



HOSPITAL DA
CRIANÇA 
DE BRASÍLIA JOSÉ ALENCAR

ANAIS

XV e XVI ENCONTRO
INICIAÇÃO CIENTÍFICA 2024-2025

HOSPITAL DA CRIANÇA DE BRASÍLIA JOSÉ ALENCAR

ANAIS

XV e XVI ENCONTRO
INICIAÇÃO CIENTÍFICA 2024-2025

HOSPITAL DA CRIANÇA DE BRASÍLIA JOSÉ ALENCAR

Brasília
2025

Diretoria

Ilda Ribeiro Peliz (Presidente)
Iárcia Lúcia Oliveira (Vice-Presidente)

Conselho de Administração

Alexandre Freire de Alarcão
Carla Pintas Marques
Janete Ana Ribeiro Vaz
José Jaime Bastos
Maria Angela Marini Vieira Ferreira
Maria da Glória Guimarães dos Santos
Nadim Haddad

Conselho Fiscal

César Augusto Moreira Bergo
Lúcio Tameirão Machado
Luiz Gustavo Braz Lage

Comitê de Compliance

Brás Ferreira Machado
Lúcio Carlos de Pinho Filho
Luís Gustavo Mello Costa
Marcos Antonio Ferreira da Silva

Comitê de Governança

Ana Paula Papa Miranda
Felipe Toledo Rocha
Heloisa Helena Silva de Oliveira

Diretora Executiva

Valdenize Tiziani

Diretor Administrativo Financeiro

Isicleiden Lubiana de Araújo

Diretor de Apoio Operacional

Sylvio Leite Júnior

Diretora Clínica

Elisa de Carvalho

Diretora de Práticas Assistenciais

Simone Prado de Lima Miranda

Diretora Técnica

Isis Maria Quezado Soares Magalhães

Diretor(a) de Governança Corporativa

Vacância

Diretora de Ensino e Pesquisa

Valdenize Tiziani, interina

Diretora de Gestão de Pessoas

Vanderli Frare

ELABORAÇÃO, DISTRIBUIÇÃO E INFORMAÇÕES:

Hospital da Criança de Brasília José Alencar
AENW 3, Lote A - Setor Noroeste
Brasília - DF - CEP 70.684-831

CAPA, PROJETO GRÁFICO E DIAGRAMAÇÃO:

Gerência de Comunicação Institucional - GCI

BOLSISTAS

Ananda Miclos de Oliveira
Caio Silva Sanches
Camilla Delmondes Feitosa
Cecília Viana de Lima
Felipe Lopes de Freitas
Júlia Anastácio Furtado
Laís Xavier Barros
Laryssa Kellye Pereira Soares Sousa
Marcelle Machado Mendes
Marcelo Henrique Ribeiro Amoroso
Marina Mesquita Simões
Marina Vasconcellos Nunes
Paschoal Macedo Calori Rosseti
Valkiria Kohlrausch Vidal Arauj
Vanessa Menezes de Oliveira
Vitória Maria Xavier Silva

ORIENTADORES

Renata Lazari Sandoval
Ricardo Camargo
Agenor de Castro Moreira dos Santos Júnior
Agenor de Castro Moreira dos Santos Júnior
Carmen Lívia Faria da Silva Martins
Larissa da Costa Souza
Carmen Lívia Faria da Silva Martins
Marcus Herbert Jones
Ricardo Camargo
Renata Lazari Sandoval
Robéria Mendonça de Pontes
Karina Mescouto de Melo
Bruna Cândido Guido
Daniela Arruda Guterres Soares
João Lucas Cruz Souza
Karina Mescouto de Melo
Natália Spinola Costa da Cunha
Ricardo Camargo

COMITÊ DE IC

Bruna Candido Guido
Cristiane Feitosa Salviano Oliveira

Ficha catalográfica elaborada pela biblioteca do Hospital da Criança de Brasília José Alencar

Encontro de Iniciação Científica do Hospital da Criança de Brasília (15.: 2024: Brasília, DF). Encontro de Iniciação Científica do Hospital da Criança de Brasília (16.: 2025: Brasília, DF)

Anais do 15º e 16º Encontro de Iniciação Científica do Hospital da Criança de Brasília, 17 de agosto de 2023 a 30 de setembro de 2024 e 05 de março de 2024 a 30 de abril de 2025. / Comitê de IC: Bruna Candido Guido, Cristiane Feitosa Salviano Oliveira. – Brasília, DF: HCB, 2025.

177 p.

ISBN **978-85-93386-07-7**

Programa de Iniciação Científica do HCB, edital 02-2023. Período: agosto de 2023 a setembro de 2024.
Programa de Iniciação Científica do HCB, edital 01-2024. Período: março de 2024 a abril de 2025.

1. Pesquisa. 2. Iniciação científica. 3. Ciência da Saúde. I. Hospital da Criança de Brasília José Alencar. II. Título. CDU 001.8

Citação sugerida:

ENCONTRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DO HOSPITAL DA CRIANÇA DE BRASÍLIA (15.: 2024: BRASÍLIA, DF). ENCONTRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DO HOSPITAL DA CRIANÇA DE BRASÍLIA (16.: 2025: BRASÍLIA, DF). Anais [...]. Brasília: HCB, 2025. 177 p. ISBN 978-85-93386-07-7

SUMÁRIO

Apresentação	08
Valdenize Tiziani	
Caracterização clínica de pacientes portadores de esclerose tuberosa acompanhados em um hospital pediátrico terciário em Brasília	09
Ananda Miclos de Oliveira, Bolsista – PIC HCB.	
Renata Lazari Sandoval, Orientadora – PIC HCB.	
Acréscimos do sequenciamento de nova geração sobre o diagnóstico de crianças com Leucemias Agudas em um hospital público brasileiro	17
Caio Silva Sanches, Bolsista – PIC HCB.	
Ricardo Camargo, Orientador – PIC HCB.	
Construção de plasmídeos como controles positivos: avaliação de sensibilidade em diagnóstico de translocações recorrentes	34
Camilla Delmondes Feitosa, Bolsista – PIC HCB.	
Agenor de Castro Moreira dos Santos Júnior, Orientador – PIC HCB.	
Avaliação da técnica de RT-qPCR para diagnóstico e monitoramento da Leucemia Linfóide Aguda B Filadélfia (p190) positiva	46
Cecília Viana de Lima, Bolsista – PIC HCB.	
Agenor de Castro Moreira dos Santos Júnior, Orientador – PIC HCB.	
Avaliação da função pulmonar de pacientes pediátricos com Doença Falciforme em tratamento com Hidroxiureia no hospital pediátrico terciário de Brasília	56
Felipe Lopes de Freitas, Bolsista – PIC HCB.	
Carmen Lívia Faria da Silva Martins, Orientadora – PIC HCB.	
Espirometria em crianças com asma em hospital pediátrico do distrito federal: análise comparativa entre a GLI e o consenso brasileiro	70
Júlia Anastácio Furtado, Bolsista – PIC HCB.	
Carmen Lívia Faria da Silva Martins, Orientadora – PIC HCB.	
Marcus Herbert Jones, Orientador – PUCRS.	
Leucemia Linfóide Aguda Philadelphia Positiva em um hospital pediátrico público de Brasília: análise de casos de 2012 a 2022	80
Laís Xavier Barros, Bolsista – PIC HCB.	
Ricardo Camargo, Orientador – PIC HCB.	
Caracterização clínica de pacientes portadores de neurofibromatose tipo 1 acompanhados em um hospital pediátrico terciário do sus em Brasília-DF	89
Laryssa Kellye Pereira Soares Sousa, Bolsista – PIC HCB.	
Renata Lazari Sandoval, Orientadora – PIC HCB.	

Perfil clínico-laboratorial de pacientes com diagnóstico de neuroblastoma em hospital público pediátrico no Distrito Federal	99
Marcelle Machado Mendes, Bolsista - PIC HCB.	
Robéria Mendonça de Pontes, Orientadora – PIC HCB.	
Perfil clínico de pacientes com alteração de TRECS em serviço de imunologia de hospital pediátrico terciário do Distrito Federal	109
Marcelo Henrique Ribeiro Amoroso, Bolsista - PIC HCB.	
Karina Mescouto de Melo, Orientadora – PIC HCB.	
Estudo do microambiente tumoral e investigação de marcadores moleculares na recaída em leucemia linfoblástica aguda de células B COM <i>ETV6/RUNX1</i>	120
Marina Mesquita Simões, Bolsista - PIC HCB.	
Bruna Cândido Guido, Orientadora – PIC HCB.	
Gatilhos de desconforto em pacientes com transtorno do processamento sensorial: estudo para o desenvolvimento de ambientes no hospital da criança de Brasília, Distrito Federal	135
Marina Vasconcellos Nunes, Bolsista - PIC HCB.	
Daniela Arruda Guterres Soares, Orientadora – PIC HCB.	
Estudo do microambiente tumoral em Leucemia Linfoblástica Aguda B de bom prognóstico em pacientes pediátricos	142
Paschoal Macedo Calori Rosseti, Bolsista - PIC HCB.	
João Lucas Cruz Souza, Orientador – PIC HCB.	
Perfil fenotípico e genotípico de casos suspeitos e confirmados de doença granulomatosa crônica atendidos em hospital terciário do Distrito Federal	150
Valkiria Kohlrausch Vidal Araujo, Bolsista - PIC HCB.	
Karina Mescouto de Melo, Orientadora – PIC HCB.	
Tratamento e perfil das crianças com atrofia muscular espinhal submetidas ao uso de nusinersena e de onasemnogeno abeparvoveque	158
Vanessa Menezes de Oliveira, Bolsista - PIC HCB.	
Natália Spinola Costa da Cunha, Orientadora – PIC HCB.	
Análise epidemiológica e prognóstica de pacientes com leucemia aguda de células T em um hospital pediátrico público em Brasília	168
Vitória Maria Xavier Silva, Bolsista - PIC HCB.	
Ricardo Camargo, Orientador – PIC HCB.	

APRESENTAÇÃO

A presente publicação reúne os trabalhos de pesquisa desenvolvidos no âmbito do Programa de Iniciação Científica do Hospital da Criança de Brasília concluídos em setembro 2024 e abril de 2025. Os bolsistas do programa foram selecionados de acordo com as normas do Edital PIC-HCB 02/2023 (Portaria Nº 336 de 04/07/2023) e Edital PIC-HCB 01/2024 (Portaria Nº 357 de 07/12/2023) do Programa de Iniciação Científica do Hospital da Criança de Brasília José Alencar regulamentado pela Resolução Nº 112, de 06/06/2018.

O objetivo geral do Programa é proporcionar aos alunos de graduação situações concretas de ensino-aprendizagem dos métodos de pesquisa científica, sob orientação de pesquisador qualificado. São objetivos específicos do programa:

- criar oportunidades para estudantes de cursos de graduação do Ensino Superior na área de saúde, visando a iniciação na pesquisa científica e ao desenvolvimento do pensar científico em sua prática;
- contribuir para a formação de profissionais da saúde com impactos positivos na prática profissional, dada a incorporação de condutas investigativas;
- possibilitar maior integração entre o Hospital da Criança de Brasília José Alencar e as
 - instituições de Ensino Superior do Distrito Federal, notadamente no campo das ciências da saúde;
 - favorecer a inserção de jovens em programas de pós-graduação, direcionando-os para programas de mestrado e doutorado nas ciências da saúde;
 - promover o desenvolvimento de iniciação científica no HCB de maneira estruturada e continuada, proporcionando a convivência de estudantes de graduação com procedimentos e metodologias de pesquisa adotadas nas especialidades médicas e demais especialidades envolvidas na assistência pediátrica; e
- estimular a pesquisa científica no Hospital da Criança de Brasília José Alencar.

A publicação dos resultados dos estudos pretende dar visibilidade aos esforços empreendidos pelos pesquisadores e seus bolsistas na busca de novos conhecimentos que beneficiem diretamente a qualidade da assistência prestada ao público do HCB. O teor dos textos bem como os resultados apresentados são de responsabilidade dos respectivos autores.

Ao tempo em que cumprimos os alunos bolsistas, agradecemos os orientadores e membros do Comitê de IC pelo empenho e dedicação ao longo desta trajetória.

Atenciosamente,

Valdenize Tiziani

Coordenadora do Programa de Iniciação Científica
Hospital da Criança de Brasília



CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA DE PACIENTES PORTADORES DE ESLEROSE TUBEROSA ACOMPANHADOS EM UM HOSPITAL PEDIÁTRICO TERCIÁRIO EM BRASÍLIA

Ananda Miclos de Oliveira¹
Renata Lazari Sandoval²

Resumo

A Esclerose Tuberosa (ET) é uma doença genética autossômica dominante, caracterizada pela formação de hamartomas em diversos órgãos, com manifestações neurológicas, impactando o neurodesenvolvimento e outras funções sistêmicas. Sua expressão clínica é altamente variável, exigindo monitoramento contínuo e abordagem multidisciplinar. Este estudo teve como objetivo geral caracterizar clinicamente os pacientes portadores de ET acompanhados no Hospital da Criança de Brasília José Alencar (HCB), contribuindo para o aprimoramento das estratégias diagnósticas e terapêuticas. Trata-se de uma pesquisa retrospectiva, com delineamento longitudinal, baseada na análise de 64 prontuários eletrônicos de pacientes. A maioria era natural do Distrito Federal (86,54%). As manifestações clínicas mais prevalentes foram epilepsia (76,56%), atraso no desenvolvimento (62,50%) e angiomiolipomas renais (59,37%). Ademais, o Transtorno do Espectro Autista foi identificado em 28,13% dos pacientes. Os exames de imagem mais realizados foram ressonância magnética do crânio (82,81%) e ultrassonografia abdominal (75%). O uso de Everolimus foi registrado em 17,19% dos casos, mostrando eficácia na redução de tumores e controle de crises epiléticas. Os achados reforçam a importância do diagnóstico precoce, da abordagem individualizada e da necessidade de padronização nos registros clínicos, a fim de garantir melhor qualidade de vida aos pacientes com ET.

Palavras-chave: esclerose tuberosa; herança genética; hamartomas; pediatria.

Introdução

A esclerose tuberosa (ET) é uma doença genética autossômica dominante de alta penetrância, com cerca de 80% dos casos relacionados a variantes patogênicas de novo (Tsao; Luo, 2025). Trata-se de uma desordem multissistêmica que afeta a migração, proliferação e diferenciação celular, resultando no desenvolvimento de tumores benignos e malignos (DiMario; Sahin; Edraimi-Fakhari, 2015). A ET é caracterizada pela presença de hamartomas em diversos órgãos, como cérebro, coração, pele, olhos, rins, pulmões e fígado, além de manifestações neurológicas, incluindo epilepsia, atraso no desenvolvimento e distúrbios neuropsiquiátricos (Hasbani; Crino, 2018). A incidência estimada da ET varia de 1 em 6.000 a 10.000 nascidos vivos, sem distinção de sexo ou etnia (Ferri, 2025).

¹ Acadêmica de Medicina da Universidade Católica de Brasília (UCB) e Bolsista de iniciação científica do Hospital da Criança de Brasília (HCB).

² Médica Geneticista do Hospital da Criança de Brasília (HCB)

A doença é causada por variantes patogênicas germinativas nos genes *TSC1* e *TSC2* (Safier; Cleves-Bayon; Gaesser, 2023). Juntas, essas proteínas formam um complexo que regula o crescimento e a proliferação celular, inibindo a via mTOR (Ferri, 2025). Variantes patogênicas que resultam na perda de função da hamartina ou tuberina levam à superativação da via mTOR, favorecendo a formação de tumores em diversos órgãos (DiMario; Sahin; Edraimi-Fakhari, 2015). O número, tamanho e localização desses tumores podem variar significativamente, mesmo entre portadores da mesma família (Hasbani; Crino, 2018).

Variantes patogênicas no gene *TSC1* são responsáveis por aproximadamente um terço dos casos de ET. Essas variantes incluem pequenas deleções e inserções (58%), variantes nonsense (23%), alterações em sítios de splicing (11%), variantes missense (6%) e grandes rearranjos (3%) (DiMario; Sahin; Edraimi-Fakhari, 2015). Os casos restantes estão associados a variantes patogênicas no gene *TSC2*, que incluem pequenas deleções e inserções (38%), variantes missense (26%), variantes nonsense (15%) e alterações em sítios de splicing (17%), além de grandes rearranjos (5%) (DiMario; Sahin; Edraimi-Fakhari, 2015).

O diagnóstico da Esclerose Tuberosa (ET) é realizado com base em testes genéticos e achados clínicos, seguindo os critérios estabelecidos pela Conferência Internacional de Consenso do Complexo de Esclerose Tuberosa (Rodrigues; Gomes; Costa, 2012). Para um diagnóstico definitivo, é necessária a identificação das variantes patogênicas nos genes *TSC1* ou *TSC2*. Os critérios maiores são: máculas hipomelanóticas (≥ 3 , com pelo menos 5 mm de diâmetro); angiofibromas (≥ 3); fibromas ungueais (≥ 2); mancha de Shagreen; múltiplos hamartomas retinianos; múltiplos tubérculos corticais e/ou linhas de migração radial; nódulos subependimários (≥ 2); astrocitoma subependimário de células gigantes (SEGA); rabiomioma cardíaco; linfangioleiomiomatose (LAM); e angiomiolipomas (≥ 2) (Safier; Cleves-Bayon; Gaesser, 2023). Os critérios menores incluem: lesões cutâneas tipo “Confete”; pits múltiplos no esmalte dentários (≥ 3); fibromas intraorais (≥ 2); mancha acrômica retiniana; múltiplos cistos renais; hamartomas não renais; e lesões ósseas escleróticas (Safier; Cleves-Bayon; Gaesser, 2023).

O manejo da ET foca nas manifestações neurológicas e sistêmicas, incluindo o uso de inibidores da mTOR, como Sirolimus e Everolimus, que possuem propriedades antiproliferativas e antiangiogênicas (Henske *et al.*, 2016). Esses medicamentos têm demonstrado eficácia na redução de lesões renais e cerebrais, melhora da função pulmonar e diminuição da frequência das crises epiléticas (Rout; Leslie, 2024). Especificamente, o tratamento dos astrocitomas subependimários de células gigantes (SEGAs) com Everolimus está associado a uma redução sustentada do volume tumoral, ao aparecimento de novas lesões e à frequência das crises epiléticas (Henske *et al.*, 2016). No caso dos angiomiolipomas associados à ET, o Everolimus mostrou-se eficaz na redução ou estabilização do tamanho da neoplasia, além de prevenir sangramentos (Henske *et al.*, 2016).

No aspecto teórico, a investigação amplia o conhecimento sobre a expressão fenotípica da ET em uma população específica, fornecendo subsídios para futuras pesquisas sobre a variabilidade clínica e os mecanismos subjacentes às manifestações da doença. Do ponto de vista prático, a caracterização clínica detalhada dos pacientes permite a identificação de necessidades específicas de cuidado, promovendo um manejo clínico dos pacientes podem contribuir para otimizar as estratégias terapêuticas e aprimorar a qualidade de vida dos afetados.

Do ponto de vista social, a ET representa um desafio significativo para os pacientes e suas famílias, uma vez que as manifestações neurológicas e sistêmicas impactam diretamente a qualidade de vida e a independência funcional dos indivíduos. O acompanhamento multidisciplinar desses pacientes é essencial para um manejo adequado da doença, e estudos epidemiológicos locais são fundamentais para a formulação de políticas de saúde pública voltadas para essa população. Diante desse contexto, o presente estudo tem como objetivo caracterizar clinicamente os pacientes com esclerose tuberosa acompanhados no Hospital da

Criança de Brasília José de Alencar, contribuindo para o avanço da ciência nas áreas de pediatria, genética e oncologia, bem como para a melhoria das abordagens diagnósticas e terapêuticas dessa condição complexa.

A justificativa para o presente estudo foi conhecer as características clínicas dos pacientes portadores de esclerose tuberosa acompanhados no Hospital da Criança de Brasília José de Alencar (HCB). A partir disso, descrever o perfil epidemiológico e caracterizar as manifestações clínicas desses pacientes.

Metodologia

Este estudo trata-se de uma pesquisa de coorte retrospectiva, com delineamento longitudinal, realizada no Hospital das Crianças de Brasília José de Alencar (HCB). O principal objetivo foi a caracterização clínica e epidemiológica de pacientes diagnosticados com Esclerose Tuberosa (ET), a partir da análise de seus prontuários médicos eletrônicos.

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa sob o parecer CAAE: 66964123.4.0000.0144. Foram incluídos na amostra pacientes com diagnóstico confirmado de ET, acompanhados regularmente pelo serviço de referência do hospital. Os critérios de inclusão envolveram pacientes de todas as faixas etárias, com dados clínicos, laboratoriais e de imagem registrados de maneira completa e acessível nos prontuários eletrônicos. Foram excluídos os pacientes com diagnóstico inconclusivo de ET e prontuários incompletos.

Os dados foram extraídos e organizados em uma planilha do *Microsoft Excel* (2016) e, posteriormente, analisados estatisticamente por meio do software *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 23 (IBM Corp., 2015). Foram realizadas análises descritivas e de associação, utilizando o teste Qui-quadrado de Pearson, com correções quando necessário (correção de continuidade de Yates ou cálculo exato de Fisher), e adotando um nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

As variáveis do estudo são:

- Dados demográficos e identificadores: sexo, data de nascimento, naturalidade, estado de residência, histórico familiar de ET, óbito.

- Triagem para síndromes de predisposição ao câncer: presença de malformação maior congênita, disformias menores, anomalia vascular e/ou linfática, hipertrofia corpórea, atraso nos marcos do desenvolvimento, deficiência intelectual presumida ou confirmada por teste neuropsicológico, distúrbio de comportamento, epilepsia, genitália ambígua, puberdade precoce, baixa estatura, alta estatura, macrocefalia, microcefalia, alterações de pigmentação específica, história pessoal de tumor benigno, história pessoal de câncer, história familiar de câncer < 50 anos (familiares de 1º, 2º ou 3º grau), citopenia, imunodeficiência, erro inato do metabolismo.

- Exames de rastreamento:
 - Tomografia de crânio;
 - Ressonância magnética do crânio;
 - Tomografia de tórax;
 - Tomografia de abdome;
 - Ressonância magnética ou tomografia computadorizada de coluna vertebral;
 - Ultrassonografia de abdome;
 - Ultrassonografia de tireoide;
 - Ressonância rápida do corpo inteiro.

- Esclerose Tuberosa:
 - Resultados clínicos que o paciente apresenta ou já apresentou: máculas hipocrômicas; angiofibroma; mancha Shagreen; múltiplos hamartomas retinianos; múltiplos tubérculos corticais e/ou linhas de migração radiais; nódulo(s) subependimário(s), linfagiomatose; angiomiolipoma; placa fibrosa em frente, fibromas ungueais; astrocitoma subependimário de células gigantes (SEGA); rabdomioma cardíaco; lesões anunciadas tipo “Confete”; pits de esmalte dentário; fibromas intraorais; placa de retiniana acrômica; cistos renais; lesões ósseas escleróticas.
 - Definir a primeira vez que este sinal/sintoma foi observado: ao nascimento; < 1 ano; entre 1 e 5 anos; entre 6 e 10 anos; entre 11 e 15 anos; entre 16 e 20 anos; > 20 anos; informação desconhecida.

Resultado e discussão

A população estudada foi composta por 64 pacientes, sendo 54,69% do sexo masculino e 45,31% do sexo feminino, observado na tabela 1. Não há evidência de predominância de gênero na incidência da ET, o que está em consonância com os dados encontrados no presente estudo (Ferri, 2025). A maioria dos pacientes (86,54%) era natural do Distrito Federal, sugerindo uma concentração dos atendimentos em centros especializados da região e reforçando a importância da estrutura hospitalar local para o manejo da doença.

Não foram registrados óbitos na amostra analisada. No entanto, as principais causas de mortalidade em ET são complicações renais e crises epiléticas refratárias (Maciel; Cunali, 2015). A ausência de óbitos pode estar associada ao acompanhamento multiprofissional eficiente e à adesão dos pacientes às terapias disponíveis. A monitorização constante, especialmente de alterações renais e neurológicas, é essencial para evitar complicações fatais.

