pediátrica permite a obtenção de melhores resultados, sendo mesmo considerado um fármaco padrão nestes casos, ao contrário do que acontece nos casos de LLA em adultos. Estudos revelam que este fármaco foi considerado a principal causa de mortalidade relacionada com a indução, pelo que tem sido retirado de protocolos terapêuticos de doentes com idade superior a 40 anos (1,13).

Por último, a vincristina exerce o seu efeito antineoplásico inibindo a formação dos microtúbulos no fuso mitótico, e, causando assim, morte celular. No entanto, este fármaco também exhibe efeitos adversos, nomeadamente a nível neurológico, com o aparecimento de neuropatia, parestesias, entre outros sintomas (99).

A maioria dos doentes consegue atingir a remissão da doença, sendo este um passo muito importante na abordagem terapêutica. Quanto aos que não o conseguem, será necessário administrar um protocolo terapêutico mais intensivo nesta fase. Não obstante, ainda que a remissão seja atingida, tal não é considerado uma cura, dado que, sem as fases terapêuticas descritas em seguida, ocorrerá certamente uma recaída (8,15).

13.2.2. Fase de consolidação

O tratamento na fase de consolidação segue-se ao anterior e tem como objetivo, não só eliminar quaisquer células neoplásicas que possam ter resistido ao tratamento de indução, como impedir a disseminação da leucemia para o SNC. Assim, é nesta fase que se administra a terapêutica profilática da invasão do SNC, posteriormente detalhada. No total, a duração do tratamento de consolidação pode variar entre 6 a 8 meses de quimioterapia intensiva, com doses administradas próximas do limite de tolerância do doente (8,13,15).

Fazem parte das opções terapêuticas a considerar, a administração de metotrexato, em elevadas doses, com mercaptopurina, citarabina, ciclofosfamida e, ainda, os fármacos utilizados na fase anterior, nomeadamente a vincristina e a asparaginase (6,8,15).

13.2.3. Fase de manutenção

O propósito da última fase do tratamento é evitar a recaída da doença, prolongando a remissão. Esta fase de manutenção dura entre 2 a 3 anos e o esquema terapêutico mais utilizado consiste na administração diária de mercaptopurina, metotrexato semanal e bólus mensais de corticosteroides e vincristina (1,13,15).

A adesão à terapêutica nesta fase poderá ser problemática, dada a duração longa do tratamento e a necessidade de administração diária de medicação oral. De facto, a diminuição da adesão reflete-se no risco de recaída, que se torna 4 vezes superior ao risco avaliado entre doentes com uma taxa de adesão próxima dos 90% (15).

13.2.4 Profilaxia e tratamento da invasão neoplásica do SNC

O envolvimento do SNC é comum, tanto em crianças como em adultos diagnosticados com LLA e o tratamento desta condição revela-se difícil, uma vez que são poucos os fármacos administrados por via sistémica que conseguem atingir o LCR. Assim, o tratamento profilático da invasão do SNC é muito importante, registando-se um decréscimo da taxa de recaída, de 30% para 5%, com a adoção desta medida. De um modo geral, para prevenção desta invasão, administram-se injeções intratecais de metotrexato. A radioterapia craniana também pode ser considerada, mas a sua utilização tem vindo diminuir por causa dos efeitos adversos neurotóxicos que pode induzir, apesar da sua eficácia elevada. A quimioterapia sistémica sozinha não é adequada, por não se conseguirem atingir concentrações elevadas dos fármacos no LCR, tal como supramencionado. No entanto, o uso combinado de quimioterapia sistémica e intratecal potencia os resultados (6,8,9,100).

Perante a invasão do SNC, o tratamento mais frequentemente utilizado inclui a administração intratecal tripla de metotrexato, citarabina e um corticosteroide, como a hidrocortisona. Outras alternativas são a administração de citarabina, em elevada dose, de metotrexato, por via endovenosa, ou então, a radioterapia, mas apenas em último caso, dados os efeitos nefastos a ela associados (8,95).

13.2.5. Transplante alogénico de células estaminais hematopoiéticas

O transplante alogénico de células estaminais hematopoiéticas constitui o tratamento padrão para casos de doença refratária e para doentes de elevado risco, uma vez que a utilização desta alternativa terapêutica, nestes doentes, tem mostrado benefício relativamente à quimioterapia convencional. No entanto, a necessidade de um dador compatível para a realização desta tipologia de transplante constitui uma grande dificuldade nesta abordagem terapêutica (1,74).

Os critérios utilizados na avaliação do risco da neoplasia podem variar, mas, de uma forma geral, incluem a presença de LLA dos ETP, do cromossoma *Philadelphia*, hiperleucocitose, invasão neoplásica do SNC e outras mutações genéticas de elevado risco, como a hipodiploidia. Estes doentes, após atingirem a remissão, recebem o transplante, em vez de passarem à fase terapêutica da consolidação. Relativamente à utilização deste tratamento em doentes idosos, os

resultados são fracos, especialmente em doentes acima dos 60 anos, dadas as comorbilidades presentes. Estas contribuem para a mortalidade associada ao transplante, pelo que esta opção terapêutica não é considerada nestes doentes (1,13,74).

O transplante alogénico, para além de permitir o restabelecimento de uma nova estrutura hematopoiética saudável, ajuda a prevenir a recaída, por morte das células neoplásicas, num processo denominado “enxerto versus tumor”, (GVT; *graft-versus-tumor*) (101). Uma das complicações associadas é “a doença do enxerto versus hospedeiro” (GVHD; *graft-versus-host disease*), na qual as células T imunocompetentes, provenientes do dador, reconhecem os tecidos do doente como estranhos, resultando na ativação da resposta imunitária (101). Esta resposta induz a inflamação de diversos órgãos, tais como, fígado, pulmões, pele e intestinos, o que contribui para o aumento da morbidade e mortalidade, associadas ao transplante (101,102).

O transplante autólogo de células estaminais hematopoiéticas, com as células do próprio doente, poderá ser outra alternativa a considerar (95). Apesar de estar associado a uma maior taxa de recaída, com este transplante não ocorre o efeito GVHD e a qualidade de vida a longo prazo é considerada melhor, relativamente ao transplante alogénico (103).

A seleção apropriada dos doentes, de qual transplante a realizar, alogénico ou autólogo, e do momento em que se deve proceder ao mesmo, torna esta abordagem terapêutica ainda um pouco controversa. Apesar do transplante alogénico constituir o transplante padrão, o estudo dos casos, de modo a equacionar a realização de um transplante autólogo, não deve ser descartado (74,103).

13.2.5.1. O “bebé-medicamento”

O “bebé medicamento” consiste na conceção de um bebé de antigénio leucocitário humano (HLA; *human leukocyte antigen*) compatível com o irmão doente, para que este seja doador de células estaminais hematopoiéticas, quando não existe um dador compatível. Estas células são colhidas preferencialmente do sangue do cordão umbilical, sendo posteriormente utilizadas para o transplante alogénico. O prognóstico associado a este procedimento é bastante favorável, refletindo-se numa taxa de cura elevada (104,105).

São gerados vários embriões, com recurso às tecnologias de reprodução medicamente assistida, cujas células são depois submetidas a avaliação genética para encontrar embriões com HLA compatível. Depois, os embriões selecionados são transferidos para o útero, de forma a estabelecer uma gravidez e gerar um bebé (105).

Há a salientar que esta abordagem terapêutica levanta questões éticas muito importantes, difíceis de contornar. As principais são a conceção de um bebé selecionado, utilizado para salvar o seu irmão, os riscos impostos à mãe, que tem de se submeter às técnicas de reprodução medicamente assistida e também o impacto psicológico nos familiares. Desta forma, esta hipótese terapêutica é apenas permitida em alguns países e está somente disponível para determinados casos, nomeadamente para aqueles que necessitam de um transplante alogénico mas que não tenham nenhum doador compatível, tanto na família como nos registos de dadores nacionais e internacionais (105).

Em Portugal, o recurso ao “bebé medicamento” é permitido por lei, desde 2006. O processo tem de ser submetido ao Conselho Nacional de Procriação Medicamente Assistida (CNPMA), que emitirá, ou não, a autorização do procedimento. Apesar de a lei ser um pouco omissa relativamente a este assunto, o CNPMA apenas irá emitir parecer positivo caso o estado do doente seja considerado grave e não existindo outras alternativas terapêuticas. Em 2015, foi autorizado pelo CNPMA o primeiro caso de um “bebé-medicamento”, para o tratamento de uma criança portuguesa de 5 anos, diagnosticada com LLA, refratária à terapêutica disponível (106,107).

13.3. Monitorização

Para a monitorizar a resposta ao tratamento da LLA, tem sido cada vez mais utilizado como critério a deteção da DRM. Apesar de, na análise microscópica convencional do sangue ou da medula óssea poderem não ser identificadas células neoplásicas, estas amostras poderão conter níveis mensuráveis das mesmas, o que constitui a presença da DRM. Geralmente, a maioria dos autores estabelece a presença de apenas 0,01% de células neoplásicas para ser considerada positiva a presença da DRM, recorrendo a técnicas de imunofenotipagem por citometria de fluxo e à PCR para proceder a esta avaliação (8,13,108).

A utilização dos resultados da avaliação da DRM é explorada em diversos estudos. Perante valores negativos no final da fase indução ou durante a consolidação, a terapêutica poderá ser reduzida. Por outro lado, na presença de DRM persistente, pondera-se a intensificação do tratamento, ou, até mesmo, o transplante alogénico de células estaminais hematopoiéticas, o que torna a DRM um critério a utilizar na seleção dos doentes candidatos ao transplante. Para além disto, parece que, quando a DRM é avaliada durante a fase terapêutica de indução da remissão, o risco de recaída é geralmente proporcional ao nível de DRM detetado (8,74,108).

