

## AVANÇOS E PERSPECTIVAS PARA O DIAGNÓSTICO DA LEUCEMIA LINFÓIDE AGUDA

Tereza Joelma Barbosa Almeida\*

\* Graduada em Ciências Biológicas pelas Faculdades Jorge Amado – Salvador-BA. Especialista em Análises Clínicas pela Universidade Católica do Salvador – Salvador-BA. Professora da Rede Estadual de Ensino da Bahia. E-mail: [terezajo1@yahoo.com.br](mailto:terezajo1@yahoo.com.br)

**Resumo:** As leucemias são as neoplasias mais comuns na infância, sendo que as leucemias linfocíticas agudas correspondem a 75% das leucemias infantis. As manifestações clínicas das leucemias agudas são decorrentes da inibição da hematopoiese pelas células leucêmicas e dos efeitos da infiltração em diversos órgãos e sistemas. O diagnóstico é feito com base no hemograma, mielograma, sendo necessários exames complementares para um diagnóstico mais refinado, considerando critérios morfológicos, citotóxicos, imunológicos, citogenéticos e da genética molecular. Avanços significativos da biologia molecular e o nascimento da nanotecnologia no campo das pesquisas abrem um leque de expectativas para o tratamento e o diagnóstico das neoplasias.

**Palavras-chave:** Leucemia Linfóide Aguda; avanços e perspectivas; diagnóstico; nanotecnologia.

**Abstract:** The leukemias are the most common neoplasm in childhood. The acute leukemia lymphoid corresponds to 75% of infantile leukemias. The clinical manifestations of acute leukemias are due to the inhibition of the hematopoiesis for leukemical cells and the effects of the infiltration in several organs and systems. The diagnosis is based on the blood count, mielogram, needing further exams for a more detailed diagnosis, considering morphological criteria, cytochemicals, immunological, cytogenetic and molecular genetics. Significant progress of molecular biology and the launching of nanotechnology in field research open the door for higher expectations in the treatment and diagnosis of this kind of neoplasm.

**Keywords:** Leukemia lymphoid acute; progresses and perspectives; diagnosis; nanotechnology.

### 1 INTRODUÇÃO

Este artigo resultou de uma revisão bibliográfica, tendo como tema os avanços e perspectivas para o diagnóstico da leucemia linfóide aguda, cujo objetivo é identificar e analisar, através de artigos acadêmicos, os avanços e perspectivas que a comunidade científica aponta para o diagnóstico da leucemia linfóide aguda (LLA).

Leucemias são as neoplasias mais freqüentes na infância, correspondendo a cerca de 30% de todas as doenças malignas em pacientes como menos de 15 anos de idade (OLIVEIRA; DINIZ; VIANA, 2004).

O câncer pediátrico representa 0,5% e 3% de todas as neoplasias na maioria das populações. Em geral, a incidência total de tumores malignos na infância é maior no sexo masculino. Dos cânceres infantis, a leucemia é o tipo mais freqüente, dentre essas, a Leucemia Linfóide Aguda (LLA) é de maior ocorrência em crianças na maioria das populações do mundo, com exceção do Japão, da China e do Zimbábue – países onde a LLA é menos freqüente que a Leucemia Mielóide Aguda (LMA) (INCA, 2007).

No Brasil, o câncer já é a terceira causa de morte por doença entre 1 e 14 anos, e no município e Estado de São Paulo é a primeira causa de óbito entre 5 e 14 anos de idade, excluindo-se as causas externas (RODRIGUES; CAMARGO, 2003).

Os avanços científicos e tecnológicos direcionado à identificação imunohematológica de produtos celulares, sintetizados por determinadas células sanguíneas, bem como a identificação de antígenos de membrana de leucócitos e células progenitoras hematopoéticas, promoveram excepcional desenvolvimento no diagnóstico laboratorial de diversas doenças hematológicas (NAOUM, 2001). O progresso científico-tecnológico, notadamente genômico, terapia celular e imagem, está contribuindo para uma mudança de paradigma na medicina. Surge também a nanotecnologia, que vem expandindo enormemente as perspectivas em procedimentos minimamente invasivos tanto no diagnóstico como no tratamento (MOREIRA; WROCLAWSKI, 2005).

O diagnóstico do câncer infantil é um processo complexo e muitas são as variáveis que parecem influenciá-lo. A detecção precoce e o pronto início do tratamento têm importante papel na redução da mortalidade e morbidade do tratamento. (RODRIGUES; CAMARGO, 2003).

Percebendo a importância de um diagnóstico precoce da LLA, para que se possa aplicar um tratamento mais eficiente aos pacientes, este trabalho foi desenvolvido tendo como foco os avanços e perspectivas no diagnóstico laboratorial da Leucemia Linfocítica Aguda.