Tabela 1 – Análise descritiva dos dados demográficos e clínicos de pacientes com diagnóstico de ET e acompanhados no HCB

Dados demográficos e clínicos	n	%	
Sexo	Feminino	29	45,31
	Masculino	35	54,69
Naturalidade	Bahia	2	3,85
	Goiás	3	5,77
	Piauí	1	1,92
	Roraima	1	1,92
	Distrito Federal	45	86,54
	Sem informação	12	
Estado de residência	Acre	1	1,56
	Bahia	3	4,69
	Goiás	17	26,56
	Roraima	1	1,56
	Distrito Federal	42	65,63
Óbito	Não	64	100,00

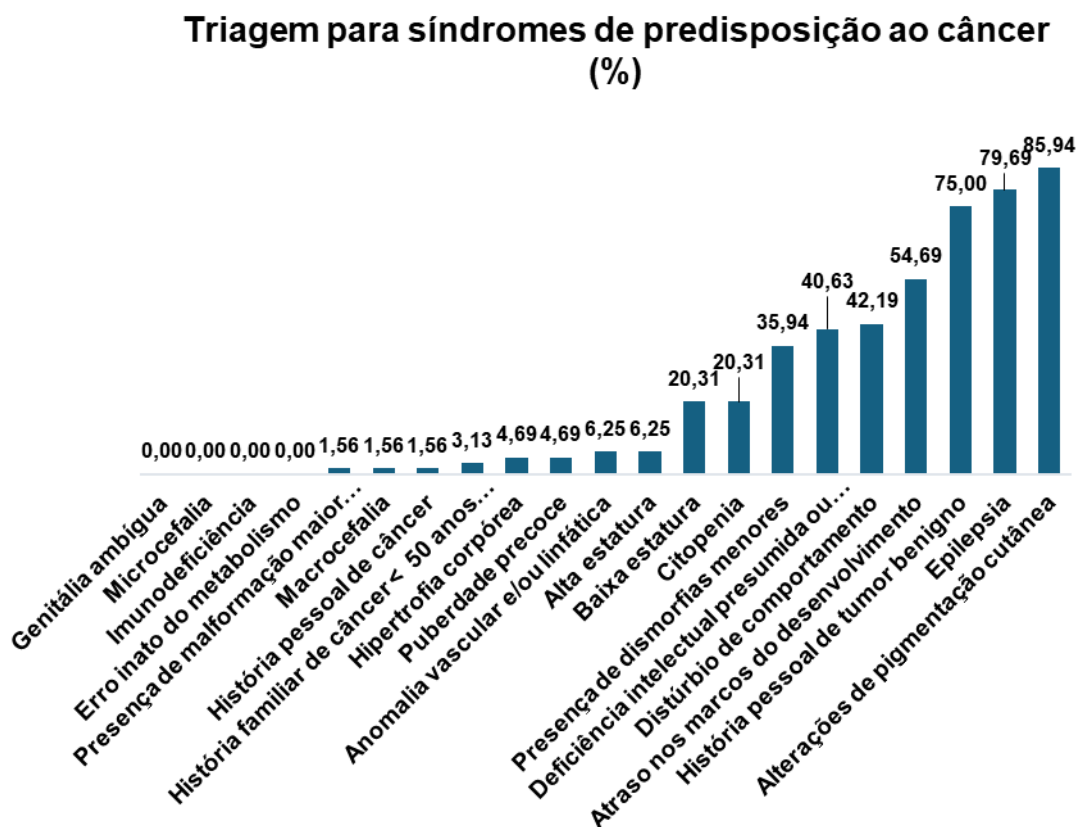
Fonte: elaboração pelo Serviço de Bioestatística do HCB com base nos dados coletados.

Outro fator relevante é o momento do aparecimento das primeiras manifestações clínicas. De acordo com os dados analisados, 87,5% das máculas hipocrômicas foram

detectadas ao nascimento e com menos de um ano de idade, correspondendo a 40 pacientes. Esse achado corrobora o estudo, que descreve essas lesões cutâneas como um dos primeiros sinais visíveis da ET novo (Tsao; Luo, 2025). Já as lesões como angiomiolipomas renais, encontrados em 38 pacientes (59,37%), e astrocitomas subependimários, presentes em 22 pacientes (34,44%), foram detectados majoritariamente na infância e adolescência. Isso reforça a necessidade de monitoramento contínuo, pois sugere que a ET se desenvolve de forma escalonada ao longo da vida, exigindo diferentes estratégias de intervenção em cada fase, conforme a progressão da doença e o surgimento de novas complicações.

A epilepsia foi um dos achados mais comuns, identificada em 49 pacientes (76,56%), como identificado na figura 1. Os estudos demonstraram que crises epiléticas frequentemente ocorrem nos primeiros anos de vida e são de difícil controle (Hasbani; Crino, 2018). Além disso, a presença de múltiplos tubérculos corticais, detectados em 51 pacientes (79,69%), sugere uma forte correlação com o desenvolvimento de epilepsia. O comprometimento neurológico associado à ET reforça a necessidade de monitoramento neurológico contínuo para otimização terapêutica e prevenção de danos cognitivos, principalmente devido o impacto da atividade epilética precoce no neurodesenvolvimento.

Figura 1 – Percentual dos dados de triagem para síndromes de predisposição ao câncer em pacientes com diagnóstico de ET e acompanhados no HCB



Fonte: elaboração pelo Serviço de Bioestatística do HCB com base nos dados coletados.

A ressonância magnética de crânio foi o exame mais realizado (82,81%), seguida pela Ultrassonografia de abdome (75,00%) (Tabela 2). A literatura enfatiza que a monitorização por exames de imagem é essencial para detectar precocemente complicações renais e neurológicas (Rout; Leslie, 2024). O alto número de exames realizados reflete a importância do

acompanhamento contínuo desses pacientes, visto que a ET pode apresentar manifestações progressivas ao longo da vida.

Tabela 2 – Análise descritiva de rastreamento e regiões avaliadas em pacientes com diagnóstico de ET e acompanhados no HCB

Exames de rastreamento	n	%
Ultrassonografia de tireoide com doppler	1	1,56
Ressonância rápida do corpo inteiro	1	1,56
Ressonância magnética ou tomografia computadorizada de coluna vertebral	2	3,13
Ultrassonografia de tireoide	4	6,25
Tomografia do abdome	22	34,38
Tomografia do tórax	26	40,63
Tomografia de crânio	41	64,06
Ultrassonografia de abdome	48	75,00
Ressonância magnética do crânio	53	82,81

Fonte: elaboração pelo Serviço de Bioestatística do HCB com base nos dados coletados.

O rabdomioma cardíaco também foi um achado clínico relevante, identificado em 36 pacientes (56,25%). Essa condição é considerada uma das primeiras manifestações da ET, sendo geralmente detectada ainda na vida intrauterina ou nos primeiros anos de vida (Rodrigues; Gomes; Costa, 2012). O rabdomioma cardíaco, apenas de sua tendência à regressão espontânea, pode estar associado a complicações cardíacas, como obstrução do fluxo sanguíneo e arritmias, tornando essencial a monitorização regular por ecocardiograma.

O atraso no desenvolvimento foi observado em 40 pacientes (62,50%), sendo um dos comprometimentos mais relevantes associados à ET. A disfunção da via mTOR fortemente impactada pelas mutações nos genes *TSC1* e *TSC2*, resulta em alterações na organização neuronal e na plasticidade sináptica, contribuindo para déficits cognitivos, motores e comportamentais (Safier; Cleves-Bayon; Gaesser, 2023). Os dados analisados revelam que os pacientes com ET frequentemente apresentam dificuldades em atingir marcos motores e cognitivos na idade esperada, o que reforça a necessidade de intervenções terapêuticas precoces, como fisioterapia, terapia ocupacional e acompanhamento neuropsicológico para minimizar impactos na qualidade de vida.

A relação entre ET e Transtorno do Espectro Autista (TEA) foi outro achado relevante, identificado em 18 pacientes (28,13%). Estudos indicam que a mutação nos genes *TSC1* e *TSC2* interfere na regulação da via mTOR impactando o desenvolvimento neuronal e resultando em transtornos neuropsiquiátricos (Curatolo; Bombardieri; Jozwiak, 2008). A elevada prevalência de TEA na amostra destaca a necessidade de uma abordagem multidisciplinar, que inclua neurologistas, psicólogos e terapeutas ocupacionais, visando intervenções precoces para minimizar impactos na qualidade de vida desses pacientes.

Em relação ao tratamento, 11 pacientes (17,19%) utilizaram o medicamento Everolimus em algum momento do tratamento. Esse inibidor da via mTOR tem sido amplamente estudado e tem demonstrado eficácia no controle de tumores associados à ET, como astrocitomas subependimários e angiomiolipomas renais (Henske *et al.*, 2016). Além disso, há evidência de seu benefício na redução da frequência de crises epiléticas e na melhora de sintomas comportamentais em pacientes com TEA associado à ET. Isso reforça a importância de protocolos terapêuticos personalizados para otimizar o manejo da doença e minimizar suas complicações a longo prazo.

A pesquisa avançou conforme o planejado, atingindo as metas propostas especialmente na análise de prontuários e registros laboratoriais para a construção da base de

dados a ser estudada. No entanto, alguns desafios surgiram durante a análise. Um dos principais problemas foi a ausência de retorno de alguns pacientes às consultas, o que resultou em informações limitadas. Além disso, algumas informações estavam incompletas, não tendo um detalhamento dos exames de rastreamento na plataforma Soul MV, com informações frequentemente registradas apenas nas evoluções.

Conclusão

Os achados deste estudo evidenciam a heterogeneidade clínica da Esclerose Tuberosa (ET) e reforçam a importância do diagnóstico precoce e do acompanhamento contínuo desses pacientes. A análise demonstrou que a maioria das manifestações iniciais, como máculas hipocrômicas, surgem ainda no primeiro ano de vida, o que enfatiza a necessidade de triagem neonatal eficaz para detecção precoce da doença. Além disso, a elevada incidência de epilepsia (76,56%) e sua correlação com múltiplos tubérculos corticais (79,69%) ressaltam o impacto neurológico da ET, reforçando a necessidade de um manejo clínico especializado para minimizar danos cognitivos e melhorar a qualidade de vida. O estudo também identificou que 62,50% dos pacientes apresentaram atraso no desenvolvimento, resultado que corrobora a literatura sobre os efeitos da disfunção da via mTOR no neurodesenvolvimento. Esse achado destaca a necessidade de intervenções terapêuticas precoces, incluindo reabilitação motora e cognitiva, para otimizar o prognóstico dos pacientes. A associação significativa entre ET e TEA, presente em 28,13% dos casos, reforça a relevância de uma abordagem multidisciplinar envolvendo neurologistas, psicólogos e terapeutas ocupacionais para garantir um suporte adequado às necessidades comportamentais e sociais desses indivíduos.

No que se refere às complicações sistêmicas, o estudo confirmou a alta prevalência de angiomiolipomas renais (59,37%) e astrocitomas subependimários (34,44%), bem como a presença de rabiomiomas cardíacos em 56,25% dos pacientes. Esses achados demonstram a importância do monitoramento contínuo por exames de imagem, como ressonância magnética e ecocardiograma, para evitar complicações graves associadas a essas lesões. O uso do medicamento Everolimus por 17,19% dos pacientes reforça seu papel como alternativa terapêutica eficaz no manejo das complicações tumorais e epiléticas da ET.

Além disso, os desafios identificados no estudo, como a ausência no retorno de pacientes e falhas no registro de exames, destacam a necessidade de melhorias nos protocolos de acompanhamento. Estratégias que aumentem a adesão ao tratamento e aprimorem a padronização dos registros hospitalares podem contribuir significativamente para um manejo mais eficaz da doença. Apesar dessas limitações, os resultados obtidos contribuem significativamente para o entendimento da ET e reforçam a importância do diagnóstico precoce, do acompanhamento multidisciplinar e do desenvolvimento de estratégias terapêuticas individualizadas para otimizar o manejo da doença e a qualidade de vida dos pacientes.

Diante dos achados, observa-se a necessidade de investigações futuras que abordem, de forma mais aprofundada, o uso de inibidores da via mTOR, como o Everolimus, no contexto da Esclerose Tuberosa em pacientes pediátricos. Além disso, fazem-se necessários estudos que avaliem os possíveis impactos da exposição frequente a exames de imagem no acompanhamento longitudinal desses pacientes. A elaboração de diretrizes clínicas institucionais também representa um campo a ser explorado, com vistas à padronização da assistência e a qualificação dos fluxos de cuidado.

Referências

CURATOLO, P.; BOMBARDIERI, R.; JOZWIAK, S. Tuberous sclerosis. *The Lancet*, v. 372, n. 9639, p. 657-668, 2008. DOI: 10.1016/S0140-6736(08)61279-9.

DIMARIO, F. J; SAHIN, M; EBRAHIMI-FAKHARI, D. Tuberous sclerosis complex. **Pediatric Clinics of North America**, v. 62, n. 3, p. 633-648, jun. 2015. DOI: 10.1016/j.pcl.2015.03.005.

FERRI, F. F. Tuberous Sclerosis. *In*: FERRI, F. F (org.). **Ferri's Clinical Advisor 2025**. 5. ed. [S. l.]: Elsevier, 2025. p. 1092.e31-1092.e34.

HASBANI, D. M; CRINO, P. B. Tuberous sclerosis complex. *In*: GESCHWIND, D. H.; PAULSON, H. L.; KLEIN, C. (ed.). **Handbook of Clinical Neurology**. [S. l.]: Elsevier, 2018. v. 148. cap. 52, p. 813-822.

HENSKE, E. P. *et al.* Tuberous sclerosis complex. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 2, n. 1, p. 16035, 2016. DOI: 10.1038/nrdp.2016.35.

MACIEL, A. C. S; CUNALI, V. C. A. Esclerose tuberosa: relato de caso e revisão de literatura. **Residência Pediátrica**, v. 5, n. 2, 2015. Disponível em: <https://www.residenciapediatria.com.br/detalhes/148/esclerose-tuberosa--relato-de-caso-e-revisao-de-literatura>. Acesso em: 27 jun. 2025.

RODRIGUES, D. A; GOMES, C. M; COSTA, I. M. C. Tuberous sclerosis complex. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 87, n. 2, p. 184-196, 2012. DOI: 10.1590/S0365-05962012000200001.

ROUT, P; LESLIE, S. W. Renal angiomyolipoma. **StatPearls**, 2 maio 2024. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK585104/>. Acesso em: 27 jun. 2025.

SAFIER, R. A.; CLEVES-BAYON, C.; GAESSER, J. Neurology. *In*: ZITELLI, B. J. *et al.* (ed.). **Zitelli and Davis' Atlas of Pediatric Physical Diagnosis**. 8. ed. [S. l.]: Elsevier, 2023. cap. 16, p. 562-592.

TSAO, H.; LUO, S. Neurofibromatosis and tuberous sclerosis complex. *In*: BOLOGNIA, J. L.; SCHAFFER, J. V.; CERRONI, L. (ed.). **Dermatology**. 5. ed. [S. l.]: Elsevier, 2025. v. 2. cap 61, p. 992-1011.

ACRÉSCIMOS DO SEQUENCIAMENTO DE NOVA GERAÇÃO SOBRE O DIAGNÓSTICO DE CRIANÇAS COM LEUCEMIAS AGUDAS EM UM HOSPITAL PÚBLICO BRASILEIRO

Caio Silva Sanches¹
Ricardo Camargo²

Resumo

Aproximadamente 30% dos cânceres pediátricos são leucemias agudas. Dos 33 pacientes testados pela metodologia de Sequenciamento de Nova Geração (*NGS*), no período de 2018 a 2024, no nosso hospital, cerca de 91% possuíam leucemias linfoblásticas agudas, enquanto os demais, leucemias mieloides agudas. Não houve grande diferença numérica entre os gêneros da população estudada e a faixa etária mais prevalente situou-se entre 1 a 10 anos de idade. Nosso principal objetivo foi compreender os benefícios e desafios da aplicação do *NGS* comparando-o a outras metodologias biomoleculares aplicadas nessa coorte. O *NGS* expôs, duas novas fusões nunca antes descritas na literatura e apresentou concordância significativamente estatística entre os seus achados e os da pesquisa de translocações por *RT-PCR*. Criamos e validamos, com sucesso, uma estratificação customizada de risco ao diagnóstico que unificasse os 8 protocolos terapêuticos utilizados na instituição, durante o período. Constatamos a relevância da metodologia de *NGS* frente ao arsenal diagnóstico das leucemias agudas, apesar das suas onerosas demandas. Por fim, ciente de que a tecnologia ainda é pouco difundida no sistema público de saúde brasileiro, avaliamos os impactos da sua implementação de modo sistemático e os pré-requisitos para a sua sustentabilidade.

Palavras-chave: leucemia linfóide; leucemia mieloide; sequenciamento de nova geração; pediatria; computação de alta performance.

Introdução

As leucemias agudas (LA) são neoplasias de células-tronco caracterizadas pela proliferação maligna e o acúmulo de células imaturas e disfuncionais na medula óssea (MO) (Labiner, 2020, p. 496). A morte do paciente, frequentemente, ocorre devido a infecções ou hemorragia, após semanas ou meses de declínio do estado geral pela doença, a menos que uma terapia eficaz mude o seu curso (Labiner, 2020, p. 496). As duas principais macro categorias de leucemias agudas são classificadas de acordo com a origem da célula e seu defeito primário (Labiner, 2020, p. 496). Se afetar a maturação e diferenciação de uma célula progenitora mieloide comum, classifica-se como leucemia mieloide aguda (LMA) (Labiner, 2020, p. 497). Caso afete, a célula progenitora linfóide comum, a doença é classificada como leucemia

¹ Acadêmico de Medicina da Escola Superior de Ciências da Saúde (ESCS) e Bolsista de Iniciação Científica do Hospital da Criança de Brasília José de Alencar (HCB).

² Doutor em Biologia Molecular pela Universidade de Brasília (UNB) e Supervisor Técnico do Laboratório de Pesquisa Translacional do Hospital da Criança de Brasília José de Alencar (HCB).

linfoblástica aguda (LLA) (Labiner, 2020, p. 497), podendo ainda ser subdividida, principalmente, em LLA-B e LLA-T (Labiner, 2020, p. 497).

As tecnologias de *NGS* são robustas metodologias diagnósticas capazes de conferir grande precisão à estratificação diagnóstica de neoplasias e na avaliação prospectiva do genoma humano (Prasad *et al.*, 2021). Tal tecnologia realiza o sequenciamento profundo do todo ou de partes específicas do genoma (Prasad *et al.*, 2021). Nas LA, a técnica complementa avaliações de doença residual mínima (DRM) e expande a busca de achados genéticos vinculados às leucemias, ao mesmo tempo em que valida outras técnicas biomoleculares tradicionais (Prasad *et al.*, 2021). A sua implementação demanda uma equipe multidisciplinar extremamente capacitada para o preparo laboratorial das amostras e processamento de dados genômicos³. Com o auxílio de ferramentas tradicionais e do *NGS*, aprimora-se a emissão de laudos que propiciem ao clínico a estratificação precisa da doença em estudo, ajustando-a a parâmetros prognósticos para a escolha mais sábia do protocolo terapêutico de acordo com o risco da leucemia diagnosticada (Chen *et al.*, 2023). Outro grande benefício do *NGS* consiste na ampliação do potencial exploratório de alterações genéticas, de significado ainda oculto à Ciência, as quais, após rigorosa validação, poderão expandir os critérios de estratificação prognóstica, ou sugerir o agrupamento de variantes de leucemias atualmente pouco compreendidas (Cree, 2022).

Tendo à disposição no nosso hospital tanto as tecnologias tradicionais quanto o *NGS*, este estudo se propôs a conhecer, validar e comparar os efeitos da implementação da tecnologia, em relação às metodologias tradicionais, em benefício de pacientes tratados no HCB, inserido no Sistema Único de Saúde (SUS). Além disso, nos propusemos a avaliar os potenciais benefícios e os desafios da disseminação do uso do *NGS* em larga escala, havendo como exemplo a realidade deste centro de referência em assistência pediátrica. Este trabalho também expôs os pré-requisitos necessários para a difusão da tecnologia de *NGS* em ampla escala e em qual momento das etapas de implementação países desenvolvidos e o Brasil se encontram.

Objetivos

Objetivo geral: avaliar o impacto da implementação da tecnologia de *NGS* no diagnóstico e seguimento de pacientes com leucemias agudas pediátricas.

Objetivos específicos: correlacionar desfechos clínicos e epidemiológicos relevantes, sob a óptica dos achados biomoleculares dos pacientes. Compreender se há resultados de *NGS*, que seriam suficientes para alterar a estratificação de risco diagnóstico e o prognóstico dos pacientes em estudo. Comparar o desempenho do *NGS*, a metodologias tradicionais utilizadas no diagnóstico das leucemias agudas da infância. Listar possíveis novas alterações genéticas encontradas exclusivamente por *NGS*. Nivelar, de forma atualizada, a estratificação de risco dos protocolos de tratamento contra as LLA-B utilizados no período, não invalidando as classificações dos protocolos originais, considerando os exames complementares disponíveis. Compreender a aplicabilidade e a sustentabilidade do uso difuso das metodologias de *NGS*, pelos sistemas de saúde do Brasil e do mundo.

Metodologia

Trata-se de um estudo observacional analítico, retrospectivo e prospectivo pautado em prontuários assistenciais obtidos entre 2018 e 2024, vinculado ao projeto de doutorado da Dra. Estefânia Rodrigues Biojone na área de Genética Humana, aprovado pelo CEP sob o parecer de nº: 4.825.280 e CAAE: 44796221.9.0000.0144, cuja amostra foi obtida por conveniência.

Os dados foram coletados na plataforma de prontuários *Soul MV*® e criptografados por meio de códigos únicos para cada primeira amostra diagnóstica do aspirado de medula óssea de cada paciente estudado (*BM* seguido por 4 números).

Durante a estratificação diagnóstica e o seguimento utilizou-se: hemograma; rotina do líquido; radiografia de tórax; ultrassonografias de partes moles; citometria de fluxo com imunofenotipagem; pesquisa de translocações por *Real Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)*; cariótipo por bandamento G; *Fluorescent In Situ Hybridization (FISH)*; eletroforese capilar e sequenciamento de Sanger. As análises por *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA)* foram realizadas apenas em pacientes diagnosticados com LLA-B. No cariótipo, considerou-se hipodiploidia (<45 cromossomos) (Miller *et al.*, 2018), hiperdiploidia (entre 47 e 50 cromossomos) (Haas; Borkhardt, 2022, p. 2769) e alta hiperdiploidia (50 ≤ cromossomos) (Ramos-Muntada *et al.*, 2022). Foram agrupados na variável “Outras alterações” resultados com citogenética anormal, contudo, sem aneuploidias.

Durante a estratificação diagnóstica por *target NGS (t-NGS)* confeccionou-se a análise de captura híbrida a partir de um painel genético customizado construído por especialistas em biologia molecular do HCB, a partir de genes sabidamente associados às LA da infância pela literatura mundial (Cree, 2022). Contudo, sem impedir o potencial exploratório para a identificação de novos parceiros de fusão gênica. O recorte e o mapeamento das amostras foram feitos na plataforma *HG19*. As chamadas das fusões foram processadas pelos softwares: *TopHat*®, *DragenRNA*®, *CLC Genomics*®, *Arriba*®, *CICERO*® e *STAR-Fusion*®. A profundidade de cobertura das chamadas foi realizada em no mínimo 800 e no máximo 1.500 vezes, considerando-se chamada satisfatória, por qualquer software, quando a coincidência dos achados esteve em um intervalo mínimo de 5 a 10 leituras repetidas de captura para cada alteração diagnosticada.

Critérios de inclusão: possuir <18 anos no momento do diagnóstico da LA. Ter concluído pelo menos o diagnóstico da LA no HCB. Ter a comprovação de todos os exames diagnósticos arquivada na base de dados do HCB. Ter realizado análise biomolecular por *NGS* com chamada satisfatória por pelo menos um dos softwares utilizados.

Critérios de exclusão: possuir leucemia mieloide de linhagem megacariocítica, ou de linhagem promielocítica. Possuir outros diagnósticos de neoplasias malignas concomitantes às LA. Não ter aderido ao protocolo de tratamento selecionado pela equipe médica.

As análises dos dados de associação/concordância foram realizadas no programa *IBM SPSS (Statistical Package for the Social Sciences 23, 2015)*. O nível de significância utilizado em todo estudo foi de 5%. Para os desfechos clínicos realizou-se o teste Exato de Fisher. As razões de chance (R.C.) com significância estatística foram processadas em tabelas 2 x 2 e descritas com o intervalo de confiança de 95%. Para as variáveis quantitativas, inicialmente avaliou-se em relação à distribuição dos dados por meio do **teste de Kolmogorov Smirnov**. Rejeitou-se a hipótese nula da normalidade de distribuição dos dados sendo, portanto, utilizado o **teste não paramétrico de Kruskal-Wallis** para três ou mais grupos e o **teste U de Mann-Whitney** para dois grupos. Os resultados das translocações por *RT-PCR* foram comparados aos resultados de *NGS* por meio do **coeficiente kappa de Cohen** para avaliar a concordância entre ambas as metodologias diagnósticas relativas às pesquisas de fusões gênicas. Apenas os resultados com significância estatística foram apresentados na seção Resultados & Discussão.

Os pacientes diagnosticados com LMA seguiram a estratificação de risco proposta pelo protocolo **GELMAI 2021** (Wanderley *et al.*, 2021) e lactentes com <1 ano de idade seguiram a estratificação de risco proposta pelo protocolo **Interfant-06** (Egeler *et al.*, 2006). Devido à grande diversidade de protocolos terapêuticos selecionados para pacientes entre 1 e 18 anos, com LLA, entre 2018 e 2024, criamos critérios de estratificação customizados e atualizados que nivelassem o risco desses pacientes, sem invalidar a estratificação original dos protocolos utilizados, a partir da junção dos critérios de estratificação embasados pelo

UpToDate® (Horton, 2023) e pelo protocolo **GBTLI 2021** (Lee *et al.*, 2022). Com o objetivo de monitorar as novas variantes de classificação das LLA-B, os pacientes que se encaixaram no subgrupo: “*B-ALL with other defined genetic abnormalities*” (Cree, 2022) foram estudados à parte. O detalhamento das nossas estratificações de risco e a explicação da *WHO-HAEM5* sobre as LLA-B-*other*, encontram-se no **Apêndice A**.

