

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS: PEDIATRIA

**INFLUÊNCIA DA PUNÇÃO LOMBAR TRAUMÁTICA E DA
QUIMIOTERAPIA INTRATECAL NA SOBREVIDA DE
PACIENTES PEDIÁTRICOS COM LEUCEMIA
LINFOCÍTICA AGUDA**

ÂNGELA RECH

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Porto Alegre, Brasil, 2005.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS: PEDIATRIA

**INFLUÊNCIA DA PUNÇÃO LOMBAR TRAUMÁTICA E DA
QUIMIOTERAPIA INTRATECAL NA SOBREVIVÊNCIA DE
PACIENTES PEDIÁTRICOS COM LEUCEMIA
LINFOCÍTICA AGUDA**

ÂNGELA RECH

Orientador: Prof. Dr. Algemir Lunardi Brunetto

A apresentação desta dissertação de mestrado é exigência do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Pediatria, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, para obtenção do título de Mestre.

Porto Alegre, Brasil, 2005.

R296i Rech, Ângela

Influência da punção lombar traumática e da quimioterapia intratecal na sobrevida de pacientes pediátricos com leucemia linfocítica aguda / Ângela Rech; orient. Algemir Lunardi Brunetto. – 2004.

70 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Pediatria. Porto Alegre, BR-RS, 2004.

1. Leucemia linfocítica aguda : Quimioterapia 2. Leucemia linfocítica aguda : Terapia 3. Leucemia linfocítica aguda : Mortalidade 4. Criança 5. Punção espinhal I. Brunetto, Algemir Lunardi II.Título.

NLM: WS 300

“Não se preocupe em entender.
Viver ultrapassa todo entendimento.”

Clarice Lispector

DEDICATÓRIA

Para o **Renan**, um homem especial, que soube entender os momentos difíceis pelos quais passei.

Para meus pais, **Sérgio e Maria Helena**, por acreditarem que o estudo sempre foi e será a maior herança que pode ser transmitida.

Para meus irmãos, **Sérgio e Alexandre**, pelo carinho e incentivo.

AGRADECIMENTOS

Ao professor orientador, **Dr. Algemir Lunardi Brunetto**, um agradecimento todo especial, por ter acreditado nos meus sonhos e ter permitido realizá-los. Por toda a transmissão de conhecimentos que, feitos de forma incondicional, permitiram fazer de mim uma profissional melhor.

Ao **Dr. Mário Bernardes Wagner**, pelo maravilhoso amparo estatístico, sem o qual a conclusão deste estudo não seria possível. Obrigado pelo seu otimismo constante.

Ao **Dr. Cláudio Galvão de Castro Jr.**, por todos os “galhos quebrados”, sempre naquela “última hora”, os quais tanto me ensinaram e ajudaram.

Ao **Dr. Lauro Gregianin**, que sempre me ajudou a entender que devemos ter calma, mesmo nos momentos mais angustiantes.

Às **Dras. Jiseh Fagundes Loss, Clarice Meneses e Simone Geiger de Almeida**, por toda a paciência e carinho com que me receberam no 3º leste do HCPA.

À **equipe do 3º leste do HCPA**, que sempre me acolheu com carinho e muito coleguismo.

Às enfermeiras, **Luciane Di Leone e Gisele P. de Carvalho**, pelo incentivo constante à pesquisa médica.

À **Dra Ivana Carraro e toda equipe da Clinicon**, que sempre entenderam e souberam apoiar o meu projeto de mestrado.

A todas as **crianças do 3º leste**, pacientes maravilhosas que me ensinam diariamente que vale a pena lutar, mesmo quando tudo parece perdido.

Às secretárias, **Ângela Motta e Vânia Amador**, que sempre estavam prontas a me ajudar a qualquer momento.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	7
LISTA DE QUADROS	9
RESUMO	10
SUMMARY	11
1 INTRODUÇÃO.....	12
1.1 Definições.....	12
1.2 Epidemiologia	13
1.3 Classificação das leucemias	16
1.3.1 Classificação morfológica.....	16
1.3.2 Classificação imunofenotípica	17
1.3.3 Classificação citogenética	19
1.4 Fatores prognósticos.....	19
1.4.1 Idade.....	20
1.4.2 Sexo.....	20
1.4.3 Raça.....	20
1.4.4 Contagem de leucócitos	21
1.4.5 Status do SNC	21
1.4.6 Anormalidades Cromossômicas.....	22
1.4.7 Presença de Doença Residual Mínima.....	22
1.5 Definição de Grupos Prognósticos.....	23
1.6 Apresentação Clínica.....	23
1.7 Diagnóstico diferencial.....	25
1.8 Tratamento.....	26
1.8.1 Indução da remissão.....	27
1.8.2 Terapêutica de consolidação	27
1.8.3 Terapêutica de re-indução	27
1.8.4 Terapêutica de Manutenção	28
1.8.5 Profilaxia SNC	28
2 EXPERIÊNCIA DO SERVIÇO DE ONCOLOGIA PEDIÁTRICA DO HCPA NO TRATAMENTO DA LLA	29
3 CONTAMINAÇÃO DO SNC COM CÉLULAS LEUCÊMICAS DURANTE O PROCEDIMENTO DE PL – JUSTIFICATIVA DO ESTUDO	31
4 OBJETIVOS	33
5 MÉTODOS	34
5.1 Critérios de inclusão	34
5.2 Critérios de exclusão	34
5.3 Metodologia do estudo	34
5.4 Tratamento estatístico.....	36

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
PORTUGUÊS.....	43
ARTIGO NO IDIOMA INGLÊS	56

LISTA DE ABREVIATURAS

ALL	<i>Acute Lymphoblastic Leukemia</i>
BFM	<i>Berlin-Frankfurt-Munich</i>
BM	<i>Bone Marrow</i>
CCG	<i>Cancer Children Group</i>
CD	<i>Cluster Determination</i>
CNS	<i>Central Nervous System</i>
DRM	Doença Residual Mínima
EFS	<i>Event-free Survival</i>
EGIL	<i>European Group of Immunological Characterization of Leukemias</i>
FAB	<i>French-American-British</i>
GBTLI	Grupo Brasileiro de Tratamento das Leucemias na Infância
HCPA	Hospital de Clínicas de Porto Alegre
HLA	<i>Human leucocyte antigen system</i>
HR	<i>High Risk</i>
IgC	Imunoglobulina Citoplasmática
INCA	Instituto Nacional de Combate ao Câncer
IT	<i>Intrathecal therapy</i>
LCR	Líquido céfalo-raquidiano
LDH	Desidrogenase Láctica
LLA	Leucemia Linfocítica Aguda
LLC	Leucemia Linfocítica Crônica
LMA	Leucemia Mielocítica Aguda
LMC	Leucemia Mielocítica Crônica

LP	<i>Lumbar Puncture</i>
LR	<i>Low Risk</i>
MIC	Morfológica-Imunológica-Citogenética
MLL	<i>Mixed-Lineage-Leukemia</i>
MO	Medula Óssea
OMS	Organização Mundial da Saúde
OR	<i>Odds Ratio</i>
PL	Punção Lombar
PLT	Punção Lombar Traumática
PLnT	Punção Lombar não Traumática
POG	<i>Pediatric Oncology Group</i>
QIT	Quimioterapia intratecal
RGS	Rio Grande do Sul
SEER	<i>Surveillance, Epidemiology and End Results</i>
SLE	Sobrevida Livre de Eventos
SNC	Sistema Nervoso Central
SOP	Serviço de Oncologia Pediátrica
SR	<i>Standard Risk</i>
SUS	Sistema Único de Saúde
TLP	<i>Traumatic Lumbar Puncture</i>
t	translocação
n-TLP	<i>nonTraumatic Lumbar Puncture</i>
UKALL	<i>United Kingdom Medical Research Council Acute Lymphoblastic Leukemia</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Fatores de risco associados a LLA	16
Quadro 2: Sinais e sintomas presentes nas LLA	25

RESUMO

Introdução e Objetivos: O sistema nervoso central (SNC) é o um sítio freqüente de recaída na criança com leucemia linfocítica aguda (LLA). Existe evidência de que a punção lombar traumática (PLT) pode representar um risco adicional de recaída no SNC quando ocorre inoculação de blastos no líquido céfalo-raquidiano (LCR). Este estudo tem por objetivo determinar se a ocorrência da PLT ao diagnóstico afeta o prognóstico de pacientes com essa patologia.

Material e Métodos: Setenta e sete pacientes com diagnóstico de LLA, tratados entre 1992 a 2002, foram incluídos na análise. Quimioterapia intratecal (QIT) foi instilada imediatamente após a PL inicial (precoce), ou na segunda PL (tardia), realizada no período de 24 a 48 horas após a realização da PL inicial. Foi feita análise da influência da PLT e do momento (precoce x tardia) de administração da QIT em relação a recaída no SNC.

Resultados: Entre os 19 pacientes que apresentaram PLT ao diagnóstico e receberam QIT tardia, seis tiveram recaída isolada no SNC e dois recaída combinada em SNC e medula óssea (MO). Entre os nove pacientes que tiveram PLT e receberam QIT precoce, somente um apresentou recaída combinada em SNC e MO ($P=0,20$); não houve, portanto, influência estatisticamente significativa da PLT na sobrevida livre de eventos (SLE) (55% para QIT precoce x 49% para QIT tardia) ($P=0,37$). Entretanto, em análise estratificada, de acordo com grupos de risco, observamos que para pacientes de baixo ou médio risco o OR foi de 0,8 quando recebiam QIT tardia ($P=0,99$) e 0,17 quando recebiam QIT precoce ($P=0,47$). Por outro lado, entre pacientes de alto risco o OR para recaída foi de 21,0 para aqueles que recebiam QIT tardia ($P=0,09$) e 1,5 para o grupo que recebia QIT precoce ($P=0,99$).

Conclusão: Os resultados do presente estudo são sugestivos de que a ocorrência da PLT tem uma influência adversa no prognóstico de pacientes com LLA de alto risco de recaída. Como estes resultados são decorrentes de um estudo retrospectivo, recomenda-se que sejam confirmados em estudos prospectivos randomizados.

Palavras chave: leucemia linfocítica aguda, punção lombar, quimioterapia intratecal, criança

SUMMARY

Introduction and Objectives: The Central Nervous System (CNS) is a frequent site of relapse in childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL). Traumatic lumbar puncture (TLP) is thought to increase the risk of relapse in the CNS. This study sought to determine if TLP at the time of diagnosis affected the outcome of patients.

Material and Methods: Seventy-seven newly diagnosed patients treated from 1992 to 2002 were included in the analysis. Intrathecal therapy (IT) was instilled either immediately after the diagnostic LP (early) or at a second LP (delayed) 24 to 48 hours following the diagnostic LP procedure. The authors carried out an analysis of the influence of TLP and the timing (early versus late) of administration of IT therapy on CNS relapse.

Results: Among the 19 patients who had a TLP at diagnosis and received late IT therapy, six had isolated CNS relapse and two had combined CNS and bone marrow (BM) relapse. Among the nine patients who had TLP and received early IT therapy, only one had a combined CNS and BM relapse ($P=0.20$); the influence of TLP was not statistically significant on the event-free survival (EFS) (55% for early IT versus 49% for delayed IT) ($P=0.37$). However, when we carried out a stratified analysis according to risk categories we found that for low and standard risk patients the odds ratio (OR) for relapse was 0.8 for delayed IT therapy ($P=0.99$) and 0.17 for early IT ($P=0.47$). On the other hand, among high risk (HR) patients the OR for relapse was 21.0 for delayed IT therapy ($P=0.09$) and 1.5 for early IT ($P=0.99$).

Conclusion: The occurrence of TLP impacts adversely on prognosis of HR ALL patients. As these results are based in a retrospective study with a low number of patients, the authors recommend future trials using prospective randomized studies to confirm these findings.

Key Words: acute lymphoblastic leukemia, lumbar puncture, intrathecal chemotherapy, children

1 INTRODUÇÃO

1.1 DEFINIÇÕES

As neoplasias hematológicas são distúrbios clonais de células hematológicas, cujas alterações genéticas (mutações) levaram à perda dos mecanismos normais controladores da proliferação (divisão celular) e/ou diferenciação-maturação e/ou da morte celular programada (apoptose) (OLIVEIRA 2002).