## **2 METODOLOGIA**

Este estudo constitui-se em uma pesquisa qualitativa, realizada através de uma revisão bibliográfica literária sistemática. Inicialmente foi feita revisão literária em revistas científicas e artigos na base de dados do Scielo e Google Acadêmico e, posteriormente, em alguns livros. As referências eletrônicas foram consultadas através da Internet e estão listadas nas referências bibliográficas. Como critério de seleção, foram considerados os artigos com dados bibliográficos que abordassem os avanços e perspectivas para o diagnóstico da Leucemia Linfóide Aguda e outras informações

específicas correlacionadas ao assunto. Em seguida, foi feita uma leitura analítica para ordenar as informações e identificar o objeto de estudo.

### **3 NEOPLASIAS**

É uma proliferação celular não controlada, sem resposta a fatores reguladores da diferenciação celular, com invasão dos tecidos adjacentes e metástases para órgãos distantes, pela disseminação de células através da corrente sanguínea e linfática (LOPES, 2007). De acordo com Verrastro (2002), as neoplasias hematológicas se dividem em: síndromes mielodisplásicas, mieloma múltiplo, gamopatias monoclonais, síndromes mieloproliferativas, leucemias e linfomas.

#### **3. 1 Leucemias**

A medula óssea é um tecido esponjoso, que ocupa a cavidade central do osso e onde ocorre o desenvolvimento de células sanguíneas. Um pequeno grupo de células, denominadas células-tronco hematopoéticas, é responsável por produzir todas as células sanguíneas no interior da medula óssea. O processo de formação das células sanguíneas é chamado hematopoese (ABRALE, 2009). A porção celular do sangue é composta de eritrócitos (glóbulos vermelhos), leucócitos (glóbulos brancos) e plaquetas. (LORENZI, 2003).

O termo leucemia refere-se a um grupo de doenças complexas e diferentes entre si que afetam a produção dos leucócitos (HAMERSCHLAK, 2008).

A característica comum a todas as leucemias é uma proliferação desregulada, na medula óssea, de uma célula hematopoética. A célula leucêmica cresce mais que os elementos normais e os substitui em todas as áreas da medula, conseqüentemente, a medula aspirada de qualquer local vai revelar infiltrado leucêmico. A célula leucêmica também prolifera em locais extramedulares de antiga hematopoiese fetal, isto é, o fígado e o baço e, nas leucemias linfocíticas, nos linfonodos. Além disso, as células leucêmicas podem invadir e proliferar dentro de órgãos e tecidos não hematopoéticos,

como sistema nervoso central, testículos, trato gastrintestinal e a pele (RAPAPORT, 1990).

Barbosa et al. (2002) afirmam que as leucemias apresentam sintomas e sinais inespecíficos, que podem simular o quadro clínico de muitas patologias, entre elas a artrite reumatóide juvenil, febre reumática, lupus eritematoso sistêmico, púrpura trombocitopênica idiopática, aplasia medular e mononucleose infecciosa, entre outras. De acordo com esses autores, alguns trabalhos têm descrito as manifestações reumatológicas das leucemias, uma vez que queixas músculo-esqueléticas podem ser sua manifestação inicial. Faz-se necessário, portanto, um **diagnóstico diferencial**. (VILLELA; WISINTEINER, 2001)

### **3.2 Tipos de leucemia**

Os tipos de leucemia mielóide e linfóide apresentam-se de forma aguda, estas progridem rapidamente, ou de forma crônica, que são de progressão lenta. Desta forma os principais tipos de leucemia, de acordo com a Associação Brasileira de Leucemia e Linfoma (ABRALE, 2009), são: Leucemia bifenotípica, Leucemia mielóide aguda (LMA), Leucemia mielóide crônica (LMC), Leucemia linfóide crônica (LLC) e Leucemia linfóide aguda (LLA).

### **3.3 Leucemia Linfóide Aguda (LLA)**

A leucemia linfocítica aguda resulta na produção descontrolada de blastos de características linfóides e no bloqueio da produção normal de glóbulos vermelhos, de glóbulos brancos e de plaquetas. A LLA desenvolve-se a partir dos linfócitos primitivos, que podem se encontrar em diferentes estágios de desenvolvimento. O principal método de classificação é a imunofenotipagem. Também a citogenética é uma metodologia importante (HAMERSCHLAK, 2008).

### 3.3.1 Diagnóstico Laboratorial

Baseia-se no exame morfológico de esfregaços de sangue e de medula óssea, encontrando-se alta porcentagem de linfoblastos mais ou menos anômalos. Este exame deve ser sempre complementado com observação das células através de testes citoquímicos e imunofenotipagem. (VERRASTRO, 2002).