Resultados e discussão

Análise descritiva

Incluímos 33 pacientes com LA. Cerca de 91% dos pacientes possuíam LLA-B, enquanto 9% LMA. Aproximadamente 50% dos pacientes eram do sexo masculino e feminino, enquanto a faixa etária predominante foi entre 1 a 10 anos de idade. Quase 75% das crianças pertenciam à etnia parda e <10% de todas elas possuíam diagnóstico formal de Síndrome de Down. Em relação à leucometria, 66% dos pacientes apresentaram <10.000 leucócitos/mm³ e 3% dos pacientes apresentaram infiltração em SNC (SNC3) no diagnóstico (Horton, 2023; Lee *et al.*, 2022), todavia, incluindo esse número, cerca de 15% da população em estudo apresentou infiltração extramedular no diagnóstico.

Citogenética: 94% dos pacientes realizaram cariótipo. Desses, 33% eram normais, 18% com hiperdiploidia, 6% com hipodiploidia e 15% com alta hiperdiploidia. Duas amostras estavam danificadas e 7 pacientes apresentaram outras alterações. No grupo de “Outras alterações” havia: 1 criança com deleção no cromossomo 7; 1 com adição do cromossomo X; 1 com adição do cromossomo 8; 3 crianças com a translocação *t(12;21)* e 1 criança com a translocação *t(9;22)*.

Protocolos utilizados: seguir, os nomes dos 8 protocolos utilizados com a respectiva frequência de usuários: *ALL BFM 2009* (17); *ALL BFM 1995* (8); *GBTLI 1999* (2); *GELMAI 2021* (2); *ALL BFM REZ 2002* (1); *AML BFM 2004* (1); *Interfant-06* (1); *GBTLI 2021* (1). Percebe-se a necessidade da análise pela nossa estratificação customizada, pois entre os anos de 2018 e 2024 há diversos pacientes com LLA-B, maiores de 1 ano de idade, utilizando 5 tipos de protocolos diferentes de versões desde 1995 até 2021.

Aplicação da nossa estratificação de risco customizada e os desfechos de interesse, sob essa óptica: obtivemos da coorte: 15% baixo risco (BR); 45% risco intermediário (RI); 33% alto risco (AR) e 6% muito alto risco (MAR).

Perdas de seguimento: dois pacientes. **Falha indutória:** um paciente. **Recidivas:** cinco pacientes. **TMO:** Todos os pacientes que realizaram TMO possuíam alterações pelo NGS: *BM1277 (CBFB::MYH11 inv(16))*, *BM1284 (RUNX1::CTC1)* e *BM1501 (ETV6::RUNX1)*. **Remissão completa:** independentemente dos outros desfechos estudados, 80,65% dos pacientes apresentaram remissão completa até o fim da coleta de dados. **Óbitos:** aproximadamente 20% dos pacientes foram a óbito por complicações, associadas ou não à toxicidade do tratamento e cerca de 66% dos pacientes com LMA faleceram. Quase 33% de todos os óbitos ocorreram em pacientes com síndrome de Down e cerca de 83% das crianças que faleceram possuíam chamadas inespecíficas pelo NGS, enquanto o único óbito com chamada específica apresentou alteração considerada favorável pelos critérios prognósticos do GELMAI 2021 (Wanderley *et al.*, 2021), pela translocação *CBFB::MYH11 inv(16)*.

Análises de associação/concordância - Variáveis significativamente vinculadas à estratificação de risco: deleção nos genes *CDKN2A/B* associados ao muito alto risco ($p = 0,023^*$); pesquisa de translocações por *RT-PCR* e os resultados das chamadas de NGS pelos softwares: *DragenRNA®* ($p = 0,017^*$), *CICERO®* e *STAR-Fusion®* ($p = 0,026^*$). Em relação às variáveis quantitativas, apenas a idade teve correlação significativa com o risco, em que pacientes com idade ≥ 10 anos foram vinculados ao alto risco ($p = 0,034^*$). Sobre a pesquisa de

translocações por *RT-PCR* ($p = 0,022^*$): em 19 pacientes não foram encontradas alterações; em 7 o resultado foi a fusão *ETV6::RUNX1*; em 3 a *TCF3::PBX1*; em 2 a *CRLF2::P2RY8* e em 1 a *BCR::ABL1*, considerando todas as crianças com LLA-B. Enquanto uma criança com LMA apresentou o achado por *CBFB::MYH11inv(16)* por *RT-PCR*. De todos os achados por *RT-PCR*, uma criança com LLA-B (*BMI490*), apresentou a fusão *CRLF2::P2RY8* e não teve chamadas satisfatórias pelo *NGS*. Mais de 85% dos pacientes que foram associados ao alto risco possuíam idade ≥ 10 anos e todos os pacientes classificados como **muito alto risco** possuíam deleções nos genes *CDKN2A* e *2B*. **Biologia molecular e TMO:** Achados da pesquisa de translocações por *RT-PCR* e as chamadas pelo *DragenRNA®* se associaram de forma significativa à realização de TMO ($p = 0,04^*$), *Teste Exato de Fisher.

Correlação entre recidivas e óbitos: a presença de recidiva foi diretamente associada ao óbito. Pacientes com recidiva apresentaram 48 vezes mais chances de evoluírem para o óbito ($p = 0,002$; IC 95%; 3,482 - 661,609) por consequências da doença e suas complicações, ou toxicidade terapêutica.

Importância do uso do NGS para o diagnóstico de translocações no contexto das leucemias agudas: comparando os achados de *RT-PCR* aos de *NGS*, houve significância entre ambas as metodologias e em cerca de 15% dos pacientes, o achado foi uma exclusividade de *NGS* ($kappa = 0,748$ e $p < 0,001$ no Teste Exato de Fisher).

Desempenhos dos softwares de chamadas do NGS: todos os softwares de chamadas de *NGS* apresentaram concordância com a pesquisa de translocações por *RT-PCR*, com destaque para o melhor desempenho com o software *DragenRNA®*: ***DragenRNA®* ($kappa$ 0,841 e $p < 0,001^*$); *Arriba®* ($kappa$ 0,817 e $p < 0,001^*$); *CICERO®* ($kappa$ 0,764 e $p < 0,001^*$); *STAR-Fusion®* ($kappa$ 0,724 e $p < 0,001^*$); *TopHat®* ($kappa$ 0,670 e $p < 0,001^*$); *CLC Genomics®* ($kappa$ 0,231 e $p = 0,004^*$)).** *Teste Exato de Fisher.

Exclusividades da análise por NGS, expandindo as fronteiras das leucemias agudas da infância - Fusões nunca antes descritas no contexto das leucemias:

RUNX1::CTC1: lactente de 1 ano e 2 meses (*BMI284*), inicialmente estratificada como risco intermediário, contudo, que evoluiu com recidiva precoce medular e isolada, grande refratariedade à quimioterapia, incluindo a necessidade do resgate com ciclos alternados de blinatumomabe e de carfilzomibe, que possibilitaram a realização de TMO haploidêntico. A criança se encontra em segunda remissão completa, há mais de 7 meses e apresentou a translocação *RUNX1::CTC1* tanto no momento do diagnóstico quanto na recidiva.

RUNX1::SIK3: alteração identificada em um menino de 6 anos e 10 meses (*BMI014*) no diagnóstico de LLA-B, de risco intermediário que evoluiu sem intercorrências. A criança estava em remissão completa há mais de 4 anos, no final da coleta de dados. Como no caso anterior e pelos mesmos motivos, necessita-se de estudos adicionais, multicêntricos e específicos sobre os impactos da fusão *RUNX1::SIK3* no contexto das LLA-B.

Fusões raríssimas:

FNBP1::KMT2A: rearranjo de *KMT2A* (*KMT2Ar*), que ocorreu em uma lactente de 1 ano e 10 meses, diagnosticada com LMA de alto risco (*BM4959*). No diagnóstico, a criança possuía infiltração em SNC e alta hiperdiploidia. No fim da coleta de dados, a paciente se encontrava na fase de indução do seu protocolo terapêutico e necessita de seguimento posterior para o melhor delineamento dos seus desfechos. **Foi a terceira descrição do achado na literatura**, descoberto em 2001 (Fuchs *et al.*, 2001), com o segundo relato feito em 2015 (Krumbholz *et al.*, 2014). Ambos os casos prévios se trataram de pacientes com mau prognóstico (Fuchs *et al.*, 2001; Krumbholz *et al.*, 2014).

IKZF1::DDC: alteração encontrada em um menino de 7 anos e 5 meses (*BMI490*) com diagnóstico de LLA-B, além de diagnóstico prévio de Síndrome de Down. Foi estratificado como risco intermediário e, além disso, apresentou o único achado exclusivo de *RT-PCR* em detrimento do *NGS*: a fusão *CRLF2::P2RY8*. Encontra-se em remissão completa, há 2 anos e 2

meses, sendo o segundo caso descrito na literatura, enquanto o primeiro foi identificado em 2023 (Lopes *et al.*, 2023).

“B-ALL with other defined genetic abnormalities” (LLA-B-other): Cerca de 9% dos pacientes do nosso estudo foram classificados como LLA-B-other (Cree, 2022). Dois desses diagnósticos foram flagrados somente por NGS: *BRD9::NUTM1* e *IGH::DUX4*. Enquanto o *MLPA* encontrou uma criança com *PAX5alt*.

***BRD9::NUTM1*:** a alteração *BRD9::NUTM1* atualmente se classifica como *B-other* pela *WHO-HAEM5*, pertencendo aos *rearranjos de NUTM1* (Cree, 2022). Ocorreu em um lactente de 11 meses de idade (*BM1523*), classificado como risco intermediário pelo protocolo *Interfant-06*. No diagnóstico: hipodiploidia e ausência de *rearranjo KMT2A*. Até o fim da coleta de dados, a criança se encontrava na fase de manutenção do protocolo. Neste estudo, somente por meio do uso do NGS identificou-se a fusão *BRD9::NUTM1*, com promissor potencial terapêutico (McEvoy; Fox; Prall, 2020, p. 375) e candidata a ser uma entidade oficialmente definida nas próximas edições da *WHO-HAEM* (Cree, 2022).

***IGH::DUX4*:** identificada em uma criança de 11 anos e 10 meses, estratificada como alto risco no diagnóstico e que também apresentou deleção no cromossomo 7, sem outras alterações. Se encontrava em remissão completa, há 2 anos e 2 meses, ao final da coleta de dados. Cerca de 30% dos pacientes classificados no subgrupo *B-other* não possuem aberrações clássicas, que permitam a classificação efetiva por métodos diagnósticos tradicionais, em relação à alteração que definirá o subtipo de LLA-B-other (Schwab *et al.*, 2022b). A alteração *IGH::DUX4* é um desses casos, pela grande dificuldade de as tecnologias anteriores detectarem os pontos de quebra dos *DUX4r*, sendo o NGS um método confiavelmente seguro para esse tipo de análise (Schwab *et al.*, 2022). Pacientes com *DUX4r* tendem a apresentar altas taxas de sobrevida global, associadas a baixas incidências de recidivas (Schwab *et al.*, 2022). Não fosse pelo uso do NGS, poderia não haver outras explicações para a boa evolução clínica do paciente em questão (Schwab *et al.*, 2022). Além de corroborar dados prognósticos (Schwab *et al.*, 2022), por meio desse achado, o NGS contribuiu para a validação epidemiológica de mais uma possível entidade a ser oficialmente incorporada em futuras edições da *WHO-HAEM* (Cree, 2022). Outro ponto importante consiste na viabilização da criação formal de estratificações de risco e protocolos terapêuticos que considerem o bom prognóstico dessas fusões não clássicas, com o objetivo de se planejar terapias personalizadas de baixa toxicidade, na ausência de critérios maiores de gravidade.

***PAX5alt*:** as alterações em *PAX5* são bastante comuns e estão presentes em até um terço das LLA-B, como: deleções, rearranjos, mutações sequenciais e ampliações intragênicas, podendo conferir haploinsuficiência ou ganhos de função (Jia; Gu, 2022). A criança (*BM1519*) foi diagnosticada pelo *MLPA*, com deleção em *PAX5* (Cree, 2022), aos 3 anos e 1 mês de idade. No *FISH* encontrou-se a *t(12;21)*, bem como na pesquisa de translocações por *RT-PCR* e por NGS. Foi estratificada como baixo risco no diagnóstico e completou o seu protocolo sem intercorrências graves, estando, atualmente, em remissão completa. Diante desse caso, percebe-se que o NGS não é uma unanimidade no diagnóstico e na classificação das LLA-B-other, além do fato de não estar amplamente disponível, dado o seu alto custo (Schwab *et al.*, 2021). Em um outro estudo (Schwab *et al.*, 2021), foram utilizadas as técnicas de *FISH* e *MLPA* em amostras de pacientes do estudo *UKALL 2003*, em busca de crianças consideradas LLA-B-other. O uso dessas técnicas também pode ser benéfico, quando não se tem a disposição o NGS, visto que outros estudos, identificaram LLA-B-other como o grupo *BCR::ABL1-like*, deleções em *ERG*, rearranjos de *ZNF384*, *MEF2D* e *NUTM1r*, mesmo que com menor acurácia, quando comparado ao NGS (Schwab *et al.*, 2021). Estima-se que com o uso de *FISH* e *MLPA* juntos, seja possível diagnosticar aproximadamente 33% dos pacientes com LLA-B-other verdadeiras (Schwab *et al.*, 2021). Isso revela uma razoável alternativa ao NGS no contexto de centros de atendimento com recursos restritos. É possível que no futuro,

os portadores dessa modalidade de LLA se beneficiem de terapias *PAX5*-direcionadas (Jia; Gu, 2022).

LLA-B & Síndrome de Down (SD): aproximadamente 9% dos pacientes possuíam diagnóstico formal de SD. Cerca de 67% dos pacientes com LLA-B foram avaliados pelo *MLPA* e identificou-se aneuploidias em 55% dos pacientes diagnosticados com LLA-B. Dessas, somente 15% possuíam o diagnóstico formal de SD previamente à leucemia. Enquanto, 40% dos pacientes com LLA-B, que realizaram o *MLPA*, possuíam algum tipo de aneuploidia do cromossomo 21 evidenciada. Nos pacientes sem diagnóstico prévio de SD, as aneuploidias variaram em 3 ou 4 cópias do cromossomo 21.

NGS em pacientes com Síndrome de Down

Crianças com SD apresentam significativamente maior risco de desenvolverem LA, do que crianças sem a síndrome (Whitlock, 2006, p. 595). Isso foi comprovado ao longo do século XX, quando se descobriu que crianças com SD possuem cerca de 10 a 20 vezes mais chances de desenvolverem LA, pela presença da doença de base (Whitlock, 2006, p. 595). Ter a trissomia do cromossomo 21 é, por si só, um dos fatores de risco para o desenvolvimento de leucemias (Whitlock, 2006, p. 595). Essa informação também foi comprovada nos nossos pacientes: pois mesmo em crianças sem diagnóstico formal de SD houve alguma aneuploidia do cromossomo 21, independentemente das outras alterações citogenéticas ou biomoleculares (Berger, 1997, p. 8; Whitlock, 2006, p. 595). Contudo, “ainda não se sabe, como esse tipo de aneuploidia induz à leucemogênese” (Makkeyah, 2022, p. 194; Whitlock, 2006, p. 595; traduções nossas). Ademais, na presença da trissomia do 21, outras alterações genéticas tendem a ocorrer com menor frequência. De modo que apresentar uma cópia extra desse cromossomo pode sugerir melhor prognóstico, em casos particulares (Whitlock, 2006, p. 595). Estatisticamente, a prevalência da trissomia do 21 é inversamente proporcional à prevalência de translocações de mau prognóstico a exemplo do cromossomo Filadélfia *t(9;22)* e dos *KMT2Ar*, como a *t(4;11)* (Whitlock, 2006, p. 595). Ao mesmo tempo, na presença da trissomia do cromossomo 21, também decai a incidência de translocações crípticas benignas como a *t(12;21)* (Bassal, 2004; Whitlock, 2006, p. 595), tornando-se, portanto, indispensável o uso da biologia molecular para se entender a real dimensão do acometimento do cromossomo 21 quando presente, pois os métodos clássicos, como o cariótipo com bandamento G, não possuem o poder diagnóstico pleno para o estudo aprofundado do cromossomo 21 em toda a sua complexidade fisiopatológica. No contexto da SD, o *NGS* também pode ser uma metodologia chave para o desenvolvimento de terapias customizadas especificamente para esse grupo de crianças (Whitlock, 2006, p. 595), pois os protocolos de tratamentos especialmente dirigidos contra as LLA-SD, tendem a ser mais bem sucedidos do que a aplicação de esquemas terapêuticos em doses convencionais, que podem ser tóxicos a esse grupo, mesmo na posologia correta e ajustada, quando em comparação a uma criança sem SD e biotipo análogo (Lee *et al.*, 2021).

Importância do *MLPA* na estratificação de risco

A criança de código *BM1501*, entrou neste estudo com recidiva medular isolada, aos 10 anos e 8 meses. Foi classificada como muito alto risco por falha indutória e no grupo de alto risco pelo seu protocolo de tratamento (grupo S3 do *ALL BFM REZ 2002*). Seu cariótipo foi complexo, pois apresentou alta hiperdiploidia, com diversas aneuploidias, sem diagnóstico síndrome de base. *MLPA*: com deleção em *CDKN2A* e *2B* e trissomia do cromossomo 21. No *RT-PCR* e no *NGS*, apresentou a fusão *ETV6::RUNX1*, sem outras alterações. Evoluiu com DRM persistente após a fase de consolidação. A criança atingiu os critérios para a realização

do TMO, mas o procedimento falhou (não havendo a “pega” da medula) e por complicações, faleceu por SDMO.

Deleções nos genes *CDKN2A* e *2B*

Deleções nos genes *Cyclin Dependent Kinase 2A* e *2B* (*CDKN2A/B*) ou (*delCDKN2A/B*) mono e bialélicas foram todas detectadas por *MLPA*. Dos 33 pacientes estudados, 21, com LLA-B, realizaram o exame e, desses, 20% possuíam algum tipo de deleção. Em 75% dos pacientes, a deleção foi bialélica. Para cada paciente com alguma alteração em *CDKN2A/B*, não importando o seu tipo, sempre houve pelo menos uma outra alteração de *MLPA* envolvida, dentre elas: deleção em *IKZF1*; deleção em *ETV6*; deleção em *RBI*; trissomias e tetrassomias do cromossomo 21 em pacientes sem SD e dano no gene *PARI*. Cerca de 33% dos pacientes que foram a óbito possuíam algum tipo de *delCDKN2A/B*. A média de idade dos portadores das alterações de *CDKN2A/B* ao diagnóstico foi de 10 anos e 4 meses, grupo de alto risco pelos critérios do *NCI* (Loh, 2020). Curiosamente, todos os pacientes que apresentaram insuficiências em *CDKN2A/B* tiveram biologia molecular por *RT-PCR* e por *NGS*, com resultado benigno: 50% sem alterações em ambos os exames e 50% com *ETV6::RUNX1* em ambos os exames, com 100% de concordância. Todos os pacientes classificados como muito alto risco possuíam algum tipo de *delCDKN2A/B* (dentre eles, um óbito, com a codeleção no gene *IKZF1*). Apenas um paciente apresentou baixo risco no diagnóstico e encontra-se em remissão até o fim da coleta de dados.

Deleções em *CDKN2A* e *2B* e a importância de exames complementares ao *NGS* com menor custo no diagnóstico das LA da infância

Estudos realizados em crianças de diversas etnias: grega (Ampatzidou *et al.*, 2023), chinesa (Feng *et al.*, 2022) e indiana (Agarwal *et al.*, 2018) comprovam a malignidade das deleções mono ou bialélicas dos genes *CDKN2A/B* (*delCDKN2A/B*) (Agarwal *et al.*, 2018; Ampatzidou *et al.*, 2023; Feng *et al.*, 2022). Assim como nas nossas crianças latinas, os estudos orientais encontraram a prevalência de aproximadamente 20% nos diagnósticos infanto-juvenis de LLA-B associados a alguma *delCDKN2A/B* (Agarwal *et al.*, 2018; Feng *et al.*, 2022). O estudo chinês (Feng *et al.*, 2022) avaliou 599 pacientes, enquanto o indiano (Agarwal *et al.*, 2018), 91 pacientes, todos com algum tipo de *delCDKN2A/B*. Da mesma forma que observamos, os orientais vincularam os pacientes com as *delCDKN2A/B* a uma idade ≥ 10 anos (Agarwal *et al.*, 2018; Feng *et al.*, 2022). No nosso estudo, a média da idade das crianças com os mesmos achados foi de 10 anos e 4 meses, se associando, portanto, ao grupo de alto risco pelos critérios de idade do *NCI* (Loh, 2020). A presença dessas deleções vincula-se a uma pior sobrevida livre de eventos (SLE) e a maiores incidências de recidivas, do que quando comparadas a crianças com LA de *CDKN2A/B* fisiológicos (Ampatzidou *et al.*, 2023). Nas crianças gregas, encontraram mais desfechos de óbitos quando a deleção foi bialélica (SLE = 57,2% vs 89,6%) (Ampatzidou *et al.*, 2023), enquanto para nós tanto as deleções mono, quanto bialélicas se vincularam ao muito alto risco. Nas chinesas, a SLE foi comparada após 3 anos do término do tratamento no grupo de pacientes que continham as deleções, com SLE = 69,8% vs SLE = 89,2% nos pacientes com LLA-B e *CDKN2A/B* funcionais (Feng *et al.*, 2022). Além disso, estimou-se menor sobrevida global (SG) em 3 anos nas crianças chinesas com deleções do que no grupo sem alterações: SG = 89,4% vs SG = 94,7% (Feng *et al.*, 2022). A presença de insuficiências em *CDKN2A* e *2B* foi considerada um forte preditor independente de recidivas e

SG em crianças ocidentais e orientais, sugerindo que tais alterações deveriam ser consideradas na estratificação de risco e planejamento terapêutico desses pacientes (Ampatzidou *et al.*, 2023; Feng *et al.*, 2022). Concordamos com esse fato, pois, na realidade das nossas crianças e considerando a nossa estratificação de risco customizada, obtivemos significativa associação estatística entre a presença das *delCDKN2A/B* e os pacientes estratificados como muito alto risco ($p = 0,023$, pelo Teste Exato de Fisher). Além disso, pelas crianças chinesas, concluiu-se que quando as insuficiências destacadas estão associadas a outras deleções, os desfechos clínicos tendem a ser ainda piores em relação à refratariedade (Feng *et al.*, 2022). Aproximadamente 17% dos pacientes que foram a óbito no nosso estudo possuíam alguma dessas deleções. **Onde está a importância da integridade desses genes?** Os genes *CDKN2A* e *2B* são supressores tumorais com atuação na regulação do ciclo celular (Agarwal *et al.*, 2018). Eles codificam a síntese de proteínas que inibem as ciclinas dependentes de cinases (*CDK*), cruciais na progressão do ciclo celular, as quais garantem que as mitoses ocorram em compasso cadenciado e organizado (Agarwal *et al.*, 2018). Prejuízos no seu funcionamento, podem induzir à proliferação descontrolada e em um contexto de células precursoras hematológicas, isso constitui um dos fatores chaves de piora prognóstica na história natural das LLA (Agarwal *et al.*, 2018). Percebe-se que o uso das tecnologias de *RT-PCR* e *NGS* neste estudo, utilizadas exclusivamente nas pesquisas de fusões gênicas, foi insuficiente na detecção de alterações de importante valor prognóstico. Como o *MLPA* é capaz de realizar tais identificações de forma precisa e econômica, em tempo e verbas, torna-se desnecessário o dispendioso uso do *NGS* para esta finalidade.

Desafios: do *NGS* ao *Big Data* e à Medicina de Precisão

O “*Big Data* se refere a dados massivos, complexos e muito desafiadores de se armazenar e trabalhar com sucesso, quando utilizados os métodos tradicionais de processamento de dados.” (Agrawal; Nautiyal, 2024, p. 181, tradução nossa). Os dados produzidos por *NGS* são exemplos de informações que podem compor o *Big Data* nas áreas biológicas. No ritmo em que os dados de *NGS* eram produzidos em 2015, a demanda de armazenamento e computação, em caso de uso total da tecnologia, teria potencial para extrapolar a Lei de Moore à época, inviabilizando a sua aplicação em escala mundial (Moore, 1965). Isso ocorre, pois, o *NGS* envolve duas importantes e complexas etapas: a análise primária, de imagens e chamadas de bases, e a secundária, que alinha e compara as leituras (ou *reads*) da amostra ao genoma de referência em busca de alterações (Ardeshirdavani *et al.*, 2015). Exemplificando esse desafio de sustentabilidade: “Dados brutos e *reads* mapeados são grandes arquivos, nos quais, um único estudo de todo-genoma (*WGS*) pode consumir até 50 *Gb* de armazenamento, tornando-se um significativo problema para computação, armazenamento e transferência de dados” (Ardeshirdavani *et al.*, 2015, tradução nossa). Desconsiderando-se a realidade dos países em desenvolvimento, processamento e logística têm sido os principais desafios técnicos de difusão do *NGS* (Ardeshirdavani *et al.*, 2015).