A avaliação da DRM constitui também um fator de prognóstico, com significado clínico importante na estratificação do risco, tanto em casos de LLA infantil como adulta. Assim, esta análise torna-se também relevante, não só na monitorização, mas também na escolha da abordagem terapêutica a seguir. No entanto, apesar de constituir um fator de prognóstico independente, os seus valores diferem consoante as características genéticas e biológicas da neoplasia, pelo que o perfil da LLA deve ser considerado (1,13,108).

13.4. Toxicidade

A toxicidade da terapêutica administrada é uma das principais preocupações no tratamento da LLA, especialmente de crianças, por estas se encontrarem ainda em fase de crescimento (8).

Os tratamentos utilizados na LLA têm uma toxicidade significativa associada, que pode contribuir para a morbilidade e mortalidade a curto prazo, tanto como para a ocorrência de sequelas a longo prazo. Alguns efeitos adversos específicos poderão diferir consoante os fármacos administrados, e os polimorfismos genéticos têm sido também identificados como variáveis importantes na gestão da eficácia e da toxicidade da terapêutica (109).

A maioria dos agentes quimioterápicos exerce os seus efeitos tóxicos tanto em células neoplásicas, como em células saudáveis com elevada taxa de renovação, nomeadamente células hematopoiéticas, do trato gastrointestinal, cabelo e pele. Assim, de forma geral, alguns efeitos adversos são comuns a grande parte dos fármacos e também dependentes da dose administrada. As complicações agudas incluem a insuficiência medular, o que predispõe os doentes a hemorragias e infeções, náuseas e emese, devido à toxicidade gastrointestinal e, também, alopecia (9).

Mais especificamente, ocorre neuropatia, muito associada à administração de vincristina, cardiomiopatia e outras complicações cardíacas com as antraciclina e cistite hemorrágica com a ciclofosfamida. A utilização da asparaginase pode causar reações de hipersensibilidade, pancreatite e acidentes vasculares cerebrais, enquanto que a citarabina proporciona o desenvolvimento de mielossupressão e neurotoxicidade. Por outro lado, a dexametasona está muito associada à necrose óssea, principalmente em crianças e adolescentes, a mercaptopurina causa toxicidade hematopoiética e o metotrexato provoca toxicidade gastrointestinal, hepática e também neurológica. (8,9,109,110).

Os casos de LLA infantil constituem um grupo de risco importante, relativamente aos efeitos adversos do tratamento. Cerca de 1 a 2% das crianças morrem devido à toxicidade da terapêutica administrada durante a fase de remissão. Doentes portadores de SD, adolescentes e

casos que tenham sido alvo de terapia mais intensiva, também têm um risco aumentado de morte por efeitos tóxicos (15).

É também importante de destacar a toxicidade a longo prazo. De facto, em crianças sobreviventes, os efeitos neurotóxicos poderão aparecer apenas na meia idade. Para além disto, poderá mesmo ocorrer diminuição da fertilidade e o aparecimento de neoplasias secundárias. Assim, o acompanhamento dos doentes, mesmo após considerados curados, torna-se essencial para avaliar os riscos e, conseqüentemente, desenvolver estratégias terapêuticas, não só para os gerir da melhor forma possível, como para reduzir e tratar os efeitos tóxicos (8,9,15).

Finalmente, para a gestão adequada dos efeitos adversos, torna-se importante a correta administração da terapêutica de suporte, já abordada nesta monografia, assim como considerar algumas modificações na terapia, com o objetivo de minimizar a toxicidade (15).

14. Terapêuticas promissoras

Novas abordagens terapêuticas têm sido estudadas e utilizadas, em detrimento da quimioterapia convencional, altamente tóxica para o organismo. Assim, com as descobertas recentes acerca das características genéticas da LLA, ganham lugar as terapias direcionadas para as alterações moleculares identificadas, que, dada a sua especificidade terapêutica, permitem a melhoria dos resultados a longo prazo, estando associadas a menos efeitos adversos (15,95).

14.1. Linfócitos T com recetor antigénico quimérico

As células T podem ser geneticamente modificadas, de forma a reconhecer especificamente células tumorais, através da expressão de recetores antigénicos quiméricos (CAR; *chimeric antigen receptor*). De facto, esta terapia emergente tem demonstrado grande eficácia clínica no tratamento de algumas neoplasias hematológicas, com destaque para a LLA-B, refratária à terapêutica convencional (1,111–114).

Os CARs são recetores considerados quiméricos, uma vez que são compostos por uma unidade externa de reconhecimento do antigénio, correspondente à estrutura de um anticorpo, e por um domínio de sinalização intracelular, idêntico aos recetores fisiológicos das células T, os TCRs. A interação destes dois componentes ocorre através de domínios transmembranares e culmina na ativação dos linfócitos. Outra característica destes recetores é a sua ligação a outras moléculas, para além das proteínas, como os glicolípidos, o que permite a expansão dos potenciais alvos, sem perder a especificidade para as células tumorais (113,114).

Estes linfócitos T modificados, graças aos CARs, têm a capacidade de reconhecer antigénios não processados, ativados de forma independente do MHC, o que induz a resposta tóxica contra as células tumorais. O facto destes recetores não estarem restritos à apresentação dos antigénios pelo MHC, constitui uma das principais diferenças relativamente ao TCR, e também uma vantagem, pois permite tratar os doentes, independentemente da tipologia de MHC que apresentem (1,112–114).

Idealmente, as células T CAR deveriam ser específicas para antigénios tumorais, o que requer que esse antigénio não seja expresso em células saudáveis. De facto, antigénios com estas características são difíceis de encontrar. Assim, constituem alternativas viáveis os antigénios que são expressos apenas por uma linhagem celular, como é o caso do marcador CD19, exclusivo dos linfócitos B. As terapias com células T CAR, dirigidas para o CD19, na LLA-B, são as mais investigadas. Outra molécula que poderá vir a constituir uma promessa semelhante nesta área é o CD22, ainda em estudo (1,112,113).

A utilização das células T CAR como abordagem terapêutica da LLA envolve a recolha dos linfócitos T do doente, a modificação genética destes para expressarem os CARs, proliferação *ex vivo* das células modificadas, administração de quimioterapia para depleção dos linfócitos normais, e, por fim, o transplante autólogo destes linfócitos, como elucidado na figura 6 (1,114).

Existem diversas abordagens para a inserção dos genes que codificam para os CARs, sendo as mais utilizadas aquelas que utilizam vetores virais. A transferência génica, utilizando retrovírus ou lentivírus, resulta na modificação permanente do genoma, culminando na expressão génica transitória. Esta abordagem tem como vantagem permitir a expressão génica, mesmo a longo prazo, a partir de uma única infusão de células T CAR, se as mesmas permanecerem no organismo. No entanto, com esta modificação, há o risco hipotético de desregular oncogenes, com ocorrência de alterações neoplásicas, o que constitui a principal desvantagem desta técnica de inserção. Seja qual for a abordagem utilizada, é sempre necessária a amplificação celular, recorrendo a técnicas de cultura *in vitro* (1,114).

A quimioterapia, antes da inserção das células modificadas no organismo, constitui outro dos passos importantes desta terapêutica. É comum a utilização de ciclofosfamida e fludarabina como agentes quimioterápicos, que irão causar a depleção dos linfócitos endógenos, o que permite aumentar a atividade antitumoral dos linfócitos T CAR (114,115).

Relativamente à toxicidade desta terapêutica, o efeito adverso mais comum é a síndrome de libertação de citocinas, por início da resposta imune, após a infusão das células T CAR. Esta libertação pode ter origem nos próprios linfócitos T CAR, ou ser originada por outras células do sistema imunitário, em resposta às citocinas emitidas pelas células modificadas. Tudo isto culmina, frequentemente, no aparecimento de diversos sintomas, nomeadamente febre, taquicardia, arritmias, hipotensão e citopenia. Também poderá ocorrer toxicidade neurológica, associada, ou não, à síndrome de libertação de citocinas. O envolvimento do SNC por células neoplásicas não demonstrou estar associado ao aparecimento desta toxicidade, caracterizada por cefaleias, alucinações, encefalopatia, convulsões, entre outros sintomas (111,116).

Esta inovação já chegou a Portugal, tendo sido o Instituto Português de Oncologia (IPO) do Porto o escolhido pela empresa farmacêutica Gilead para administração desta terapêutica, que apresenta uma taxa de sucesso de cerca de 35%. De facto, o primeiro doente escolhido não resistiu aos efeitos adversos e acabou por falecer, no fim do mês de maio. Até ao momento, sabe-se que a equipa do IPO já avançou para a escolha do segundo candidato (117,118).