#### 3.3.1.1 Hemograma

Os exames laboratoriais mostram diferentes alterações, refletindo o grau de infiltração medular. Anemia, usualmente normocrômica e normocítica, com baixa contagem de reticulócitos, ocorre em mais de 75% dos casos. A contagem leucocitária pode variar de 100 a 1 milhão de leucócitos/mm<sup>3</sup>, 53% apresentam menos que 10.000, 30%, de 10 a 49.000, e 17% mais que 50.000 leucócitos/mm<sup>3</sup>. Embora a plaquetopenia seja um achado freqüente, 46% dos pacientes com leucemia e manifestações músculo-esqueléticas iniciais apresentam contagem normal. A identificação dos blastos no sangue periférico pode ser feita em 1/3 dos pacientes (BARBOSA et al., 2002).

#### 3.3.1.2 Mielograma

Oliveira, Diniz e Viana (2004) afirmam que o diagnóstico das leucemias é firmado pela punção aspirativa da medula óssea. O estudo desse tecido revela a substituição hematopoiética normal por células leucêmicas imaturas. O diagnóstico é confirmado quando mais de 25% a 30% das células nucleadas são blastos. Se a medula não puder ser aspirada ou a amostra for hipocelular, a biópsia de medula óssea fornece o material necessário para o estudo. Os esfregaços são corados por técnicas habituais – May-Gruwald-Giemsa, Leishman ou Wright – e por métodos citoquímicos. O exame morfológico e citoquímico dos esfregaços de medula óssea permite o diagnóstico e a classificação inicial da maioria dos casos de leucemia.

### 3. 3.1.3 Citoquímica

Verrastro (2002) também aborda que as reações citoquímicas podem auxiliar muito na diferenciação entre LLA e LMA. As reações do *Sudan black* e a peroxidase são completamente negativas ou positivas em pequena porcentagem dos blastos leucêmicos (3% a 5%). A reação da fosfatase alcalina ácida é importante para caracterizar a leucemia aguda tipo T. A reação do PAS dá resultados variáveis; pode ser totalmente negativa ou pode revelar granulações positivas homogêneas e pequenas, ou grandes e grosseiras. Não se sabe o porquê desse comportamento diferente. Alguns autores admitem que a reação positiva no citoplasma de blastos estaria ligada à presença de imunoglobulinas.

Baseado neste achado, a reação do PAS positiva estaria relacionada com a LLA tipo B. Embora isto, às vezes, seja real, tal correlação não existe na totalidade dos casos. Há certos casos de LLA tipo L3 em que é positiva pelo PAS; em outros casos a reação é completamente negativa (VERRASTRO, 2002).

### 3.3.1.4 Análises Bioquímicas

Oliveira, Diniz e Viana (2004) também consideram importantes as análises bioquímicas, a avaliação da função hepática e renal, a dosagem do ácido úrico, da desidrogenase láctica (LDH) e de eletrólitos – sódio, potássio, cálcio, fósforo e magnésio –, que devem ser realizadas antes do início do tratamento. É comum o encontro de níveis aumentados de LDH decorrentes de uma rápida destruição e regeneração celular.

### 3.3.1.5 Citogenética

A análise cromossômica das doenças hematológicas malignas é eficiente não só para um diagnóstico mais refinado, mas também para a compreensão dos mecanismos envolvidos na malignidade e para encontrar genes de importância biológica. As anormalidades cariotípicas estão confinadas aos clones malignos, desaparecem durante a remissão hematológica e reaparecem com a recidiva, algumas vezes demonstrando

evidência de novas alterações supostas ao clone anormal original (FARIAS; CASTRO, 2004).

A vantagem da citogenética é que ela é capaz de detectar alterações clonais, estruturais e numéricas, e, quando presentes, mesmo em um número pequeno de células, apenas duas a três metáfases serão suficientes para determinar um clone neoplásico. Outra vantagem é que a citogenética poderá detectar alterações clonais novas, ou seja, evoluções clonais (SIMÕES, 2000).

A desvantagem principal do método, como ferramenta para a detecção de doença residual mínima (DRM), é sua baixa sensibilidade, em torno de 1 a 5%, e a necessidade de um preparado citogenético adequado (qualidade das metáfases), o que nem sempre é fácil de se obter. Além disso, é preciso que um número grande de metáfases seja analisado para que se possa afirmar, com certeza, que não há células tumorais residuais. A necessidade de utilizar-se medula óssea e não sangue periférico para essas análises também torna o método mais invasivo (SIMÕES, 2000).

Hamerschlak (2008) defende que o diagnóstico, além de ser feito por meio da análise microscópica do sangue e da medula óssea, imunofenotipagem e citogenética, requer também avaliar o envolvimento do sistema nervoso central pelo estudo do líquido.