Além da infraestrutura necessária para a implementação das tecnologias do *NGS* com propósitos de pesquisa e de assistencialismo em Saúde, em escalas nacional e internacional, também demandar-se-ia o uso de uma rede de internet estável e rápida (Ardeshirdavani *et al.*, 2015). Por mais que a qualidade da internet brasileira venha se aprimorando nos últimos anos, ainda há grande desigualdade de conectividade no Brasil (Gozzi; Comini; Perra, 2024). Durante a pandemia de COVID-19, a qualidade da internet brasileira piorou substancialmente em nível nacional (Gozzi; Comini; Perra, 2024), devido à sobrecarga das redes durante as épocas de isolamento (Gozzi; Comini; Perra, 2024). Tal fato revela a fragilidade da infraestrutura brasileira de telecomunicações, pois quando se trata de pesquisa, a conectividade pode ser um

fator limitante na transferência de dados multicêntricos (Ardeshirdavani *et al.*, 2015). Em tempos de grande demanda, pesquisas multicêntricas envolvendo o *NGS* poderiam se tornar impraticáveis no Brasil, visto que a atual infraestrutura, demonstrou não suportar nem o aumento da demanda por *internet* de uso pessoal (Gozzi; Comini; Perra, 2024). A Agência Nacional de Telecomunicações (ANATEL) avalia o índice de conectividade brasileira (IBC), que mede os estágios de conectividade das regiões brasileiras. Ele é plotado de 0 a 100: “com conectividade considerada alta, quando >60,81 pontos, média entre 52,33 e 60,81, baixa entre 37,26 e 52,33 e muito baixa quando inferior à 37,26 pontos” (ANATEL, 2024). Os resultados médios para cada região brasileira pelo IBC de 2023 foram: centro-oeste (74,2); nordeste (46,4); norte (42,5); sudeste (79,9) e sul (82,0) (ANATEL, 2024). Desse modo, no Brasil, seria bastante complexo e oneroso, integrar centros de pesquisa detentores de *NGS* separados por grandes distâncias via *internet*, pois em momentos de pico, as redes poderiam congestionar e os dados brutos de diversos pacientes não serem compartilhados, pelas instabilidades.

Possíveis soluções para os desafios de implementação do *NGS* futuramente

As dificuldades técnicas expostas acima, poderão ser sanadas, também, por meio da **computação quântica**, que no auge do seu desenvolvimento, promete ser capaz de atender a todas essas demandas tecnológicas, em conjunto com o desenvolvimento de outras tecnologias acessórias de bioinformática (Flöther, 2024). Por meio da computação quântica, a análise de DNA poderá ser feita de modo muito mais rápido e eficiente do que é atualmente praticado, reduzindo drasticamente o tempo de espera por laudos complexos (Abdellah; Merazka; Zahra, 2023; Sharma; Mahajan; Alzahrani, 2023, p. 20). Para que o massivo volume de dados gerados pelo *Big Data* da Saúde seja explorado de forma disseminada, poderosas infraestruturas de: armazenamento, conectividade, proteção e análise de dados precisarão ser integradas à computação quântica através dos sistemas que comportam os dados de saúde dos pacientes (Goswami; Sharma, 2024). Para que isso seja praticável, as plataformas de prontuários eletrônicos deverão ser atualizadas e conectadas às novas tecnologias, que também poderão se associar à Inteligência Artificial em busca de soluções customizadas para diagnósticos e tratamentos, acelerando a aprendizagem acadêmica de padrões complexos de dados (Goswami; Sharma, 2024). Em contrapartida, também, deve-se ter cuidado com as “promessas” das tecnologias quânticas da computação, visto que ainda são tecnologias emergentes e inaplicáveis em larga escala, sendo ainda restritas ao ambiente de pesquisa experimental (Sharma; Mahajan; Alzahrani, 2023, p. 20).

Limitações deste estudo

Este estudo foi iniciado quando a maior parte dos pacientes testados por *NGS* já havia sido examinada. Os autores não puderam participar dos critérios de decisão em relação a qual tipo de paciente receberia a testagem. Outra limitação, foi o pequeno *n* de pacientes incluídos e como consequência, apesar de a literatura atual ser coincidente com muitos dos nossos achados e inferências, alguns dados bioestatísticos podem sofrer distorção, devido à pequena amostra. Somado a isso, cerca de 6% dos pacientes apresentaram perda de seguimento após o diagnóstico. A grande diversidade de estágios terapêuticos das fases de seguimento das crianças estudadas causou irregularidades nos tempos de seguimento, visto que pacientes com diagnósticos próximos a 2018 tiveram tempo suficiente para terminar os seus planos terapêuticos, enquanto crianças com diagnósticos próximos a 2023 e 2024, não puderam ser consistentemente acompanhadas em relação aos desfechos de interesse. Além disso, por mais

que tivéssemos diversos recursos à disposição, o nosso laboratório não possui: o sequenciamento de transcriptoma (*RNA-seq*) e o teste de hibridização genômica comparativa ou *microarray* (*aCGH*), que nos possibilitaria a confirmação de entidades como as LLA-B *iAMP21* e outras variantes de LLA-B-*other* como a *ETV6::RUNX1-like* (Brady *et al.*, 2022).

Conclusões

É nítido o protagonismo do *NGS* no arsenal diagnóstico das leucemias agudas da infância. O uso dessa tecnologia não só é capaz de obter concordância com os achados da pesquisa de translocações por *RT-PCR*, como também viabiliza a descoberta de fusões nunca antes descritas pela literatura médica.

As tecnologias de *NGS* são métodos úteis e inovadores na sub-estratificação das LA e ao mesmo tempo viabilizam a pesquisa clínica. Por enquanto, o *NGS* ainda não é uma unanimidade diagnóstica, a qual, abrange todas as complexidades envolvidas nas LA. Nesse sentido, constatamos a importância do uso conjunto de todas as outras metodologias diagnósticas deste contexto e, inclusive, a necessidade de métodos indisponíveis no nosso laboratório como o *RNA Seq* e o *microarray* de DNA.

Expomos os desafios de sustentabilidade do *NGS* para a sua implementação em massa nos ramos assistencial e de pesquisa clínica, após considerar a grande demanda de investimentos financeiros em aprimoramentos de: infraestrutura, logística, computação, segurança de dados (Ardehirdavani *et al.*, 2015; Sharma; Mahajan; Alzahrani, 2023, p. 20). Desse modo, globalmente, evidenciamos o franco descompasso entre o potencial das tecnologias de *NGS* e a sua aplicabilidade tanto na pesquisa clínica, quanto na assistência à Saúde. De um lado, nos países ricos que empregam o *NGS* (Ardehirdavani *et al.*, 2015), ainda não é uma realidade a sua implementação em larga escala (Sharma; Mahajan; Alzahrani, 2023, p. 20). Enquanto, no lado brasileiro, ainda precisamos superar as desigualdades mais básicas entre os serviços de saúde como: carências tecnológicas; fragilidades logísticas e insuficiências financeiras para a sua ampla disseminação, antes de enfrentar os desafios técnicos que os países desenvolvidos lidam atualmente.

Referências

ABDELLAH, T.; MERAZKA, F.; ZAHRA, H. F. Quantum computing for DNA analysis and AI in genomics. *In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON COMPUTER SYSTEMS AND APPLICATIONS (AICCSA)*, 20., 2023. **Anais eletrônicos [...]** Giza, Egypt: Institute of Electrical and Electronics Engineers, 2023. Disponível em: 10.1109/AICCSA59173.2023.10479282. Acesso em: 2 ago. 2024.

AGARWAL, M. *et al.* Cyclin dependent kinase inhibitor 2A/B gene deletions are markers of poor prognosis in Indian children with acute lymphoblastic leukemia. **Pediatric Blood & Cancer**, v. 65, n. 6, 15 fev. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1002/pbc.27001>.

AGRAWAL, J.; NAUTIYAL, K. Big data and big data analytics. *In: AGRAWAL, J.; NAUTIYAL, K. Futuristic trends in computing technologies and data sciences*. Índia: IIP Series, 2024. v. 3. p. 181-193. Disponível em: <https://www.doi.org/10.58532/V3BGCT9P5CH1>. Acesso em: 2 ago. 2024.

AMPATZIDOU, M. *et al.* The prognostic effect of CDKN2A/2B gene deletions in pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL): independent prognostic significance in BFM-based

protocols. **Diagnostics**, v. 13, n. 9, 28 abr. 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/diagnostics13091589>.

ANATEL. Regiões Norte e Centro-Oeste têm os maiores aumentos de conectividade em 2023. **Agência Gov**, 2024. Disponível em: <https://agenciagov.ebc.com.br/noticias/202404/regioes-norte-e-centro-oeste-tem-os-maiores-aumentos-de-conectividade-em-2023>. Acesso em: 2 ago. 2024.

ARDESHIRDAVANI, A. *et al.* NGS-Logistics: data infrastructure for efficient analysis of NGS sequence variants across multiple centers. **BMC Bioinformatics**, v. 16, n. 2, 28 jan. 2015. Disponível em: <https://bmcbioinformatics.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2105-16-S2-A10>. Acesso em: 2 ago. 2024.

BASSAL, M. *et al.* Lymphoblast biology and outcome among children with Down syndrome and ALL treated on CCG-1952. **Pediatric Blood & Cancer**, 14 set. 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/pbc.20193>. Acesso em: 2 ago. 2024.

BERGER, R. Acute lymphoblastic leukemia and chromosome 21. **Cancer Genetics and Cytogenetics**, v. 94, n. 1, p. 8-12, mar. 1997. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0165-4608\(96\)00351-2](https://doi.org/10.1016/S0165-4608(96)00351-2). Acesso em: 2 ago. 2024.

BRADY, S. W. *et al.* The genomic landscape of pediatric acute lymphoblastic leukemia. **Nature Genetics**, v. 54, p. 1376–1389, 1 set. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41588-022-01159-z>. Acesso em: 2 ago. 2024.

CHEN, W. L. *et al.* Research progress of next generation sequencing in acute leukemia – review. **Europe PMC**, v. 31, n. 2, p. 612-615, 1 abr. 2023. Disponível em: <https://europepmc.org/article/med/37096544>. Acesso em: 2 ago. 2024.

CREE, I. A. The WHO classification of haematolymphoid tumours. **Leukemia**, n. 36, p. 1701–1702, 22 jun. 2022. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41375-022-01625-x>. Acesso em: 2 ago. 2024.

EGELER, R. M. *et al.* **Interfant-06**: international collaborative treatment protocol for infants under one year with acute lymphoblastic leukemia or biphenotypic leukemia. Netherlands: SKION & DCOG, 2006.

FENG, J. *et al.* Childhood acute b-lineage lymphoblastic leukemia With CDKN2A/B deletion is a distinct entity with adverse genetic features and poor clinical outcomes. **Frontiers in Oncology**, v. 12, 23 maio 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.878098>. Acesso em: 2 ago. 2024.

FLÖTHER, F. F. Early quantum computing applications on the path towards precision medicine. **arXiv**, 5 mar. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.48550/arXiv.2403.02733>. Acesso em: 2 ago. 2024.

FUCHS, U. *et al.* The human formin-binding protein 17 (FBP17) interacts with sorting nexin, SNX2, and is an MLL-fusion partner in acute myelogenous leukemia. **PNAS**, 3 jul. 2001.

Disponível em: <https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.121433898>. Acesso em: 2 ago. 2024.

GOSWAMI, S.; SHARMA, S. Artificial intelligence, quantum computing and cloud computing enabled personalized medicine in next generation sequencing bioinformatics. *In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON INTERDISCIPLINARY APPROACHES IN TECHNOLOGY AND MANAGEMENT FOR SOCIAL INNOVATION (IATMSI)*, 2024. **Anais [...]**. Gwalior, India: Institute of Electrical and Electronics Engineers, 2024. Disponível em: 10.1109/IATMSI60426.2024.10502533. Acesso em: 2 ago. 2024.

GOZZI, N.; COMINI, N.; PERRA, N. Bridging the digital divide: mapping internet connectivity evolution, inequalities, and resilience in six Brazilian cities. **arXiv**, 3 jun 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.48550/arXiv.2406.01113>. Acesso em: 2 ago. 2024.

HAAS, O. A.; BORKHARDT, A. Hyperdiploidy: the longest known, most prevalent, and most enigmatic form of acute lymphoblastic leukemia in children. **Leukemia**, v. 36, p. 2769-2783, 20 out. 2022. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41375-022-01720-z>. Acesso em: 2 ago. 2024.

HORTON, T. M. Prognostic factors and risk group stratification for acute lymphoblastic leukemia/lymphoblastic lymphoma in children and adolescents. **UpToDate**, 2023. Disponível em: https://www.uptodate.com/30earch30es/prognostic-factors-and-risk-group-stratification-for-acute-lymphoblastic-leukemia-lymphoblastic-lymphoma-in-children-and-adolescents?search=leucemia%20linfobl%C3%A1stica%20aguda&topicRef=6244&source=see_link. Acesso em: 2 ago. 2024.

JIA, Z.; GU, Z. PAX5 alterations in B-cell acute lymphoblastic leukemia. **Frontiers in Oncology**, v. 12, 24 out. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.1023606>. Acesso em: 2 ago. 2024.

KRUMBHOLZ, M. *et al.* Response monitoring of infant acute myeloid leukemia treatment by quantification of the tumor specific MLL–FNB1 fusion gene. **Taylor & Francis**, v. 56, n. 3, p. 793-796, 17 jul. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3109/10428194.2014.928933>. Acesso em: 2 ago. 2024.

LABINER, G. Introduction to hematopoietic neoplasms. *In: MCKENZIE, Shirlyn; LANDIS-PIWOWAR, Kristin; WILLIAMS, J. Clinical Laboratory Hematology*. 4. ed. Estados Unidos: Pearson, 2020. p. 496-516.

LEE, M. L. M. *et al.* Protocolo de tratamento da leucemia linfóide aguda da criança e do adolescente: GBTLI LLA – estudo 2021. **Grupo Brasileiro para Tratamento da Leucemia Linfóide Aguda**, Brasil, n. 2., 26 jan. 2022.

LOH, M. L. Enhanced risk stratification of 21,178 children, adolescents, and young adults with Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL) incorporating White Blood Count (WBC), age, and Minimal Residual Disease (MRD) at day 8 and 29 as continuous variables: a Children's Oncology Group (COG) report. **Blood**, 5 nov. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1182/blood-2020-139081>. Acesso em: 2 ago. 2024.

LOPES, B. *et al.* The recombinome of IKZF1 deletions in B-ALL. **Research Square**, 21 mar. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2697729/v1>. Acesso em: 2 ago. 2024.

MAKKEYAH, S. ALL-124 outcome of acute leukemia in down syndrome: a retrospective experience of ain shams pediatric oncology over a decade. **Clinical Lymphoma, Myeloma & Leukemia**, v. 22, n. 2, p. 194-195, out. 2022. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S2152-2650\(22\)01184-3](https://doi.org/10.1016/S2152-2650(22)01184-3). Acesso em: 2 ago. 2024.

McEVOY, C. R.; FOX, S. B.; PRALL, O. W. J. Emerging entities in NUTM1-rearranged neoplasms. **Genes Chromosomes & Cancer**, v. 59, n. 6, p. 375-385, 14 fev. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/gcc.22838>. Acesso em: 2 ago. 2024.

MILLER, L. *et al.* Evaluating approaches to enhance survival in children with hypodiploid acute lymphoblastic leukaemia (ALL). **British Journal of Haematology**, v. 185, n. 3, p. 613-616, 26 set. 2018. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/bjh.15590>. Acesso em: 2 ago. 2024.

MOORE, G. E. Cramming more components onto integrated circuits. **Electronics**, EUA, 19 abr. 1965. Disponível em: <https://www.cs.utexas.edu/~fussell/courses/cs352h/papers/moore.pdf>. Acesso em: 2 ago. 2024.

PRASAD, A. *et al.* Next generation sequencing. *In*: SINGH, Vijai. **Advances in Bioinformatics**. [S. l.]: Springer Link, 2021. p. 277-302. Disponível em: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-33-6191-1_14. Acesso em: 2 ago. 2024.

RAMOS-MUNTADA, M. *et al.* Clonal heterogeneity and rates of specific chromosome gains are risk predictors in childhood high-hyperdiploid B-cell acute lymphoblastic leukemia. **Molecular Oncology**, v. 16, n. 16, p. 2899-2919, 21 jun. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/1878-0261.13276>. Acesso em: 2 ago. 2024.

SCHWAB, C. *et al.* Genetic characterisation of childhood B-other-acute lymphoblastic leukaemia in UK patients by fluorescence in situ hybridisation and Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification. **British Journal of Haematology**, v. 196, n. 3, p. 753-763, 21 out. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/bjh.17869>. Acesso em: 2 ago. 2024.

SCHWAB, C. *et al.* P343: Genomic characterisation of b-other all in ukall2003 patients by next generation sequencing. **HemaSphere**, v. 6, n. 3, p. 243-244, 23 jun. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/01.HS9.0000844260.60603.d1>. Acesso em: 2 ago. 2024.

SHARMA, M.; MAHAJAN, Y.; ALZHRANI, A. Personalized medicine through quantum computing: tailoring treatments in healthcare. *In*: DUTT, Vishal, *et al.* **Quantum innovations at the nexus of biomedical intelligence**. [S. l.]: IGI Global, 2023. v. 1. Disponível em: <https://doi.org/10.4018/979-8-3693-1479-1.ch009>. Acesso em: 2 ago. 2024.

WANDERLEY, A. V. *et al.* Grupo de estudos de leucemia mieloide aguda infantil (GELMAI): Protocolo LMA 2021. **GELMAI**, São Paulo, 21 jun. 2021.

WHITLOCK, J. A. Down syndrome and acute lymphoblastic leukaemia. **British Journal of Haematology**, v. 135, n. 5, p. 595-602, 1 nov. 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2006.06337.x>. Acesso em: 2 ago. 2024.

Apêndice A

Estratificação customizada de risco ao diagnóstico:

LMA: Para pacientes com leucemias mieloides agudas, consideraremos a avaliação da DRM como estratificador de risco definitivo no tratamento da LMA pediátrica, somente após os primeiros 2 ciclos de terapia de indução, conforme preconizado pelo GELMAI 2021 (Wanderley *et al.*, 2021).

Baixo risco definitivo: Alterações genéticas favoráveis (Quadro 1) + DRM <0,1% na avaliação do MAG II (2ª indução) (Wanderley *et al.*, 2021).

Risco intermediário definitivo: Sem critérios genéticos para baixo ou alto risco + DRM <0,1% na avaliação do MAG II (2ª indução) (Wanderley *et al.*, 2021).

Alto risco definitivo: Alterações genéticas desfavoráveis (Quadro 1) ou DRM ≥0,1% na avaliação do MAG II (2ª indução). Uso prévio de corticoesteróide (Wanderley *et al.*, 2021).

Quadro 1 - Anormalidades genéticas moleculares com impacto prognóstico na LMA Pediátrica

Favoráveis
t(15;17)/PML-RARA, mas devem ser excluídos deste protocolo
t(8;21)/RUNX1-RUNX1T1
inv(16)(p13.1;q22)/CBFβ-MYH11
t(16;16)(p13.1;q22)/CBFβ-MYH11
t(1;11)(q21;23)/MLL-AF1Q
NPM1 mutado sem FLT3/ITD
Mutação Bialélica CEBPA
M6 ou M7 com mutação GATA-1 em paciente com Síndrome de Down ou mosaico para Síndrome de Down ¹
Desfavoráveis
-7
-5/del5q
t(6;11)(q27;q23)/MLLT4-KMT2A
t(10;11)(p12;q23)/MLLT10-KMT2A
t(10;11)(p11.2;q23)/AB11-KMT2A
t(6;9)/DEK-CAN (NUP214)
t(8;16)(p11;p13)/MYST3-CREBBP
t(16;21)(q24;q22)/RUNX1-CBFA2T3
t(5;11)(q35;p15.5)/NUP98-NSD1
t(9;22)(q34;q11)/BCR/ABL
inv(16)(p13.3;q24.3)/CBFA2T3-GLIS2 na LMA megacarioblástica ²
t(11;15)(p15;q35)/NUP98-KDMSA
Cariótipo complexo (≥ 3 alterações)
Mut FLT3/ITD
FAB MO, M6 e M7 sem t(1;22) ou sem mutação GATA-1
LMA secundária (a Síndrome Mielodisplásica ou a tratamento prévio)

Fonte: GELMAI 2021

LLA-B: Para a estratificação de risco das crianças com leucemias linfoblásticas agudas consideraremos a fusão dos critérios sugeridos pelo *UpToDate*® (Horton, 2023), pelo GBTLI 2021 (Lee *et al.*, 2021), a qual se complementam:

Baixo risco (aqueles que preencherem a todos os 4 critérios abaixo) (Horton, 2023; Lee *et al.*, 2021):

1) Risco padrão segundo o *National Cancer Institute (NCI)*: idade entre 1 e 10 anos E leucometria <50.000/μL no diagnóstico.

2) Citogenética de baixo risco: trissomias do cromossomo 4 e 10; ou ETV-RUNX1; ou hiperdiploidia.

3) DRM negativa durante toda a fase de indução do protocolo. 4) Ausência de critérios de maior gravidade.

Risco intermediário (o paciente que preencher a qualquer um dos seguintes) (Horton, 2023; Lee *et al.*, 2021):

1) Risco padrão segundo o *NCI* + DRM negativa ao final da fase de indução do protocolo.

2) Risco padrão segundo o *NCI* + Citogenética de baixo risco + DRM positiva na 1ª avaliação, durante a fase de indução.

3) Ausência de critérios de maior gravidade.

Alto risco (o paciente que contiver qualquer uma das seguintes apresentações) (Horton, 2023; Lee *et al.*, 2021):

1) Alto risco segundo o *NCI*: **idade ≥ 10 anos OU leucócitos $\geq 50.000/\mu\text{L}$ na leucometria diagnóstica.**

2) Infiltração em SNC, quando o líquido diagnóstico for classificado como SNC 3, em que: SNC 1: Punção lombar atraumática com ≤ 5 leucócitos/ mm^3 + ausência de linfoblastos na análise morfológica do LCR. SNC 2: Punção lombar atraumática, com ≤ 5 leucócitos/ mm^3 + identificação de linfoblastos na análise morfológica do LCR. SNC 3 (positivo): Punção lombar atraumática com ≥ 5 leucócitos/ mm^3 + presença de linfoblastos na análise morfológica do LCR.

3) Infiltração testicular (Lee *et al.*, 2021).

4) Pacientes com pelo menos uma das seguintes alterações genéticas moleculares (Wanderley *et al.*, 2021): *t(1;19) (TCF3-PBX1)*, *t(4;11) (KMT2A-AFF1)*, *t(17;19) (TCF3-HLF)*, Hipodiploidia (<45 cromossomos), *Ph-like* (Aqueles que possuem fusão *ABL1*, desde que não possuam cromossomos Philadelphia verdadeiros) (Horton, 2023).

Muito alto risco (paciente com qualquer uma das seguintes apresentações) (Horton, 2023; Lee *et al.*, 2021):

1) Rearranjos de linhagem mista (*MLL*) OU amplificação do *iAMP21*.

2) Paciente com falha indutória** (Lee *et al.*, 2021): Ao término da fase de indução DRM $> 1\%$. OU pacientes do grupo de alto risco que permaneçam *com DRM $> 0,01\%$ após o término da fase de consolidação.*

Grupos especiais (todos automaticamente classificados como pelo menos alto risco):

1) **Diagnóstico de LLA-T** (Horton, 2023): Se a DRM do final da fase de indução $< 0,01\%$ = **alto risco** (Lee *et al.*, 2021). Se a DRM do final da fase de indução $\geq 0,01\%$ = **muito alto risco** (Lee *et al.*, 2021).

2) **Cromossomo Philadelphia *t(9;22)*** (Horton, 2023; Lee *et al.*, 2021): Se a DRM do final da fase de indução for $< 0,01\%$ é **alto risco**. Se a DRM do final da fase de indução for entre $0,01\%$ e 1% , repete-se a avaliação após a fase de consolidação e se após a fase de consolidação a DRM for $< 0,01\%$ classifica-se como **alto risco** e caso a DRM for $\geq 0,01\%$ considera-se **muito alto risco** (Lee *et al.*, 2021). Se a DRM ao final da fase de indução for $> 1\%$ e/ou falha indutória** = **muito alto risco** (Lee *et al.*, 2021).

LLA-B (<1 ano de idade): Em relação aos pacientes <1 ano, todos utilizaram o protocolo *Interfant-06* (Egeler *et al.*, 2006), portanto a estratificação diagnóstica seguiu os mesmos moldes desse protocolo:

Baixo risco:

- 1) Todos com gene *MLL (KMT2Ar)* de linhagem germinativa, independente da resposta à corticoterapia no 8º dia da indução.
- 2) Idade > 6 meses.
- 3) Leucometria <300.000 células/ μ L.

Alto risco ou rearranjo do gene *MLL (KMT2Ar)* presente:

- 1) Idade <6 meses.
- 2) Leucometria \geq 300.000 células/ μ L **e/ou** má resposta à corticoterapia no 8º dia da indução.