Esse vasto grupo de entidades patológicas é subdividido em doenças mielóides e linfóides. As neoplasias mielóides incluem as leucemias mielocíticas agudas (LMA), leucemias mielocíticas crônicas (LMC), as mieloproliferações crônicas (doenças mieloproliferativas) e as síndromes mielodisplásicas (pré-leucemia) (OLIVEIRA 2002); as linfóides abrangem as linfoproliferações agudas, incluindo a leucemia linfocítica aguda (LLA) e as linfoproliferações crônicas, às quais pertencem a leucemia linfocítica crônica (LLC), o mieloma múltiplo e o linfoma de células maduras (OLIVEIRA 2002).

As leucemias agudas são doenças clonais, cujo mecanismo leucêmico leva a um aumento descontrolado na capacidade proliferativa e à perda da capacidade de maturação de células precursoras na medula óssea (MO). São caracterizadas pelo aumento na MO e no sangue periférico de células imaturas anormais, denominadas blastos.

As leucemias podem desenvolver-se em qualquer fase durante os múltiplos estágios da diferenciação linfóide ou mielóide normal e podem invadir o sangue, os linfonodos, o baço, fígado, sistema nervoso central (SNC) e outros órgãos.

1.2 EPIDEMIOLOGIA

A LLA constitui o tipo de câncer mais comum na infância, representando cerca de 25% dos casos diagnosticados em crianças e adolescentes menores de 15 anos de idade. Dados do *Surveillance, Epidemiology and End Results* (SEER) revelam que as leucemias representam 31% de todos os casos de câncer em menores de 15 anos e 25% em menores de 20 anos, e sua ocorrência varia de acordo com a faixa etária, acometendo 17% de crianças menores de um ano de vida, aumentando para 46% aos dois e três anos de idade, só diminuindo para 9% aos 19 anos de idade. São diagnosticados com essa doença, aproximadamente, 2400 crianças e adolescentes abaixo dos 20 anos de idade a cada ano, nos Estados Unidos (NCI), com uma incidência anual de três a quatro casos por 100.000 crianças (MARGOLIN 2002). No Brasil, não existem dados consistentes acerca da incidência das leucemias e demais doenças malignas da infância. Os dados registrados pelo Sistema Único de Saúde (SUS), do Rio Grande do Sul (RGS) (DATASUS), em 2000, apontaram que as neoplasias eram a segunda maior causa de morte entre crianças e adultos, apenas superada por acidentes e/ou causas externas. A Fundação Oncocentro do Estado de São Paulo (FOSP) divulgou a epidemiologia dos cânceres infantis entre 2000 e 2001, sendo que as leucemias agudas foram as mais frequentes, perfazendo 28,5% dos casos. No Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) (CASTRO Jr 2002) foi realizado um levantamento de todas as crianças atendidas no Serviço de Oncologia Pediátrica (SOP), nos últimos 10 anos, e as leucemias tiveram a maior frequência entre todas as neoplasias, perfazendo cerca de 22% dos casos. Há um pico maior de incidência entre crianças com dois e três anos de idade, sendo que sua frequência começa a diminuir à medida que aumenta a idade (NCI; MARGOLIN 2002). A incidência das leucemias é, por razões inexplicadas, substancialmente maior entre crianças brancas do que em negras (LOTTICK 2003). Investigadores do Hospital de *St Jude* (*Memphis*, Estados Unidos) publicaram recentemente (PUI 2003) dados relacionando

variabilidade de sobrevida por raça e etnia em crianças com LLA. Esses estudos demonstram que crianças negras com LLA tratadas na era moderna evoluíram pior do que crianças brancas, quando diagnosticadas entre um e nove anos de idade. Outros autores (MARGOLIN 2002; PUI 2003) referem que a sobrevida é equivalente tanto entre brancos como entre negros.

A incidência das LLAs é maior entre meninos do que entre meninas, sendo que esta diferença acentua-se com a puberdade. As causas deste diferencial não são plenamente conhecidas (MARGOLIN 2004). Uma das hipóteses seria a influência de fatores hormonais sobre o processo leucêmico (MARGOLIN 2004), e as diferenças geográficas também são citadas por alguns autores como possíveis explicações para a maior predominância no sexo masculino (MARGOLIN 2004; REGO 2003).

Embora avanços na biologia molecular e imunologia tenham contribuído para o aumento do entendimento da transformação maligna das células hematopoiéticas, pouco se sabe ainda sobre as causas da leucemia. Existe um grande número de anormalidades cromossômicas associadas com as leucemias na infância. Pacientes com doenças genéticas associadas com instabilidade cromossômica, incluindo *Bloom's Syndrome* e Anemia de Fanconi e Ataxia-Teleangectasia apresentam maior risco de desenvolver LLA (COLBY-GRAHAM 2003). Crianças com imunodeficiências, como a síndrome de *Wiskott-Aldrich*, também têm maior predisposição para o desenvolvimento de LLA (ISAACS 2003), e crianças com Síndrome de *Down* têm 15 vezes mais chances de desenvolver leucemia, se comparadas com crianças que não têm a trissomia do cromossomo 21 (COLBY-GRAHAM 2003).

Exposição a agentes ionizantes radioativos, bem como a agentes químicos tóxicos e ao uso de drogas antineoplásicas específicas são associadas com alto risco do desenvolvimento de LLA (Quadro 1). Outras causas ambientais têm sido investigadas,

incluindo exposição à radiação eletromagnética e a agentes infecciosos (COLBY-GRAHAM 2003).

Infecções virais também estão relacionadas com a patogênese da LLA. Embora alguns relatos sugiram aumento do risco em crianças nascidas de mães recentemente infectadas com vírus da influenza, varicela ou outros, ainda não há dados definitivos acerca da relação entre exposição viral pré-natal e risco leucêmico. O *Epstein-Barr* vírus é relacionado com algumas neoplasias, como *Linfoma Burkitt* e LLA do subtipo L3 (MARGOLIN 2002).

Existem evidências recentes sobre a origem pré-natal das leucemias. Este achado sugere que clones pré-leucêmicos gerados em alta frequência intra-útero e a exposição a certos eventos ambientais poderiam desencadear alterações genéticas espontâneas levando ao fenótipo leucêmico (ISAACS 2003). As evidências mais fortes que relacionam a origem da leucemia intra-útero derivam de estudos em gêmeos. Esses eventos leucêmicos intra-útero levam a metástases intraplacentárias entre gêmeos concordantes (ISAACS 2003). Estudos em sangue de fetos demonstraram que podem existir longos períodos de até 15 anos antes da manifestação clínica da leucemia (RAVINDRANATH 2003).

Muitos fatores referem a sua relação com a patologia da leucemia, entre outros, podem-se citar: (a) exposição materna a certas drogas ou químicos tem sido incriminada às alterações genéticas leucêmicas; (b) consumo materno de álcool durante a gravidez tem sido associado ao aumento do risco da leucemia na infância, particularmente a LMA; (c) o etanol induz enzimas microsossomais que ativam fatores pré-carcinogênicos; (d) aumento da incidência do alto peso ao nascimento está associado ao aumento dos casos de LLA e LMA na infância (ISAACS 2003).

Além desses fatores estudados para uma possível associação com as leucemias, incluem-se também a exposição a herbicidas e pesticidas, contraceptivos, exposição a agentes químicos e solventes (MARGOLIN 2002).

Quadro 1: Fatores de risco associados a LLA

LLA
Sexo masculino
Idade (2-5 anos)
Raça (caucasianos > negros americanos)
Exposição intraútero ao Rx
Agentes ionizantes radioativos
Síndrome de <i>Down</i>
Ataxia Teleangectasia
Bloom's Syndrome
Anemia de Fanconi
Wiskott-Aldrich
Agentes químicos tóxicos
Drogas antineoplásicas
Radiação eletromagnética
Agentes infecciosos
Exposição materna ao Rx; drogas, agentes químicos e álcool

1.3 CLASSIFICAÇÃO DAS LEUCEMIAS

1.3.1 Classificação morfológica

A partir da necessidade de definir uma conduta terapêutica mais específica e de estimar o prognóstico do paciente, as leucemias, ao longo dos anos, foram agrupadas e subagrupadas. Assim surgiram cronologicamente várias classificações (OLIVEIRA 2002).

A primeira classificação das leucemias, e que se tornou universalmente aceita entre os profissionais da onco-hematologia, foi proposta em 1976, por um grupo de sete hematologistas franceses, americanos e britânicos e foi chamada de classificação *French-American-British* (FAB) (BENNET 1976). A classificação FAB define três categorias de linfoblastos: (a) linfoblastos L1, que são usualmente pequenos, com citoplasma escasso e nucléolo modesto; (b) linfoblastos L2, que são maiores, demonstrando irregularidade quanto

ao tamanho, nucléolo proeminente e abundante citoplasma; e (c) o tipo L3 diferenciado pela profundidade e presença de vacúolos no citoplasma e morfologia semelhante às células do *linfoma de Burkitt*.

Na tentativa de suprir algumas deficiências da classificação FAB e de trazer maiores informações preditivas para o prognóstico e conduta terapêutica, foi proposta, em 1986, a classificação baseada em critérios morfológicos e imunológicos associada a dados citogenéticos (FIRST 1986) para as LLAs e, em 1988, para as LMAs.

Em 1995, o Grupo Europeu de Estudos (EGIL – *European Group of Immunological Characterization of Leukaemias*) – propôs a classificação imunológica para leucemias agudas (BENE 1995). Essa classificação toma por base apenas critérios imunológicos (expressão de antígenos na superfície celular) a partir de sofisticados painéis de anticorpos monoclonais. Tal classificação, além de subdividir as LLA em célula B e T, em seus vários estágios de diferenciação (BI, BII, BIII e BIV e TI, TII, TIII e TIV), também delimita critérios e sistema de score, definindo as leucemias bifenotípicas agudas.

Em 1997, foi proposta por patologistas, oncologistas e hematologistas a classificação da Organização Mundial da Saúde (OMS) para as doenças neoplásicas do sistema hematopoiético e linfóide e publicada, então, em 1999, a classificação WHO (*World Health Organization*) (HARRIS 1999). Esta classificação separa e define os subtipos de leucemias agudas de acordo com a linhagem mielóide (incluindo as bifenotípicas) ou linfóide.

1.3.2 Classificação imunofenotípica

O exame morfológico e a coloração citoquímica das células blastos geralmente são suficientes para distinguir a LLA da LMA. Esses métodos, porém, não estabelecem o subtipo imunológico da célula, uma condição necessária ao diagnóstico abrangente.

A maioria das células leucêmicas compartilha das características das células precursoras normais. Reconhecendo-se os padrões de expressão genética relevantes para o desenvolvimento celular, podem-se classificar as células leucêmicas de acordo com suas seqüências de maturação normais. Já que os antígenos de diferenciação celular, com poucas exceções, não possuem uma especificidade absoluta de linhagem, a classificação imunológica geralmente se baseia na expressão de reatividade de um painel de anticorpos monoclonais associados. Através dessa abordagem, a LLA é considerada como portadora de duas linhagens: de células T e de células B.

Os precursores de célula B são definidos pela positividade aos antígenos CD19 (*cluster determination*), HLA (*Human leucocyte antigen system*), CD10 e outros (MARGOLIN 2002). Aproximadamente, 85% das LLAs expressam o antígeno CD10, sendo que sua presença está associada a melhor prognóstico. A presença da imunoglobulina citoplasmática (IgC) tem sido um marcador útil para determinar o nível de diferenciação das células leucêmicas de linhagem B. Usando um painel de anticorpos monoclonais associados a vários estágios de diferenciação das células B com a informação da presença ou ausência da imunoglobulina de superfície ou citoplasmática, é possível classificar as leucemias de células B em diferentes estágios, de acordo com o grau de diferenciação ou maturação do clone que originou o caso. Os casos podem ser classificados em três subtipos: (a) células pré-pré-B iniciais (sem IgC ou imunoglobulina de superfície); (b) pré-B (presença de IgC); e (c) células-B maduras (presença da IgC). Aproximadamente, três quartos dos pacientes com precursores de células B são do subtipo pré-pré-B e apresentam prognóstico mais favorável. As células leucêmicas de pacientes com LLA pré-B contêm IgC, estágios intermediários de diferenciação, e 25% dos pacientes apresentam a translocação (t) t(1;19).