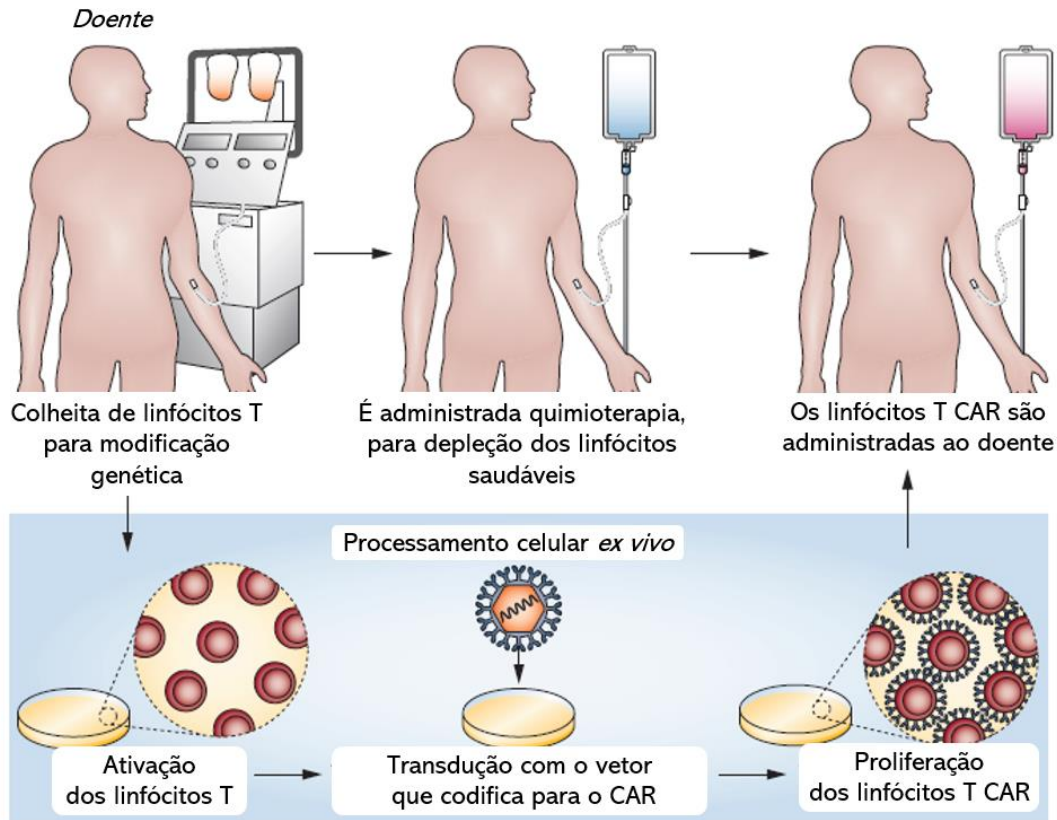


Figura 6: Abordagem terapêutica da LLA, utilizando os linfócitos T CAR.

Adaptado de (114).

14.2. Anticorpos monoclonais

Em casos de doença refratária à quimioterapia, a única esperança de sobrevivência a longo prazo residia no transplante alogénico de células estaminais hematopoiéticas. No entanto, recentemente surgiram os novos anticorpos monoclonais, que vieram alterar o paradigma da terapia da LLA, possibilitando a cura, sem necessidade de recorrer ao transplante. Estes anticorpos são projetados para se ligarem a um alvo específico, com elevada expressão em células neoplásicas, mas com menor expressão em células saudáveis (1,4,119).

Os anticorpos induzem citotoxicidade por diversos mecanismos, destacando-se a citotoxicidade mediada por células dependentes de anticorpos, lise dependente do complemento e a indução direta da citotoxicidade, através da inibição da proliferação celular ou da ativação da apoptose. No entanto, é importante ressaltar que esta resposta, ao ser dependente do sistema imunitário, pode estar diminuída em doentes imunodeprimidos. Por outro lado, os anticorpos monoclonais podem também exibir outras formas de indução da morte celular, ao serem conjugados com determinadas moléculas, nomeadamente fármacos citotóxicos, toxinas ou radionuclídeos. Com

a utilização destes agentes, não é necessária a resposta imunológica para a atividade dos anticorpos conjugados, o que constitui uma alternativa terapêutica em doentes com um elevado grau de imunossupressão (120–122).

Assim, têm sido desenvolvidos anticorpos para reconhecerem antigénios específicos, principalmente expressos em blastos da linhagem B, como o CD20, CD19, CD22 e CD52 (119).

14.1.1. Anticorpos monoclonais anti-CD20

O marcador CD20 é expresso à superfície de 30 a 50% dos linfoblastos B e constitui um antigénio alvo para o reconhecimento de determinados anticorpos monoclonais utilizados como abordagem terapêutica da LLA, nomeadamente, rituximab, ofatumumab e obinutuzumab (4).

O rituximab é um anticorpo monoclonal quimérico anti-CD20, inicialmente desenvolvido para o linfoma não-Hodgkin. De facto, a adição deste anticorpo à quimioterapia de indução e consolidação aumentou o índice de remissão de doentes com LLA CD20+, melhorando o prognóstico. Este anticorpo é bem tolerado pelos doentes, estando os efeitos adversos mais frequentes relacionados com primeira administração parentérica do fármaco. Estas reações costumam desaparecer por completo após a administração. Raramente, poderão ocorrer reações mucocutâneas graves, reativação do vírus da hepatite B e leucoencefalopatia multifocal (4,119).

O ofatumumab é um anticorpo de segunda geração, tendo sido inicialmente aprovado para a leucemia linfocítica crónica. Relativamente ao anticorpo anterior, liga-se a uma pequena região do epítopo e tem, também, um tempo de libertação do alvo e um efeito citotóxico dependente do complemento superiores ao rituximab (119). Assim, o ofatumumab é considerado mais potente e parece ser promissor na terapêutica de primeira linha em casos de LLA refratária ao tratamento com rituximab (1,119).

O obinutuzumab, anticorpo de terceira geração, revelou ser superior aos dois anticorpos anteriores na indução da morte celular. Este anticorpo apresenta uma maior e mais rápida indução da citotoxicidade mediada por células dependentes de anticorpos, nomeadamente por células NK, em detrimento da capacidade de ativação do complemento (1,117–119).

14.1.2. Anticorpos monoclonais anti-CD19

O marcador CD19 é o antigénio considerado mais específico da linhagem B, sendo expresso em mais de 90% dos linfócitos B. Por ser rapidamente internalizado pela célula após a ligação de um anticorpo, é um alvo potencial a considerar na terapêutica com anticorpos monoclonais conjugados, como o coltuximab ravtansina e o denintuzumab mafodotina (1,4).

O coltuximab ravtansina, ou SAR3419, é um anticorpo monoclonal humanizado anti-CD19, conjugado com um composto maitansinóide semi-sintético, um potente agente antimetabólico. Após a ligação do anticorpo, ocorre a internalização do complexo anticorpo-fármaco, com libertação dos seus metabolitos ativos que inibem a organização dos microtúbulos e também a polimerização da tubulina. Assim, ocorre a paragem do ciclo celular e, conseqüentemente, a morte das células neoplásicas. Relativamente às reações adversas, há registo de sintomas gastrointestinais e toxicidade hematológica. Também poderá ocorrer neuropatia e alteração da visão, reversíveis, mas que limitam a dose administrada. Estudos pré-clínicos revelaram a eficácia deste anticorpo no atraso da progressão da LLA pré-B. No entanto, estudos clínicos de fase II, sobre a administração deste anticorpo em casos de LLA recidivante ou refratária a outras terapêuticas, não obtiveram resultados tão favoráveis. Apesar de bem tolerado, o tratamento com SAR3419 revelou, nestes casos, uma baixa resposta clínica, com apenas 25% dos doentes a atingirem resposta clínica à terapêutica administrada (1,4,119–121,123).

O denintuzumab mafodotina, ou SGN-CD19A, é um anticorpo monoclonal humanizado anti-CD19 conjugado, em desenvolvimento. Este anticorpo encontra-se ligado a um agente disruptor de microtúbulos, o monometil auristatina F, que, após internalização pela célula, se liga à tubulina e induz a paragem do ciclo celular, com ativação da apoptose. Em estudos clínicos de fase I, relativos à administração deste anticorpo conjugado em casos de LLA-B refratária/recidivante, observou-se uma resposta clínica de 35%. Nos casos de LLA com cromossoma *Philadelphia* positivo, a taxa de resposta foi superior, rondando os 50%. De uma forma geral, a administração foi bem tolerada, o que, associado aos resultados promissores obtidos, justifica a realização de estudos adicionais (1,4,119,120,124).

Por fim, o blinatumomab, ao contrário dos anteriores, é um anticorpo monoclonal biespecífico de cadeia única. Este anticorpo é considerado biespecífico por conter os domínios anti-CD19 e anti-CD3, unidos por um ligando não imunogénico, o que lhe permite ligar-se ao CD3 nos linfócitos T citotóxicos e ao CD19 nos linfócitos B. Assim, o anticorpo tem a capacidade de direcionar os linfócitos T citotóxicos para as células neoplásicas que expressam CD19 à sua superfície, induzindo a morte celular destas células. Em 2016, o blinatumomab foi aprovado para o tratamento de casos de LLA em adultos com cromossoma *Philadelphia* positivo, em recaída. Estudos clínicos de fase III revelaram que o blinatumomab apresenta eficácia superior à quimioterapia padrão, em casos de LLA-B refratária/recidivante. Assim, os estudos atualmente a decorrer incidem na utilização deste anticorpo em diferentes protocolos terapêuticos. Efeitos adversos comuns associados ao blinatumomab incluem febre, anemia e

hipogamaglobulinemia. A síndrome de libertação de citocinas e também a toxicidade neurológica constituem reações mais graves, que, apesar de raras, exigem a monitorização cuidadosa da administração do fármaco (1,4,119–121,124).

14.1.3. Anticorpos monoclonais anti-CD22

O CD22 é outro antigénio específico dos linfócitos B, sendo expresso em cerca de 90% das células neoplásicas da LLA-B. Como acontece com o CD19, o CD22 é internalizado rapidamente após a ligação do anticorpo, o que também o torna um alvo para anticorpos monoclonais conjugados com fármacos citotóxicos (4,124).