Risco intermediário (contém pelo menos 1 critério dos seguintes):

- 1) Status genético desconhecido sobre o gene *MLL (KMT2Ar)*.
- 2) Rearranjo do *MLL (KMT2Ar)* e idade > 6 meses.
- 3) Rearranjo do *MLL (KMT2Ar)* e idade < 6 meses e leucometria <300.000 células/ μ L e boa resposta à corticoterapia no 8º dia da indução.

OBS.: Sobre a qualidade da resposta da resposta à corticoterapia no D8 de indução: A resposta é boa (*GPR*), se no D8 houver <1000 blastos em sangue periférico e ruim (*PPR*), se >1000 blastos.

LLA-B-other: Com a modernização das técnicas de sequenciamento, novas alterações genéticas foram identificadas e percebe-se que tais mutações possuem características clínicas, fenotípicas e prognósticas próprias (Cree *et al.*, 2022). Contudo, enquanto não se tem evidências definitivas acerca desses subgrupos de alterações, suficientes para criar uma nova entidade entre as leucemias, a *WHO-HAEM5* as classifica como “*B-ALL with other defined genetic abnormalities*” (Cree *et al.*, 2022) ou simplesmente como *B-others* (Cree *et al.*, 2022). Nesse grupo, atualmente figuram: “LLA-B com *DUX4*, *MEF2D*, *ZNF384* ou rearranjos de *NUTM1*, com fusão *IGH::MYC* e com *PAX5alt* ou *PAX5 p.P80R*” (Cree *et al.*, 2022, tradução nossa).

CONSTRUÇÃO DE PLASMÍDEOS COMO CONTROLES POSITIVOS: AVALIAÇÃO DE SENSIBILIDADE EM DIAGNÓSTICO DE TRANSLOCAÇÕES RECORRENTES

Camilla Delmondes Feitosa¹
Agenor de Castro Moreira dos Santos Júnior²

Resumo

A leucemia linfóide aguda (LLA) é uma neoplasia que acomete a linhagem linfóide, caracterizada pelo acúmulo clonal de linfoblastos na medula óssea. É o tipo mais comum de leucemia na infância. Suas causas não são muito bem esclarecidas, mas algumas infecções virais, exposição excessiva a radiação e presença de algumas translocações, podem aumentar o risco de desenvolver essa doença. O estudo foi conduzido no Laboratório de Pesquisa Translacional do Hospital da Criança de Brasília José Alencar (HCB), utilizando amostras selecionadas do banco de dados do hospital, priorizando aquelas com maior volume disponível. O objetivo principal foi desenvolver plasmídeos contendo as translocações mais comuns na LLA para serem utilizados como controle positivo na reação em cadeia da polimerase (PCR), bem como determinar a sensibilidade de detecção dos genes. O DNA recombinante foi feito utilizando plasmídeos pGEM-T Easy, da Promega, e bactérias *E. coli DH10B* competentes, através da técnica de transformação por choque térmico, extraídos por minipreparação de plasmídeos por lise alcalina. Os resultados demonstraram sucesso na clonagem das translocações t(1;19), t(12;21) e t(9;22) p210. Entretanto, a translocação t(4;11) não foi clonada com sucesso, possivelmente devido ao tamanho do amplicon. Na validação do pool com controles, a translocação BCR-ABL1 p190 e p210 não foi bem sucedida, sendo necessário novas análises de sensibilidade. A substituição dos plasmídeos das translocações t(9;22) p190 e p210 e t(4;11) pelos respectivos amplicons foi essencial para garantir a funcionalidade do controle positivo. A quantidade mínima de cópias de DNA detectadas nessa técnica é de 10² (100) cópias de DNA. Assim, o estudo conseguiu demonstrar a aplicabilidade da construção de um único controle positivo contendo as cinco translocações mais recorrentes no LLA-B, melhorando a prática clínica do HCB.

Palavra-chave: leucemia linfóide aguda; translocações; reação em cadeia da polimerase; plasmídeo; controle positivo.

Introdução

A leucemia linfóide aguda (LLA) é uma neoplasia hematológica, que acomete a linhagem linfocítica, e leva ao acúmulo clonal de linfoblastos na medula óssea. Entre as leucemias, a LLA é a mais comum em crianças, tendo uma prevalência de aproximadamente 80% e com apenas 20% em adultos (Acute [...], 2025).

¹ Acadêmica de Biomedicina da Universidade Católica de Brasília (UCB) e Bolsista do Programa de Iniciação Científica do Hospital da Criança de Brasília (PIC/HCB).

² Farmacêutico Bioquímico, responsável técnico do Biobanco do Hospital da Criança de Brasília José Alencar e Pesquisador do Laboratório de Pesquisa Translacional HCB.

Apesar de não ser restrita a idade, raça e sexo, esses fatores podem influenciar o prognóstico do paciente. Suas causas não são muito bem esclarecidas, todavia a exposição à radiação (tanto no útero, quanto na infância); produtos químicos; infecções virais, como pelo vírus *Epstein Baar*; além da presença de algumas anormalidades cromossômicas elevam seu risco (Hilario; Hilario, 2021). Translocações como a t(12;21), MLL rearranjado, t(1;19) e t(9;22), são frequentemente encontradas, sendo a primeira a mais frequente. Alterações cromossômicas, como a B-ALL com hiperdiploidia, e B-ALL BCR::ABL-like também são frequentes (Acute [...], 2025).

A LLA atualmente é classificada através das características morfológicas, citogenéticas, moleculares e imunofenotípicas para estratificação da doença, dividindo a LLA em precursor B ou precursor T. A OMS, junto com a European Association for Haematopathology e a European Society for Haematopathology, dividiu a leucemia linfoblástica B em subtipos, baseados em anormalidades cromossômicas recorrentes (Weijie, 2022).

Para o diagnóstico das leucemias, são considerados inicialmente a apresentação clínica do paciente, parâmetros do sangue periférico e da medula óssea, visto que no aspirado medular, quando apresentar mais de 20% de blastos (linfoblastos), confirma o diagnóstico. Para classificar o tipo de neoplasia, são realizados testes de imunofenotipagem, como a citometria de fluxo, que identifica a presença de antígenos de superfície celular nas células hematopoiéticas (Acute [...], 2025).

Quanto a determinação do prognóstico, pode-se utilizar técnicas que detecte as anormalidades cromossômicas, como a citogenética convencional (cariótipo), teste de hibridização in situ por fluorescência em interfase e testes de reação em cadeia da polimerase (PCR). O presente estudo, terá como foco o diagnóstico através da PCR, que é uma técnica da biologia molecular, de alta sensibilidade, especificidade e de fácil execução, utilizada para a amplificação do material genético baseado no processo de replicação que ocorre in vivo (Hirschhorn; Schandl; Nolte, 2022).

A utilização de controles positivos e negativos nesta técnica é fundamental para validar a confiabilidade e precisão dos resultados. O controle positivo sempre deve amplificar, pois nele contém todos os componentes utilizados no mix + uma amostra conhecida, gerando assim um resultado já esperado. Por outro lado, o controle negativo contém todos os componentes do mix + H₂O como amostra, devendo nunca ocorrer amplificação neste poço. (Salomão, 2023).

Tendo em vista a rápida evolução desta doença e por afetar diretamente a produção das células sanguíneas, e influenciar na sobrevivência do paciente, é importante que tenha um diagnóstico precoce e preciso. Isso é fundamental para o sucesso do tratamento, pois permite avaliar o prognóstico, detectando as translocações e direcionando o profissional para a melhor escolha terapêutica (Melo, 2020).

Com isso, a pesquisa tem como principais objetivos a construção de um plasmídeo que contenha a sequência de regiões gênicas translocadas como t(1;19); t(4;11); t(12;21) e t(9;22) p190 e p210, com intuito de serem utilizados como controles positivos, para aprimorar a técnica, incluindo um garantidor de validade das reações.

Metodologia

Os procedimentos laboratoriais deste estudo foram realizados no Laboratório de Pesquisa Translacional (LPT), localizado no Hospital da Criança de Brasília José Alencar (HCB). As amostras utilizadas foram selecionadas no banco de dados do HCB, com o critério de seleção de uma amostra para cada translocação de interesse. Quanto a inclusão e exclusão das amostras, a escolha foi baseada na quantidade do produto disponível, sendo escolhida a que

tem maior volume. Este projeto está incorporado com os objetivos de um projeto maior, que visa propor estratégias metodológicas para câncer pediátrico.

Síntese dos plasmídeos

O presente estudo iniciará com a separação das amostras para as translocações t(12;21), t(1;19), t(4;11), t(9;22) p210. A seleção dos primers será feita selecionando aqueles que permita à obtenção das maiores sequências, baseado no que foi descrito anteriormente por Dongen, 1999. Os iniciadores descritos na tabela 1 serão utilizados para amplificação das regiões translocadas pela técnica de PCR e obtenção de sequências de DNA suficientes para a clonagem de DNA.

Tabela 1 – Primers utilizados na reação em cadeia da polimerase (PCR)

TRANSLOCAÇÕES	PRIMER FORWARD	PRIMER REVERSE
t(1;19)	E2A-A (1434)	PBX1 – E3 (748)
t(4;11)	MLL – E5 (3793)	AF4 – B (1714)
t(9;22) p190	BCR e1 – A (1479)	ABL a3 – E3 (505)
t(9;22) p210	BCR b1 – A (3086)	ABL a3 – E3 (505)
T(12;21)	TEL – E5 (692)	AML1 – B (611)

Fonte: elaboração própria.

Nota: os números dentro dos parênteses indicam os pontos de anelamentos dos primers no gene.

A PCR é uma técnica *in vitro* que permite a amplificação de uma região de interesse, “purificando” o DNA em relação ao restante do genoma. É um método da biologia molecular, de alta sensibilidade, especificidade e de fácil execução (Hirschhorn; Schandl; Nolte, 2022). Nessa etapa, para a realização desse teste, será feita uma mistura com todos os reagentes (1x tampão de PCR, 1,5 mM MgCl₂, 0,2 mM de dNTPs, 0,16 mM de Primers e 1 U de TaqPolimerase), e distribuído 13.4 ul para cada tubo de reação. Posteriormente será adicionado as amostras com seus respectivos primers, totalizando 15 ul. Por fim, os tubos de PCR deverão ser colocados no termociclador, com a configuração de 94°C por 30 segundos para desnaturação, 65°C por 30 segundos para anelamento e 72°C por 1 minutos para extensão, em 40 ciclos.

O produto da PCR, pode ser visualizado por eletroforese em gel, que é uma técnica usada para a separação de moléculas com base no seu tamanho (Gouveia; Regitano, 2007). Para a realização desse teste, será feito um gel de agarose a 2% para as amostras t(9;22) p210, t(4;11) e t(12;21) e a 1,5% para a t(1;19). Para evidências de possível contaminação da a reação de PCR, utiliza-se um branco para cada translocação, como controle negativo. Antes da adição das amostras na cuba de eletroforese, é necessário o preparo destas, adicionando 3 ul de produto de PCR, 2 ul de H₂O e 1 ul de tampão de amostra 6X. Na cuba, durante 30 minutos, ocorrerá a migração das moléculas, para posterior visualização do gel no fotodocumentador.

Após a confirmação da amplificação, através da eletroforese, inicia o processo de inserção do DNA exógeno nas células. Optou por utilizar o vetor pGEM-T Easy da Promega, um plasmídeo que contém 3015 pb, com 50 ng/ul e apresenta um gene de resistência a ampicilina (Promega, 2021). Para a ligação, todas as amostras devem ser quantificadas no Qubit, utilizando o kit para quantificação de DNA da Invitrogen, que contém dois controles com valores conhecidos, para garantir uma correta quantificação. Nos tubos de controle deverá

ser adicionado 190 ul de reagente de trabalho e 10 ul de amostra, e no tubo teste, 198 ul de reagente de trabalho e 2ul de amostra teste.

Posteriormente, para calcular a quantidade apropriada de produto de PCR (inserto) necessário para a reação de ligação, são necessários dois cálculos, o primeiro utilizando a fórmula da figura 1, e o segundo uma regra de três simples. A fórmula fornece as nanogramas do inserto, e a regra de três o volume necessário de DNA que deve ser colocado na reação de ligação, em X ng (valor obtido na fórmula).

Figura 1 – Fórmula para cálculo das nanogramas de inserto

$$\frac{\text{Ng of vector (ng de vetor)} \times \text{kb size of insert (tamanho do inserto)}}{\text{Kb size of vector (tamanho do vetor)}} \times \text{vector molar ratio (proporção)}$$

Fonte: adaptado de Promega (2021).

A proporção deverá ser de 3:1, sendo 3 de inserto e 1 de vetor. Os produtos de PCR com as translocações E2A-PBX1, MLL-AF4, BCR-ABL1 p210 e TEL-AML1, possuem 444 pb (0,444 kb), 794 pb (0,794 kb), 462 pb (0,462 kb) e 449 pb (0,449 kb), respectivamente (Dongen *et al.*, 1999).

Para o cálculo da regra de três, utilizará o valor quantificado (em ng) vezes 1 ul, por X ng de inserto (valor fornecido pela fórmula da figura 1), tendo como produto X ul (volume de DNA). Por fim, o mix da reação de ligação será preparado, utilizando os volumes indicados pela tabela 2.

Tabela 2 - Protocolo Mix da reação de ligação

REAGENTES	REAÇÃO PADRÃO
Tampão de ligação rápida 2x	5ul
Vetor pGEM-T Easy (50 ng)	1ul
Produto de PCR	X ul
Enzima – T4 DNA ligase	1ul
H ² O livre de nucleases	X ul

Fonte: adaptado de Promega (2021).

Em seguida, após deixar o produto ligado em overnight, realizará a transformação bacteriana com plasmídeos, pelo método de choque térmico (Matias; Dick, 2017). Para esse método será utilizado *E. Coli DH10B competente*. No tubo com a *E. Coli*, adicione 5 ul de produto ligado e incube no gelo por 30 minutos. Transfira o eppendorf para o banho maria a 42°C e mantenha por 1 minuto. Incube por mais 1 minuto no gelo e adicione em cada eppendorf 800 ul de meio soc, deixando-o sobre agitação por 45 minutos. Coloque 200 ul do produto transformado em uma placa de petri que contenha 20 ml de meio Luria Bertani (LB) ágar, suplementado com 20 ul de ampicilina, e espalhe pela placa com auxílio da alça de Drigalski. As placas deverão ser incubadas na estufa a 37°C durante 16 horas.

Após a transformação, espera-se que todas as colônias contenham o vetor + gene de interesse. Porém nem sempre isso funciona, por riscos do plasmídeo (vetor) se fechar nele

mesmo, não incorporando o DNA exógeno, ou até mesmo do gene ser incorporado na direção contrária. Com isso, se faz necessário a PCR de colônias, para validação da técnica (Wilkin, 2024).

Nesse teste, inicialmente será feita a escolha de forma aleatória das colônias. Para isso serão enumeradas de 1 a 9, para que seja possível saber qual colônia realmente positivou. Posterior a isso, realizar-se-á mistura (1x tampão de PCR, 1,5 mM MgCl₂, 0,2 mM de dNTPs, 0,16 mM de Primers e 1 U de TaqPolimerase) com todos os reagentes necessários e distribui 14 ul nos tubos de PCR. Em seus respectivos eppendorf (de acordo com os primers), será adicionado parte da colônia, deixando sempre um pouco na placa para realização da extração plasmidial, caso positivo. Por fim, os tubos de PCR deverão ser colocados no termociclador, com a configuração de 94°C durante 6 minutos para lise celular, 94°C por 30 segundos para desnaturação, 65°C por 30 segundos para anelamento e 72°C por 1 minutos para extensão, em 40 ciclos.

Por último, para obtenção do plasmídeo, deverá ser feita a extração plasmidial. A minipreparação de plasmídeos é uma técnica de biologia molecular utilizada para extrair e purificar o DNA plasmidial de células bacterianas transformadas. A técnica baseia-se na lise celular, feita por enzimas específicas e detergentes (como SDS) de acordo com cada célula utilizada (Matias; Dick, 2017). Ela permite que os plasmídeos sejam armazenados (congelados) para utilização no futuro, para diversos experimentos (Plasmid [...], 2025)

Os plasmídeos com as translocações t(1;19), t(12;21) e t(9;22) e p210, serão extraídos através da lise alcalina, utilizando as soluções I, II e III e depois isopropanol 100% para a precipitação do DNA. Todas as amostras devem ser tratadas com RNA-se para remoção dos ácidos ribonucleicos. (Sambrook; Russell, 2001). O protocolo utilizado nesse método foi extraído do livro Práticas e protocolos básicos de biologia molecular, de Matias e Dick (2017).

Após a minipreparação, será feita a eletroforese em gel para confirmar se o plasmídeo foi extraído. O gel deverá ser realizado em uma concentração de 1% e para a realização desse teste. O preparo do produto é feito com 3 ul de amostra mais 2 ul de tampão de corrida. Na cuba, durante 30 minutos, ocorre a migração das moléculas, e o gel será visualizado no fotodocumentador.

Teste de sensibilidade

Para esse processo, inicialmente ocorrerá uma quantificação, com intuito de calcular quantas cópias do plasmídeo tem na amostra. A quantificação deverá ser realizada no Qubit (Invitrogen), seguindo o mesmo protocolo de quantificação na subseção 2.1. Posteriormente, realiza-se o cálculo para descobrir quantos números de cópias há no produto amplificado (DNA copy number calculator – thermo fisher), para logo após realizar o cálculo da diluição, utilizando a fórmula $C1.V1 = C2.V2$. O volume final será de 500 ul. A diluição seriada terá 6 pontos diferentes (10^2 a 10^7 na diluição respeitando proporção de 1:10).

Em um eppendorf, com as diluições 10^2 e 10^3 de cada plasmídeo faz-se o pool, adicionando 10 ul de cada um. O objetivo desse pool é de ter um controle positivo único com as translocações mais recorrentes na leucemia linfóide aguda para serem utilizados na prática clínica do hospital da criança de Brasília José Alencar, na técnica de PCR convencional.

Após a diluição dos plasmídeos, realizará a PCR e eletroforese em gel a 2% para confirmar que o pool com as 5 translocações mais encontradas na LLA realmente tem funcionalidade como controle positivo nessa técnica. Além disso, com a utilização das duas menores diluições, tem-se a sensibilidade do controle com cada translocação, neste método.

Será feita uma mistura com todos os reagentes (1x tampão de PCR, 1,5 mM MgCl₂, 0,2 mM de dNTPs, 0,16 mM de Primers e 1 U de TaqPolimerase), e depois distribuído 13.4 ul para cada tubo de reação. Posteriormente adicionará as amostras com seus respectivos primers,

totalizando 15 ul. Por fim, os tubos de PCR devem ser colocados no termociclador. A configuração ciclagem está descrita na tabela 10.

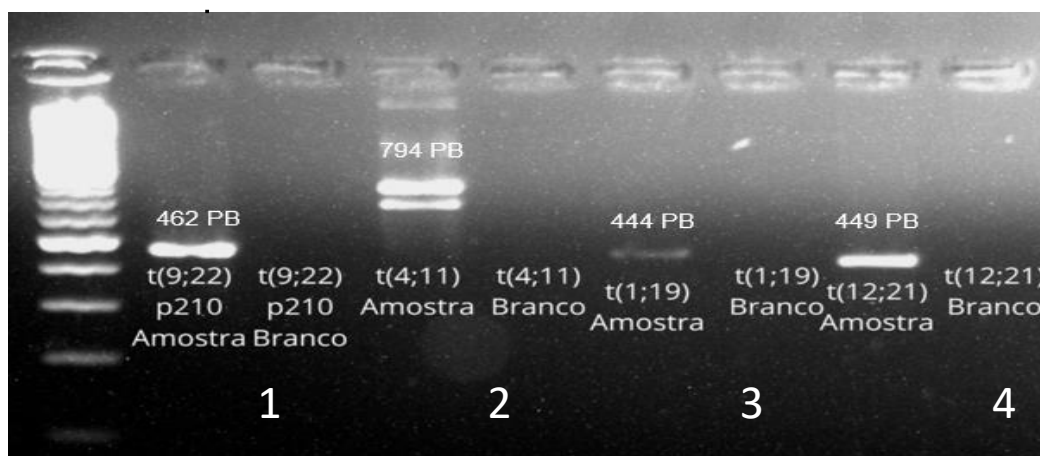
Resultados e discussão

Os plasmídeos são pequenas moléculas de DNA de fita dupla, circular, extracromossômico, com capacidade de se autorreplicar, encontrados principalmente em bactérias (Trabulsi; Alterthum, 2015). As contribuições dos plasmídeos à biologia e seu impacto na biotecnologia têm sido imensos, pois é uma ferramenta molecular importante no desenvolvimento de clonagem de DNA recombinante (Costa; Borges; Pereira, 2020).

Visto isso, plasmídeos contendo sequências específicas de translocações encontradas na LLA, podem ser utilizados como controles positivos (CP) nos testes de reação em cadeia da polimerase (PCR). A utilização de controles positivos e negativos na técnica é fundamental para validar a confiabilidade e precisão dos resultados.

Para a síntese de um DNA recombinante (rDNA) é necessário ter quantidades suficientes do fragmento que será incorporado. A técnica de PCR permite amplificação do material genético com aumento do número de cópias de DNA.

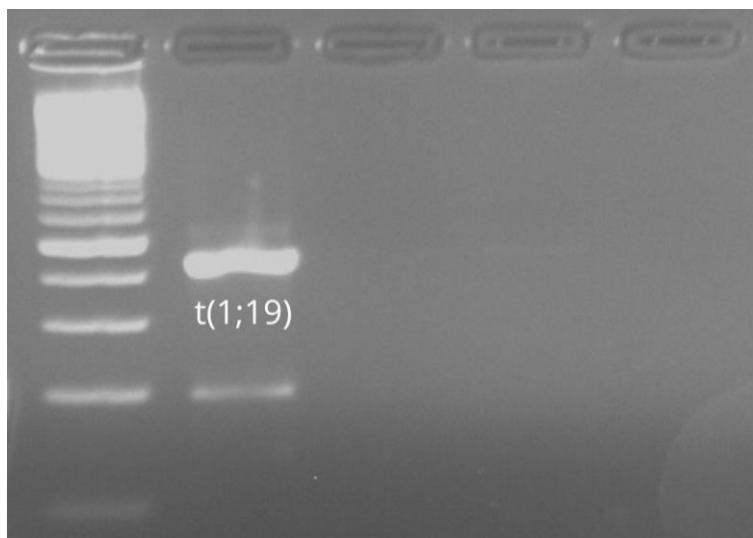
Figura 2 – PCR das amostras com as t(9;22) p210, t(4;11), t(1;19) e t(12;21) e seus brancos respectivamente



Fonte: elaboração própria.

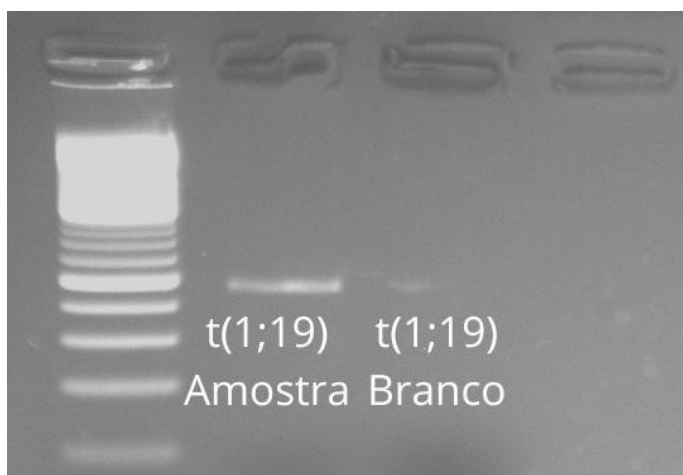
A amplificação da amostra 3 da figura 2 foi fraca. Com isso foi feita a nested PCR (Figura 3). Apesar de ter obtido sucesso na PCR da figura 3, foi necessário a troca do cDNA com a translocação t(1;19), por pouco volume de material da amostra que estava sendo utilizada.

Figura 3 – Nested PCR da amostra com t(1;19)



Fonte: elaboração própria.

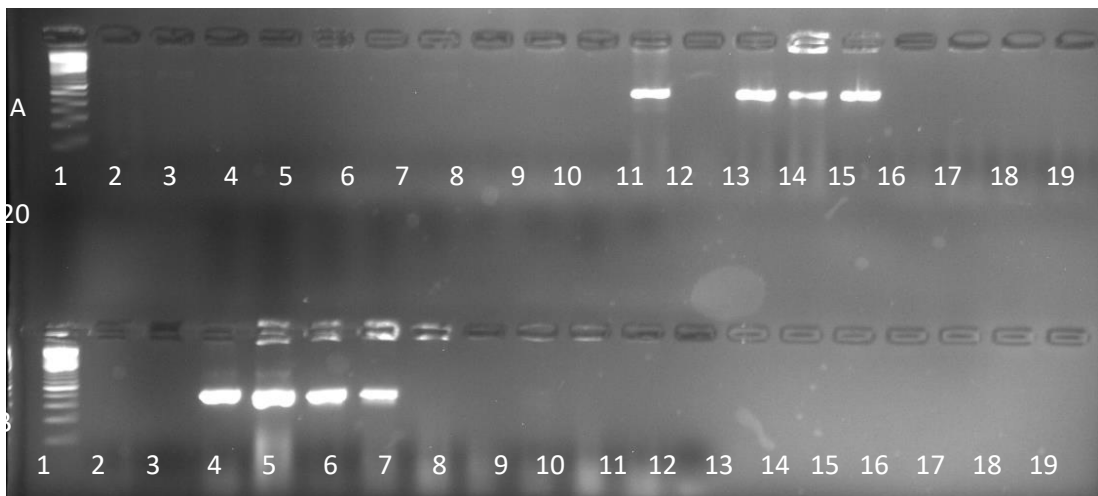
Figura 4 – PCR da amostra com t(1;19)



Fonte: elaboração própria.