Da mesma forma, a LLA de linhagem T pode ser subclassificada de acordo com o estágio de diferenciação do timócito, ou o estágio de expressão da proteína receptora da

célula-T. A expressão da LLA-T é associada aos antígenos CD2, CD7, CD5 ou CD3 e são freqüentemente associadas com o sexo masculino, idade acima dos 10 anos, leucocitose (leucócitos acima de $100.000/\text{mm}^3$) e presença de massa mediastinal. Esses pacientes apresentam ainda alta freqüência de leucemia no SNC. O prognóstico para crianças com LLA-T com tratamento convencional é reservado. Entretanto, com terapias mais intensas, é possível obter resultados similares aos de crianças com LLA-B. Anormalidades citogenéticas comuns nas LLA-B (ex.: hiperdiploidia) são incomuns nas leucemias T (MARGOLIN 2002).

1.3.3 Classificação citogenética

Com o advento de técnicas de bandagem de cromossomos e avanços na metodologia de culturas de células, a análise citogenética tem contribuído para o entendimento da biologia da LLA. As anormalidades citogenéticas podem estar relacionadas ao número de cromossomos ou à sua estrutura. Pode haver ganhos ou perdas cromossômicas, resultando em hiperdiploidia ou hipodiploidia. A ploidia pode ser avaliada através da medida do conteúdo do DNA (*DNA index*) ou através da análise do cariótipo.

Anormalidades estruturais cromossômicas também ocorrem nos pacientes com LLA. As translocações cromossômicas são encontradas em quase 40% dos casos. As mais freqüentes são: t(9;22)(q34;q11); t(1;19)(q23;p13), t(4;11)(q21;q23) e t(11;14)(p13;q11). As translocações t(8;14), t(9;22), t(4;11) e t(1;19) são associadas com altas taxas de falência do tratamento.

1.4 FATORES PROGNÓSTICOS

Com tratamento moderno, mais de 70% das crianças com LLA sobrevivem livres de doença por, pelo menos, cinco anos a partir do diagnóstico, e a grande maioria delas são

completamente curadas da doença (NCI). O prognóstico de uma criança com LLA é influenciado por inúmeras características clínicas e por parâmetros biológicos da célula maligna. Abaixo, citam-se alguns fatores de risco associados com o prognóstico da doença.

1.4.1 Idade

A idade ao diagnóstico é um fator prognóstico extremamente importante. Lactentes com LLA têm um alto risco de falha do tratamento, especialmente aqueles menores de três meses de idade (MARGOLIN 2002). A presença de rearranjos do gene MLL (*mixed-lineage-leukemia*), na banda do cromossomo 11q23, pode ser detectada na grande maioria das células de lactentes com LLA, associando-se com pior prognóstico (HAMMOND 1986). Lactentes e crianças com mais de dez anos tem pior prognóstico. A faixa etária entre um e dez anos é a que apresenta resultado de sobrevida mais favorável na maioria dos estudos (NCI; MARGOLIN 2002).

1.4.2 Sexo

O prognóstico para meninas com LLA é significativamente melhor do que para meninos (NCI). Por essa razão a maioria dos protocolos recomendam tratamentos mais prolongados para meninos.

1.4.3 Raça

A sobrevida para crianças negras tem sido descrita como inferior quando comparada com crianças brancas (NCI; LOTTICK 2003). As razões para essas diferenças ainda não foram totalmente entendidas e talvez possam estar relacionadas a fatores sociais como a própria aderência a todas as etapas dos protocolos de tratamento.

1.4.4 Contagem de leucócitos

Contagens altas de leucócitos ao diagnóstico representam aumento de risco para recidiva da doença. Valores acima de $50.000/\text{mm}^3$ e, especialmente, aqueles com contagens acima de $100.000/\text{mm}^3$ são associadas com prognóstico desfavorável (NCI).

1.4.5 Status do SNC

Todos os pacientes devem ser submetidos à punção lombar (PL) ao diagnóstico para excluir o envolvimento do SNC por células leucêmicas. Os pacientes são classificados como:

- (a) SNC 1: < 5 leucócitos/ μL de líquido céfalo-raquidiano (LCR) e blastos negativos após centrifugação;
- (b) SNC 2: < 5 leucócitos/ μL de LCR e blastos positivos após centrifugação;
- (c) SNC 3: ≥ 5 leucócitos/ μL de LCR e blastos positivos após centrifugação (GAJJAR 2000).

Investigadores do *Pediatric Oncology Group* (POG) e do *St Judes* demonstraram que a presença de blastos no LCR, mesmo em pacientes assintomáticos, resultou em aumento da taxa de recaída e, portanto, esses pacientes necessitam de QIT mais prolongada (MAHMOUD 1993; LAUER 1994; GAJJAR 2000). Estudos de Pui e cols. mostraram (PUI 1998) que a intensificação de QIT para pacientes SNC 2 reduziu a incidência cumulativa de recaída em SNC para menos de 5%. O CCG (NACHMAN 2002), em estudos recentes de pacientes com LLA de todos os grupos de risco, demonstrou que pacientes SNC 2, que apresentaram contagem de leucócitos acima de $50.000/\text{mm}^3$, ou idade acima de dez anos tiveram aumento de risco para recaída, tanto hematológica quanto em SNC, quando comparado com pacientes SNC 1 (NACHMAN 2002), requerendo, portanto, mais doses de QIT. Crianças com classificação SNC 3 apresentaram alta percentagem de falência do tratamento, quando comparadas com crianças sem doença no SNC (NCI).

1.4.6 Anormalidades Cromossômicas

A associação entre o número de cromossomos e o prognóstico já está bem definida. Crianças com hiperdiploidia (especialmente nos casos com mais de 50 cromossomos) têm prognóstico melhor e, normalmente, apresentam um conjunto de outras características favoráveis, tais como idade entre dois e nove anos, baixa contagem de leucócitos e marcadores positivos para precursores de células-B (CD10 positivos). A hipodiploidia (menos de 46 cromossomos) está associada com pior sobrevida. As crianças que apresentam 24 a 28 cromossomos são as que apresentam pior prognóstico (RAIMONDI 1993).

Embora o valor preditivo das anormalidades genéticas seja superior aos aspectos clínicos, o impacto prognóstico dessas anormalidades é dependente da eficácia do tratamento administrado, ou seja o uso de programas terapêuticos mais intensivos tende a compensar, pelo menos parcialmente, a influência negativa de fatores biológicos desfavoráveis (RUBNITZ 2003). Similarmente a t (4;11) confere pobre prognóstico global, apesar da inexistência de alterações genéticas que diferem desse subgrupo. Aproximadamente, 50% dos pacientes com t (4;11) positiva e com mais de um ano de idade ao diagnóstico são curados com modernas terapêuticas, contrastando com o resultado de infantes menores de um ano de idade com translocação idêntica, que são curados em somente 20% dos casos (BORKHARDT 1999).

1.4.7 Presença de Doença Residual Mínima

A presença de doença residual mínima (DRM) pode ser considerado como indicador de resposta terapêutica (NCI).

A quantificação de DRM é um teste que pode ser útil na definição terapêutica. Pacientes com DRM negativa (definida como menos de uma célula leucêmica entre 10.000

células mononucleares da MO) têm menor chance de recaída do que pacientes que não atingiram esse *status*. Monitorização seqüencial de DRM agrega aumento do valor preditivo, ou seja, persistência de DRM, na semana 14 da terapia continuada, foi associada com um risco cumulativo de 70% de recaída (BORKHARDT 1999).

1.5 DEFINIÇÃO DE GRUPOS PROGNÓSTICOS

A definição de grupo de risco de recaída permite estratificar o tratamento. Dessa forma, pacientes com risco favorável podem se beneficiar de redução de intensidade de droga e assim diminuir o risco de complicações associadas ao tratamento. Por outro lado, pacientes de alto risco de recidiva podem ter resultados mais favoráveis se submetidos a tratamentos mais agressivos. É considerado como “grupo de baixo risco” crianças com idade entre um e nove anos, contagem de leucócitos abaixo de $50.000/\text{mm}^3$, ausência de doença em SNC e/ou testículo e adicionalmente também ausência de anormalidades cromossômicas desfavoráveis (SMITH 1996). O “grupo de alto risco” inclui pacientes com ausência de translocações favoráveis, presença de anormalidades cromossômicas desfavoráveis, presença de leucemia em SNC e testículos, idade acima de nove anos e leucócitos acima de $50.000/\text{mm}^3$ (PUI 2004).

1.6 APRESENTAÇÃO CLÍNICA

A LLA pode excepcionalmente apresentar-se como um achado ocasional em um hemograma de rotina numa criança assintomática. A grande maioria dos pacientes, entretanto, apresentam sintomatologia associada à falência da função medular. Os sinais e sintomas da criança com leucemia refletem a extensão de infiltração leucêmica na MO e em sítios extramedulares (BERG 2000).

A anemia está presente em aproximadamente 80% dos casos e manifesta-se por palidez, prostração e fadiga. Sinais e sintomas de anemia incluem: palidez de pele, mucosa oral e leito ungueal (BERG 2000).

A neutropenia, freqüentemente encontrada ao diagnóstico, é resultado da redução de neutrófilos circulantes. O risco de infecção bacteriana aumenta quando a contagem absoluta de neutrófilos está abaixo de $500/\text{mm}^3$ (MARGOLIN 2000).

A trombocitopenia (plaquetas $< 100.000/\text{mm}^3$) ocorre em 75% das leucemias, e os sintomas incluem: petéquias, púrpura, sangramento gengival ou nasal (BERG 2000).

Outras queixas freqüentes incluem: dor óssea decorrente da infiltração óssea por células leucêmicas; dor articular migratória acompanhada de edema que pode ser confundida com artrite reumatóide juvenil ou com febre reumática (COLBY-GRAHAM 2003) (Quadro 2), linfadenopatia, usualmente dolorosa, que pode ser localizada ou generalizada. Os sinais e sintomas relacionados ao envolvimento do SNC raramente são observados no momento do diagnóstico, porém ainda permanece como o local mais comum de LLA extramedular sintomática. Cerca de 90% das crianças sintomáticas com envolvimento do SNC apresentam sinais de hipertensão intracraniana, incluindo vômitos, cefaléia e papiledema, paralisias de nervos cranianos são raras, sendo o nervo facial o mais freqüentemente envolvido (INGRAM 1991). O envolvimento testicular clinicamente evidente também é um achado incomum no momento do diagnóstico e, quando presente, manifesta-se por aumento doloroso do órgão, geralmente unilateral (NIEMEYER 1998).

Quadro 2: Sinais e sintomas presentes nas LLA

Anemia
Trombocitopenia
Sangramento
Neutropenia/ febre
Hepatoesplenomegalia
Linfadenopatia
Dor óssea
Doença em SNC (< 10% dos casos)
Aumento da pressão intracraniana
Cefaléia, vômitos e distúrbios visuais

Adaptado de Colby et al. (COLBY-GRAHAM 2003).

Outros locais menos comuns de infiltração extramedular por linfoblastos são rins, trato gastrointestinal, olhos, coração, pulmões e pele (NIEMEYER 1998).

1.7 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Exames laboratoriais e evolução clínica são usados para diferenciar leucemias de outras condições infecciosas e /ou outros processos malignos. O diagnóstico diferencial com outras neoplasias que invadem a MO podem causar sinais e sintomas de falência medular, como neuroblastoma, rabdomiossarcoma e linfoma não-*Hodgkin*. (COLBY-GRAHAM 2003).

Infecções que podem mimetizar leucemias incluem: mononucleose, linfocitose infecciosa aguda e certas doenças virais como citomegalovírus e *Epstein Barr* vírus (MARGOLIN 2000).

A avaliação diagnóstica de crianças com suspeita de LLA deve incluir anamnese e exame físico completos, hemograma com contagem de plaquetas, exames de coagulação e bioquímica sanguíneas, análise morfológica, citoquímica, imunofenotípica e citogenética ou molecular dos blastos do sangue periférico e/ou MO. Também é importante, por ocasião do diagnóstico, a avaliação do SNC e do mediastino, através do LCR e radiografia torácica respectivamente (BERG 2000).