#### 3.3.1.6 Punção Lombar

O Líquor deve ser analisado à procura de células leucêmicas, pois o acometimento precoce do SNC tem implicações prognósticas e terapêuticas importantes. O exame do líquido irá mostrar pleocitose e presença de células leucêmicas no exame citológico (OLIVEIRA; DINIZ; VIANA, 2004).

#### 3.3.1.7 Imunofenotipagem

Diversos autores têm proposto uma classificação imunológica das LLAs, de acordo com a expressão de antígenos específicos, podendo, inicialmente, essas leucemias ser classificadas de linhagem T ou B, de acordo com as características imunofenotípicas dos linfoblastos, sendo possível detectar com bastante precisão, além da linhagem celular, o

nível de diferenciação em que se encontra o processo leucêmico (FARIAS; CASTRO, 2004).

Atualmente, o uso de anticorpos monoclonais para identificar antígenos de diferenciação celular está sendo aplicado para investigar e caracterizar laboratorialmente a maioria das leucemias agudas e crônicas de origens mielóide e linfóide (NAOUM, 2001).

Os antígenos de membrana são comuns a diferentes tipos de células. Diferentemente, os antígenos citoplasmáticos são específicos, e possibilitam classificar as leucemias em linfóides (subtipos B e T) ou mielóides (subtipos MO até M7). As células leucêmicas da linhagem B (linfóides) expressam mais comumente os antígenos de membrana: CD10, CD19, CD22, CD24 e o antígeno citoplasmático CD79. Os antígenos de membrana de células T (linfóides) mais comuns são: CD2, CD3, CD5, CD7; e o citoplasmático: CD3. Já os antígenos de células mielóides mais freqüentes são o CD13 e o CD33; e o antígeno citoplasmático, o MPO (SILVA; et al, 2007).

As reações de imunofenotipagem avaliam antígenos celulares expressos nos blastos leucêmicos, através da citometria de fluxo (SILVA et al., 2007).

### 3.3.1.8 Citometria de Fluxo

A citometria de fluxo é uma tecnologia baseada no emprego de radiação laser, fluxo hidrodinâmico, ótica, substâncias fluorescentes (fluorocromos), recursos de informática, utilizada para determinar algumas características estruturais e funcionais de partículas biológicas. Os citômetros de fluxo, como são chamados os equipamentos utilizados para esse fim, têm como princípio básico aspirar células ou partículas de uma suspensão previamente preparada e forçá-las a passar por uma câmara especial (*flow cell*), que faz com que as células fiquem envolvidas e centralizadas num fluxo contínuo de líquido (*sheath fluid*) e saiam desta câmara uma atrás da outra de modo que uma única célula seja interceptada pelo laser (BERTHO, 2008).

Além de analisar células, alguns citômetros de fluxo têm a propriedade de separar uma população celular de acordo com parâmetros pré-estabelecidos. A separação de células (*sorting*) pode ser baseada nas propriedades funcionais, bioquímicas ou



morfológicas das células, sendo que as mesmas não sofrem qualquer dano durante o processo (BERTHO, 2008).

A citometria de fluxo tem se destacado como um método eficaz para a detecção de antígenos de superfície, intracitoplasmáticos e nucleares, e pode ser utilizada na detecção da proteína p53 em células tumorais. A proteína p53 funcional atua na regulação do ciclo celular, reparo do DNA e, dependendo da extensão da lesão, indução da apoptose das células geneticamente instáveis, mantendo, desta forma, a integridade do genoma. Uma grande parte das mutações observadas no gene p53 resulta na transcrição e acúmulo de uma proteína mutante e não funcional (p53m), que pode ser facilmente detectada nas células neoplásicas através de métodos imunológicos (SIMÕES, 2000).

Esta metodologia apresenta a vantagem de ser uma técnica semi-automatizada em que se pode processar e analisar, conjuntamente, um grande número de amostras em tempo reduzido. Adicionalmente, a citometria de fluxo apresenta como vantagem a possibilidade da análise multiparamétrica, fornecendo informações adicionais, tais como análise simultânea de dois ou mais antígenos, além da quantificação antigênica (SIMÕES, 2000).

As células hematopoéticas apresentam uma série de antígenos de superfície, intracitoplasmáticos e intranucleares; alguns estão associados a uma linhagem celular, outros indicam os diferentes estágios de maturação da célula. Pela imunofenotipagem por citometria de fluxo, os diferentes antígenos podem ser reconhecidos com o uso de anticorpos monoclonais específicos (CD). A imunofenotipagem é, portanto, considerada o método preferencial para a caracterização de algumas leucemias agudas, linfoblásticas ou não-linfoblásticas (FARIAS; BIERMANN, 2007).