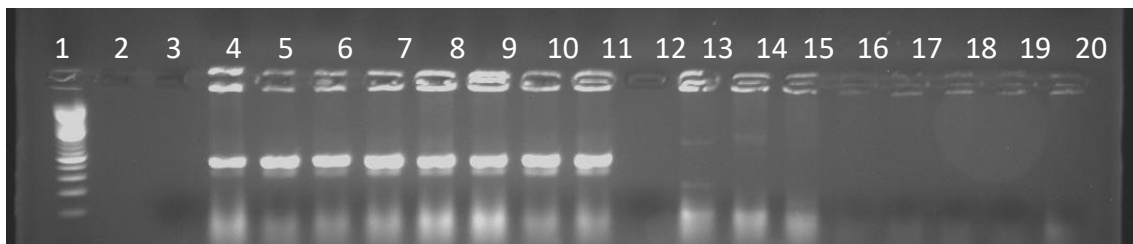
A transformação bacteriana por choque térmico foi eficaz para a clonagem de quase todas as translocações selecionadas, permitindo a amplificação e extração dos plasmídeos (Figura 7) contendo as sequências de interesse. Na translocação MLL-AF4, foi observado que na placa de petri, houve crescimento bacteriano, porém após a PCR de colônias (Figura 5 e 6), não havia sido incorporado o gene de interesse. Isso pode ter ocorrido devido ao fechamento do vetor sobre si mesmo, sem incorporação do DNA-alvo, limitação já conhecida desta técnica (Wilkin, 2024), portanto, não sendo comum com a utilização do vetor pGEM-T Easy (Promega, 2021).

Figura 5 – PCR de colônias das amostras com t(4;11), t(12;21) e t(9;22) p210, respectivamente



Nota: A1 a A10: colônias de t(4;11). A11: branco de t(4;11). A12 a A19: colônias de t(9;22) p210. A20: branco de t(9;22) p210. B1 a B10: colônias de t(12;21). B11: branco de t(12;21).
Fonte: elaboração própria.

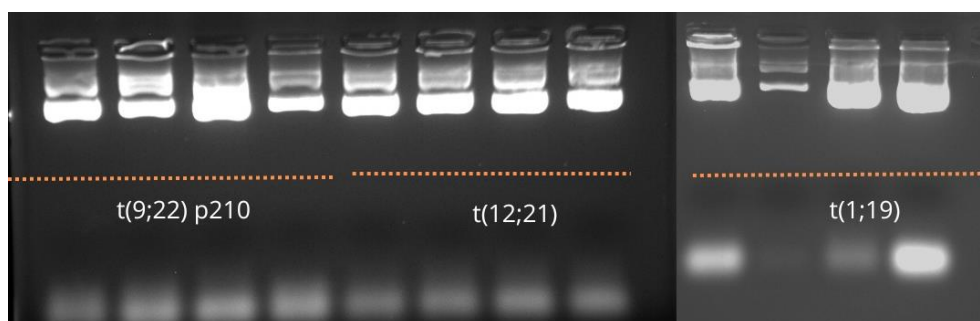
Figura 6 - PCR de colônias da amostra com t(1;19)



Nota: Os poços de 3 a 12 indicam 9 colônias com t(1;19) e 1 branco, respectivamente. Os poços de 13 a 20 indicam 7 colônias de t(4;11) e 1 branco respectivamente.
Fonte: elaboração própria.

Assim, obteve sucesso na clonagem das translocações t(1;19), t(12;21) e t(9;22) p190 e p210. Já a clonagem da translocação (4;11) não foi bem-sucedida, mesmo após tentativas repetidas, como pode ser visto na figura 5 e 6. Esse problema pode estar relacionado ao tamanho do amplicon, já que fragmentos maiores podem apresentar maior dificuldade para inserção no vetor e para serem incorporados com sucesso nas células bacterianas durante a transformação (Nascimento *et al.*, 2003). Essa suposição precisa ser avaliada, pois apesar do fragmento da t(4;11) ser maior que os outros, não é considerado grande. Como alternativa, optou-se pela utilização do amplicon, que são produtos (DNA) de uma reação de PCR (Schmerker, 2024).

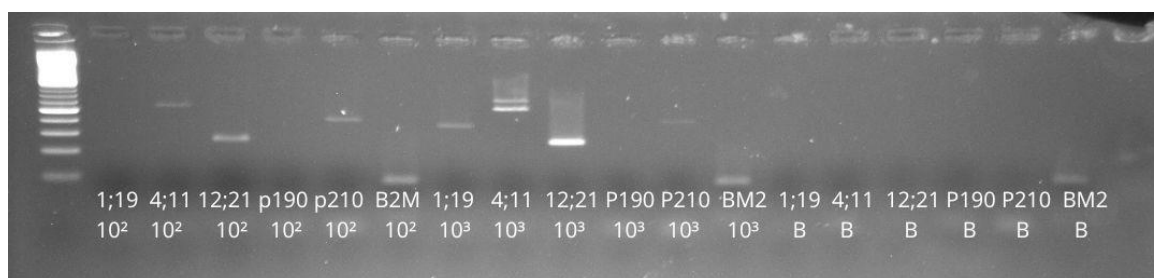
Figura 7 - PCR das amostras extraídas



Fonte: elaboração própria.

A validação do controle foi feita seguindo o mesmo protocolo utilizado na prática clínica do HCB, para avaliação do seu funcionamento. Após validação do controle com os 4 plasmídeos + 1 amplicon, a t(1;19) obteve sucesso apenas na diluição 10^3 ; t(12;21) e t(4;11) funcionou em 10^2 e 10^3 ; t(9,22) p190, não amplificou em ambas; t(9;22) p210 positivou em 10^2 apenas; como pode ser visto na figura 8. Apesar de BCR-ABL1 p210 ter amplificado em 10^2 , não foi validado, pois seria necessário a amplificação em 10^3 também, nesse caso.

Figura 8 - Eletroforese em gel dos produtos de PCR, para validação dos controles



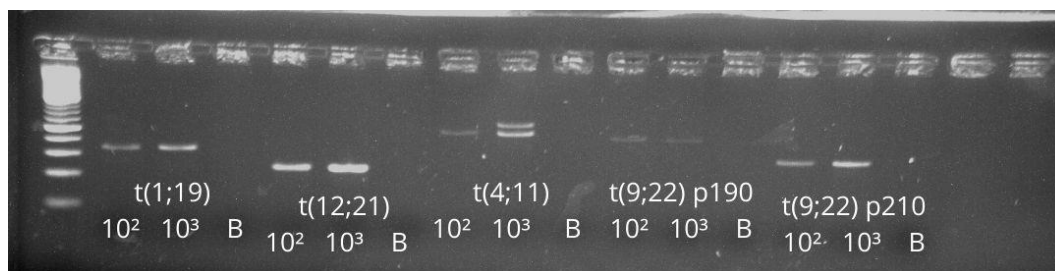
Nota: BM2 – amostra de paciente utilizada.

Fonte: elaboração própria.

Acredita-se que o plasmídeo com a sequência t(9;22) p190 e p210, tenha sensibilidade maior que a testada (maior que 10^3), nesta técnica. Novas análises devem ser feitas, para confirmação desta suposição.

Para contornar essas limitações, foi feito um novo pool trocando os plasmídeos das translocações t(9;22) p190 e p210 por seus respectivos amplicons. Com essa modificação, todas as cinco translocações amplificaram corretamente (Figura 9) em ambas as diluições testadas (10^{-2} e 10^{-3}), demonstrando que o controle positivo desenvolvido é funcional e pode ser utilizado na prática clínica. Portanto, a construção de um plasmídeo, ao invés da utilização apenas do amplicon é importante, pôr o DNA circular apresentar maior estabilidade e menores chances de serem degradados, tendo assim maior durabilidade.

Figura 9 - Eletroforese em gel dos produtos de PCR, para validação dos controles



Nota: Diluições 10^2 , 10^3 e branco, respectivamente, de cada amostra.

Fonte: elaboração própria.

A sensibilidade obtida indica que a técnica é capaz de detectar translocações com pelo menos 100 cópias de DNA plasmidial/linear, garantindo a confiabilidade do diagnóstico molecular. Desta forma, os resultados obtidos mostram a aplicabilidade da construção de controles positivos baseados em plasmídeos para o diagnóstico molecular do LLA.

Conclusão

Este estudo teve como objetivo a construção de plasmídeos contendo as translocações mais comuns na leucemia linfóide aguda (LLA), para serem utilizados como controle positivo na técnica de PCR, no Hospital da Criança de Brasília José Alencar. A metodologia empregada é eficiente para a clonagem das translocações t(1;19), t(12;21) e t(9;22) p210. No entanto, a clonagem da translocação t(4;11) não obteve sucesso, possivelmente devido ao tamanho do amplicon, o que levou à necessidade da utilização do próprio fragmento amplificado (amplicon) na composição do controle positivo.

Na validação do controle, foi possível observar que a estratégia aplicada foi eficaz, com amplificação satisfatória das translocações t(12;21) e t(1;19) nas diluições testadas. Entretanto, a translocação t(9;22) p190 e p210 por não apresentarem amplificação nas diluições testadas, sendo necessário a substituição dos plasmídeos pelos respectivos amplicons para garantir a funcionalidade do controle positivo. Novas análises são necessárias, com a finalidade de avaliar novas diluições de BCR-ABL1, nos seus dois pontos de quebra, além da sensibilidade correta de t(1;19);

Assim, apesar das intercorrências, o estudo conseguiu demonstrar a aplicabilidade da construção de um único controle positivo contendo 5 das translocações que podem ser encontradas na LLA-B. A importância desse pool de controles é de melhorar a prática clínica, reduzindo a necessidade de múltiplos reagentes e minimizar erros técnicos durante a execução.

Desta forma, será possível o aprimoramento do diagnóstico molecular da LLA, possibilitando uma maior padronização e confiabilidade nos exames laboratoriais. Pesquisas futuras podem explorar formas de aprimorar a clonagem da translocação t(4;11), avaliar novas diluições de t(9;22) p190 e p210, além de expandir a abordagem para outras alterações genéticas relevantes no LLA. Isso se faz importante, pelo fato de o plasmídeo apresentar maior estabilidade do que o amplicon, ou seja, ter uma maior durabilidade.

Referências

ACUTE lymphoblastic leukemia in children: clinical overview. **ClinicalKey**, 20 mar. 2025. Disponível: https://www.clinicalkey.com/#!/content/clinical_overview/67-s2.0-d814669e-9145-4ffc-bafa-afc2fb806c22#diagnostic-procedures-heading-19. Acesso em: 10 fev. 2025.

COSTA, G. dos S.; BORGES, D. C. S. B.; PEREIRA, W. A. Plasmídeos: definições, estudos atuais e sua influência na resistência bacteriana. *In: FÓRUM DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA*, 3., 2020, Minas Gerais. **Anais [...]**. Minas Gerais: Scientia Generalis, 2020. Disponível: <https://scientiageneralis.com.br/index.php/SG/article/view/59>. Acesso em: 13 set. 2024.

DONGEN, J. V. *et al.* Standardized RT-PCR analysis of fusion gene transcripts from chromosome aberrations in acute leukemia for detection of minimal residual disease. **Leukemia**, v. 13, n. 12, p. 1901-1928, dez. 1999. DOI: 10.1038/sj.leu.2401592.

GOUVEIA, J. J. de S.; REGITANO, L. C. de A. Eletroforese de ácidos nucléicos. *In: REGITANO, L. C. de A.; NICIURA, S. C. M.; IBELLI, A. M. G.; GOUVEIA, J. J. de S. Protocolos em biologia molecular aplicada à produção animal*. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2007. p. 22-30. Disponível: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/224366/1/7.-ELETROFORESE-DE-ACIDOS-NUCLEICOS.pdf>. Acesso em: 10 set. 2024.

HILARIO, W. F.; HILARIO, L. S. de M. Principais alterações hematológicas da leucemia linfocítica aguda (LLA). **PECIBES**. Espírito Santo, v. 1, p. 13-17, 2021. DOI: <https://doi.org/10.55028/pecibes.v7i1.13323>.

HIRSCHHORN, J. W.; SCHANDL, C. A.; NOLTE, F. S. Polymerase chain reaction and other nucleic acid amplification technology. *In: MCPHERSON, R. A.; PINCUS, M. R. (org.) Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods*. 24. ed. Filadélfia: Elsevier, 2022. cap 69, p. 1387-1400.

MATIAS, F.; DICK, S. Transformação. *In: MATIAS, F. (org.) Práticas e protocolos básicos de biologia molecular*. São Paulo: Blucher, 2021. p. 233-244.

MELO, N. Leucemia linfóide aguda no Brasil. **Revista Abrale**, 30 set. 2020. Disponível: <https://revista.abrale.org.br/saude/2020/09/leucemia-linfoide-aguda-no-brasil/>. Acesso em: 3 dez. 2024.

NASCIMENTO, Alessandra A. C. *et al.* **Tecnologia do DNA recombinante**. Ribeirão Preto: Faculdade de Ciências de Ribeirão Preto, 2003. Disponível: https://cursosextenso.usp.br/pluginfile.php/46750/mod_resource/content/1/Apostila%20DNA%20Recombinante.pdf. Acesso em: 14 fev. 2025.

PLASMID DNA miniprep. **Thermo Fisher Scientific**, [2025]. Disponível: <https://www.thermofisher.com/br/en/home/life-science/dna-rna-purification-analysis/plasmid-isolation/plasmid-dna-mini-prep.html>. Acesso em: 3 ago. 2024.

PROMEGA. **pGEM-T and pGEM-T easy vector systems: technical manual**. USA, 2021.

SALOMÃO, A. Grupo de controle: os elementos-chave da pesquisa experimental. **Mind the graph**, 16 dez. 2023. Disponível: <https://mindthegraph.com/blog/pt/grupo-de-controle/>. Acesso em: 15 set. 2024.

SAMBROOK, J.; RUSSELL, D. W. **Molecular cloning: a laboratory manual**. 3. ed. New York: Nina Irwin, 2001.

SCHMERKER, J. Here's what you need to know about amplicons and amplicon sequencing. **Integrated DNA technologies**, 12 fev. 2024. Disponível: <https://www.idtdna.com/pages/community/blog/post/here-s-what-you-need-to-know-about-amplicons-and-amplicon-sequencing>. Acesso em: 15 set. 2024.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 6. ed. São Paulo: Atheneu., 2015.

WEIJIE, L. Classificação de tumores hematolinfóides da Organização Mundial da Saúde. *In*: WEIJIE, L. (ed.). **Leucemia**. 5. ed. Estados Unidos: Exon Publications, 2022. p. 1-22.

WILKIN, D. Clonagem genética: avançada. **CK 12 Advanced Biology**. Estados Unidos, 2024. Disponível: <https://flexbooks.ck12.org/cbook/ck-12-advanced-biology/section/9.2/primary/lesson/gene-cloning-advanced-bio-adv/>. Acesso em: 15 set. 2024.

AValiação DA TÉCNICA DE RT-QPCR PARA DIAGNÓSTICO E MONITORAMENTO DA LEUCEMIA LINFOIDE AGUDA B FILADELFIA (P190) POSITIVA

Cecília Viana de Lima¹
Agenor de Castro Moreira dos Santos Júnior²

Resumo

A Leucemia Linfoide Aguda (LLA) é o câncer mais incidente na pediatria, sendo o subtipo t(9;22) Ph+, associado à translocação P190, uma forma de alto risco. Este estudo teve como objetivo avaliar a sensibilidade da técnica de RT-qPCR para o monitoramento da Doença Residual Mínima (DRM) em pacientes com LLA-B Ph+ no Laboratório de Pesquisa Translacional (HCB). Para tanto, foram desenvolvidos plasmídeos contendo fragmentos específicos da sequência translocada, permitindo a determinação do número mínimo de cópias detectáveis do gene BCR-ABL1, fundamental para o prognóstico e o ajuste terapêutico. Ainda, com esses plasmídeos, foi criada uma curva padrão utilizada nos testes moleculares, que viabilizou a definição do limite de detecção da técnica aplicada ao diagnóstico e monitoramento da DRM. A curva do plasmídeo BCR-ABL1 Total referente ao ponto de quebra P190 mostrou-se eficaz, assim como a validação do gene ABL1 como controle endógeno da reação. Estes resultados representam um avanço relevante na monitorização clínica da LLA-B Ph+ (P190), melhorando a avaliação da resposta terapêutica e impactando positivamente nos resultados clínicos dos pacientes pediátricos, corroborando no desenvolvimento de estudos epidemiológicos e da implementação de métodos diagnósticos precisos em hospitais públicos do Distrito Federal.

Palavras-chave: leucemia-linfoma linfoblástico de células precursoras B; cromossomo Filadélfia; proteína oncogênica p190(bcr-abl); neoplasia residual; PCR em tempo real.

Introdução

A leucemia linfoide aguda (LLA) é uma neoplasia maligna hematológica caracterizada pela proliferação clonal desregulada das células precursoras dos linfócitos na medula óssea, os linfoblastos. Esta condição pode afetar tanto as células precursoras de linfócitos T, quanto as células precursoras de linfócitos B (LLA-T e LLA-B, respectivamente). A LLA-B representa a forma mais comum de leucemia em crianças, sendo responsável por aproximadamente 80% dos casos de câncer pediátrico (Zago, Falcão; Pasquini, 2013). Entre os diversos subtipos de LLA, a LLA B Filadélfia (Ph) positiva, que inclui a variante P190, destaca-se por sua importância clínica, embora seja menos frequente que outros tipos de leucemia infantil e, anteriormente, fosse considerada de alto risco.

¹ Acadêmica de Biomedicina pela Universidade Católica de Brasília (UCB) e Bolsista do Programa de Iniciação Científica do Hospital da Criança de Brasília (PIC/HCB).

² Farmacêutico Bioquímico, responsável técnico do Biobanco do Hospital da Criança de Brasília José Alencar e Pesquisador do Laboratório de Pesquisa Translacional HCB.

Sabendo disto, a detecção precoce de qual variante genética que está causando a leucemia por meio de técnicas moleculares é de extrema importância, a fim de determinar qual a terapia mais adequada à situação e ao paciente. Não obstante, a presença de translocações, como a t(9;22) Ph⁺ (P190), pode ser utilizada, ainda, como um marcador para a avaliação da presença de Doença Residual Mínima (DRM) na LLA (Grando; Wagner, 2008).

Nesse contexto, diante dos desafios relacionados ao diagnóstico e monitoramento da LLA B Ph⁺ (P190), a precisão e sensibilidade dos métodos moleculares são fundamentais. A detecção precoce e o acompanhamento contínuo da doença são essenciais para a escolha do tratamento adequado e para a avaliação da resposta terapêutica. Dessa forma, técnicas moleculares como a RT-qPCR, que combina a amplificação de ácidos nucleicos com a quantificação em tempo real do produto amplificado, tornam-se uma excelente alternativa (Kralik; Ricchi, 2017). Esta metodologia oferece alta sensibilidade e especificidade, sendo capaz de detectar níveis mínimos de transcritos do gene de fusão BCR-ABL1 P190, o que é crucial para o diagnóstico inicial e para o monitoramento da carga residual da doença durante e após o tratamento.

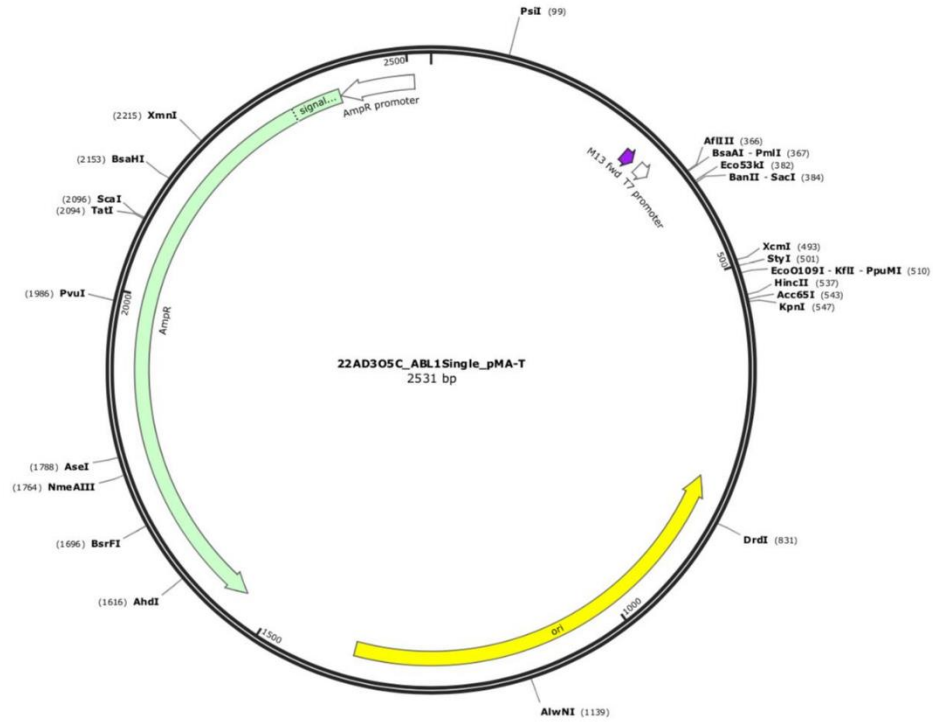
No entanto, apesar das vantagens da RT-qPCR, ainda existem lacunas no conhecimento e na padronização dessa técnica para o diagnóstico e monitoramento para esse tipo de leucemia na comunidade pediátrica (Iacobucci; Mulligan, 2017). Assim, o presente estudo buscou auxiliar na resolução dessas lacunas propondo a realização de uma curva padrão, a partir de plasmídeos construídos contendo fragmentos amplificados da sequência translocada de interesse. Essa curva será utilizada em testes de diagnóstico molecular, como RT-qPCR, a fim de otimizar uma técnica precisa para quantificar os transcritos P190, comparar sua expressão com o gene constitutivo ABL1 e determinar o número mínimo de cópias detectáveis, estabelecendo assim o limite de detecção do teste em cada amostra testada.

A partir da construção dessa curva, será possível estabelecer e avaliar a sensibilidade da técnica de monitoramento de doença residual mínima (DRM) molecular por RT-qPCR para detectar a alteração genética P190 em pacientes com LLA-B Ph⁺ (P190) em Laboratório de Pesquisa Translacional de hospital público terciário do Distrito Federal. Esta investigação torna-se essencial para aprimorar as estratégias de diagnóstico e monitoramento da LLA-B Ph⁺ (P190), contribuindo para uma melhor gestão clínica da doença e, conseqüentemente, uma melhora das taxas de remissão e sobrevivência dos pacientes.

Metodologia

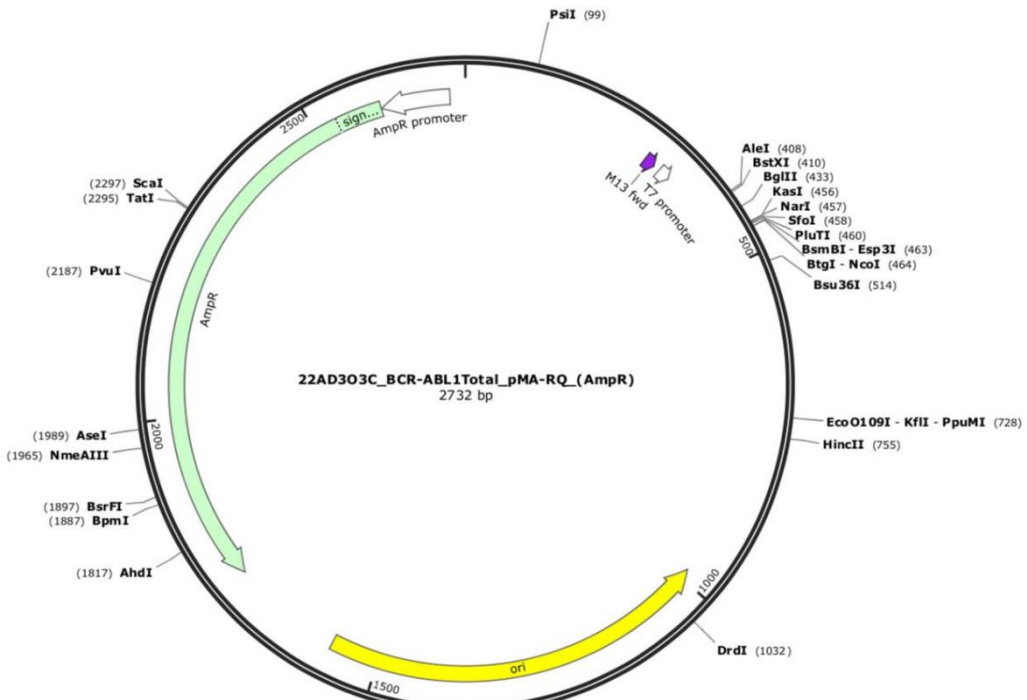
Para o desenvolvimento desse projeto, foi adotada uma abordagem quantitativa, experimental e de natureza metodológica, a fim de estabelecer e avaliar a sensibilidade da técnica de monitoramento de DRM por RT-qPCR para a detecção da alteração genética P190 em pacientes com LLA-B Ph⁺ (P190). Logo, foram confeccionados três plasmídeos distintos pela empresa *Invitrogen* contendo a sequência translocada específica do ponto de quebra P190 e P210 do gene BCR e o gene ABL. Um contendo apenas o gene ABL (ABL1 Single), que foi inserido em um plasmídeo pMA-T, com 2531 pb; um segundo contendo apenas o gene translocado BCR-ABL (BCR-ABL1 Single), que também foi inserido em um plasmídeo p-MA-T, com 2552 pb e, por fim, um que apresenta tanto a sequência translocada BCR-ABL quanto a região do ABL usado como controle. As sequências translocada inserida nos plasmídeos foram desenhadas para que contemplem a translocação t(9;22) nos seus pontos de quebra P190 e P210. Ainda, a estrutura desses plasmídeos conta com um sítio de origem de replicação (ori), um gene de resistência ao antibiótico Ampicilina (Amp^R), sítios de clivagem de endonucleases de restrição, um promotor que inicia a transcrição, e a região terminadora. A estrutura dos respectivos plasmídeos pode ser observada nas figuras 2 a 4.