O aspirado da MO é essencial para confirmar o diagnóstico da LLA. Tecnicamente, a presença de 5% ou mais de blastos leucêmicos na MO confirmam o diagnóstico de LLA. Entretanto, a maioria das instituições exige mais de 25% de blastos para se ter o diagnóstico definitivo .

1.8 TRATAMENTO

O tratamento de pacientes com LLA deve ser definido de acordo com o risco de recaída, com escalonamento na intensidade da terapia para pacientes de alto risco. Inicialmente, a LLA era tratada com apenas uma única droga. Na década de sessenta, começou a ser utilizada a quimioterapia combinada, o que permitiu um importante avanço em termos de sobrevida. Com a introdução da profilaxia do SNC na década de setenta, houve uma importante redução nas recidivas. Finalmente, na década de oitenta, com a utilização de quimioterapia intensiva e incrementos na terapia de suporte, atingiram os níveis mais altos de sobrevida livre de doença para a maioria das crianças com LLA (SILVERMAN 2000).

O tratamento para crianças com LLA é dividido em fases: (a) indução da remissão, (b) consolidação ou intensificação; e (c) manutenção ou continuação da terapêutica . Um componente importante do tratamento é o que convencionalmente se define como profilaxia do SNC, que consiste no uso de terapia preventiva no SNC através do uso isolado de QIT ou combinado com metotrexate em altas doses (COLBY-GRAHAM 2003).

1.8.1 Indução da remissão

O objetivo dessa fase do tratamento é induzir rapidamente uma remissão completa e restaurar a hematopoiese normal. O que se quer é promover uma rápida destruição das células leucêmicas, objetivando a remissão completa (COLBY-GRAHAM 2003). O tratamento da indução dura de três a quatro semanas e consiste de doses orais de glicocorticóides, L-asparaginase intramuscular, daunorrubicina e vincristina endovenosa. Cerca de 97 a 99% das crianças atingem remissão nessa fase do tratamento (PUI 1998).

1.8.2 Terapêutica de consolidação

Também chamada de intensificação, é designada para consolidar a remissão atingida na fase de indução. Sem tratamento adicional, a maioria das crianças recaem entre um a dois meses.

Uma ampla variedade de drogas tem sido usada durante essa fase, incluindo altas doses de metotrexate ($5.000\text{mg}/\text{m}^2$) e de L-asparaginase, 6-mercaptopurina, citosina-arabinosídeo (citarabina), etoposide e antracíclico. Outros agentes quimioterápicos usados nessa fase incluem: ciclofosfamida, citarabina, metotrexate oral, asparaginase, mercaptopurina, tioguanina e epidofilotoxinas. A QIT profilática também é administrada durante esta fase da terapia (COLBY-GRAHAM 2003).

1.8.3 Terapêutica de re-indução

Recentemente alguns protocolos têm utilizado a chamada terapia de re-indução durante a fase de intensificação. Ela consiste das mesmas drogas administradas durante a fase de indução (COLBY-GRAHAM 2003).

1.8.4 Terapêutica de Manutenção

A terapia de manutenção é designada para promover um período prolongado de terapêutica continuada a fim de eliminar todas as células residuais da leucemia. A terapêutica de manutenção prevê um longo período de baixa dose de quimioterapia que consiste de: 6-mercaptopurina oral, metotrexate semanal oral e pulsos intermitentes de vincristina e corticóides. Esta fase dura um ano e meio para meninas e dois anos e meio para meninos (COLBY-GRAHAM 2003).

1.8.5 Profilaxia SNC

A profilaxia do SNC é iniciada ao diagnóstico e é usada para reduzir o risco de leucemia nesse sítio, considerando-se que se trata de um santuário onde as células leucêmicas podem permanecer protegidas do tratamento sistêmico (SILVERMAN 2000).

A terapêutica consiste na administração de drogas via intratecal e via sistêmica. As drogas utilizadas via intratecal são citarabina, metotrexate e um glicocorticóide. As drogas via sistêmica que melhor atingem as células do SNC são a glicocorticóides, L-asparaginase e o metotrexate em altas doses (SILVERMAN 2000).

Embora a leucemia do SNC seja encontrada em menos de 5% dos casos de pacientes com LLA, acima de 50% das crianças vão desenvolver a doença no SNC, caso a terapêutica não for oferecida. A QIT tem substituído a radioterapia intracraniana na maioria dos casos (COLBY-GRAHAM 2003).

2 EXPERIÊNCIA DO SERVIÇO DE ONCOLOGIA PEDIÁTRICA DO HCPA NO TRATAMENTO DA LLA

Dados estimados pelo Instituto Nacional de Combate ao Câncer (INCA) indicam que no Brasil apenas 4600 dos 7500 casos novos anuais de câncer infanto-juvenil são registrados e tratados (INCA). É provável que uma parte dos pacientes não registrados esteja sendo tratada inadequadamente. Como as leucemias representam o tipo de câncer mais freqüente nessa faixa etária e se considerarmos que esses dados estão corretos, podemos concluir que uma parcela significativa de crianças com leucemia não tem acesso à assistência médica.

Vários estudos com origem em países desenvolvidos (DURRANT 1993) têm demonstrado que as chances de cura de uma criança com câncer aumenta significativamente quando o tratamento é realizado em centros especializados. Por isso, os programas de assistência a crianças e adolescentes com câncer no Brasil devem ser desenvolvidos priorizando um encaminhamento a centros estaduais de excelência.

O HCPA é reconhecido nacionalmente como um dos principais centros de referência no tratamento do câncer infanto-juvenil. Até o ano de 1996, os pacientes eram atendidos em enfermaria de pediatria geral, quando foi inaugurada uma Unidade especializada, permitindo que os pacientes fossem tratados por equipe multidisciplinar, seguindo protocolos terapêuticos. O SOP do HCPA conta atualmente com 23 leitos para internações pelo SUS, recebendo crianças encaminhadas tanto da capital quanto de todo o interior do Estado do Rio Grande do Sul.

Os pacientes, além de receberem tratamento médico especializado, também contam com uma estrutura que inclui terapeutas recreacionais, psicólogos, nutricionistas, dentista, além de profissionais de apoio pedagógico e serviço social. Os pacientes e suas famílias recebem acompanhamento e suporte do Instituto do Câncer Infantil do RGS, que é uma fundação que avalia e viabiliza recursos financeiros quando necessários.

Foram diagnosticados 92 casos de LLA entre janeiro de 1992 a dezembro de 2002 (RECH 2003). A idade média dos pacientes foi de 5,9 anos (mediana de 0,5 a 18,25 anos), sendo que 50% dos pacientes eram do sexo feminino e 94%, de cor branca. O tipo morfológico mais freqüente foi L1, em 54% dos casos; seguido por L2, em 29% dos casos; L3, em 4%; e em 13% dos pacientes não foi realizado o exame morfológico. Em relação à classificação imunológica, observou-se 73% de LLA pré-B; 3% do tipo B; 3% do tipo pró-B; 7% do tipo pré-T e 14% do tipo T.

Quanto à categoria de risco, 22% eram de baixo risco, 58% de risco médio e 20% de alto risco. A SG observada, de acordo com a categoria de risco, foi de 84% para os pacientes de baixo risco; 79% para a categoria *standard* e zero para os de alto risco (P= 0,0004).

Com um período médio de *follow-up* de 60 meses, a sobrevida livre de eventos (SLE) foi de 51%, e a SG, de 69%. Dados nacionais indicam SG de 35% (INCA), podendo-se concluir que a SG, em cinco anos, de 69% observada no SOP do HCPA pode ser considerada bastante promissora e muito próxima dos índices de sobrevida publicados recentemente em centros especializados internacionais (DURRANT 1993; PINKEL 1994).

É importante, entretanto, identificar fatores que possam influenciar na sobrevida dos pacientes e, dessa forma, melhorar os índices de cura. A identificação de fatores prognósticos e o conhecimento do perfil dos pacientes com LLA tratados no Brasil permitirão que grupos cooperativos possam desenhar protocolos de tratamento melhor adaptados à realidade local.

3 CONTAMINAÇÃO DO SNC COM CÉLULAS LEUCÊMICAS DURANTE O PROCEDIMENTO DE PL – JUSTIFICATIVA DO ESTUDO

A presença de blastos no LCR, em pacientes com LLA, está associada ao aumento nas taxas de recaída no SNC. Esses pacientes necessitam intensificação da QIT (GAJJAR 2000).

O mecanismo pelo qual as células invadem o SNC ainda não é completamente entendido. Muitos estudos demonstraram que as células leucêmicas primeiramente invadem a superfície da aracnóide (PUI 2001; AZZARELLI 1984), disso decorrendo dois tipos de eventos: (a) migração de células circulantes através do endotélio venoso; e (b) ou a transformação maligna na parede venosa a partir de elementos germinativos indiferenciados pré-existentes e com potencial hematopoiético.

Considerando que a identificação de blastos no LCR é fundamental para a definição terapêutica, todos os pacientes com LLA devem ser submetidos a uma PL ao diagnóstico. Esse procedimento pode estar associado a trauma, e, como muitos pacientes têm blastos na circulação sanguínea, pode ocorrer uma contaminação iatrogênica de células leucêmicas para dentro do LCR. Pode ocorrer também a contaminação do SNC quando a agulha utilizada para PL é inadvertidamente dirigida para dentro do corpo vertebral medular, ocorrendo penetração de células da MO para dentro da agulha. Após a agulha ser retirada e novamente reposicionada no espaço subaracnóideo, células da MO aderentes poderão migrar para dentro do LCR (KRUSKALL 1983), causando, dessa forma, a contaminação do SNC por células leucêmicas.

A PLT é comum em pacientes pediátricos, tendo sido descrito um risco de 20% dessa complicação no momento da PL por Bonadio et al (BONATIO 1990); define-se como a presença de mais de dez células vermelhas por microlitro de LCR.

A contagem de plaquetas é um fator preditivo de trauma no momento da PL. Considera-se que pacientes com contagens plaquetárias abaixo de $100 \times 10^3/L$ têm risco aumentado de sangramento no momento da PL (HOWARD 2002). Outro fator de risco descrito na literatura é a alta contagem de leucócitos na circulação no momento do diagnóstico, pois as chances de migração das células leucêmicas seria maior no momento do trauma, justamente por estarem em maior quantidade na circulação (RUBNITZ 2003).

Mais recentemente, foram publicadas algumas evidências de que a presença da PLT influencia negativamente no prognóstico, pois está associada a um maior risco de recidiva da doença no SNC. Em função disso, alguns investigadores preconizam que concomitantemente com a PL diagnóstica seja administrada QIT, com a finalidade de impedir a proliferação de células leucêmicas para dentro do espaço subaracnóideo (GAJJAR 2000), especialmente se ocorrer o trauma.

Considerando-se que a PLT pode comprometer o prognóstico de pacientes com LLA, é importante estabelecer rotinas que diminuam o risco de ocorrência dessa complicação e, assim, diminuir a incidência de recidiva no SNC.

4 OBJETIVOS

1. Avaliar a incidência de PLT em pacientes com LLA tratados no SOP do HCPA, no período de janeiro de 1992 a julho de 2002.
2. Avaliar a influência da PLT no índice de recidiva da doença e óbito dos pacientes pediátricos com diagnóstico de LLA.
3. Avaliar se a administração precoce ou tardia da QIT influencia a ocorrência de recaída ou óbito em pacientes com PLT.

5 MÉTODOS

Realizou-se um estudo retrospectivo, a partir da revisão dos prontuários dos pacientes com diagnóstico de LLA, tratados no SOP do HCPA, no período de 1992 a 2002. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA.

5.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Consideraram-se critérios de inclusão os seguintes itens:

- diagnóstico de LLA entre janeiro de 1992 a dezembro de 2002;
- realização da primeira PL no SOP do HCPA;
- idade inferior a 18 anos.

5.2 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

A ausência de informações e/ou dados insuficientes no prontuário dos pacientes não preencheram as exigências da pesquisa e, por isso, foram excluídos do estudo.