Além disso, a citometria de fluxo é fundamental para a distinção entre leucemia linfóide aguda imatura (ALL) e leucemia mielóide aguda (AML), subtipagem imunológica e predição de anormalidades biomoleculares cariotípicas, expressão de marcadores prognósticos, descoberta de moléculas potencialmente exploráveis como objetivo para imunoterapia (CD20, CD52, CD33), presença e quantificação do número de células na doença residual mínima, avaliação de clonalidade de células B e células T, entre muitas outras características passíveis de identificação (VASCONCELOS, 2007).

Mesmo com a vantagem de poder dar resultados em pouco tempo (algumas horas), a citometria de fluxo não tem sido um método muito empregado para a detecção de doença residual mínima pós-transplante de medula óssea, principalmente pela baixa sensibilidade e pela necessidade de se utilizar uma combinação de vários anticorpos a fim de se detectar fenótipo aberrante, algo que exige uma capacitação técnica importante. Entretanto, na detecção de doença residual mínima para leucemias agudas linfóides e mielóides após quimioterapia convencional, ele tem sido uma ferramenta útil de complementação diagnóstica (SIMÕES, 2000).

### 3.3.2 Avanços no Diagnóstico

A partir dos desdobramentos da biologia molecular, a base científica do setor saúde vive um intenso processo de transição tecnológica dominada pela emergência do **transcriptoma**, do **metaboloma**, da **proteômica**, da **genômica**, da **bioinformática** e da **nanotecnologia**, surgindo novos produtos e processos de produção, bem como novas metodologias para a prevenção, tratamento e diagnóstico de doenças (MACHADO; TEIXEIRA; CORTES, 2006).

O termo "medicina genômica" já aparece com regularidade nas principais revistas médicas do mundo. A genômica é um ramo da genética que estuda a natureza física e o funcionamento do material genético contido no conjunto de cromossomos de cada espécie. Avanços nas tecnologias de sequenciamento e análise computacional do DNA permitiram determinar a posição cromossômica e a sequência de bases dos genes de diversas espécies, incluindo a humana. Esse conhecimento, chamado genômica estrutural, facilitou enormemente a detecção de mutações nos genes humanos, as quais são as causas primárias de diversas doenças (MOREIRA; OKAMOTO, 2004).

Mais recentemente, tornou-se possível analisar como os genes se expressam, ou são silenciados, nos diferentes tecidos, ou num tumor e no tecido normal adjacente. Esse é o campo da genômica funcional. O próximo passo, que já está sendo dado, é a proteômica: entender como as proteínas, codificadas pelos genes, são geradas, modificadas e interagem no ambiente intracelular (MOREIRA; OKAMOTO, 2004). O proteoma representa as proteínas de um organismo vivo (GARCIA, 2005).

O extraordinário avanço da biologia molecular, bioquímica e informática permite analisar o genoma no estudo das patologias tumorais, possibilitando: identificar genes envolvidos nos processos tumorais, como aqueles que normalmente inibem a proliferação celular (genes supressores de tumor), os que ativam a proliferação (oncogênes) e os envolvidos no reparo do DNA (SEJANEZ, 2005).

Os avanços da genética molecular e da citogenética têm aumentado a capacidade de detecção das alterações das células neoplásicas hematopoéticas e de tumores sólidos, possibilitando, em muitos casos, o esclarecimento dos mecanismos responsáveis pela etiologia e patogênese das neoplasias. Têm, também, permitido o mapeamento de vários genes envolvidos nos processos neoplásicos (FETT-CONTE, 2000).

A aplicação cada vez mais abrangente de técnicas de biologia molecular em análises clínicas pode ser resumida por meio do uso de três métodos cientificamente aprovados para este fim: Southern blotting, Reação em Cadeia da Polimerase ou PCR, e Hibridização "in situ" por Fluorescência ou FISH (NAOUM, 2001).

#### 3.3.2.1 Southern Blotting

De acordo com Simões (2000), o *Southern blot*, que já foi utilizado no passado para a detecção de doença residual mínima (DRM), foi abandonado, por se tratar de uma técnica extremamente trabalhosa, que requer marcação radioativa das sondas e tem baixa sensibilidade. Entre os métodos moleculares, o PCR, sem dúvida, segundo o referido autor, é o mais sensível e capaz de amplificar material genético, tanto DNA quanto RNA, a partir do sangue periférico ou medula óssea, sendo, portanto, mais indicado para detecção de DRM.