Figura 2 – Estrutura do plasmídeo 22AD305C ABL1Single pMA-T.



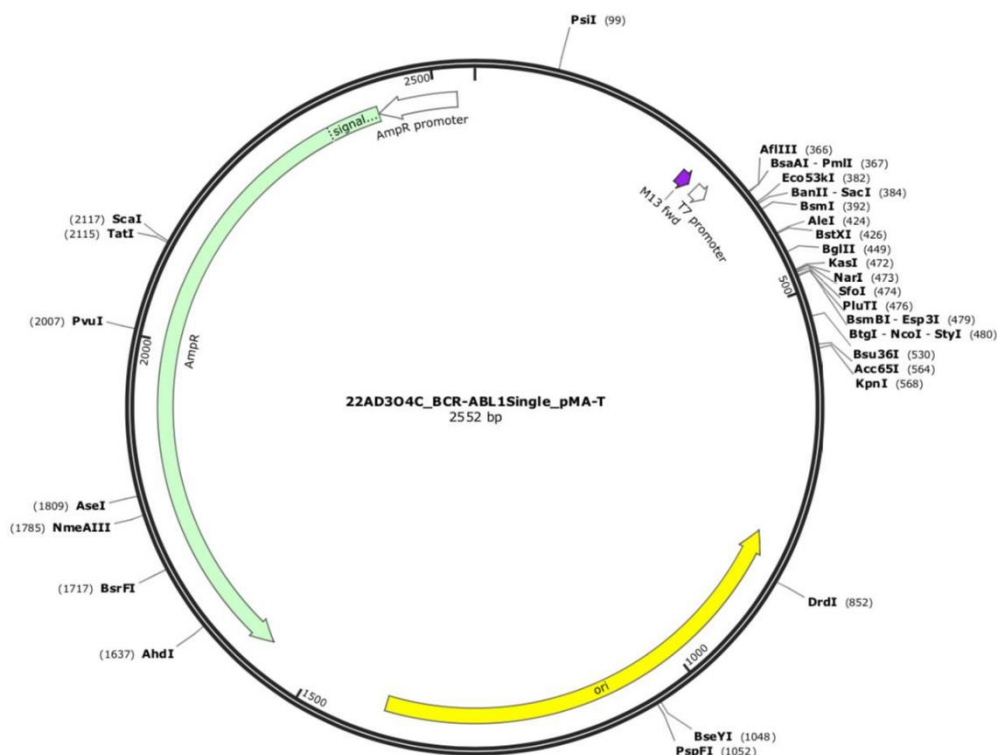
Fonte: site do SnapGene.

Figura 3 – Estrutura do plasmídeo 22AD303C BCR-ABL1Total pMA-RQ (AmpR)



Fonte: site do SnapGene.

Figura 4 – Estrutura do plasmídeo 22AD3O4C BCR-ABL1Single pMA-T.



Fonte: site do SnapGene.

A fim de se produzir mais cópias dos vetores ABL1 Single, BCR-ABL1 Single e BCR-ABL1 Total foi necessário transformar células de *E. coli* (DH10B) competentes com o vetor recombinante por meio de choque térmico. Após a realização do procedimento, observou-se crescimento de colônia nas 3 placas, então, foram selecionadas 5 colônias de cada para a confirmação da incorporação do plasmídeo por PCR de colônia convencional (reação em cadeia da polimerase).

Posteriormente ao processo de clonagem, as colônias selecionadas que incorporaram o vetor tiveram seu material genético (DNA plasmidial) extraído por meio do processo de lise alcalina, foram submetidas à análises complementares para se assegurar a qualidade e a integridade dos plasmídeos obtidos contendo as sequências translocadas de interesse, utilizando-se o sistema *Agilent TapeStation*, que trata-se de uma solução automatizada de eletroforese para controle de qualidade de amostras de DNA (Agilent [...], 2022). No entanto, o sistema *TapeStation* foi feito para analisar DNA linearizado. Logo, foi necessário a utilização das enzimas de restrição (*ScaI*, *NcoI* e *PvuI*) para digerir o plasmídeo, a fim de se obter um resultado mais fidedigno acerca do tamanho e concentração do plasmídeo BCR-ABL1 Total.

Esses plasmídeos foram fundamentais para determinar o número mínimo de cópias detectáveis pela técnica de PCR em tempo real quantitativo (RT-qPCR) e propor uma metodologia precisa de quantificação do número de cópias detectáveis em cada amostra testada para pacientes atendidos pelo Laboratório de Pesquisa Translacional no Hospital da Criança de Brasília. Ainda, usando os plasmídeos específicos foi confeccionada uma curva padrão, utilizada nos testes para determinar o limite de detecção da técnica de diagnósticas citada acima para o monitoramento da DRM.

Para tanto, estabelecer critérios de inclusão e exclusão em estudos científicos torna-se fundamental para o desenvolvimento de protocolos que asseguram a qualidade e a precisão dos resultados (Ferreira; Patino, 2018). Além de garantir a validade e a ética da pesquisa,

especialmente em estudos experimentais como o realizado com plasmídeos sintetizados comercialmente para o monitoramento da Doença Residual Mínima (DRM) em LLA-B Ph+ (P190).

No caso deste estudo, os plasmídeos incluídos atenderam aos padrões de pureza e concentração exigidos, contendo as sequências translocadas específicas do ponto de quebra P190. Em relação aos critérios de exclusão, qualquer plasmídeo que não atendesse aos parâmetros mínimos de qualidade, como concentração inadequada, fragmentos fora do esperado ou com baixa integridade, foi descartado. Também seriam excluídos plasmídeos que viessem a apresentar sinais de contaminação ou degradação, pois esses fatores poderiam comprometer a confiabilidade dos resultados.

Por fim, embora o estudo não envolva amostras humanas, os critérios de inclusão e exclusão seguem princípios rigorosos de controle de qualidade e padronização, garantindo a precisão e a reprodutibilidade dos dados. Dessa forma, foi possível assegurar a integridade dos resultados e a confiabilidade das conclusões, essenciais para o avanço da metodologia de monitoramento da DRM em pacientes com LLA-B Ph+ (P190).

Resultados e discussão

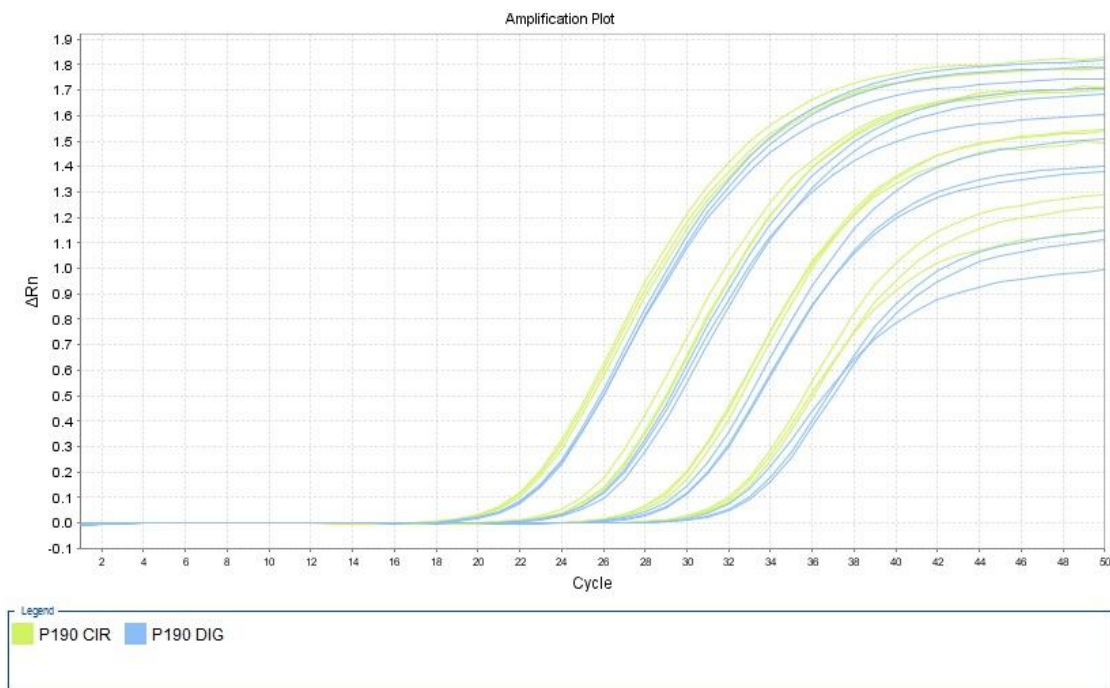
Visando garantir maior controle experimental, reprodutibilidade dos ensaios e evitar variabilidades inerentes ao uso de amostras clínicas, este estudo adotou a utilização de plasmídeos sintetizados comercialmente como fonte de material genético. Essa escolha também permitiu a condução dos experimentos sem a necessidade de manipulação de amostras biológicas humanas, eliminando implicações éticas relacionadas à coleta, armazenamento e uso de material humano. Além disso, os plasmídeos oferecem uma matriz estável e padronizada, essencial para o desenvolvimento de curvas padrão confiáveis e para a validação das técnicas moleculares aplicadas ao monitoramento da DRM por RT-qPCR.

A extração do DNA plasmidial foi realizada por meio de lise alcalina e confirmada por eletroforese em gel de agarose. Foram testadas amostras de diferentes colônias contendo os plasmídeos ABL1 Single, BCR-ABL1 Single e BCR-ABL1 Total. No gel, foi possível observar múltiplas bandas, reflexo das diferentes conformações do DNA plasmidial circular. Para contornar esse efeito e possibilitar a visualização precisa do tamanho dos fragmentos, os plasmídeos foram linearizados por digestão enzimática e posteriormente analisados pelo sistema Agilent TapeStation (Tirabassi, 2025).

A digestão do plasmídeo BCR-ABL1 Total, proveniente da colônia C4, foi quantificada no equipamento Qubit 4 Fluorometer, equipamento utilizado para medir a quantidade de DNA (*ThermoFisher Scientific*) e apresentou concentração de 26,4 ng/μL. A eletroforese em gel de agarose permitiu comparar diferentes combinações de enzimas de restrição (NcoI/PvuI e NcoI/ScaI), sendo a segunda mais eficiente na digestão completa do plasmídeo. Em seguida, foi realizada a diluição do plasmídeo linearizado com ScaI, calculando-se o número de cópias com base na concentração e tamanho do DNA, resultando em uma solução estoque de $2,5 \times 10^8$ cópias/μL, a partir da qual foram feitas diluições seriadas de 10^6 a 10^0 .

A primeira reação de qPCR realizada com o plasmídeo BCR-ABL1 Total revelou concentração aproximadamente 20 vezes superior ao previsto pelos controles comerciais, exigindo nova diluição com base na média das concentrações obtidas em triplicata. As curvas padrão geradas, com e sem digestão do plasmídeo, apresentaram boa performance, como pode ser observado na figura 5, embora ainda mais concentradas que os valores esperados. Para esses ensaios, foi utilizado o corante ROX high como fluorescência passiva e os pontos 10^4 e 10^6 do kit *Zeesan Biotech* como controle.

Figura 5 – Validação p190 Plasmídeo vs Comercial - 01.07.24 - COM E SEM DIGESTÃO



No caso da qPCR para o gene ABL, o primeiro ensaio apresentou resultados insatisfatórios, possivelmente devido à baixa sensibilidade da sonda utilizada. Assim, foram realizados novos testes comparando sondas HEX e FAM, alterando também a concentração de primers, mas apenas os pontos 10^5 e 10^6 mostraram amplificação eficiente (figura 6). A fim de aprimorar os resultados, novos plasmídeos (ABL1 Single e BCR-ABL1 Single) foram utilizados. Após quantificação, estabeleceu-se o número de cópias e prepararam-se diluições seriadas para ambos os plasmídeos, sendo a qPCR realizada com primers e sondas específicas (PR591, PR593, PR610 para ABL1; PR584, PR585, PR583 para BCR-ABL1 Single). No entanto, gráfico do plasmídeo BCR-ABL1 Single foi bem-sucedido, no entanto, o do ABL1 Single não, o que poderia ser explicado para algum outro problema, que não seja referente ao plasmídeo ou ao ensaio, como por exemplo algum defeito nos próprios primers da reação (figura 7).

Figura 6 – Validação do gene ABL no plasmídeo BCR-ABL1 Total - (Validação ABL_FAM vs HEX)

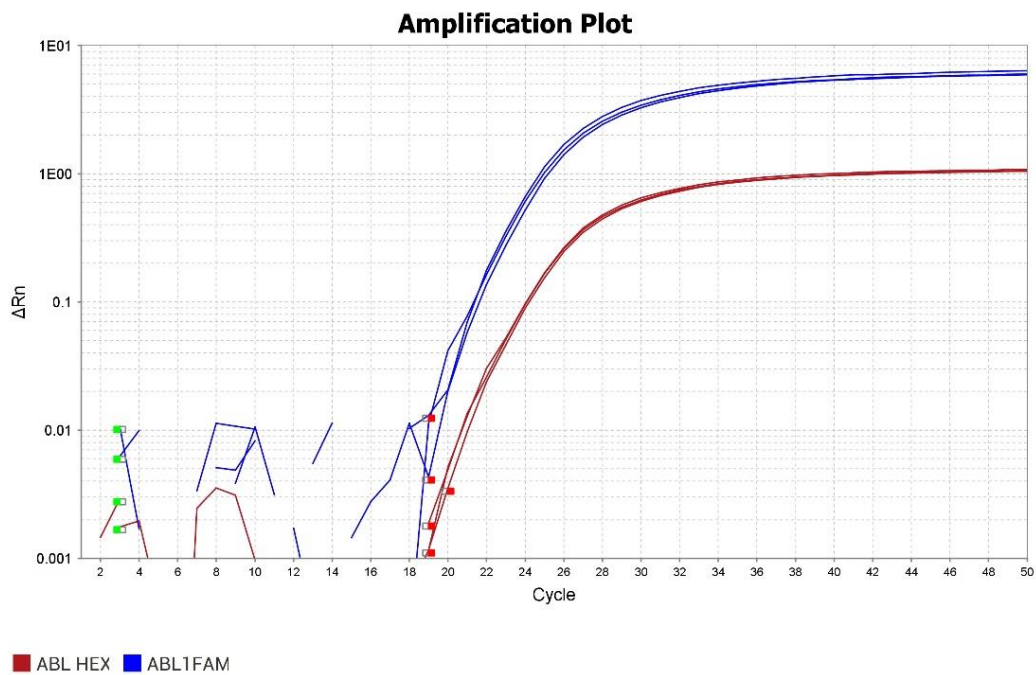
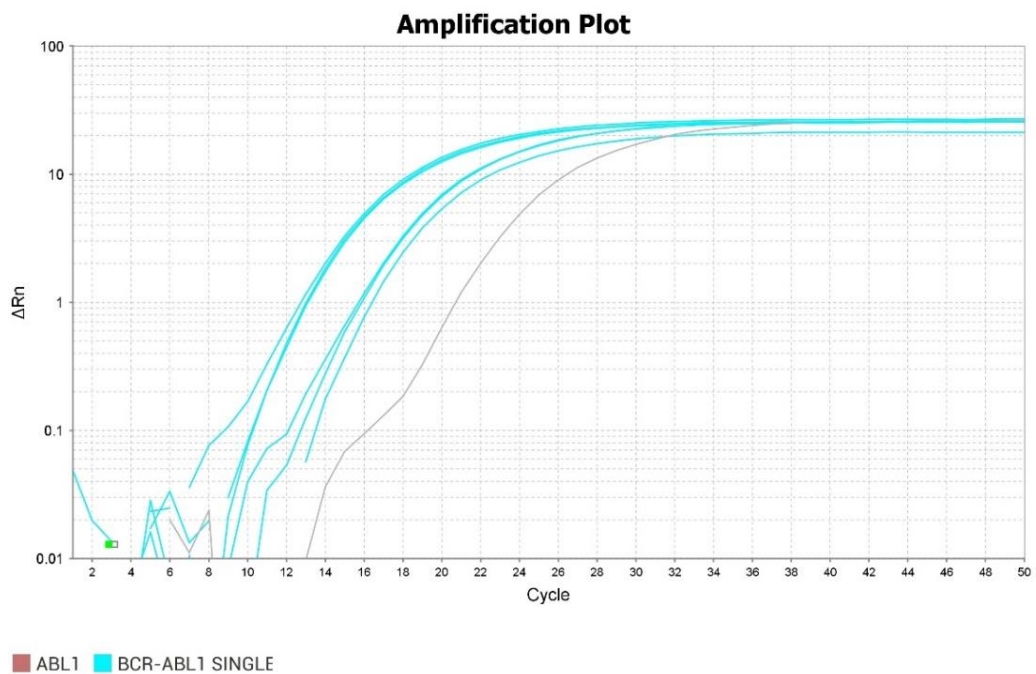


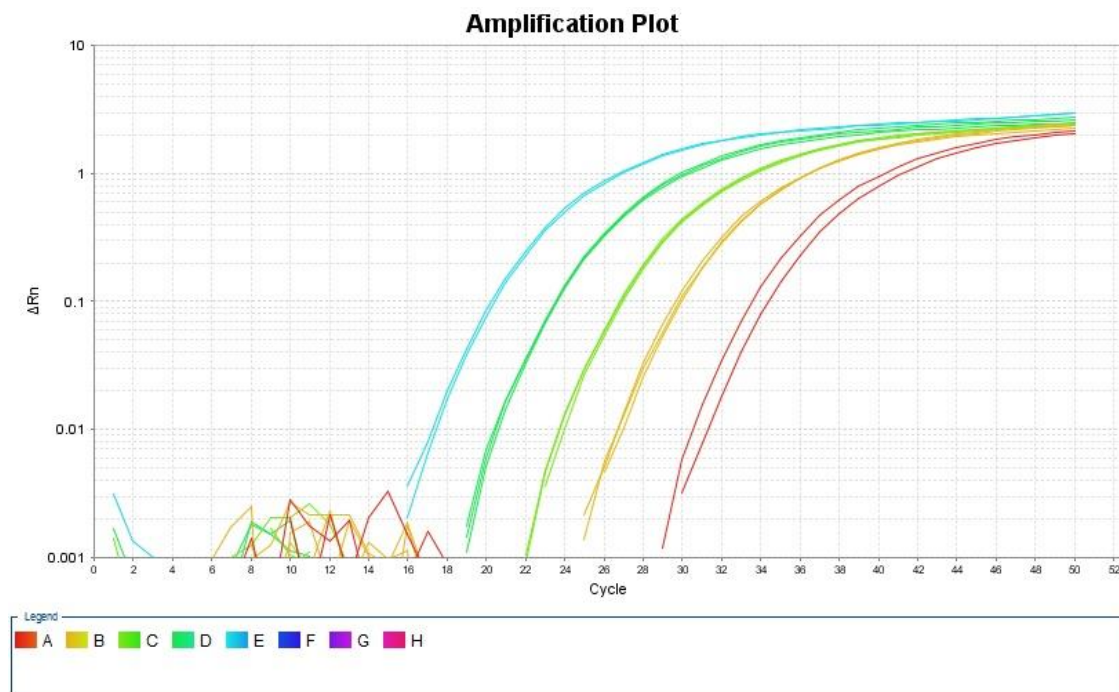
Figura 7 – ABL1_BCR-ABL1_Single_09072024



Por fim, uma nova diluição foi realizada, com um novo plasmídeo, respeitando as concentrações previamente definidas, visando à otimização da curva-padrão para garantir reprodutibilidade e, a qPCR subsequente, focada exclusivamente no gene ABL1, confirmou sua eficácia como controle interno da reação. Por se tratar de um gene endógeno humano, expresso de forma constante e estável nas células, o gene ABL já foi empregado como referência

quantitativa na qPCR em outros estudos que seguem a mesma linha de pesquisa, assegurando a confiabilidade dos resultados, como pode ser observado na figura 8 (Wang, 2014).

Figura 8 – Amplification Plot-abl130325



Conclusão

A curva do plasmídeo BCR-ABL1 Total referente ao ponto de quebra P190 do gene BCR-ABL1, característico da LLA-B Ph+, demonstra eficiência ao amplificar todas as diluições testadas, com resultados apenas 2x mais concentrados do que o esperado, conforme o controle fornecido pelo Kit da *Zeeman Biotech*, sendo assim necessário a recalibração previa das curvas, usando controles comerciais padronizados para garantir a precisão dos resultados esperados. A validação do gene ABL1 como controle endógeno da reação também foi bem sucedida.

A padronização da técnica de RT-qPCR é vital para o diagnóstico molecular e o monitoramento da Doença Residual Mínima (DRM) em pacientes pediátricos, permitindo a detecção precoce de pequenas quantidades de material genético alterado, o que possibilita tratamentos mais eficazes e personalizados. A técnica também facilita a previsão de recaídas e o ajuste de terapias, reduzindo a necessidade de intervenções invasivas e garantindo maior precisão nos diagnósticos, especialmente em crianças.

Referências

ALIGENT 4200 tapestation system: system manual. [S. l.]: Agilent, 2022. Disponível em: https://www.agilent.com/cs/library/usermanuals/public/4200-TapeStation_SystemManual.pdf. Disponível em: 22 jul. 2025.

DONGEN, J. M. *et al.* Standardized RT-PCR analysis of fusion gene transcripts from chromosome aberrations in acute leukemia for detection of minimal residual disease. *Leukemia*, v. 13, p. 1901-1928, 1999. DOI: 10.1038/sj.leu.2401592.

FERREIRA, J. C.; PATINO, C. M. Critérios de inclusão e exclusão em estudos de pesquisa: definições e por que eles importam. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 44, n. 2, p. 84-84, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1806-37562018000000088>.

GRANDO, A. C.; WAGNER, S. C. Avaliação laboratorial da doença residual mínima na leucemia mieloide crônica por *Real-Time* PCR. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 44, n. 6, p. 433-440, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1676-24442008000600007>.

IACOBUCCI, I.; MULLIGHAN, C. G. Genetic basis of acute lymphoblastic leukemia. **Journal of Clinical Oncology**, v. 35, n. 9, p. 975-983, 2017. DOI: [10.1200/JCO.2016.70.7836](https://doi.org/10.1200/JCO.2016.70.7836).

KRALIK, P; RICCHI, M. A basic guide to real time PCR in microbial diagnostics: Definitions, parameters, and everything. **Frontiers in microbiology**, v. 8, n. 108, p. 1-9, 2017. DOI: [10.3389/fmicb.2017.00108](https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00108).

LAURENT, E. *et al.* The BCR gene and Philadelphia chromosome-positive leukemogenesis. **American Association for Cancer Research**, v. 61, n. 6, p. 2343-2355, 2001. Disponível em: <https://aacrjournals.org/cancerres/article/61/6/2343/508483/The-BCR-Gene-and-Philadelphia-Chromosome-positive>. Acesso em: 22 jul. 2025.

NARDINELLI, L. **Acompanhamento molecular de pacientes com leucemia mieloide crônica tratados com mesilato de imatinibe e avaliação dos mecanismos de resistência ao tratamento**: mutação do gene BCRABL e expressão dos genes MDR1 e BCRP. 2009. 118f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

QUBIT 4 Fluorometer. **Thermo Fisher Scientific**, [2025]. Disponível em: <https://www.thermofisher.com/br/en/home/industrial/spectroscopy-elemental-isotope-analysis/molecular-spectroscopy/fluorometers/qubit/models/qubit-4.html>. Acesso em: 22 jul. 2025.

TIRABASSI, R. How to identify supercoils, nicks and circles in DNA plasmid preps using gel eletrophoresis. **BiteSize Bio**, 30 maio 2025. Disponível em: <https://bitesizebio.com/13524/how-to-identify-supercoils-nicks-and-circles-in-plasmid-preps/>. Acesso em: 22 jul. 2025.