5.3 METODOLOGIA DO ESTUDO

Todos os pacientes eram submetidos a uma primeira PL no momento da chegada ao SOP do HCPA, a fim de se diagnosticar presença de leucemia no SNC. Além da PL, os pacientes também eram submetidos ao aspirado da MO (medulograma) para confirmação do diagnóstico de LLA. A QIT era instilada também imediatamente após a primeira PL (precoce) ou somente 24 a 48 horas após o procedimento de PL diagnóstica (tardia). A decisão de quando instilar a QIT (precoce ou tardia) cabia ao médico assistente responsável pelo

procedimento. A maioria dos procedimentos foram realizados sob analgesia intravenosa pelo médico residente do SOP do HCPA, sob supervisão do médico assistente.

Os pacientes eram classificados, quanto ao SNC, dentro dos seguintes grupos (GAJJAR 2000):

- (a) SNC 1: < 5 leucócitos/ μL de LCR e blastos negativos após centrifugação;
- (b) SNC 2: < 5 leucócitos/ μL de LCR e blastos positivos após centrifugação;
- (c) SNC 3: \geq 5 leucócitos/ μL de LCR e blastos positivos após centrifugação.

A PLT era definida pela presença de mais de dez células vermelhas por microlitro de LCR.

Quanto à categoria de risco de recaída, os pacientes eram classificados como baixo risco quando apresentavam idade entre 1-9 anos e contagem de leucócitos inferior a $50.000/\text{mm}^3$; alto risco de recidiva com idade acima de dez anos ou inferior a 12 meses, contagem de leucócitos acima de $50.000/\text{mm}^3$, ausência de translocações favoráveis, presença de doença no SNC e/ou testículos, presença do gene de linhagem mista (*MML*), e, como risco intermediário, todos os pacientes que não tivessem critérios para as categorias de baixo ou de alto risco, seguindo as recomendações estabelecidas pelo protocolo terapêutico para pacientes de risco intermediário.

Durante o período do estudo foram utilizados diversos protocolos de tratamento quimioterápico. De 1992 a 1998 seguiram-se os protocolos UKALL IX (*United Kingdom Medical Research Council Acute Lymphoblastic Leukemia*) (SILVERMAN 2000), UKALL X (CHESSELLS 2002) e XI (DURRANT 1993) que consistiam basicamente de uma fase de indução com vincristina, L-asparaginase, prednisona e daunorrubicina (no UKALL XI a daunorrubicina foi omitida devido ao potencial efeito cardiotoxico) seguida de uma fase de intensificação com citarabina, ciclofosfamida, etoposide, tioguanina, prednisona, daunorrubicina, vincristina e metotrexate intratecal; a fase de manutenção se estendia até

completar dois anos de tratamento (WHEELER 2000) e consistia de mercaptopurina diariamente, metotrexate semanal, uma dose de vincristina mensal associada a prednisona por cinco dias. A profilaxia do SNC era feita com metotrexate intratecal associado a altas doses de metotrexate por via intravenosa ou radioterapia craniana. No período de 1999 a 2000 foi utilizado o protocolo BFM 95 (*Berlin-Frankfurt-Munich trial 95*) (LAKS 2003) que consistia nas mesmas drogas. De 2001 a 2002 foram utilizados os protocolos brasileiros GTBLI 93 e 99 (Grupo Brasileiro de Tratamento das Leucemias da Infância) (BRANDALISE 1993), que consiste basicamente das mesmas drogas, porém os pacientes de alto risco recebem quatro blocos de tratamento mais intenso no lugar das fases de consolidação e reindução.

5.4 TRATAMENTO ESTATÍSTICO

Todos os pacientes analisados foram submetidos a um tratamento estatístico. Foi definido como SLE o primeiro dia a partir do diagnóstico até a data do primeiro evento adverso (recaída, morte ou o desenvolvimento de uma segunda neoplasia). A curva de *Kaplan-Meier* foi utilizada para analisar a SLE. O teste de *Log-rank* foi utilizado para comparar os diferentes grupos. Foi conduzida uma análise estratificada para avaliar o efeito de diferentes fatores de risco na recaída ou óbito, calculando OR e seus respectivos intervalos de confiança de 95%.

Todos os dados foram analisados através do programa estatístico SPSS versão 11.5.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Azzarelli B, Mirkin LD, Goheen M, Muller J, Crockett C. The leptomeningeal vein. A site of re-entry of leukemic cells into the systemic circulation. *Cancer* 1984; 54: 1333-43.

Bene MC, Castoldi G, Knapp W, et al. Proposal for the immunological classification of acute leukemias: European Group for the Immunological Characterization of Leukemia (EGIL). *Leukemia* 1995; 9: 1783-86.

Bennet JM, Catovsky D, et al. Proposal for the classification of the acute leukemia. French-American-British (FAB) cooperative group. *Br J Haematol* 1976; 33: 451-58.

Berg SL, Steuber CP, Poplack DG. Clinical manifestations of acute lymphoblastic leukemia. In: Hoffman R, Benz Jr EJ, Shattil SJ, et al. eds. *Hematology: Basic Principles and Practice*. 3rd ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2000. p. 1070-8.

Bonatio WA, Smith DS, Goddard S, et al. Distinguishing cerebrospinal fluid abnormalities in children with bacterial meningitis and traumatic lumbar puncture. *J Infect Dis* 1990; 162: 251-54.

Borkhardt A, Harbott J, Lampert F. Biology and clinical significance of the TEL/AML1 rearrangement. *Curr Opin Ped* 1999; 11:33-8.

Brandalise SR, Odone V, Pereira W, Andrea M, et al. Treatment results of three consecutive Brazilian cooperative childhood acute lymphoblastic leukemia protocols: GBTLI-80; GBTLI-82 and GBTLI-85. *Leukemia: normal and malignant hemopoiesis* 1993; 7: 142-45.

Castro Jr CG, Brunetto A, Batista J, Di Leone L. Incidência dos tumores pediátricos na Unidade de Oncologia Pediátrica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. No prelo.

Colby-Graham MF, Chordas C. The childhood leukemias. *J Ped Nursing* 2003; 18:87-95.

Chessells JM, Harrison G, Richards SM, et al. Failure of a new protocol to improve treatment results in paediatric lymphoblastic leukaemia: lessons from the UK Medical Research Council trials UKALL X and UKALL XI. *Br J Haematol* 2002, 118: 445-55.

DataSus; <http://www.datasus.gov.br>

Durrant IJ, Richards SM. Results of medical research council trial UKALL IX in acute lymphoblastic leukemia in adults: report from the medical research council working party on adult leukemia. *Br J Haematol* 1993, 85: 84-92.

First MIC Cooperative Study Group. Morfologic, Immunologic and Citogenetic (MIC) working classification of the acute lymphoblastic leukemias. *Cancer Genet Cytogenet* 1986; 23: 189-197.

Fundação Oncocentro; <http://www.fosp.saude.sp.gov.br>

Gajjar A, Harrison PL, Sandlund JT, Rivera GK, et al. Traumatic lumbar puncture at diagnosis adversely affects outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2000; 96(10): 3381-84.

Hammond D, Sather H, Nesbit M, Miller D, et al. Analysis of prognostic factors in acute lymphoblastic leukemia. *Med Ped Oncol* 1986; 14: 124-34.

Harris NL, Jaffe ES, et al. World Health Organization Classification of Neoplastic Diseases of the Hematopoietic and Lymphoid Tissues: report of the clinical advisory committee meeting – Airlie House Virginia, Nov 1997. *J Clin Pathol* 1999; 17: 3835-49.

Howard S, Gajjar A, Cheng C, et al. Risk factors for traumatic and bloody lumbar puncture in children with acute lymphoblastic leukemia. *JAMA* 2002; 288: 2001-07.

Ingram LC, Faircough DL, Furman WL, Sandlund JT, Kun LE, Rivera GK, Pui CH. Cranial nerve palsy in childhood acute lymphoblastic leukemia and non-hodgkin's lymphoma. *Cancer* 1991; 67: 2262-8.

Instituto Nacional do Câncer: informação e vigilância epidemiológica no Brasil;
<http://www.inca.gov.br>

Isaacs H. Fetal and neonatal leukemia. *J Ped Hematol/Oncol* 2003; 25: 348-361.

Kruskall MS, Carter SR, Ritz LP. Contamination of cerebrospinal fluid by vertebral bone-marrow cells during lumbar puncture. *N Engl J Med* 1983; 308: 697-700.

Laks D, Longhi F, Wagner MB, Garcia RR. Survival evaluation of children with acute lymphoblastic leukemia treated with Berlin-Frankfurt-Munich trial. *J Pediatr* 2003; 70: 149-58.

Lauer S, Shuster J, Krichner P, et al. Prognostic significance of Cerebrospinal Fluid (CSF) lymphoblasts (LB) at diagnosis (dx) in children with Acute Lymphoblastic Leukemia(ALL). *Proc Am Soc Clin Oncol* 1994; 13: 317.

Lottick N, Ness KK, Bhatia S, Gurney J. Survival variability by race and ethnicity in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Jama* 2003; 290: 2008-14.

Mahmoud HH, Rivera GK, Hanckoc ML, Krance RA, et al. Low Leukocyte counts with blasts cells in cerebrospinal fluid of children with newly diagnosed acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 1993; 329: 314-19.

Margolin JF, Steuber CP, Poplack DG. Acute lymphoblastic leukemia. In: Pizzo PA and Poplack D, editors. Principles and Practice of Pediatric Oncology. 4th ed, Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers; 2002. p 489-544.

Nachman J, Cherlow J, Sather HN. Effect of initial Central Nervous System (CNS) status on event free survival in children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia. Med Ped Oncol 2002; 39: 277.

National Cancer Institute: Childhood acute lymphoblastic leukemia; <http://www.cancer.gov>

Niemeyer CM, Sallan SE. Acute lymphoblastic leukemia. In: Nathan DG, Orkin SH eds. Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood. 5th ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1998.p. 1245-85.

Oliveira RAG, Farah CA, Pli-Neto A.classificação das leucemias agudas: da morfologia à biologia molecular. NewsLab 2002; 55: 110-24.

Pinkel D, Woo S. Prevention and treatment of meningeal leukemia in children. Blood 1994; 84: 355-66.

Pui CH, Campana D, Evans WE. Childhood acute lymphoblastic leukemia – current status and future perspectives. Lancet Oncol 2001, 2: 597- 607.

Pui CH, Evans WE. Acute lymphoblastic leukemia. N Engl J Med 1998; 339: 605-15

Pui CH, Mahmoud HH, Rivera GK, Hancock ML, et al. Early Intensification of intrathecal chemotherapy virtually eliminates central nervous system relapse in children with acute lymphoblastic leukemia. Blood 1998; 92(2): 411-15.

Pui CH, Sandlund J, Pui D, et al. Results of therapy for acute lymphoblastic leukemia in black and white children. *Jama* 2003; 290: 2001-07.

Pui CH, Relling MV, Downing JR. Acute lymphoblastic leukemia. *N England J Med* 2004; 350 (15): 1535-48.

Raimondi SC. Current status of cytogenetic research in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1993; 81: 2237-51

Ravindranath Y. Recent advances in pediatric acute lymphoblastic and myeloid leukemia. *Cur Opin Oncol* 2003; 15: 23-35.

Rech A, Brunetto AL. Leucemia linfocítica aguda em crianças e adolescentes. Experiência no Serviço de Oncologia Pediátrica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. No prelo.

Rego MFN, Pinheiro GS, Metze IL. Acute leukemias in Piauí: comparison with features observed in other regions of Brazil. *Braz J Med Res* 2003; 36(3): 331-37.

Rubnitz JE, Pui CH. Recent advances in the treatment and understanding of childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Cancer Treatment Reviews* 2003; 29: 31-44.

Silverman LB, Sallan SE, Cohen HJ. Treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia. In: Hoffman R, Benz JR EJ, Shattil SJ, et al, editors. *Hematology: Basic Principles and Practice*. 3th ed. Philadelphia Churchill Livingstone; 2000; p 1070-8.

Smith M, Arthur D, Camitta B, Carroll AJ, et al. Uniform approach to risk classification and treatment assignment for children with acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 1996; 14: 18-24.