#### 3.3.2.2 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

Trata-se de um processo rápido de replicação seletiva de um determinado trecho do DNA genômico "in vitro". A análise molecular pela PCR dos rearranjos genéticos dá resultados mais precisos e tem sido usada para detectar a presença de células leucêmicas num universo grande de células medulares, da ordem de  $10^4$  e  $10^5$ . As

alterações citogenéticas, tipo translocações, freqüentes na LLA-B, e os rearranjos de genes de receptores de células T (TCR) são avaliados por meio de marcadores moleculares que variam segundo esses arranjos. Esses testes têm sido utilizados com freqüência cada vez maior, permitindo perceber a evolução de cada caso. Uma vez feitos com segurança, permitem acompanhar a queda das células leucêmicas e reconhecer se está ou não indicada a intensificação de uma quimioterapia. A persistência da MRD elevada, mesmo em pacientes em remissão hematológica, indica a necessidade de transplante de medula óssea (LORENZI, 2003).

A citogenética convencional, imunofenotipagem, hibridização "in situ" (FISH) e a reação em cadeia em polimerase (PCR) são métodos usados para avaliar a doença residual mínima ou recaída de um paciente pós-transplante de medula óssea e os submetidos a tratamentos quimioterápicos. A doença residual mínima (DRM) pode ser definida como o limite mínimo de detecção de doença, em pacientes em remissão clínica completa, quando avaliados pelos métodos disponíveis (SIMÕES, 2000).

Sendo um método extremamente sensível, cautela máxima precisa ser tomada no laboratório para evitar contaminações e, desta forma, resultados falsos-positivos. Assim, o PCR tem a desvantagem de necessitar de aparato laboratorial adequado e pessoal técnico treinado (SIMÕES, 2000).

### 3.3.2.3 Hibridização "In Situ" por Fluorescência – FISH

Segundo Simões (2000), tal método veio possibilitar a análise de cromossomos em metáfase e em intérfase, não necessitando que as células estejam em divisão. É realizado através da hibridização do preparado cromossômico com sondas específicas, tanto para regiões de quebra quanto para cromossomos inteiros.

A grande vantagem do FISH é a possibilidade de se analisar um número grande de células rapidamente e de se identificar alterações estruturais por vezes não vistas na citogenética convencional. As desvantagens decorrem de ser um método caro, a exigência de se conhecer a alteração subjacente e de se ter à disposição sondas específicas para cada uma das alterações e a sensibilidade relativamente baixa. Tem a limitação também de uma marcação inespecífica de fundo, que resulta em proporção

variável de falsos-positivos, dependendo do sistema de detecção utilizado. Tem, ainda, a desvantagem adicional de não ser capaz, na maioria das vezes, de identificar evoluções clonais. Todos esses fatores devem ser levados em consideração como método para detecção de doença residual mínima, mas, quando disponível, certamente pode e deve substituir a citogenética convencional na detecção de doença residual mínima, lembrando que sua sensibilidade pode chegar a 0,6% (NAOUM, 2001).

### 3.3.3 Perspectivas para o Diagnóstico

#### 3.3.3.1 Nanotecnologia e Nanobiotecnologia

A nanotecnologia é o ramo da ciência responsável pelo desenvolvimento e pesquisa de estruturas e materiais manipulados em escala nanométrica. Um nanômetro (nm) corresponde à bilionésima parte do metro ( $10^{-9}$  m) e as estruturas produzidas em escala que varia, em geral, de 1 a 100 nm, acabam assumindo novas propriedades (físicas – mecânicas e elétricas -, químicas, biológicas) e fenômenos inéditos (MELO; PIMENTA, 2004; SCHEU et al., 2006).

A lista completa das aplicações potenciais da nanotecnologia é vasta e diversificada. Porém, um dos seus maiores impactos na sociedade ocorrerá na área médica. Quando a nanotecnologia é aplicada às ciências da vida é denominada nanobiotecnologia (POLETTI; POHLMANN; GUTERRES, 2008).

O rápido progresso em diagnóstico por imagem, robótica e nanotecnologias expande enormemente as perspectivas para procedimentos minimamente invasivos (MOREIRA; WROCLAWSKI, 2005).

Coelho (2008) afirma que materiais magnéticos nanoestruturados têm sido propostos em diversas aplicações na área médica, tanto no diagnóstico, pois melhora o contraste em imagens de ressonância magnética (RMN), como na terapêutica, com potencialidade para utilização na magnetohipertemia, no desenvolvimento de sistemas de entrega de drogas a sítios específicos e, até mesmo, na terapia gênica, todas elas direcionadas a diversas patologias, com particular interesse no câncer.

A imunolocalização de células tumorais com o uso de nanopartículas superparamagnéticas permite obter a detecção precoce de tumores e micrometástases

por ressonância magnética nuclear. No processo de magneto-hipertemia (magnetotermocitólise), as nanopartículas magnéticas (NPM) biocompatíveis são associadas a anticorpos monoclonais (AcM) específicos para proteínas da membrana de células tumorais. O conjugado NPM-AcM, quando administrado, potencializa o contraste de imagens de ressonância magnética (PAVON; OKAMOTO, 2007).