O epratuzumab é um anticorpo monoclonal humanizado anti-CD22, não conjugado. Este anticorpo, apesar de exibir um bom perfil de segurança no tratamento da LLA, tem uma eficácia ainda discutível, comparativamente à quimioterapia. De facto, este anticorpo tem sido estudado como parte integrante de terapia combinada em adultos e crianças, mas tem revelado apenas atividade modesta. Assim, dada a capacidade da rápida internalização do CD22 após a ligação do anticorpo, espera-se que a conjugação do epratuzumab com fármacos citotóxicos obtenha resultados mais favoráveis. De facto, estudos pré-clínicos recentes têm utilizado o epratuzumab conjugado com um inibidor da topoisomerase I, o SN-38, tendo demonstrado potencial atividade antitumoral contra as células neoplásicas da LLA-B (1,4,119,120,124).

O inotuzumab ozogamicina é o anticorpo monoclonal anti-CD22 conjugado mais estudado. Encontra-se ligado à caliqueamicina, um fármaco citotóxico potente, que quebra as cadeias duplas do DNA, causando apoptose celular. Um estudo clínico de fase II em doentes com LLA refratária/recidivante revelou uma taxa de resposta clínica de 57%, tendo sido o tratamento bem tolerado, apesar da observação de alguns efeitos adversos, como neutropenia, trombocitopenia e toxicidade hepática. Também se verificou um prolongamento da sobrevivência com a administração deste anticorpo conjugado, relativamente ao uso de quimioterapia padrão. Assim, este estudo revelou que o inotuzumab ozogamicina constitui um agente ativo no tratamento da LLA refratária/recidivante, tendo sido aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA). Este fármaco tem também sido estudado na LLA em idosos, numa administração combinada com quimioterapia de baixa intensidade, tendo demonstrado resultados promissores, relativamente à taxa de sobrevivência e à tolerância do protocolo terapêutico administrado (1,4,119,121).

O moxetumomab pasudotox é um anticorpo monoclonal anti-CD22 recombinante, que está atualmente em desenvolvimento para tratamento da LLA. Este anticorpo é uma reformulação

de um outro mais antigo, o BL22, que era composto pela região variável de um anticorpo monoclonal anti-CD22 fundido à exotoxina A, derivada da bactéria *Pseudomonas aeruginosa*. Esta exotoxina, após internalização, tem a capacidade de induzir a apoptose das células neoplásicas. Os resultados clínicos obtidos com o BL22 eram modestos, pelo que se reformulou o mesmo, de modo a conter um fragmento da região variável com maior afinidade para o CD22, dando origem ao moxetumomab pasudotox. Em estudos clínicos de fase 1, este anticorpo mostrou uma taxa de resposta clínica de 70% em crianças com LLA refratária/recidivante e estudos em adultos estão agora a decorrer (1,4).

14.1.4. Anticorpos monoclonais anti-CD52

O CD52 é expresso na superfície dos linfócitos B e T, na maioria dos estádios de diferenciação. A sua expressão nas células neoplásicas varia entre os 36 e os 66%, o que o torna um alvo pouco específico. De facto, para os casos de LLA-T, o desenvolvimento de terapias com anticorpos direcionados para os linfócitos T está atrasado, quando comparada com a imunoterapia para LLA-B. Dentro dos anticorpos monoclonais anti-CD52 surge apenas o alemtuzumab, um anticorpo humanizado. Este anticorpo tem sido alvo de estudo, para o tratamento da LLA-B e da LLA-T, mas o seu desenvolvimento tem sido lento devido à sua resposta clínica modesta e aos efeitos adversos significativos, nomeadamente linfopenia e, conseqüentemente, imunossupressão grave (4,119,124).

14.3. O Bortezomib, um inibidor do proteossoma

Os inibidores do proteossoma constituem um grupo crescente de compostos atualmente disponíveis, ou ainda em investigação, para a terapêutica das neoplasias hematológicas. De facto, o proteossoma constitui um dos principais controlos de qualidade das proteínas recém sintetizadas, participando também na regulação de outras funções celulares. Assim, os inibidores do proteossoma parecem bloquear inúmeros processos vitais, impedindo a proliferação das células malignas. Destes, destaca-se o bortezomib, o primeiro inibidor de proteossoma aprovado pela FDA, para o tratamento do mieloma múltiplo (125,126).

O bortezomib inibe reversivelmente o proteossoma 26S e a sua atividade antineoplásica ainda não está totalmente elucidada. No entanto, este fármaco é seletivo para o proteossoma das células neoplásicas e parece envolver vários mecanismos antitumorais. Os mecanismos propostos incluem paragem do ciclo celular, indução de apoptose, inibição da proliferação celular, bloqueio da angiogénese e autofagia (125,127).

Relativamente à LLA, apesar do bortezomib apresentar apenas uma atividade modesta, quando administrado sozinho em crianças com a neoplasia, a verdade é que, *in vitro*, este fármaco atua de modo sinérgico com dexametasona e de forma aditiva com a asparaginase, vincristina, doxorrubicina e citarabina. Estudos clínicos de fase I e II mostraram que uma combinação do bortezomib com vincristina, dexametasona, L-asparaginase peguilada e doxorrubicina apresenta uma taxa de resposta clínica que varia entre os 68% e os 80%, com efeitos adversos toleráveis em crianças com LLA refratária/recidivante. Deste modo, estes dados revelam que a combinação do bortezomib com agentes citotóxicos, utilizados no tratamento convencional da LLA, demonstra eficácia clínica, o que requer confirmação por investigação adicional (1,4,125).

O bortezomib apresenta também capacidade de inibir as vias de sinalização do NF- κ B e do NOTCH1, o que induz apoptose das células tumorais e aumenta a sensibilidade aos fármacos antitumorais, pelo que tem sido também estudado como terapia de primeira linha da LLA-T (1,4).

14.4. Inibidores de tirosina-cinase

A presença do cromossoma *Philadelphia*, no genoma de um doente diagnosticado com LLA, constitui um marcador de mau prognóstico, independentemente da idade. Assim, o aparecimento dos inibidores de tirosina-cinase, dirigidos às proteínas codificadas pelo gene de fusão *BCR-ABL1*, vieram alterar o paradigma da terapêutica desta subcategoria de LLA (128).

Estes inibidores, quando combinados com corticosteroides, permitiam atingir respostas completas em quase todos os casos. No entanto, rapidamente ocorria resistência à terapêutica, frequentemente devido a mutações pontuais dentro do domínio T315I da cinase alvo, resultando em recaída. Depois, estudos clínicos mostraram que a adição de um inibidor de tirosina-cinase à quimioterapia convencional aumentou a taxa de sobrevivência dos casos em que esta alteração genética está presente, pelo que este protocolo se tornou a terapia de primeira linha para doentes que apresentam no seu genoma o cromossoma *Philadelphia*. Deste modo, para casos com doença refratária/recidivante, a FDA aprovou o imatinib e, para os doentes que apresentem resistência ou intolerância ao anterior, o dasatinib e o nilotinib, ambos com atividade mais potente que o imatinib. O ponatinib, ativo contra os clones com o domínio T315I mutado, está indicado no tratamento de doentes que apresentem esta mutação, assim como quando os outros inibidores estão contraindicados (4,129,130).

Novos estudos clínicos estão agora a investigar a administração concomitante de inibidores de tirosina-cinase, com blinatumomab, um anticorpo monoclonal biespecífico, indicado para o tratamento desta subcategoria de LLA, já enunciado anteriormente. Até agora, a combinação destes dois agentes têm sido bem tolerada e parece melhorar os resultados obtidos para este grupo de risco, incluindo uma maior erradicação da DRM e a minimização da administração de quimioterapia (131).

15. Conclusões e Perspetivas futuras

A LLA constitui uma neoplasia hematológica, caracterizada pela proliferação desmedida de células imaturas, os blastos, que, para além de se acumularem na medula óssea, acabam por atingir a corrente sanguínea e extravasar para locais extramedulares. Estas características, aliadas à rápida progressão da doença, justificam a necessidade de intervenção terapêutica urgente.

Apesar de ocorrer sobretudo na infância, os adultos constituem um grupo de risco, apresentando uma taxa de sobrevivência entre 30 e 55%, que contrasta com o valor de 90% para a taxa de cura da doença em crianças. Apesar da vasta terapia existente, a remissão completa da doença não se encontra garantida nos casos diagnosticados em idosos. Deste modo, é necessária a investigação de novas abordagens terapêuticas, adequadas à população mais envelhecida, com eficácia aumentada e perfil de toxicidade mais reduzido, de forma a ser compatível com as comorbilidades que este grupo de risco possa apresentar. Não obstante, apesar da taxa de cura para a LLA na infância ser bastante elevada, os grandes desafios a considerar neste grupo etário prendem-se com a diminuição da terapêutica necessária para alcançar a cura, assim como na diminuição dos efeitos adversos associados, nomeadamente a longo prazo. Por se encontrarem em crescimento, a toxicidade nas crianças pode ser exibida de forma tardia, em idade mais avançada, pelo que se torna também relevante a pesquisa de novas opções terapêuticas, que mantenham a atividade neoplásica, mas que apresentem menor grau de efeitos nefastos, tanto a curto como a longo prazo. Assim, é essencial combinar a sobrevivência à doença com a manutenção da qualidade de vida dos doentes.