Smith MA, Gloechler Ries LA, Gurney JG, Ross JÁ. Leukemia. In: Ries LAG, Smith MA, Gueney JG, et al, editors. Cancer incidence and survival among children and adolescents: United States SEER program 1975- 1995. Bethesda: National Institute; 1999a; p 17-32 (SEER program. NIH (Pub No 99-4649).

Wheeler KA, Richards SM, Bailey CC, Gibson B, Hann IM, Hill FGH, et al. Bone marrow transplantation versus chemotherapy in the treatment of very high-risk childhood acute lymphoblastic leukemia in first remission: results from Medical Research Council UKALL X and XI. *Blood*, 2000, 96: 2412-18.

A influência da punção lombar traumática e da quimioterapia intratecal na sobrevida de pacientes pediátricos com leucemia linfocítica aguda.

Ângela Rech¹, Gisele P. de Carvalho¹, Clarice F. Meneses¹, Jane Hankins², Scott Howard², Algemir L Brunetto¹

Endereço para correspondência:

Ângela Rech

Hospital de Clínicas

Rua Ramiro Barcellos 2350, 3º leste

Unidade de Oncologia Pediátrica

Porto Alegre – RS – Brazil – 930035-903

Fone / Fax: 0XX- 51-3330-8087

E-mail: arech@hcpa.ufrgs.br ou angelrech@ig.com.br

¹ Unidade de Oncologia Pediátrica, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.

² Hematology- Oncology Department, St Jude Children's Research Hospital, Memphis, TN.

Resumo

Introdução e Objetivos: O sistema nervoso central (SNC) é o um sítio freqüente de recaída na criança com leucemia linfocítica aguda (LLA). Existe evidência de que a punção lombar traumática (PLT) pode representar um risco adicional de recaída no SNC quando ocorre inoculação de blastos no líquido céfalorraquidiano (LCR). Este estudo tem por objetivo determinar se a ocorrência da PLT ao diagnóstico afeta o prognóstico de pacientes com essa patologia.

Material e Métodos: Setenta e sete pacientes com diagnóstico de LLA, tratados entre 1992 a 2002, foram incluídos na análise. Quimioterapia intratecal (QIT) foi instilada imediatamente após a PL inicial (precoce), ou na segunda PL (tardia), realizada no período de 24 a 48 horas após a realização da PL inicial. Foi feita análise da influência da PLT e do momento (precoce x tardia) de administração da QIT em relação a recaída no SNC.

Resultados: Entre os 19 pacientes que apresentaram PLT ao diagnóstico e receberam QIT tardia, seis tiveram recaída isolada no SNC e dois recaída combinada em SNC e medula óssea (MO). Entre os nove pacientes que tiveram PLT e receberam QIT precoce, somente um apresentou recaída combinada em SNC e MO ($P=0,20$); não houve, portanto, influência estatisticamente significativa da PLT na sobrevida livre de eventos (SLE) (55% para QIT precoce x 49% para QIT tardia) ($P=0,37$). Entretanto, em análise estratificada, de acordo com grupos de risco, observamos que para pacientes de baixo ou médio risco o OR foi de 0,8 quando recebiam QIT tardia ($P=0,99$) e 0,17 quando recebiam QIT precoce ($P=0,47$). Por outro lado, entre pacientes de alto risco o OR para recaída foi de 21,0 para aqueles que recebiam QIT tardia ($P=0,09$) e 1,5 para o grupo que recebia QIT precoce ($P=0,99$).

Conclusão: Os resultados do presente estudo são sugestivos de que a ocorrência da PLT tem uma influência adversa no prognóstico de pacientes com LLA de alto risco de recaída. Como estes resultados são decorrentes de um estudo retrospectivo, recomenda-se que sejam confirmados em estudos prospectivos randomizados.

Palavras chave: leucemia linfocítica aguda, punção lombar, quimioterapia intratecal, criança

Introdução

O SNC é o sítio mais freqüente de recaída extra-medular em crianças com LLA tratadas com regimes quimioterápicos. Esta complicação ocorre com maior freqüência a medida que aumenta o tempo de sobrevida e acomete cerca de 50% das recaídas iniciais. Sessenta a 70% dos pacientes apresentam leucemia no SNC na data do óbito (1).

O mecanismo pelo qual as células invadem o SNC ainda não é completamente entendido. Muitos estudos demonstraram que a leucemia primeiramente invade a superfície da aracnóide (2,3), disso decorrendo dois tipos de eventos: (a) migração de células circulantes através do endotélio venoso; e (b) ou a transformação maligna na parede venosa a partir de elementos germinativos indiferenciados pré-existentes e com potencial hematopoiético (1). A punção lombar traumática (PLT) no momento do diagnóstico, quando muitos pacientes têm blastos circulando, pode ser outra forma de contaminação de blastos do sangue periférico para dentro do líquido céfalo-raquidiano (LCR) (4).

Pacientes com leucemia no SNC (mais do que 5 leucócitos por microlitro de LCR na presença de linfoblastos após centrifugação) sofrem mais recaídas e apresentam significativamente pior prognóstico do que quando comparados com pacientes sem doença no SNC (5-7).

Algumas publicações recentes (4,8) tem sugerido que a inoculação de blastos após a PLT pode afetar adversamente o prognóstico de pacientes com LLA. O objetivo principal deste estudo é avaliar a sobrevida de pacientes com LLA que sofreram PLT ao diagnóstico e a influência da administração precoce ou tardia da quimioterapia intratecal (QIT) após PLT.

Pacientes e Métodos

No período de 1992 a 2002, 92 pacientes com diagnóstico recente de LLA foram tratados de acordo com três protocolos consecutivos: 43 pacientes com UKALL (*United Kingdom Medical Research Council Acute Lymphoblastic Leukemia*) X e XI (9,10), 21 pacientes com BFM 95 (*Berlin-Frankfurt-Munich trial*) (11) e 19 pacientes com o protocolo brasileiro para LLA GBTLI 99 (Grupo Brasileiro de Tratamento das Leucemias da Infância) (12); outros protocolos mais específicos do Childrens Oncology Group (CCG) foram usados em nove pacientes.

Todos os pacientes foram submetidos a uma PL no momento do diagnóstico da medula óssea (MO). A QIT foi instilada também imediatamente após o diagnóstico da PL (precoce) ou numa segunda PL (tardia), o qual era realizada dentro de 24 a 48 horas após o procedimento diagnóstico de PL inicial. Quando o diagnóstico de LLA era confirmado através dos resultados do aspirado de MO, a decisão de quando administrar a QIT (precoce ou tardia) cabia ao médico assistente responsável pelo procedimento.

Os pacientes eram classificados, quanto ao SNC, dentro dos seguintes grupos: (1) SNC 1: < 5 leucócitos/ μ L de LCR e blastos negativos após centrifugação; (2) SNC 2: < 5 leucócitos/ μ L de LCR e blastos positivos após centrifugação e (3) SNC 3: \geq 5 leucócitos/ μ L de LCR e blastos positivos após centrifugação. A PLT era definida pela presença de mais de dez células vermelhas por microlitro de LCR (4).

Quanto à categoria de risco de recaída, os pacientes eram classificados como baixo risco (BR) quando apresentavam idade entre 1-9 anos e contagem de leucócitos inferior a $50.000/\text{mm}^3$; alto risco (AR) de recidiva com idade acima de dez anos ou inferior a 12 meses, contagem de leucócitos acima de $50.000/\text{mm}^3$, ausência de translocações favoráveis, presença de doença no SNC e/ou testículos, presença do gene de linhagem mista (*MML*), e, como risco

intermediário (RI), todos os pacientes que não tivessem critérios para as categorias de baixo ou de alto risco (13,14).

A maioria dos procedimentos foram realizados sob analgesia intravenosa pelo médico residente da Unidade de Oncologia Pediátrica, sob supervisão do médico assistente.

Foi definido como SLE o primeiro dia a partir do diagnóstico até a data do primeiro evento adverso (recaída, morte ou o desenvolvimento de uma segunda neoplasia). A curva de *Kaplan-Meier* foi utilizada para analisar a SLE. O teste de *Log-rank* foi utilizado para comparar os diferentes grupos. Foi conduzida uma análise estratificada para avaliar o efeito de diferentes fatores de risco na recaída ou óbito, calculando odds ratio (OR) e seus respectivos intervalos de confiança de 95%. Todos os dados foram analisados através do programa estatístico SPSS versão 11.5.

Resultados

Noventa e dois casos de LLA foram diagnosticados entre 1992 a 2002. Foram incluídos na análise 77 pacientes e 15 foram excluídos porque a primeira PL não foi realizada na Unidade de Oncologia Pediátrica ou porque o tratamento inicial ocorreu em outro serviço. A média de idade foi de 4,9 anos (mediana de 0,6 a 18 anos de idade) e 94% eram brancos.

Os 28 pacientes que tiveram PLT e os 49 que não tiveram uma PLT foram similares em relação ao sexo, imunofenotipagem, morfologia *French-American-British* (FAB) e categoria de risco (Tabela 1).

Dos 77 pacientes, 15 não tinham blastos circulantes no sangue periférico ao diagnóstico da PL; todos eram de BR e com contagem de leucócitos inferior a 10.000/mm³.

A sobrevida livre de eventos (SLE) entre aqueles que apresentaram PLT foi de 54%, comparada aos 55% entre aqueles que não tiveram PLT ao diagnóstico (P log rank=0.57).

Dos 77 pacientes incluídos na análise, 22 (29%) receberam QIT precoce e 54 (70%) receberam QIT tardia; esta informação foi perdida em somente um paciente. Não houve influência da administração precoce de QIT na SLE; os 22 pacientes que receberam QIT precoce tiveram uma SLE em cinco anos de 55% e os 54 pacientes que receberam QIT tardia uma SLE de 49% (P log rank = 0.37).

A análise da influência da PLT no momento da administração da primeira QIT na recaída em SNC mostrou que entre os 19 pacientes que tiveram PLT ao diagnóstico e receberam QIT tardia, seis tiveram recaída isolada no SNC e dois em ambos os sítios SNC e MO; entre os nove pacientes que tiveram PLT e receberam QIT precoce, somente um apresentou recaída combinada em SNC e MO (P=0.20).

Entre os 35 pacientes que não apresentaram PLT ao diagnóstico e receberam QIT tardia, 10 recaíram (dois casos no SNC); e dos 13 pacientes que não apresentaram PLT ao diagnóstico e receberam QIT precoce, quatro tiveram recaída fora do SNC (P=0,99).

Foi observado uma alta taxa de recaída no grupo de pacientes com PLT e que recebiam QIT tardia, logo foi realizada uma análise estratificada com o objetivo de avaliar quando a categoria de risco de recidiva influenciava nos resultados. Na tabela 2 é possível visualizar que entre pacientes de BR ou RI que recebiam ou não QIT precoce não havia influência estatisticamente significativa na ocorrência de recaída ou óbito. A PLT, portanto, não representou um risco de recaída em pacientes de BR ou RI. Por outro lado, entre pacientes de AR nossos dados indicam que o uso da QIT precoce após a PLT pode reduzir o risco de recaída; o OR para recaída entre pacientes de AR que tiveram PLT versus os que não tiveram foi 21,0 (P=0,09) quando recebiam QIT tardia; e somente 1,5 (P=0,18) quando recebiam QIT precoce.

Discussão

Nosso estudo mostrou uma incidência de 36% de PLT mais alta do que o esperado (4). Em adição a baixa contagem de plaquetas presente na maioria dos pacientes, as PLs foram realizadas por médicos residentes em treinamento, com o paciente sob analgesia intravenosa de curta duração. Em razão destes achados, no momento atual as PLs são realizadas por médicos oncologistas pediátricos mais experientes e com o paciente sob anestesia geral de curta duração. Embora nossos dados não demonstrem uma influência estatisticamente significativa da PLT na sobrevida de pacientes com diagnóstico recente de LLA, houve uma menor tendência de recaída e SLE superior quando não havia uma PLT.