Muitos países em desenvolvimento estão investindo nessa área, além da China que já é o 3º produtor mundial de patentes em Nanotecnologia (depois dos Estados Unidos e Japão) e da Coreia do Sul. No Brasil, uma iniciativa importante foi o Programa Nacional de Desenvolvimento da Nanociência e Nanotecnologia, com recursos de U\$ 30 milhões investidos no biênio 2005/2006 (TOMA, 2005).

Grandes perspectivas surgem nessa nova área do conhecimento. As pesquisas estão sendo realizadas em diversas áreas, propiciando avanços ambientais, comerciais, nas indústrias, informática e na área médica, na qual percebe-se uma atenção especial dos pesquisadores para com as neoplasias malignas. Espera-se que surjam nessa nova área do conhecimento formas de diagnóstico e tratamento mais eficientes para a cura da Leucemia Linfóide Aguda, que ataca de forma mais severa o adulto.

#### **4 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Percebe-se neste estudo que o diagnóstico da LLA, de acordo com os autores pesquisados nesta revisão bibliográfica, embora seja firmado pelo mielograma, requer um refinamento com o emprego de análise bioquímica, citoquímica, citogenética e imunofenotipagem, a fim de se aplicar a terapêutica mais adequada a cada paciente.

Deve-se, ainda, analisar as vantagens e desvantagens de cada método em todas as fases de tratamento, desde a remissão, pós-remissão, consolidação e manutenção, até transplante de medula óssea.

Nota-se, ainda, que os métodos de biologia molecular vêm revolucionando o entendimento dos mecanismos envolvidos na etiopatogenia das leucemias. A compreensão destes mecanismos proporciona uma rápida modificação na abordagem diagnóstica e nos protocolos terapêuticos.

O diagnóstico da LLA, entre outras patologias, tem suas expectativas ampliadas, com o Projeto Genoma e as pesquisas a ele correlacionadas, que vêm dando uma

atenção especial ao câncer. Além disso, surge a nanotecnologia com um impacto significativo e relevante na evolução da tecnologia médica, com métodos de diagnóstico e tratamento menos agressivos, menos invasivos e mais eficazes para o homem. A transição para esses métodos exigirá que os profissionais dos sistemas de saúde passem por treinamentos e capacitação para atuar nessa nova área.

Apesar das inúmeras vantagens apresentadas pelas pesquisas sobre a nanotecnologia, aspectos de segurança, regulação e impacto ambiental começam a dar seus primeiros passos nos âmbitos social, empresarial, governamental e acadêmico. De acordo com os autores estudados, prevê-se um crescimento animador do mercado nanobiotecnológico nos próximos anos, e o Brasil pode ocupar um lugar de destaque nesse campo.

## REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE LINFOMA E LEUCEMIA (ABRALE). **O que é leucemia**. Disponível em: <<http://www.abrale.org.br/doencas/leucemia/index.php>>. Acesso em: 31 jan. 2009.

BARBOSA, Cássia Maria Passarelli Lupoli et al. Manifestações músculo-esqueléticas como apresentação inicial das leucemias agudas na infância. **Jornal de Pediatria**, Porto Alegre, v. 78, n. 6. p. 481-484, nov./dez. 2002. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/jped/v78n6/7806481.pdf>>. Acesso em: 2 fev. 2009.

BERTHO, Álvaro Luiz. **Citometria de Fluxo**. Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), 2009. 22 p. Disponível em: <<http://picf.ioc.fiocruz.br/apostila.doc>>. Acesso em: 31 jan. 2009.

COELHO, Júlia Poubel. **Avaliação da biocompatibilidade de magnetolipossomas à base de nanopartículas de maghemita**. 2008. 86 f. Dissertação (Mestrado em Patologia Molecular) - Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, Brasília, 2008. Disponível em: <[http://btd.bce.unb.br/tesdesimplificado/tde\\_arquivos/43/TDE-2008-05-08T163638Z-2557/Publico/Dissert\\_Julia%20Poubel%20Coelho.pdf](http://btd.bce.unb.br/tesdesimplificado/tde_arquivos/43/TDE-2008-05-08T163638Z-2557/Publico/Dissert_Julia%20Poubel%20Coelho.pdf)>. Acesso em: 31 jan. 2009.

FARIAS, Mariela Granero; BIERMANN, Maristela B. Análise morfológica, imunofenotípica e molecular na identificação da leucemia megacariocítica aguda (LMA-M7). **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, São José do Rio Preto, v. 29, n. 4, p. 387-393, out./dez. 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbhh/v29n4/a13v29n4.pdf>>. Acesso em: 2 fev. 2009.