A inovação nesta área tem-se caracterizado pela inclusão da análise genética na terapêutica, através da caracterização do imunofenótipo e genótipo da LLA de cada doente, como parte do desenvolvimento de protocolos terapêuticos individualizados. Assim, tudo parece indicar que o futuro do tratamento da LLA assente no aparecimento de abordagens terapêuticas direcionadas aos diferentes subtipos de LLA, com agentes que atuem especificamente no alvo terapêutico, o que também irá permitir a redução da toxicidade para o organismo. Para tal, a melhoria das técnicas de diagnóstico é necessária, de forma a analisar o perfil citogenético e molecular da neoplasia, efetuando uma caracterização detalhada das alterações genéticas e moleculares ocorridas em cada caso. Outros aspetos importantes que poderão também contribuir para a melhoria do tratamento, são a otimização das técnicas utilizadas na avaliação

da DRM, assim como a estratificação mais precisa do risco, de forma a contribuir para a escolha da abordagem terapêutica mais adequada a cada situação.

De facto, nos últimos anos, têm sido observados avanços na compreensão dos mecanismos fisiopatológicos da LLA e, o esperado, é que, num futuro próximo, as características genómicas da LLA estejam completamente descritas, assim como as causas para a falência dos tratamentos administrados. Uma nova gama de fármacos químicos e biológicos, nomeadamente a utilizar em casos de doença refratária/recidivante, encontra-se em amplo desenvolvimento. Entre as aprovações recentes da FDA e aqueles que ainda se encontram em fase de ensaios clínicos, os objetivos são comuns, com a diminuição do risco de toxicidade e a manutenção ou até mesmo o aumento da atividade antitumoral.

Atualmente, apesar de a quimioterapia convencional constituir ainda a primeira linha de tratamento da LLA, encontra-se em expansão a utilização da imunoterapia, com a utilização crescente das células T CAR e dos anticorpos monoclonais. Ambas as estratégias vieram alterar o paradigma da LLA refratária à quimioterapia, em que única alternativa disponível residia no transplante alogénico de células estaminais hematopoiéticas. Embora ainda constitua a abordagem terapêutica de segunda linha nestes casos, a ausência de dados compatíveis apresenta-se como uma dificuldade, não estando também indicada a sua utilização em doentes acima dos 60 anos, devido às suas comorbilidades. A solução apresentada seria recorrer ao “bebé-medicamento”, que, apesar de constituir um procedimento com um prognóstico bastante favorável, levanta questões éticas profundas, não sendo autorizado ainda em todos os países.

Assim, o aparecimento de novas alternativas, baseadas na imunoterapia, vieram mostrar a possibilidade de atingir a cura, sem necessidade de recorrer ao transplante. A terapêutica com as células T CAR constitui uma terapêutica promissora da LLA-B refratária/recidivante, já aprovada em Portugal. Os anticorpos monoclonais, dirigidos às células neoplásicas, constituem outra opção, podendo atuar sozinhos, ou conjugados a fármacos citotóxicos. No futuro, as imunoterapias poderão vir mesmo a substituir a quimioterapia, especialmente nos casos não elegíveis para esta terapêutica.

Por agora, alguns fármacos recentes, como os inibidores de tirosina-cinase, são administrados concomitantemente com alguns agentes citotóxicos. De facto, este protocolo constitui a primeira linha de tratamento da LLA com a presença do cromossoma *Philadelphia*, um subtipo de LLA identificado pela OMS, com mau prognóstico. Ainda em estudo, encontra-se a administração concomitante de fármacos quimioterápicos com inibidores do proteossoma que,

até ao momento, tem apresentado resultados promissores, podendo vir a constituir uma abordagem terapêutica da LLA infantil refratária/recidivante.

A terapêutica de suporte é de igual modo importante, não só para o controlo da doença, como também para o sucesso da abordagem terapêutica específica escolhida para cada doente. Assim, a sua administração não deve ser descurada, pois também contribui para a manutenção da qualidade de vida dos doentes, auxiliando na gestão dos efeitos nefastos inerentes à terapêutica administrada.

Em conclusão, o tratamento da LLA caminha para a elaboração de planos de tratamento individualizados, adequados a cada caso. A investigação de agentes com especificidade para o alvo terapêutico e baixa toxicidade para o organismo é essencial, assim como o alcance de elevadas taxas de remissão, com probabilidade de recaída diminuída.

16. Referências Bibliográficas

1. Terwilliger T, Abdul-Hay M. Acute lymphoblastic leukemia: a comprehensive review and 2017 update. *Blood Cancer J* [Internet]. 2017 [cited 2019 Aug 18];7(6):e557. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4396044/>
2. Iacobucci I, Mullighan CG. Genetic Basis of Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Clin Oncol* [Internet]. 2017 [cited 2019 Feb 23];35(9):975–83. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28297628>
3. American Cancer Society. What Is Acute Lymphocytic Leukemia? [Internet]. 2018 [cited 2019 Feb 27]. Available from: <https://www.cancer.org/cancer/acute-lymphocytic-leukemia/about/what-is-all.html>
4. Mohseni M, Uludag H, Brandwein JM. Advances in biology of acute lymphoblastic leukemia (ALL) and therapeutic implications. *Am J Blood Res* [Internet]. 2018 [cited 2019 Aug 18];8(4):29–56. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4396044/>
5. American Cancer Society. Chemotherapy for Acute Lymphocytic Leukemia. [Internet]. 2018 [cited 2019 Feb 27]. Available from: <https://www.cancer.org/cancer/acute-lymphocytic-leukemia/treating/chemotherapy.html>
6. Hiroto Inaba, MD, Prof. Mel Greaves, PhD, and Charles G. Mullighan M. Acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet* [Internet]. 2014 [cited 2019 Feb 24];381(9881):1943–55. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3816716/>
7. Sant M, Allemani C, Tereanu C, Angelis R De, Capocaccia R, Visser O, et al. Incidence of hematologic malignancies in Europe by morphologic subtype: results of the HAEMACARE project. *Blood J* [Internet]. 2019 [cited 2019 Mar 3];116(19):3724–35. Available from: <http://www.bloodjournal.org/content/116/19/3724?sso-checked=true>
8. Hoffbrand AV MP. Acute Lymphoblastic Leukemia. Hoffbrand's Essential Haematology. 7th ed. Wiley-Blackwell Scientific Publications; 2016. p. 122–87.
9. Hoffbrand AV MA. Haematological malignancies. Haematology at a Glance. 4th ed. Wiley-Blackwell Scientific Publications; 2014. p. 20–87.
10. Whitehead TP, Metayer C, Wiemels JL, Singer AW, Mark Mille. Childhood Leukemia and Primary Prevention. *Curr Probl Pediatr Adolesc Heal Care* [Internet]. 2016 [cited 2019 Mar 11];46(10):317–52. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5161115/?report=classic>
11. American Cancer Society. Leukemia [Internet]. 2019 [cited 2019 Mar 9]. Available from: <https://www.cancer.org/cancer/leukemia.html>
12. Studd JB, Yang M, Li Z, Vijayakrishnan J, Lu Y, Yeoh AE, et al. Genetic predisposition to B-cell acute lymphoblastic leukemia at 14q11.2 is mediated by a

- CEBPE promoter polymorphism. *Leukemia* [Internet]. 2019 [cited 2019 Mar 11];33(1):1–14. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29977016>
13. Paul S, Bcop P, Kantarjian H, Jabbour EJ. Adult Acute Lymphoblastic Leukemia. *Mayo Clin Proc* [Internet]. Mayo Foundation for Medical Education and Research; 2016 [cited 2019 Mar 10];91(11):1645–66. Available from: [https://www.mayoclinicproceedings.org/article/S0025-6196\(16\)30584-5/fulltext](https://www.mayoclinicproceedings.org/article/S0025-6196(16)30584-5/fulltext)
 14. Nobili L, Lionetti M, Neri A. Long non-coding RNAs in normal and malignant hematopoiesis. *Oncotarget* [Internet]. 2016 [cited 2019 Mar 3];7(31):50666–81. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27177333>
 15. Hunger SP MC. Acute Lymphoblastic Leukemia in Children. *N Engl J Med* [Internet]. 2015 [cited 2019 Mar 10];373(16):1541–52. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26465987>
 16. Rodak B, Carr J. *Clinical Hematology Atlas*. 4th ed. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders; 2013. p. 165.
 17. Miranda-Filho A, Piñeros M, Ferlay J, Soerjomataram I, Monnereau A, Bray F. Articles Epidemiological patterns of leukaemia in 184 countries: a population-based study. *Lancet Haematol* [Internet]. Elsevier Ltd; 2018 [cited 2019 Mar 16];5(1):e14–e24. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29304322>
 18. Lim JYS, Bhatia S, Robison LL, Yang JJ. Genomics of Racial and Ethnic Disparities in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *Cancer* [Internet]. 2014 [cited 2019 Mar 16];120(7):955–62. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4015138/>
 19. American Cancer Society. Risk Factors for ALL. [Internet]. 2018 [cited 2019 Mar 23]. Available from: <https://www.cancer.org/cancer/acute-lymphocytic-leukemia/causes-risks-prevention/risk-factors.html>
 20. Dores GM, Devesa SS, Curtis RE, Linet MS, Morton LM, De W. Acute leukemia incidence and patient survival among children and adults in the United States, 2001–2007. *Blood J* [Internet]. 2012 [cited 2019 Mar 17];119(1):34–43. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3251235/>
 21. Kyriakopoulou A, Meimeti E, Moisoglou I, Provatopoulou X, Dounias G. Parental Occupational Exposures and Risk of Childhood Acute Leukemia. *Mater Sociomed* [Internet]. 2018 [cited 2019 Mar 23];30(3):209–14. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6195413/>
 22. Belson M, Kingsley B, Holmes A. Risk Factors for Acute Leukemia in Children: A Review. *Env Heal Perspect* [Internet]. 2007 [cited 2019 Mar 23];138(1):138–45. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1817663/>
 23. American Cancer Society. What Causes Acute Lymphocytic Leukemia? [Internet]. 2018 [cited 2019 Mar 23]. Available from: <https://www.cancer.org/cancer/acute-lymphocytic-leukemia/causes-risks-prevention/what-causes.html>