Não houve uma influência da administração precoce de QIT na sobrevida. É interessante notar, entretanto, que quando foi realizada uma análise estratificada separada examinando os pacientes de acordo com a categoria de risco de recaída, nós encontramos que o uso da QIT precoce após a ocorrência do trauma reduziu o risco de recaída ou óbito entre pacientes de alto risco, embora esta associação não tenha sido estatisticamente significativa. Houve uma diferença importante em relação ao OR mesmo com uma amostra pequena de pacientes. Este é o primeiro estudo de nosso conhecimento que demonstra que a administração precoce da QIT é benéfica para pacientes de AR com PLT. Esta hipótese é baseada numa análise retrospectiva e não randomizada de pacientes que receberam ou não QIT após a PL diagnóstica. Estes achados deverão ser confirmados num estudo prospectivo e randomizado.

Uma possível explicação para o pior prognóstico entre pacientes de AR com PLT pode ser a introdução iatrogênica de blastos no LCR (4) ou que pacientes que apresentam PLT apresentem doença mais avançada ao diagnóstico, com maiores chances de infiltração leucêmica perivenular ou parameningeal (8), ou ainda devido a diferenças biológicas,

tornando mais fácil a migração de células leucêmicas para dentro do LCR (15). Bleyer et al (16) reportaram que certos tipos de leucemias penetram mais facilmente no SNC (por exemplo LLA-T) e que outros fatores como contagem de blastos ou plaquetas, idade, ou maturidade da barreira hemato-encefálica são fatores que influenciam no ingresso de células leucêmicas para dentro do SNC.

Outro mecanismo que provavelmente apresenta relação com a contaminação do LCR por células da MO ocorreria quando a agulha de PL é inadvertidamente dirigida para dentro do corpo vertebral medular, conduzindo células da MO para dentro da agulha. Após a agulha ser retirada e novamente reposicionada no espaço subaracnóideo, células da MO aderentes poderão migrar para dentro do LCR, causando, dessa forma, a contaminação do SNC por células leucêmicas (17).

A influência adversa da PLT no prognóstico foi inicialmente demonstrada por investigadores do *St Jude Children's Research Hospital* (4) e pelo grupo *BFM* (8), sugerindo que esses pacientes poderiam ser tratados com QIT mais intensa. Para diminuir a frequência e as consequências da PLT nós recomendamos medidas preventivas na ocorrência da PLT, incluindo o uso de sedação profunda ou anestesia geral, a administração de QIT imediatamente após a coleta de LCR ao diagnóstico e a realização da PL diagnóstica por um médico experiente.

Referências

1. Price RA, Johnson WW. The central nervous system in childhood leukemia: I. The Arachnoid. *Cancer* 1973; 31: 520-33.
2. Pinkel D, Woo S. Prevention and treatment of meningeal leukemia in children. *Blood* 1994; 84: 355-66
3. Azzarelli B, Mirkin LD, Goheen M, Muller J, Crockett C. The leptomeningeal vein. A site of re-entry of leukemic cells into the systemic circulation. *Cancer* 1984; 54: 1333-43.
4. Gajjar A, Harrison P, Sandlund J, et al. Traumatic lumbar puncture at diagnosis adversely affects outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2000; 96: 3381-84.
5. Gilchrist GS, Tubergen DG, Sather HN, Coccia PF, O'Brien RT, Waskerwitz MJ, Hammond GD. Low numbers of CSF blasts at diagnosis do not predict for the development of CNS leukemia in children with intermediate-risk acute lymphoblastic leukemia: a Children's Cancer Group Study. *J Clin Oncol* 1994; 12:2594-2600.
6. Hammond D, Sather H, Nesbit M, Miller D, et al. Analysis of prognostic in acute lymphoblastic leukemia. *Med Ped Oncol* 1986; 14: 124-34.
7. Mahmoud HH, Rivera GK, Hancock ML, Krance RA, et al. Low leukocyte counts with blast cells in cerebrospinal fluid of children with newly diagnosed acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 1993; 329 (5): 314- 19.
8. Bürger B, Zimmermann M, Mann G, et aç. Diagnostic cerebrospinal fluid examination in children with acute lymphoblastic leukemia: significance of low leukocyte counts with blasts or traumatic lumbar puncture. *J Clin Oncol* 2003; 21: 184-188.

9. Chessells JM, Harrison G, Richards SM, et al. Failure of a new protocol to improve treatment results in pediatric lymphoblastic leukemia: lessons from the UK Medical Research Council trials UKALL X and UKALL XI. *Br J Haematol* 2002; 118: 445-55.
10. Durrant IJ, Richards SM. Results of Medical Research Council trial UKALL IX in acute lymphoblastic leukemia in adults: report from the Medical Research Council Working Party on Adult Leukemia. *Br J Haematol* 1993; 85: 84-92.
11. Laks D, Longhi F, Wagner MB, Garcia RR. Survival evaluation of children with acute lymphoblastic leukemia treated with Berlin-Frankfurt-Munich trial. *J Pediatr* 2003; 70: 149-58.
12. Brandalise SR, Odone V, Pereira W, Andrea M, et al. Treatment results of three consecutive Brazilian cooperative childhood ALL protocols: GTBLI-80; GTBLI-82 and GTBLI-85. *Leukemia: normal and malignant hemopoiesis* 1993; 7: 142-45.
13. Pui CH, Evans WE. Acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 1998; 339:605-15.
14. Colby-Graham MF, Chordas C. The childhood leukemias. *J Ped Nur* 2003; 18: 87-95.
15. Rubnitz J, Pui CH. Recent advances in the treatment and understanding of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Treatment Reviews* 2003; 29: 31-44.
16. Bleyer WA. Biology and patogénesis of CNS leukemia. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1989; 11: 57-63.
17. Kruskall MS, Carter SR, Ritz LP. Contamination of cerebrospinal fluid by vertebral bone-marrow cells during lumbar puncture. *N Engl J Med* 1983; 308: 697-700.

ANEXOS

Tabela 1: Características dos Pacientes

Dados	PLT	PL n-T	P
	n=28	n=49	
M:F (%)	43 : 57	57 : 43	0.25
Categoria de risco			
Baixo	9 (32)	9 (18)	0.33
Intermediário	14 (50)	26 (53)	
Alto	5 (18)	14 (29)	
Fenótipo			
	n=27	n=47	0.85
LLA- pré-B	21 (78)	34 (72)	
LLA B	–	2 (4)	
LLA pré-T	1 (4)	4 (9)	
LLA T	4 (15)	6 (13)	
LLA desconhecida	1 (4)	1 (2)	
Morfologia FAB			
	n=24	n=44	0.90
LLA L1	16 (67)	26 (60)	
LLA L2	7 (29)	16 (36)	
LLA L3	1 (4)	2 (4)	

PLT= punção lombar traumática; PL n-T= punção lombar não traumática; M= masculino; F= feminino; FAB: *French-American-British*; LLA= leucemia linfocítica aguda

Tabela 2: Efeito da punção lombar traumática em pacientes que receberam ou não quimioterapia IT de acordo com a categoria de risco da LLA

<i>Fator</i>	<i>n</i>	Recaída				Óbito			
		<i>f</i>	<i>OR</i>	<i>IC 95%</i>	<i>P</i>	<i>f</i>	<i>OR</i>	<i>IC 95%</i>	<i>P</i>
<i>Baixo e intermediário</i>									
<i>QIT +</i>									
<i>PLT</i>	7	0	0.17	0 – 5.2	0.47	3	2.3	0.2 – 35.5	0.61
<i>PL n-T</i>	8	2				2			
<i>QIT –</i>									
<i>PLT</i>	16	5	0.8	0.2 – 3.8	0.99	1	0.4	0.01 – 4.2	0.63
<i>PL n-T</i>	26	8				4			
<i>Alto risco</i>									
<i>QIT +</i>									
<i>PLT</i>	2	1	1.5	0.02 – 129.1	0.99	1	0.7	0.01 – 50.4	0.99
<i>PL n-T</i>	5	2				3			
<i>QIT –</i>									
<i>PLT</i>	3	3	21	0.7 – ∞	0.09	3	13	0.5 – ∞	0.18
<i>PL n-T</i>	9	2				3			

QIT+= quimioterapia intratecal positiva; QIT-= quimioterapia intratecal negativa; PLT= ; PL n-T= punção lombar não traumática; f= frequência; OR=odds ratio.

The influence of traumatic lumbar puncture and timing of intrathecal therapy on outcome of pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia

**Angela Rech MD¹, Gisele P. de Carvalho RN¹, MsC, Clarice F. Meneses MD¹,
Jane Hankins MD² MS, Scott Howard MD, MS², Algemir L Brunetto MD, PhD¹**

Key words: acute lymphoblastic leukemia, lumbar puncture, intrathecal chemotherapy, children

Address correspondence to:

Angela Rech

Hospital de Clínicas

Ramiro Barcellos 2350, 3 leste

Pediatric Oncology Unit

Porto Alegre – RS – Brazil – 930035-903

Phone / Fax: +55-51-3330-8087

E-mail: arech@hcpa.ufrgs.br or angelrech@ig.com.br

¹ Pediatric Oncology Unit, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

² Hematology- Oncology Department, St Jude Children's Research Hospital, Memphis, TN.

ABSTRACT

Introduction and Objectives: The Central Nervous System (CNS) is a frequent site of relapse in childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL). Traumatic lumbar puncture (TLP) is thought to increase the risk of relapse in the CNS. This study sought to determine if TLP at the time of diagnosis affected the outcome of patients.

Material and Methods: Seventy-seven newly diagnosed patients treated from 1992 to 2002 were included in the analysis. Intrathecal therapy (IT) was instilled either immediately after the diagnostic LP (early) or at a second LP (delayed) 24 to 48 hours following the diagnostic LP procedure. The authors carried out an analysis of the influence of TLP and the timing (early versus late) of administration of IT therapy on CNS relapse.

Results: Among the 19 patients who had a TLP at diagnosis and received late IT therapy, six had isolated CNS relapse and two had combined CNS and bone marrow (BM) relapse. Among the nine patients who had TLP and received early IT therapy, only one had a combined CNS and BM relapse ($P=0.20$); the influence of TLP was not statistically significant on the event-free survival (EFS) (55% for early IT versus 49% for delayed IT) ($P=0.37$). However, when we carried out a stratified analysis according to risk categories we found that for low and standard risk patients the odds ratio (OR) for relapse was 0.8 for delayed IT therapy ($P=0.99$) and 0.17 for early IT ($P=0.47$). On the other hand, among high risk (HR) patients the OR for relapse was 21.0 for delayed IT therapy ($P=0.09$) and 1.5 for early IT ($P=0.99$).

Conclusion: The occurrence of TLP impacts adversely on prognosis of HR ALL patients. As these results are based in a retrospective study with a low number of patients, the authors recommend future trials using prospective randomized studies to confirm these findings.

Introduction

The CNS is the most frequent site of extramedullary relapse in childhood ALL treated with combination chemotherapy. This complication occurs with greater frequency as survival time increases and accounts for 50% of initial relapses. Sixty to 70% of patients at time of death present intracranial leukemia (1).

The mechanism by which leukemic cells reach the CNS is not fully understood. Although many routes have been postulated, studies demonstrated that leukemia cells first appear in superficial arachnoid veins (2,3). This finding suggests two possibilities: migration of circulating cells through venous endothelium and malignant transformation in venous walls of preexisting undifferentiated germinal elements with hematopoietic potential (1). Traumatic Lumbar Puncture (TLP) at the time of diagnosis, when most patients have circulating blast cells, may be another way of introducing leukemic blasts from the systemic circulation into the cerebrospinal fluid (CSF) (4).

Patients with CNS leukemia (more than five leukocytes per microliter in the CSF and the presence of lymphoblasts after centrifugation), suffer from more relapses with CNS involvement and have a significantly poorer outcome compared with CNS-negative patients (5-7).

Recent publications (4,8) have suggested that the inoculation of blast cells following TLP may adversely influence the outcome of ALL patients. The aim of the present study was to retrospectively assess the role of TLP at the time of diagnosis on the outcome of patients with newly diagnosed ALL and whether the use of intrathecal (IT) therapy concurrently with the diagnostic LP had influence on outcome.

Patients and Methods

From 1992 to 2002, 92 patients with newly diagnosed ALL were treated according to protocols of the Pediatric Oncology Unit. During the study period the patients were treated according to three consecutive protocols: UKALL (*United Kingdom Medical Research Council Acute Lymphoblastic Leukemia*) X and XI (9,10) for 43 patients, BFM 95 (*Berlin-Frankfurt-Munich Trial*) (11) for 21 patients and the Brazilian ALL protocol GBTLI 99 (*Grupo Brasileiro de Tratamento das Leucemias da Infância*) (12) for 19 patients; other more specific Childrens Oncology Group (CCG) adapted protocols were used for 9 patients.