FARIAS, Mariela Granero; CASTRO, Simone Martins. Diagnóstico laboratorial das leucemias linfóides agudas. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, Rio de Janeiro, v. 40, n. 2, p. 91-98, abr. 2004. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/jbpm/v40n2/a08v40n2.pdf>>. Acesso em: 31 jan. 2009.

FETT-CONTE, Agnes C. et al. Estudo cromossômico no sangue periférico de pacientes com diferentes tipos de leucemia do Hospital de Base, São José do Rio Preto-SP. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, São José do Rio Preto, v. 22, n. 3, p.374-386, set./dez. 2000. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbhh/v22n3/13412.pdf>>. Acesso em: 31 jan. 2009.

HAMERSCHLAK, Nelson. Manifestações reumáticas associadas a doenças oncohematológicas. **Einstein**, São Paulo, v. 6, supl. 1, p. S89-S97, set. 2008. Disponível em: <<http://apps.einstein.br/revista/arquivos/PDF/773-Einstein%20Suplemento%20v6n1%20pS89-97.pdf>>. Acesso em: 1 fev. 2009.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA). Leucemia linfóide aguda em adulto. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 48, n. 3, p. 309-312, jul./set. 2002. Disponível em: <[http://www.inca.gov.br/rbc/n\\_48/v03/pdf/conduatas1.pdf](http://www.inca.gov.br/rbc/n_48/v03/pdf/conduatas1.pdf)> . Acesso em: 31 jan. 2009.

LORENZI, Therezinha F. **Manual de hematologia**. 3 ed. Belo Horizonte: Medsi, 2003.

MOREIRA-FILHO, Carlos Alberto; OKAMOTO, Oswaldo Keith. Medicina genômica e prática clínica. **Einstein**, São Paulo, v. 2, n. 3, p. 235-236, jun. 2004. Disponível em: <<http://www.einstein.br/biblioteca/artigos/Vol2Num3/Medicina%20genomica.pdf>>. Acesso em: 1 fev. 2009.

MOREIRA-FILHO, Carlos Alberto; WROCLAWSKI, Eric Roger. O desafio da moderna pesquisa biomédica. **Einstein**, São Paulo, supl. 1, p. 1-3, nov. 2005. Disponível em: <[http://apps.einstein.br/revista/biblioteca/artigos/vol3/suplemento/Vol3\\_Supl\\_P1.pdf](http://apps.einstein.br/revista/biblioteca/artigos/vol3/suplemento/Vol3_Supl_P1.pdf)>. Acesso em: 1 fev. 2009.

NAOUM, Paulo C. Avanços tecnológicos em hematologia laboratorial. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, São José do Rio Preto, v. 23, n. 2, p. 15-23, maio/ago. 2001. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbhh/v23n2/13304.pdf>>. Acesso em: 4 fev. 2009.

OLIVEIRA, Benigna Maria; DINIZ, Michele dos Santos; VIANA, Marcos Borato. Leucemias agudas na infância. **Rev Med Minas Gerais**, Belo Horizonte, v. 14, n. 1, supl. 1, p. S33-S39, 2004. Disponível em: <<http://www.scribd.com/doc/25305304/Leucemias-agudas-na-infancia>>. Acesso em: 4 fev. 2009.

PAVON, Lorena Favaro; OKAMOTO, Oswaldo Keith. Aplicações de recursos nanobiotecnológicos em câncer. **Einstein**, São Paulo, v. 5, n. 1, p. 74-77, fev. 2007. Disponível em: <[http://apps.einstein.br/revista/arquivos/PDF/528-Einstein5-1\\_Online\\_REB528\\_pg74-77.pdf](http://apps.einstein.br/revista/arquivos/PDF/528-Einstein5-1_Online_REB528_pg74-77.pdf)>. Acesso em: 4 fev. 2009.

POLETTO, Fernanda S; POHLMANN, Adriana R; GUTERRES, Silvia S. Uma pequena grande revolução: os impactos da nanobiotecnologia na saúde humana. **Ciência Hoje**, Rio de Janeiro, v. 43, n. 255, p. 26-31, dez. 2008. Disponível em: <<http://cienciahoje.uol.com.br/banco-de-imagens/lg/protected/ch/255/nanobiotecnologia255.pdf/view>>. Acesso em: 4 fev. 2009.

REIS, Rejane de Souza; SANTOS, Marceli de Oliveira; THULER, Luiz Cláudio Santos. Incidência de tumores pediátricos no Brasil. **Revista Brasileira de Cancerologia**, São Paulo, v. 53, n. 1, p. 5-15, jan./mar. 2007. Disponível em: <[http://www.inca.gov.br/rbc/n\\_53/v01/pdf/artigo1.pdf](http://www.inca.gov.br/rbc/n_53/v01/pdf/artigo1.pdf)>. Acesso em: 4 fev. 2009.