24. Moriyama T, Relling M V, Yang JJ. Inherited genetic variation in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood J* [Internet]. 2019 [cited 2019 Apr 6];125(26):3988–96. Available from: <http://www.bloodjournal.org/content/125/26/3988?sso-checked=true>
25. Yang W, French D, Hunger SP, Carroll WL, Devidas M, Willman C, et al. Germline genomic variants associated with childhood acute lymphoblastic leukemia. *Nat Genet* [Internet]. 2009 [cited 2019 Apr 7];41(9):1001–5. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19684603>
26. Ikzf C, Al-absi B, Noor SM, Aqlan M. Contributions of IKZF1, DDC, CDKN2A, CEBPE, and LMO1 Gene Polymorphisms to Acute Lymphoblastic Leukemia in a Yemeni Population. *Genet Test Mol Biomarkers* [Internet]. 2017 [cited 2019 Apr 7];21(10):592–9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28768142>
27. Wang Y, Chen J, Li J, Deng J, Rui Y, Lu Q, et al. Association of three polymorphisms in ARID5B, IKZF1 and CEBPE with the risk of childhood acute lymphoblastic leukemia in a Chinese population. *Gene* [Internet]. Elsevier B.V.; 2013 [cited 2019 Apr 8];524(2):203–7. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23608171>
28. Wiemels J. Perspectives on the causes of childhood leukemia. *Chem Biol Interact* [Internet]. Elsevier Ireland Ltd; 2012 [cited 2019 Mar 31];196(3):59–67. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3839796/>
29. Valsecchi MG, Cazzaniga G, Baronci C, Pession A, Santoro N, Basso G. Acute Lymphoblastic Leukemia and Down Syndrome. *Cancer* [Internet]. 2008 [cited 2019 Apr 7];113(3):515–21. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18521927>
30. Buitenkamp TD, Izraeli S, Zimmermann M, Forestier E, Heerema NA, Van MM, et al. Acute lymphoblastic leukemia in children with Down syndrome: a retrospective analysis from the Ponte di Legno study group. *Blood J* [Internet]. 2014 [cited 2019 Apr 6];123(1):70–7. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3879907/>
31. Loudin MG, Wang J, Leung HE, Gurusiddappa S, Meyer J, Condos G, et al. Genomic profiling in Down syndrome acute lymphoblastic leukemia identifies histone gene deletions associated with altered methylation profiles. *Leukemia* [Internet]. Nature Publishing Group; 2011 [cited 2019 Apr 7];25(10):1555–63. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21647151>
32. Lundin C, Forestier E, Andersen MK, Autio K, Barbany G, Cavelier L, et al. Clinical and genetic features of pediatric acute lymphoblastic leukemia in Down syndrome in the Nordic countries. *J Hematol Oncol* [Internet]. 2014 [cited 2019 Apr 7];7(32):1–11. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24726034>
33. Buitenkamp TD, Pieters R, Gallimore NE, Veer A Van Der, Meijerink JPP, Beverloo HB, et al. Outcome in children with Down ' s syndrome and acute lymphoblastic leukemia: role of IKZF1 deletions and CRLF2 aberrations. *Leukemia* [Internet]. Nature Publishing Group; 2012 [cited 2019 Apr 7];26(10):2204–11. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22441210>

34. Gruhn B, Taub JW, Ge Y, Beck JF, Zell R, Ha R. Prenatal origin of childhood acute lymphoblastic leukemia, association with birth weight and hyperdiploidy negative. *Leukemia* [Internet]. 2008 [cited 2019 Mar 24];22(9):1692–7. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18548099>
35. Caughey RW, Michels KB. Birth weight and childhood leukemia: A meta-analysis and review of the current evidence. *Int J Cancer* [Internet]. 2009 [cited 2019 Mar 24];124:2658–70. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19173295>
36. Greaves M. Infection , immune responses and the aetiology of childhood leukaemia. *Nat Rev Cancer* [Internet]. 2006 [cited 2019 Mar 31];6:193–203. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16467884>
37. Greaves M. A causal mechanism for childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Nat Rev Cancer* [Internet]. Springer US; 2018 [cited 2019 Mar 31];18(8):471–84. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29784935>
38. Kinlen LJ. An examination , with a meta-analysis , of studies of childhood leukaemia in relation to population mixing. *Br J Cancer* [Internet]. Nature Publishing Group; 2012 [cited 2019 Apr 2];107(7):1163–8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3461174/>
39. Mullighan CG, Goorha S, Radtke I, Miller CB, Coustan-smith E, Dalton JD, et al. Genome-wide analysis of genetic alterations in acute lymphoblastic leukaemia. *Nature* [Internet]. 2007 [cited 2019 Apr 14];446(7137):758–64. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17344859>
40. Mullighan CG. Genomic characterization of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Semin Hematol* [Internet]. 2013 [cited 2019 Apr 16];50(4):314–24. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24246699>
41. Pui C, Robison LL, Look AT. Acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet* [Internet]. 2008 [cited 2019 Apr 17];371(9617):1030–43. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18358930>
42. Armstrong SA, Look AT, All B. Molecular genetics of acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* [Internet]. 2005 [cited 2019 Apr 17];23(26):6306–15. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16155013>
43. Zhou Y, You MJ, Young KH, Lin P, Lu G, Medeiros LJ, et al. Advances in the molecular pathobiology of B-lymphoblastic leukemia. *Hum Pathol* [Internet]. Elsevier Inc.; 2012 [cited 2019 Apr 19];43(9):1347–62. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22575265>
44. Rickert RC. New insights into pre-BCR and BCR signalling with relevance to B cell malignancies. *Nat Rev Immunol* [Internet]. 2013 [cited 2019 Apr 22];13(8):578–91. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23883968>
45. Corfe SA, Paige CJ. The many roles of IL-7 in B cell development; mediator of survival , proliferation and differentiation. *Semin Immunol* [Internet]. Elsevier Ltd;

- 2012 [cited 2019 Apr 19];24(3):198–208. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22421572>
46. Nemazee D. Receptor editing in lymphocyte development and central tolerance. *Nat Rev Immunol* [Internet]. 2006 [cited 2019 Jun 2];6(10):728–40. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16998507>
 47. Paulsson K, Johansson B. High Hyperdiploid Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *Genes Chromosomes Cancer* [Internet]. 2009 [cited 2019 May 2];48(8):637–60. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19415723>
 48. Paulsson K. High hyperdiploid childhood acute lymphoblastic leukemia : Chromosomal gains as the main driver event. *Mol Cell Oncol* [Internet]. Taylor & Francis; 2016 [cited 2019 May 2];3(1):1–2. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27308574>
 49. Holmfeldt L, Wei L, Diaz-flores E, Walsh M, Zhang J, Ding L, et al. The genomic landscape of hypodiploid acute lymphoblastic leukemia. *Nat Genet* [Internet]. Nature Publishing Group; 2013 [cited 2019 May 21];45(3):242–52. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23334668>
 50. Nachman JB, Heerema NA, Sather H, Camitta B, Forestier E, Harrison CJ, et al. Outcome of treatment in children with hypodiploid acute lymphoblastic leukemia. *Blood J* [Internet]. 2007 [cited 2019 May 2];110(4):1112–6. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1939895/>
 51. Safavi S, Olsson L, Biloglav A, Veerla S, Tayebwa J, Behrendtz M, et al. Genetic and epigenetic characterization of hypodiploid acute lymphoblastic leukemia. *Oncotarget* [Internet]. 2015 [cited 2019 May 21];6(40):42793–802. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26544893>
 52. Al-shehhi H, Konn ZJ, Schwab CJ, Erhorn A, Barber KE, Wright SL, et al. Abnormalities of the der (12) t (12;21) in ETV6-RUNX1 Acute Lymphoblastic Leukemia. *Genes Chromosomes Cancer* [Internet]. 2013 [cited 2019 May 26];213(52):202–13. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23077088>
 53. Sun C, Chang L, Zhu X. Pathogenesis of ETV6/RUNX1-positive childhood acute lymphoblastic leukemia and mechanisms underlying its relapse. *Oncotarget* [Internet]. 2017 [cited 2019 May 26];8(21):35445–59. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28418909>
 54. Tasian SK, Loh ML, Hunger SP. Philadelphia chromosome – like acute lymphoblastic leukemia. *Blood J* [Internet]. 2019 [cited 2019 May 26];130(19):2064–73. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28972016>
 55. Tran P, Hanna I, Eggimann FK, Schoepfer J, Ray T, Zhu B, et al. Disposition of asciminib, a potent BCR-ABL1 tyrosine kinase inhibitor, in healthy male subjects. *Xenobiotica*. Taylor & Francis; 2019;1–20.