All patients underwent LP at the time of diagnostic BM. The IT therapy was instilled either immediately after the diagnostic LP (early) or at a second LP (delayed), which was performed within 24 to 48 hours following the diagnostic LP procedure. Once the diagnosis of ALL was confirmed from the BM (bone marrow) aspirate results; the decision whether to administer early or delayed IT therapy was at the discretion of the attendant physician.

For the current analysis, the CNS status of all patients was classified in one of the following groups: CNS 1 (no identifiable leukemic blasts cells after centrifugation); CNS 2 (<5 white blood cells (WBCs) per microliter with leukemic blast cells after centrifugation); CNS 3 (>5 WBCs per microliter with leukemic blast cells after centrifugation). TLP was defined as the presence of greater than >10 red blood cells per microliter (4).

Relapse risk classification was defined as follows: LR age between 1-9 years of age and white blood count below 50,000/mm³; HR, age older than 10 years or younger than 12 months, white blood count above 50,000/mm³, absence of favorable translocations, presence of CNS and/or testicular disease, presence of mixed-lineage leukemia (MML) gene; and SR defined by the lack of criteria for low or high risk group allocation (13,14).

The majority of procedures were performed using intravenous analgesics by the resident in pediatric oncology rotation, under the supervision of the attending pediatric oncologist.

The duration of event free survival (EFS) was defined as the time from diagnosis until the date of the first adverse event (relapse, death, or the development of a second malignancy). We used Kaplan-Meier curves to analyze the EFS data. The log-rank test was used to compare different groups. Additionally, we have conducted a stratified analysis to evaluate the effect of different factors on relapse and death, by calculating odds ratios and their respective 95% confidence intervals. All data was analyzed with SPSS version 11.5.

Results

Ninety-two cases of ALL were diagnosed from 1992 to 2002. From this group 77 cases were included in the analyses and 15 were excluded because their first LP was not performed at our Unit or the treatment was initiated at an outside institution. The median age was 4.9 years-old (range 0.6 to 18years-old) and 94% were white.

The 28 patients who had a TLP and the 49 patients who did not have a TLP were similar in relation to gender, immunophenotyping, FAB morphology and risk category (Table 1).

Of the 77 patients, 15 had no circulating blasts in the peripheral blood at the diagnostic LP; all were LR patients with less than 10,000 WBC/mm³

The EFS among those who presented traumatic LP at diagnosis was 54%, compared to 55% among those who did not have a TLP (P log rank=0.57).

Of the 77 patients included in the analysis, 22 (29%) of them received early IT therapy and 54 (70%) received delayed IT therapy; this information was missing in one patient. There was no influence of the administration of early IT therapy on EFS; the 22 patients who received early IT therapy had a 5y EFS 55% and the 54 patients who received delayed IT therapy had an EFS of 49% (P log rank = 0.37).

The analysis of the influence of TLP and the timing of administration of the first IT therapy on CNS relapse revealed that among the 19 patients who presented TLP at diagnosis and received delayed IT therapy, six had isolated CNS relapse and 2 had both CNS and BM relapse; among the 9 patients who had TLP and received early IT therapy, only one had a combined CNS and BM relapse (P=0.20). Among the 35 patients who did not present TLP at diagnosis and received delayed IT therapy, 10 relapsed (2 CNS relapses); of the 13 patients

who did not present TLP at diagnosis and received early IT therapy, four had non-CNS relapses ($P=0.99$).

As we observed a higher relapse rate in the group of patients with TLP receiving delayed IT therapy, we carried out an additional analysis to see whether the risk categories had influence on outcome. In Table 2 it can be seen that among LR and SR patients either using or not early IT following traumatic LP it did not statistically influence the occurrence of relapse or death. TLP, therefore, do not represent a risk of relapse in LR and SR patients. On the other hand, among HR patients our data indicate that the use of early IT therapy following TLP may reduce the risk of relapse; the OR for relapse among HR patients who had TLP versus non-TLP was 21.0 ($P=0.09$) if no IT therapy was administered with the first LP; whereas, the OR for relapse was only 1.5 ($P=0.18$) if IT was administered.

Discussion

Our study showed an incidence of TLPs higher than expected (36%) (4). In addition to low platelets counts present in the majority of patients the LPs used to be performed by in training residents under short-acting intravenous analgesia. In view of these findings at the present the LPs are performed by more experienced pediatric oncologists under short-acting general anesthesia. Although our findings did not show a statistically significant influence of TLPs with blast cells at the time of diagnosis on the outcome of patients with newly diagnosed ALL, there was a trend for fewer relapses and superior EFS among patients who did not experienced TLP.

There was no influence of the early administration of IT therapy on survival. It was interesting to note, however, that when we carried out a separate analysis examining the patients according to risk categories, we found that the use of early IT therapy following TLP did reduce the risk of relapse or death for high risk patients; although this association did not reach a classical level of significance, there was a striking difference despite the small sample size. This is the first study to our knowledge that shows that administering early IT therapy is most beneficial for HR ALL patients with TLP. This hypothesis is based on a retrospective analysis and the selection of patients to receive or not early IT therapy at the diagnostic LP was not randomized, these findings must be confirmed in a prospective, randomized trial.

One explanation for inferior prognosis among HR patients with TLP could be that an iatrogenic introduction of blasts into the CSF (4) or that patients more likely to have a TLP have more advanced disease, with more perivenular or parameningeal leukemic infiltrates (8), or even due to biological differences, allowing migration of leukemic blasts more easily (15). Bleyer et al (16) reported that certain types of leukemia penetrate the CNS with a higher rate (e.g., T-cell leukemic) and that other factors such as blast and platelet count, age, or

maturity of the blood-brain barrier are factors that influence ingress of leukemic cells into the CNS.

Another mechanism that probably presented relation with the contamination of CSF by vertebral BM cells during LP occurred when the needle was inadvertently pushed too far anteriorly, into the marrow cavity of a vertebral body forcing BM cells into the needle. After the needle was pulled out and successfully repositioned in the subarachnoid space, adherent marrow cells were probably flushed out by the flow of CSF into the first, and sometimes later, specimen tubes (17).

The adverse influence of TLP on prognosis was initially demonstrated by investigators from the St Jude Children's Research Hospital (4) and by the BFM group (8) who suggested these patients should be candidates to intensified IT therapy. The occurrence of TLP also impacts on quality of life as these patients require additional IT doses of chemotherapy agents. To decrease the frequency and consequences of TLP we recommend preventive measures when performing diagnostic LP procedures which includes the use of deep sedation or general anesthesia and the administration of IT chemotherapy agents immediately after the collection of the initial diagnostic CSF, by a very skilled practitioner.

References

1. Price RA, Johnson WW. The central nervous system in childhood leukemia: I. The Arachnoid. *Cancer* 1973; 31: 520-33.
2. Pinkel D, Woo S. Prevention and treatment of meningeal leukemia in children. *Blood* 1994; 84: 355-66
3. Azzarelli B, Mirkin LD, Goheen M, Muller J, Crockett C. The leptomeningeal vein. A site of re-entry of leukemic cells into the systemic circulation. *Cancer* 1984; 54: 1333-43.
4. Gajjar A, Harrison P, Sandlund J, et al. Traumatic lumbar puncture at diagnosis adversely affects outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2000; 96: 3381-84.
5. Gilchrist GS, Tubergen DG, Sather HN, Coccia PF, O'Brien RT, Waskerwitz MJ, Hammond GD. Low numbers of CSF blasts at diagnosis do not predict for the development of CNS leukemia in children with intermediate-risk acute lymphoblastic leukemia: a Children's Cancer Group Study. *J Clin Oncol* 1994; 12:2594-2600.
6. Hammond D, Sather H, Nesbit M, Miller D, et al. Analysis of prognostic in acute lymphoblastic leukemia. *Med Ped Oncol* 1986; 14: 124-34.
7. Mahmoud HH, Rivera GK, Hancock ML, Krance RA, et al. Low leukocyte counts with blast cells in cerebrospinal fluid of children with newly diagnosed acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 1993; 329 (5): 314- 19.
8. Bürger B, Zimmermann M, Mann G, et aç. Diagnostic cerebrospinal fluid examination in children with acute lymphoblastic leukemia: significance of low leukocyte counts with blasts or traumatic lumbar puncture. *J Clin Oncol* 2003; 21: 184-188.

9. Chessells JM, Harrison G, Richards SM, et al. Failure of a new protocol to improve treatment results in pediatric lymphoblastic leukemia: lessons from the UK Medical Research Council trials UKALL X and UKALL XI. *Br J Haematol* 2002; 118: 445-55.
10. Durrant IJ, Richards SM. Results of Medical Research Council trial UKALL IX in acute lymphoblastic leukemia in adults: report from the Medical Research Council Working Party on Adult Leukemia. *Br J Haematol* 1993; 85: 84-92.
11. Laks D, Longhi F, Wagner MB, Garcia RR. Survival evaluation of children with acute lymphoblastic leukemia treated with Berlin-Frankfurt-Munich trial. *J Pediatr* 2003; 70: 149-58.
12. Brandalise SR, Odone V, Pereira W, Andrea M, et al. Treatment results of three consecutive Brazilian cooperative childhood ALL protocols: GTBLI-80; GTBLI-82 and GTBLI-85. *Leukemia: normal and malignant hemopoiesis* 1993; 7: 142-45.
13. Pui CH, Evans WE. Acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 1998; 339:605-15.
14. Colby-Graham MF, Chordas C. The childhood leukemias. *J Ped Nur* 2003; 18: 87-95.
15. Rubnitz J, Pui CH. Recent advances in the treatment and understanding of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Treatment Reviews* 2003; 29: 31-44.
16. Bleyer WA. Biology and patogénesis of CNS leukemia. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1989; 11: 57-63.
17. Kruskall MS, Carter SR, Ritz LP. Contamination of cerebrospinal fluid by vertebral bone-marrow cells during lumbar puncture. *N Engl J Med* 1983; 308: 697-700.

ANEXOS

Table 1: Patients characteristics

Data	TLP n=28	n-TLP n=49	P
M:F (%)	43 : 57	57 : 43	0.25
Risk Category			
Low	9 (32)	9 (18)	0.33
Standard	14 (50)	26 (53)	
High	5 (18)	14 (29)	
Cells Phenotype			
ALL- pre-B	n=27 21 (78)	n=47 34 (72)	0.85
ALL B	–	2 (4)	
ALL pre-T	1 (4)	4 (9)	
ALL T	4 (15)	6 (13)	
ALL unknown	1 (4)	1 (2)	
FAB Morphology			
ALL L1	n=24 16 (67)	n=44 26 (60)	0.90
ALL L2	7 (29)	16 (36)	
ALL L3	1 (4)	2 (4)	

TLP= traumatic lumbar puncture; n-TLP= non-traumatic lumbar puncture; M= male; F= female

FAB= French-American-Munich; ALL= acute lymphoblastic leukemia

Table 2: Effect of traumatic lumbar puncture in patients that received or not intrathecal-therapy according to acute lymphoblastic leukemia category

Factor	n	Relapse				Death			
		f	OR	95%CI	P	f	OR	95%CI	P
Low and standard risk									
IT +									
TLP	7	0	0.17	0 – 5.2	0.47	3	2.3	0.2 – 35.5	0.61
n-TLP	8	2				2			
IT –									
TLP	16	5	0.8	0.2 – 3.8	0.99	1	0.4	0.01 – 4.2	0.63
n-TLP	26	8				4			
High risk									
IT +									
TLP	2	1	1.5	0.02 – 129.1	0.99	1	0.7	0.01 – 50.4	0.99
n-TLP	5	2				3			
IT –									
TLP	3	3	21	0.7 – ∞	0.09	3	13	0.5 – ∞	0.18
n-TLP	9	2				3			

IT+= intrathecal therapy positive; IT-= intrathecal therapy negative; TLP= traumatic lumbar puncture; n-TLP= non-traumatic lumbar puncture; f= frequency; OR=odds ratio.