56. Mullighan CG, Mullighan CG. Molecular genetics of B-precursor acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Invest* [Internet]. 2012 [cited 2019 May 27];122(10):3407–15. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23023711>
57. Jeha S, Pei D, Raimondi SC, Onciu M, Campana D, Sandlund JT, et al. Increased Risk for CNS Relapse in Pre-B Cell Leukemia with the t(1;19)/TCF3-PBX1. *Leukemia* [Internet]. 2009 [cited 2019 May 27];23(8):1406–9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2731684/>
58. Müschen M, Müschen M. Rationale for targeting the pre-B cell receptor signaling pathway in acute lymphoblastic leukemia. *Blood J* [Internet]. 2015 [cited 2019 May 27];125(24):3688–93. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25878119>
59. Duque-afonso J, Feng J, Scherer F, Lin C, Wong SHK, Wang Z, et al. Comparative genomics reveals multistep pathogenesis of E2A-PBX1 acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Invest* [Internet]. 2015 [cited 2019 May 29];125(9):3667–80. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26301816>
60. Chen C, Armstrong SA. Targeting DOT1L and HOX Gene Expression in MLL-Rearranged Leukemia and Beyond. *Exp Hematol* [Internet]. Elsevier Ltd; 2015 [cited 2019 May 29];43(8):673–84. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26118503>
61. Faber J, Krivtsov A V, Stubbs MC, Wright R, Davis TN, Heuvel-eibrink M Van Den, et al. HOXA9 is required for survival in human MLL-rearranged acute leukemias. *Blood J* [Internet]. 2009 [cited 2019 May 29];113(11):2375–86. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19056693>
62. Belyaev NN, Biró J, Athanasakis D. Global transcriptional analysis of primitive thymocytes reveals accelerated dynamics of T cell specification in fetal stages. *Immunogenetics* [Internet]. 2012 [cited 2019 Jun 2];64(8):591–604. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3395349/>
63. Jin B, Sun T, Yu X, Yang Y, Yeo AET. The Effects of TLR Activation on T-Cell Development and Differentiation. *Clin Dev Immunol* [Internet]. 2012 [cited 2019 May 30];2012:1–32. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22737174>
64. Belver L, Ferrando A. The genetics and mechanisms of T cell acute lymphoblastic leukaemia. *Nat Rev Cancer* [Internet]. Nature Publishing Group; 2016 [cited 2019 May 31];16(8):494–507. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27451956>
65. Carpenter AC, Bosselut R. Decision checkpoints in the thymus. *Nat Immunol* [Internet]. 2010 [cited 2019 Jun 2];11(8):666–73. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3388799/>
66. Roberts KG, Mullighan CG. Genomics in acute lymphoblastic leukaemia: insights and treatment implications. *Nat Rev Clin Oncol* [Internet]. Nature Publishing Group; 2015 [cited 2019 Jun 3];12(6):344–57. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25781572>

67. Tosello V, Ferrando AA. The NOTCH signaling pathway: role in the pathogenesis of T-cell acute lymphoblastic leukemia and implication for therapy. *Ther Adv Hematol* [Internet]. 2013 [cited 2019 Jun 3];4(3):199–210. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3666445/>
68. Vlierberghe P Van, Ferrando A, Vlierberghe P Van, Ferrando A. The molecular basis of T cell acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Invest* [Internet]. 2012 [cited 2019 Jun 11];122(10):3398–406. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23023710>
69. Herranz D, Ambesi-impimbato A, Palomero T, Schnell SA, Belver L, Wendorff AA, et al. A NOTCH1-driven MYC enhancer promotes T cell development, transformation and acute lymphoblastic leukemia. *Nat Med* [Internet]. 2014 [cited 2019 Jun 11];20(10):1130–7. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25194570>
70. Aifantis I, Raetz E, Buonamici S. Molecular pathogenesis of T-cell leukaemia and lymphoma. *Nat Rev Immunol* [Internet]. 2008 [cited 2019 Jun 3];8(5):380–90. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18421304>
71. Sulong S, Moorman A V, Irving JAE, Strefford JC, Konn ZJ, Case MC, et al. A comprehensive analysis of the CDKN2A gene in childhood acute lymphoblastic leukemia reveals genomic deletion , copy number neutral loss of heterozygosity , and association with specific cytogenetic subgroups. *Blood J* [Internet]. 2016 [cited 2019 Jun 13];113(1):100–8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18838613>
72. Larmonie NSD, Dik WA, Meijerink JPP, Homminga I, Dongen JJM Van, Langerak AW. Breakpoint sites disclose the role of the V(D)J recombination machinery in the formation of T-cell receptor (TCR) and non-TCR associated aberrations in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica* [Internet]. 2013 [cited 2019 Jun 12];98(8):1173–84. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23904235>
73. Larson RA, Anastasi J. Acute Lymphoblastic Leukemia: Clinical Presentation, Diagnosis and Classification. *Hematologic Malignancies: Acute Leukemias*. Springer; 2008. p. 109–18.
74. Faderl S, O'Brien S, Pui C-H, Stock W, Wetzler M, Hoelzer D, et al. Adult Acute Lymphoblastic Leukemia. *Cancer* [Internet]. 2010 [cited 2019 Jul 19];116(5):1165–76. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5345568/>
75. Chiaretti S, Zini G, Bassan R. Diagnosis and Subclassification of Acute Lymphoblastic Leukemia. *Mediterranean J Hematol Infect Dis* [Internet]. 2014 [cited 2019 Jun 18];6(1):e2014073. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4235437/>
76. Bain BJ. The Nature of Leukaemia, Cytology, Cytochemistry and the Morphological Classification of Acute Leukaemia. *Leukaemia Diagnosis*. 5th ed. John Wiley & Sons; 2017. p. 1–68.

77. Vardiman JW. Chemico-Biological Interactions The World Health Organization (WHO) classification of tumors of the hematopoietic and lymphoid tissues : An overview with emphasis on the myeloid neoplasms. *Chem Biol Interact* [Internet]. Elsevier Ireland Ltd; 2010 [cited 2019 Jun 22];184(1-2):16–20. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19857474>
78. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Borowitz MJ, Beau MM Le, Bloomfield CD, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood J* [Internet]. 2016 [cited 2019 Jun 24];127(20):2391–405. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27069254>
79. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit A, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood J* [Internet]. 2009 [cited 2019 Jun 24];114(5):937–51. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19357394>
80. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al. Precursor lymphoid neoplasms. *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. 4th ed. IARC: Lyon; 2008. p. 167–78.
81. Zhang J, Ding L, Holmfeldt L, Wu G, Heatley SL, Payne-turner D, et al. The genetic basis of early T-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia. *Nature* [Internet]. Nature Publishing Group; 2012 [cited 2019 Jun 30];481(7380):157–63. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22237106>
82. Hoelzer D, Bassan R, Dombret H, Fielding A, Ribera JM, Buske C. Acute lymphoblastic leukaemia in adult patients: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* [Internet]. 2016 [cited 2019 Jun 18];27(5):69–82. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27056999>
83. Ranta S, Nilsson F, Harila-saari A, Saft L, Tani E, Porwit A, et al. Detection of Central Nervous System Involvement in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia by Cytomorphology and Flow Cytometry of the Cerebrospinal Fluid. *Pediatr Blood Cancer* [Internet]. 2014 [cited 2019 Jul 5];62(6):951–6. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25545289>
84. Onciu M. Acute Lymphoblastic Leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am* [Internet]. Elsevier Ltd; 2009 [cited 2019 Jul 7];23(4):655–74. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19577163>
85. Bain BJ. Immunophenotyping and Cytogenetic/ Molecular Genetic Analysis. *Leukaemia Diagnosis*. 5th ed. John Wiley & Sons; 2017. p. 69–123.
86. Mrózek K, Harper DP, Aplan P. Cytogenetics and Molecular Genetics of Acute Lymphoblastic Leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am* [Internet]. 2009 [cited 2019 Jul 15];23(5):991–1010. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19825449>

87. Pui C, Carroll WL, Meshinchi S, Arceci RJ. Biology, Risk Stratification, and Therapy of Pediatric Acute Leukemias: An Update. *J Clin Oncol* [Internet]. 2012 [cited 2019 Jul 18];29(5):551–66. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3071256/>
88. Faderl SH, Kantarjian HM. General Approach to the Therapy of Adult Acute Lymphoblastic Leukemia. *Hematologic Malignancies: Acute Leukemias*. Springer; 2008. p. 131–5.
89. Kahan BC, Sc M, Dyer C, Choo L, Ph D, Bakrania L, et al. A No-Prophylaxis Platelet-Transfusion Strategy for Hematologic Cancers. *N Engl J Med* [Internet]. 2013 [cited 2019 Jul 17];368(19):1771–80. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23656642>
90. Middeke JM, Schetelig J, Bornhäuser M. Prevention and treatment of tumor lysis syndrome, and the efficacy and role of rasburicase. *Onco Targets Ther* [Internet]. 2017 [cited 2019 Jul 17];10:597–605. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28203093>
91. Gökbüget N, Hoelzer D. Treatment of Adult Acute Lymphoblastic Leukemia. *Semin Hematol* [Internet]. Elsevier Inc.; 2009 [cited 2019 Jul 16];46(1):64–75. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19100369>
92. Baden LR, Bensinger W, Angarone M, Casper C, Dubberke ER, Freifeld AG, et al. Prevention and treatment of cancer-related infections. *J Natl Compr Cancer Netw* [Internet]. 2012 [cited 2019 Jul 17];10(11):1412–45. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23138169>
93. Lohr L. Chemotherapy-Induced Nausea and Vomiting. *Cancer J* [Internet]. 2008 [cited 2019 Jul 18];14(2):85–93. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18391612>
94. Feyer P, Jordan K. Update and new trends in antiemetic therapy: the continuing need for novel therapies. *Ann Oncol* [Internet]. 2011 [cited 2019 Jul 18];22(1):30–8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20947707>
95. Bassan R, Hoelzer D. Modern Therapy of Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Clin Oncol* [Internet]. 2011 [cited 2019 Jul 23];29(5):532–43. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21220592>
96. Inaba H, Pui C. Glucocorticoid use in acute lymphoblastic leukaemia: comparison of prednisone and dexamethasone. *Lancet Oncol* [Internet]. Elsevier Ltd; 2010 [cited 2019 Jul 23];11(11):1096–106. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3309707/>
97. Kawedia JD, Rytting ME. Asparaginase in Acute Lymphoblastic Leukemia. *Clin Lymphoma, Myeloma Leuk* [Internet]. Elsevier Inc; 2014 [cited 2019 Jul 23];14(3):1–9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25486949>

98. Colombini A. Optimizing asparaginase therapy for acute lymphoblastic leukemia. *Curr Opin Oncol* [Internet]. 2013;25(1):1–9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23380829>
99. Harnicar S, Adel N, Bcop P, Jurcic J. Modification of vincristine dosing during concomitant azole therapy in adult acute lymphoblastic leukemia patients. *J Oncol Pharm Pract* [Internet]. 2009 [cited 2019 Jul 23];15(3):175–82. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19282418>
100. Jabbour E, Thomas D, Cortes J, Kantarjian HM, O’Brien S. Central Nervous System Prophylaxis in Adults With Acute Lymphoblastic Leukemia. *Cancer* [Internet]. 2010 [cited 2019 Jul 24];116(10):2290–300. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20209620>
101. Staffas A, Sloan M, Cancer K, Kettering S. The intestinal microbiota in allogeneic hematopoietic cell transplant and graft-versus-host disease. *Blood J* [Internet]. 2016 [cited 2019 Jul 27];129(8):927–33. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27940475>
102. Zeiser R, Blazar BR. Acute Graft-versus-Host Disease — Biologic Process, Prevention, and Therapy. *N Engl J Med* [Internet]. 2017 [cited 2019 Jul 27];377(22):2167–79. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29171820>
103. Claude N. Autologous stem cell transplantation versus alternative allogeneic donor transplants in adult acute leukemias. *Semin Hematol* [Internet]. Elsevier; 2016 [cited 2019 Jul 27];53(2):103–10. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27000734>
104. Burgio GR, Nespoli L, Maccario R, Verri A, Comoli P, Zecca M. Conceiving a hematopoietic stem cell donor: twenty-five years after our decision to save a child. *Haematologica* [Internet]. 2012 [cited 2019 Jul 27];97(4):479–81. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3347660/>
105. Kakourou G, Vrettou C, Mouta M, Traeger-synodinos J. Pre-implantation HLA matching: The production of a Saviour Child. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* [Internet]. 2017 [cited 2019 Jul 27];44:1–14. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28687174>
106. Gomes C. Autorizado primeiro “bebé-medicamento” em Portugal [Internet]. *Público*. 2015 [cited 2019 Aug 18]. Available from: <https://www.publico.pt/2015/04/30/sociedade/noticia/autorizado-primeiro-bebe-medicamento-em-portugal-1694062>
107. Lei nº32/2016: Procriação Medicamente Assistida [Internet]. 2006 [cited 2019 Jul 28]. Available from: <https://dre.pt/pesquisa/-/search/539239/details/maximized>
108. Campana D. Minimal Residual Disease in Acute Lymphoblastic Leukemia. *Hematology* [Internet]. 2010 [cited 2019 Jul 27];2010:7–12. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21239764>

109. Mei L, Ontiveros EP, Griffiths EA, Thompson JE, Wang ES. Pharmacogenetics predictive of response and toxicity in acute lymphoblastic leukemia therapy. *Blood Reviews* [Internet]. 2016 [cited 2019 Feb 26];29(4):243–9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4494870/>
110. Gervasini G, Vagace JM. Impact of genetic polymorphisms on chemotherapy toxicity in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Front Genet* [Internet]. 2012 [cited 2019 Jul 27];3(249):1–11. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3504364/>
111. Bonifant CL, Jackson HJ, Brentjens RJ, Curran KJ. Toxicity and management in CAR T-cell therapy. *Mol Ther - Oncolytics* [Internet]. 2016 [cited 2019 Jul 28];3:1–7. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5008265/>
112. Maude SL, Teachey DT, Porter DL, Grupp SA. CD19-targeted chimeric antigen receptor T-cell therapy for acute lymphoblastic leukemia. *Blood J* [Internet]. 2015 [cited 2019 Jul 28];125(26):4017–23. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25999455>
113. Dai H, Wang Y, Lu X, Han W. Chimeric Antigen Receptors Modified T-Cells for Cancer Therapy. *J Nac Cancer Inst* [Internet]. 2016 [cited 2019 Jul 28];108(7):1–15. Available from: <https://academic.oup.com/jnci/article/108/7/djv439/2412501>
114. Kochenderfer JN, Rosenberg SA. Treating B-cell cancer with T cells expressing anti-CD19 chimeric antigen receptors. *Nat Reviews Clin Oncol* [Internet]. Nature Publishing Group; 2013 [cited 2019 Jul 28];10(5):267–76. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23546520>
115. Bader P, Verneris MR, Stefanski HE, Myers GD, Qayed M, Moerloose B De, et al. Tisagenlecleucel in Children and Young Adults with B-Cell Lymphoblastic Leukemia. *N Engl J Med* [Internet]. 2018 [cited 2019 Jul 28];378(5):439–48. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29385370>
116. Brudno JN, Kochenderfer JN. Toxicities of chimeric antigen receptor T cells: recognition and management. *Blood J* [Internet]. 2016 [cited 2019 Jul 28];127(26):3321–31. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27207799>
117. Schreck I. Portugal vai receber o maior avanço para tratar o cancro. *Jornal de Notícias*. Porto; 2019;
118. Freitas AC. Tratamento com células CAR-T avança para segundo doente em Portugal [Internet]. *Público*. 2019 [cited 2019 Aug 18]. Available from: <https://www.publico.pt/2019/06/09/ciencia/noticia/tratamento-celulas-cart-avanca-segundo-doente-portugal-1875744>
119. Jabbour E, Brien SO, Ravandi F, Kantarjian H. Monoclonal Antibodies in Acute Lymphoblastic Leukemia. *Blood J* [Internet]. 2015 [cited 2019 Aug 4];125(26):4010–6. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25999456>

120. Farhadfar N, Litzow MR. New monoclonal antibodies for the treatment of acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Res* [Internet]. Elsevier Ltd; 2016 [cited 2019 Aug 17];49:13–21. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27521873>
121. Kantarjian H, Thomas D, Wayne AS, Brien SO. Monoclonal Antibody-Based Therapies: A New Dawn in the Treatment of Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Clin Oncol* [Internet]. 2014 [cited 2019 Aug 17];30(31):3876–83. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22891271>
122. Boross P, Leusen JHW. Mechanisms of action of CD20 antibodies. *Am J Cancer Res* [Internet]. 2012 [cited 2019 Aug 17];2(6):676–90. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3512181/>
123. Kantarjian HM, Lioure B, Atallah E, Leguay T, Kelly K, Marolleau J, et al. A Phase II Study of Coltuximab Ravtansine (SAR3419) Monotherapy in Patients with Relapsed or Refractory Acute Lymphoblastic Leukemia. *Clin Lymphoma, Myeloma Leuk* [Internet]. Elsevier Ltd; 2016 [cited 2019 Aug 18];16(3):139–45. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26775883>
124. Wei G, Wang J, Huang H, Zhao Y. Novel immunotherapies for adult patients with B-lineage acute lymphoblastic leukemia. *J Hematol Oncol* [Internet]. *Journal of Hematology & Oncology*; 2017 [cited 2019 Aug 18];10(150):1–13. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5563021/>
125. Bertaina A, Vinti L, Strocchio L, Gaspari S, Caruso R, Algeri M, et al. The combination of bortezomib with chemotherapy to treat relapsed/refractory acute lymphoblastic leukaemia of childhood. *Br J Haematology* [Internet]. 2017 [cited 2019 Aug 18];176(4):629–36. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28116786>
126. Kisselev AF, Linden WA Van Der, Overkleeft HS. Proteasome Inhibitors: An Expanding Army Attacking a Unique Target. *Chem Biol* [Internet]. Elsevier Ltd; 2012 [cited 2019 Aug 18];19(1):99–115. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3503453/>
127. Wang Z, Zhu S, Zhang G, Liu S. Inhibition of autophagy enhances the anticancer activity of bortezomib in B-cell acute lymphoblastic leukemia cells. *Am J Cancer Res* [Internet]. 2015 [cited 2018 Aug 18];5(2):639–50. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4396044/>
128. Malagola M, Papayannidis C, Baccarani M. Tyrosine kinase inhibitors in Ph + acute lymphoblastic leukaemia : facts and perspectives. *Anns Hematol* [Internet]. 2016 [cited 2019 Aug 23];95(5):681–93. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26891878>
129. Sasaki K, Jabbour EJ, Ravandi F, Short NJ, Thomas DA. Hyper-CVAD Plus Ponatinib Versus Hyper-CVAD Plus Dasatinib as Frontline Therapy for Patients with Philadelphia Chromosome-Positive Acute Lymphoblastic Leukemia : A Propensity Score Analysis. *Cancer* [Internet]. 2016 [cited 2019 Aug 23];122(23):3650–6. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27479888>

130. Pavlovsky C, Chan O, Talati C, Pinilla-ibarz J. Ponatinib in the treatment of chronic myeloid leukemia and philadelphia chromosome positive acute lymphoblastic leukemia. *Futur Oncol* [Internet]. 2018 [cited 2019 Aug 23];15(3):257–69. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30251548>
131. Assi R, Kantarjian H, Short NJ, Daver N, Takahashi K, Garcia-manero G, et al. Safety and Efficacy of Blinatumomab in Combination With a Tyrosine Kinase Inhibitor for the Treatment of Relapsed Philadelphia Chromosome-positive Leukemia. *Clin Lymphoma, Myeloma Leuk* [Internet]. Elsevier Inc.; 2017 [cited 2019 Aug 24];17(12):897–901. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28927784>