WANG, J. Y. J. The capable ABL: what is its biological function? **Molecular and Cellular Biology**, v. 34, n. 7, p. 1188-1197, 2014. DOI: [10.1128/MCB.01454-13](https://doi.org/10.1128/MCB.01454-13).

YON, M. A. C. **Expressão de galectina-1 e -1 na Leucemia Mieloide Crônica e sua contribuição para progressão da doença**. 2009. 222f. Tese (Doutorado em Imunologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

ZAGO, M.; FALCÃO, R.; PASQUINI, R. **Tratado de hematologia**. São Paulo: Editora Atheneu, 2013.

AValiação da Função Pulmonar de Pacientes Pediátricos com Doença Falciforme em Tratamento com Hidroxiureia no Hospital Pediátrico Terciário de Brasília

Felipe Lopes de Freitas¹
Carmen Livia Faria da Silva Martins²
Larissa da Costa Souza³

Resumo

O estudo buscou caracterizar os distúrbios ventilatórios presentes em pacientes pediátricos em tratamento com HU para DF, por meio da espirometria. Foi realizado um estudo observacional e retrospectivo, analisando 39 espirometrias realizadas entre janeiro de 2015 e julho de 2019, com dados obtidos de prontuários eletrônicos e exames no Hospital da Criança de Brasília José Alencar e em sua maioria com resultados condizentes com a literatura. Dados como sexo, idade, cor/raça, diagnóstico precoce (teste do pezinho), idade com maiores alterações pulmonares e medidas gerais de tratamento apresentaram-se de acordo com a literatura. Além disso, o IMC foi estatisticamente associado ao resultado da espirometria pré e pós uso do medicamento, assim sendo, pacientes com IMC sobrepeso apresentaram significativamente mais distúrbio ventilatório do tipo DVO ($p = 0,026$). Os resultados mostraram que o distúrbio ventilatório obstrutivo (DVO) foi o mais comum, em contraste com a literatura, que aponta o distúrbio ventilatório inespecífico (DVI) ou restritivo (DVR) como mais prevalentes. Outrossim, pacientes com DVO apresentaram Z-escore de IMC significativamente maior que os pacientes com DVR ($P = 0,038$, teste de Dunn) e DVI ($P = 0,049$, teste de Dunn). O estudo também correlacionou os distúrbios ventilatórios à qualidade de vida dos pacientes, destacando a necessidade de um protocolo para avaliação pulmonar em pacientes que começam o tratamento com HU, a fim de investigar mais profundamente os impactos do medicamento na função pulmonar.

Palavras-chave: Testes de Função Respiratória. Espirometria. Hidroxiureia. Hospitais Pediátricos. Anemia Falciforme.

Introdução

A Doença Falciforme (DF) é a hemoglobinopatia hereditária monogênica autossômica recessiva mais comum, sendo assim, é considerada um problema de saúde pública e de grande impacto no paciente afetado pela patologia (Lima *et al.*, 2021; OPAS, 2017; Vieira *et al.*, 2016).

A HbS possui funções alteradas em estágios de baixa oxigenação, devido a seu processo de polimerização (Lima *et al.*, 2021; Moreira, 2007). Ademais, à medida que a membrana eritrocitária sofre sucessivos processos de desoxigenação, ocorrem mudanças

¹ Acadêmico de medicina do Centro Universitário de Brasília (CEUB) e Bolsista de iniciação científica do Hospital da Criança de Brasília (HCB).

² Professora do Departamento de Medicina da Universidade de Brasília, Pneumologista pediátrica do HCB e HUB.

³ Bioestatístico do Hospital da Criança de Brasília José Alencar (HCB).

bioquímicas, as quais contribuem para a perda de complacência e o enrijecimento da HbS, que podem adquirir o formato falciforme em definitivo (Brasil, 2012; Rocha, 2011).

Devido às múltiplas particularidades envolvidas, tanto nas manifestações clínicas quanto nos órgãos afetados, faz-se fulcral ressaltar o pulmão, que é um órgão muito propício ao acometimento agudo e crônico causados pela falcização e sequestro celular, visto que o constante estresse oxidativo que deflagra a isquemia, disfunção endotelial, proliferação vascular, inflamação, promove uma alteração no padrão respiratório dos pacientes com a doença, onde pode ser observado por exames como a espirometria (César, 2020; Santos *et al.*, 2021; Brasil, 2012; Rocha, 2011). De modo agudo, destaca-se o trombo embolismo pulmonar (TEP) e a STA, segunda maior causa de hospitalização em crianças, atrás apenas das crises algícas (Ballas *et al.*, 2006).

Tendo em vista as alterações pulmonares supracitadas, elas adquirem um padrão de alteração da função pulmonar, predispondo distúrbios restritivos e/ou obstrutivos, bem como a hipertensão pulmonar, sendo que a fisiopatologia em crianças não está totalmente esclarecida (César, 2020; Taksande *et al.*, 2021; Vieira *et al.*, 2016).

Cabe aqui ponderar que os pacientes pediátricos, por apresentarem Hemoglobina Fetal (HbF), podem não exibir manifestações clínicas importantes, contudo, com o passar dos anos vale atentar-se para essa condição (BRASIL, 2012; ROCHA, 2011). Ademais, estudos recentes, os quais observaram uma coorte de população pediátrica, mostraram que a DF foi a segunda doença com maior prevalência na análise da função pulmonar depois da asma, apesar de 43% se encontrarem com função pulmonar dentro da normalidade (Encontro de Iniciação Científica do Hospital da Criança de Brasília, 2021; 2022).

Para o diagnóstico das alterações pulmonares supracitadas, a espirometria é o exame que avalia de forma não invasiva, de fácil execução e que promove o acompanhamento da função pulmonar (Jones, 2017; Rodrigues *et al.*, 2002). No exame, os fluxos e volumes são afetados pela estatura, sexo e idade, e para a interpretação da prova há necessidade de se conhecer os valores esperados ou previstos para indivíduos saudáveis das referidas faixas (Brasil, 2009; BVS, 2024).

Nesse meandro, surge o tratamento que hoje é preconizado para a DF: a hidroxiuréia (HU). Anos depois, após observação de que valores aumentados HbF previnem várias complicações da DF, a medicação foi inserida para prevenção de complicações da DF, proporcionando melhor qualidade de vida aos portadores da doença (Charache *et al.*, 1995; Steinberg *et al.*, 2003; Stevens, 1999).

Essa medicação se mostrou segura, de administração oral, de fácil controle e com poucos efeitos adversos, promovendo bloqueio da síntese de DNA pela inibição da ribonucleotídeo redutase, mantendo as células em fase S do ciclo celular, entretanto o mecanismo ainda não é totalmente compreendido (Ballas *et al.*, 2006; Brasil, 2018).

No tocante à questão epidemiológica, de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS) nascem cerca de 275 mil crianças com DF por ano, sendo, no Brasil, cerca de 3 mil nascidas vivas/ano (OPAS, 2017). Ressalte-se o impacto e o papel do Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN) na detecção precoce da doença, que proporciona o rastreamento realizado pelo Ministério da Saúde (MS), indicando a necessidade de atenção à essa doença como questão de saúde pública (Charache *et al.*, 1995; OPAS, 2017).

Por fim, a presente pesquisa buscou avaliar as alterações e os possíveis impactos da HU nos resultados espirométricos, bem como se a medicação gerou efeitos no cuidado à saúde pulmonar dos pacientes.

De igual modo, o resultado do estudo propõe orientar, contribuir e qualificar a assistência aos pacientes acompanhados no Hospital da Criança de Brasília José de Alencar (HCB), assim como gerar dados para comparação na literatura médica

Sendo assim, o presente estudo busca caracterizar os distúrbios ventilatórios presentes em crianças e adolescentes em tratamento com Hidroxiureia para Doença Falciforme, identificados por meio de espirometrias realizadas no Laboratório de Função Pulmonar do Hospital da Criança de Brasília José Alencar, bem como avaliar dados epidemiológicos dos pacientes em estudo.

Metodologia

Trata-se de estudo observacional e analítico com delineamento transversal por meio da análise documental de dados cadastrais e de espirometrias de crianças e adolescentes diagnosticados com Doença Falciforme (DF) em tratamento com Hidroxiureia (HU), identificados por meio de exames que foram realizadas no Laboratório de Função Pulmonar do HCB, no período de 1º de janeiro de 2015 a junho de 2019, sendo assim, com avaliação de cunho retrospectivo e quantitativo.

Os resultados foram divididos na análise descritiva e de associação. Os dados foram compilados em planilha de dados do software Microsoft Excel (2016) e analisados por meio do programa SPSS (Statistical Package for the Social Sciences), versão 23 (IBM Corp., 2015), com testes bilaterais e nível de significância de 5%.

Os dados clínicos foram associados ao tipo de distúrbio ventilatório por meio do teste Exato de Fisher. As variáveis quantitativas foram inicialmente avaliadas em relação à distribuição dos dados por meio do teste Shapiro-Wilk. Rejeitou-se a hipótese nula da normalidade de distribuição dos dados para a maioria das variáveis e, considerando também o reduzido tamanho amostral, foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis para comparação entre os grupos. Nos casos significativos foi utilizado o teste post hoc de Dunn de comparações aos pares.

De acordo com a técnica e os critérios de aceitabilidade e reprodutibilidade estabelecidos para a realização de exames espirométricos, interpretou-se os resultados: a indicação de distúrbio obstrutivo, com ou sem diminuição da Capacidade Vital Forçada (CVF); a sugestão de transtorno restritivo, inespecífico ou misto; a função pulmonar normal, bem como se houve resposta ou não ao broncodilatador. Os dados foram analisados de acordo com as Diretrizes para Testes de Função Pulmonar de 2002 e atualizados para os valores de referência para crianças brasileiras, segundo reavaliação de 2019 feita pelo Jornal Brasileiro de Pneumologia (JONES *et al.*, 2020; PEREIRA *et al.*, 2002; PEREIRA, 2021).

Resultados e Discussão

Ao analisar as espirometrias realizadas em exame no Laboratório de Função Pulmonar do HCB, que estiveram inclusas dentro dos critérios de elegibilidade, foram identificados 39 pacientes com DF, dos quais 19 pacientes eram do sexo masculino (48,7%) e 20 pacientes do sexo feminino (51,3%) (Tabela 1). Esse resultado é compatível com os dados do MS, que apresentam proporção de 48,4% e 51,6% para os sexos masculino e feminino respectivamente (Brasil, 2021; Sarat *et al.*, 2019).

Tabela 1 – Análise descritiva dos dados clínicos de pacientes pediátricos diagnosticados com doença falciforme, janeiro de 2015 a junho de 2019

		n	%
Sexo	Feminino	20	51,3
	Masculino	19	48,7
Cor / raça	Branca	1	2,8
	Parda	33	91,7
	Preta	2	5,6
	Não informado	3	
IMC	Baixo	9	23,1
	Eutrófico	27	69,2
	Sobrepeso	3	7,7
Percentil	P1	5	12,8
	P3	5	12,8
	P5	6	15,4
	P15	4	10,3
	P25	8	20,5
	P50	3	7,7
	P75	3	7,7
	P85	3	7,7
Diagnóstico de doença falciforme	SS	36	92,3
	SC	2	5,1
	SB	1	2,6
Diagnóstico no teste do pezinho	Não	7	22,6
	Sim	24	77,4
	Não informado	8	
Complicações com o uso da hidroxiuréia	Não	22	56,4
	Sim	17	43,6
Resultado da espirometria	Normal	16	41,0
	DVO	13	33,3
	DVI	8	20,5
	DVR	2	5,1
Grau de comprometimento na espirometria	Leve	14	35,90
	Moderado	1	2,56
	Sem grau comprometimento*	24	61,54
Resposta ao BD	Sem resposta ao BD	35	89,7
	Com redução de CVF e sem resposta ao BD	2	5,1
	Com resposta ao BD	2	5,1
	Total	39	100,0

(*). O distúrbio ventilatório inespecífico não pode ser classificado quanto a grau de comprometimento. (GINA, 2021; JONES et al, 2020; PEREIRA et al , 2002; PEREIRA 2021).

Tabela 2 – Análise descritiva de dados quantitativos de pacientes pediátricos diagnosticados com doença falciforme, janeiro de 2015 a junho de 2019

	n	Média	Mediana	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	Amplitude interquartil
Idade no exame (anos)	39	11,62	11,00	2,70	6,00	17,00	4,00
Peso (kg)	39	35,09	34,00	10,18	19,00	59,00	14,70
Altura (m)	39	1,43	1,41	0,14	1,14	1,68	0,26
IMC	39	16,77	16,47	2,66	12,56	22,96	4,14
Z- escore	39	-0,64	-1,00	1,09	-3,00	2,00	1,00
Idade no diagnóstico (anos)	31	0,44	0,00	1,04	0,00	5,00	0,00
Idade que começou a usar a hidroxiuréia (anos)	39	9,56	11,00	4,20	1,00	17,70	7,00
Dose do medicamento no período da complicação (mg/kg/dia)	9	26,77	26,00	2,11	25,00	31,00	3,50

Com relação à idade (Tabela 2), a idade média foi de 11,62 anos., a literatura não tem valores exatos para idade de diagnóstico mundial, entretanto, a prevalência é de 7% da população mundial, no Brasil, para o genótipo HbSS é de cinco anos, e para o HbSC é de 21 anos (Felix *et al.*, 2010, Sarat *et al.*, 2019). Nesse sentido, em se tratando de população geral, representou uma parcela importante, totalizando quase 49% do público geral (Brasil, 2021). Entretanto, vale ressaltar que a população analisada é restrita a pacientes pediátricos, visto que o serviço é especializado nesse público (Sarat *et al.*, 2019).

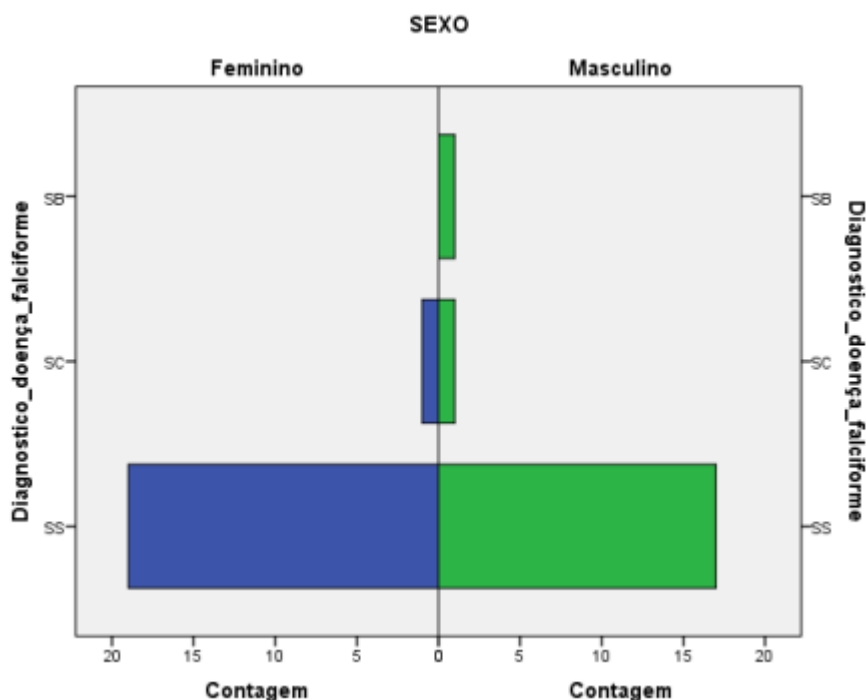
Ademais, os atendimentos começaram em idades mais avançadas em se tratando de serviço pediátrico, ressaltando divergência em relação à idade do diagnóstico (Tabela 2), talvez o principal fator, seja a dificuldade dos pacientes em realizar a espirometria (critério de elegibilidade da amostra), exame não invasivo que muitas das vezes só consegue ser realizado adequadamente por volta dos 6 anos de idade (Dantas *et al.*, 2020; Farias *et al.*, 2019; Silva *et al.*, 2017). Contudo, ainda assim, os dados apresentam diferenças de idades, com desvio padrão dentro do esperado (Burity *et al.*, 2013). Nesse sentido, ratifica-se o Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN), tanto em sua cobertura quanto na atenção aos pacientes detectados, confirmando sua atuação no rastreamento de pacientes com DF e os resultados semelhantes observados no referenciamento a serviços terciários, como é o caso do HCB (Brasil, 2021; Reis *et al.*, 2021).

Cabe ressaltar que 8 pacientes não tiveram suas idades de diagnósticos relatadas em seus prontuários médicos, sendo assim, retiradas para análise exclusiva dos parâmetros supracitados. Em relação ao Índice de Massa Corporal (IMC) e o Z-escore (Tabela 2), apesar da DF ser considerada uma doença catabólica, os resultados foram divergentes e mostraram que 27 pacientes se apresentaram eutróficos (69,23%), 9 pacientes com baixo peso (23,08%) e 3 pacientes em sobrepeso (7,69%) (Esposto *et al.*, 2021; Jesus *et al.*, 2018, Paiva *et al.*, 2022).

Ademais, com relação ao tipo de acometimento, 36 pacientes (92,31%) apresentavam subtipo SS e não foi possível obter relevância estatística quando esses subtipos foram relacionados ao sexo e IMC, como observado por outros estudos (Esposto *et al.*, 2021). Esse fato pode ser explicado principalmente por se tratar de um hospital terciário especializado no tratamento de casos graves da doença, visto que os dados da literatura trazem o subtipo SS representando cerca de 62% do total de casos (Brasil, 2021; Freire, 2011; Teixeira, 2014, Sousa *et al.*, 2021).

Em relação à distribuição por sexo dos subtipos (Figura 1), os resultados estão de acordo com a literatura que apresenta distribuição semelhante entre os sexos feminino e masculino, 51% e 49% respectivamente (Brasil, 2021).

Figura 1 - Sexo / Subtipo da doença em pacientes atendidos no HCB com DF incluídos no estudo. n = 39. Brasília-DF, 2015-2019



Em análise voltada à espirometria, o principal distúrbio ventilatório foi o obstrutivo (Tabela 1), representando 13 pacientes (33,33%). Além disso, o resultado normal foi o mais prevalente na amostra com 16 pacientes (41,03%). Esses resultados estão contrários ao proposto pela literatura que retrata a maioria dos pacientes com alterações na função pulmonar, sendo o DVI e/ou DVR o mais prevalente (Santos *et al.*, 2021; Fonseca *et al.*, 2011; Taksande *et al.*, 2021, Vieira *et al.*, 2016).

Dentro desta análise, cabe ressaltar a resposta ao broncodilatador, bem como o grau de comprometimento dos distúrbios respiratórios (Tabela 1), que apresentou quase 90% da amostra sem resposta ao broncodilatador e o comprometimento leve em 35,9% dos pacientes. Esses resultados são contrários à literatura que relata a presença de resposta ao broncodilatador e alteração importante da função pulmonar (Fonseca *et al.*, 2011; Lunt *et al.*, 2016).

No que tange ao uso da HU a idade mais prevalente de início foi aos 11 anos (Tabela 2), o que corrobora com o preconizado pelo Protocolo Clínico de Diretrizes Terapêuticas (PCDT) que refere claros benefícios observados nos estudos, bem como boa tolerabilidade e prevenção de eventos adversos (Gulbis *et al.*, 2005; Brasil, 2018; Yahouedhou *et al.*, 2020; Zimmerman *et al.*, 2004).

Entretanto, o PCDT, não adota idade mínima ao uso da medicação, referindo como população pediátrica. Todavia, relata que evita sequestro esplênico, algo que epidemiologicamente costuma acontecer entre os 3 meses e 5 anos de idade, sendo assim, a utilização pode ser inferida a partir desta idade (Brasil, 2018). Outrossim, evidências internacionais colocam a idade inicial aos 9 meses, talvez, uma idade mais segura e tolerável ao uso da medicação (NHLBI, 2014).

Nesse sentido, as idades de início da medicação se mostraram seguras e assertivas, respeitando protocolos nacionais e internacionais de tratamento (Brasil, 2018; NHLBI, 2014).

Observa-se na tabela 3 que o IMC foi estatisticamente associado ao resultado da espirometria pré e pós uso do medicamento. Pacientes com IMC sobrepeso apresentaram significativamente mais distúrbio ventilatório do tipo DVO.

Tabela 3 – Análise de associação entre o resultado da espirometria e os dados clínicos de pacientes pediátricos diagnosticados com doença falciforme, janeiro de 2015 a junho de 2019.

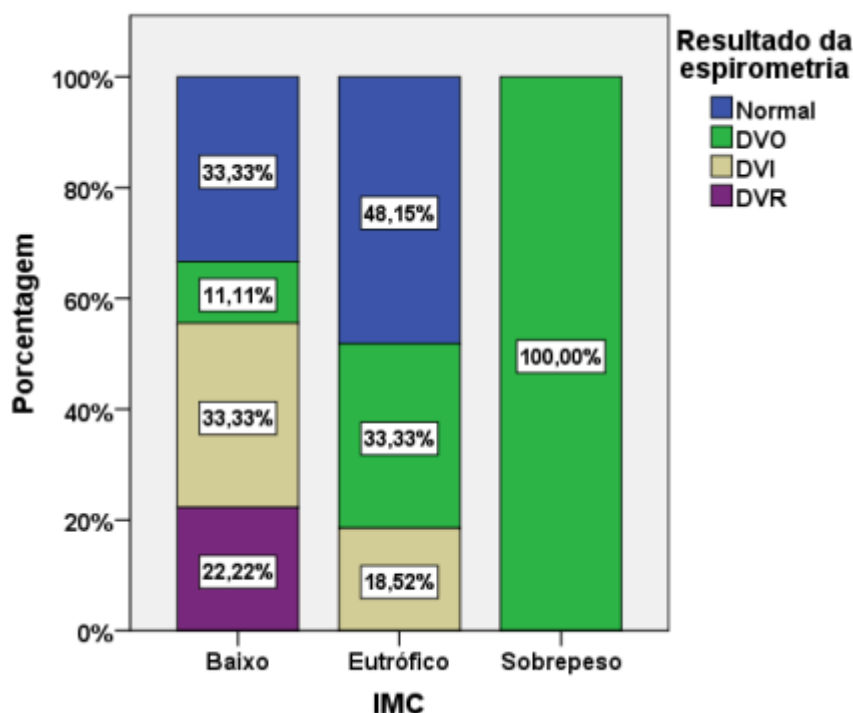
		Resultado da espirometria					Total	P*
		Norma I	DVO	DVI	DVR			
Sexo	Feminino	n	8	8	3	1	20	0,783
		%	40,00	40,00	15,00	5,00	100,00	
	Masculino	n	8	5	5	1	19	
		%	42,11	26,32	26,32	5,26	100,00	
Cor / raça	Branca	n	1	0	0	0	1	0,206
		%	100,00	0,00	0,00	0,00	100,00	
	Parda	n	14	11	6	2	33	
		%	42,42	33,33	18,18	6,06	100,00	
	Preta	n	0	0	2	0	2	
		%	0,00	0,00	100,00	0,00	100,00	
IMC	Baixo	n	3	1	3	2	9	0,026
		%	33,33	11,11	33,33	22,22	100,00	
	Eutrófico	n	13	9	5	0	27	
		%	48,15	33,33	18,52	0,00	100,00	
	Sobrepeso	n	0	3	0	0	3	
		%	0,00	100,00	0,00	0,00	100,00	
Diagnóstico de doença falciforme	SS	n	14	12	8	2	36	1,000
		%	38,89	33,33	22,22	5,56	100,00	
	SC	n	1	1	0	0	2	
		%	50,00	50,00	0,00	0,00	100,00	
	SB	n	1	0	0	0	1	
		%	100,00	0,00	0,00	0,00	100,00	
Diagnóstico no teste do pezinho	Não	n	1	3	3	0	7	0,087
		%	14,29	42,86	42,86	0,00	100,00	
	Sim	n	14	5	3	2	24	
		%	58,33	20,83	12,50	8,33	100,00	
Complicações com o uso da hidroxiuréia	Não	n	10	9	3	0	22	0,212
		%	45,45	40,91	13,64	0,00	100,00	
	Sim	n	6	4	5	2	17	
		%	35,29	23,53	29,41	11,76	100,00	
Grau de comprometimento na espirometria	Leve	n	0	13	0	1	14	0,133
		%	0,00	92,86	0,00	7,14	100,00	
	Moderado	n	0	0	0	1	1	
		%	0,00	0,00	0,00	100,00	100,00	
Resposta ao BD	Sem resposta ao BD	n	16	10	7	2	35	0,308
		%	45,71	28,57	20,00	5,71	100,00	
	Com redução de CVF sem resposta ao BD	n	0	1	1	0	2	
		%	0,00	50,00	50,00	0,00	100,00	

	Com resposta ao BD	n	0	2	0	0	2
		%	0,00	100,00	0,00	0,00	100,00
Total		n	16	13	8	2	39
		%	41,03	33,33	20,51	5,13	100,00

(*) Teste Exato de Fisher.

Quanto à avaliação do IMC relacionado ao resultado da espirometria (Tabela 3 e Figura 2) foram encontradas alterações importantes. Conforme elucidado na literatura, a alteração do IMC está intimamente relacionada com alterações da função pulmonar (Melo, 2014; Silva; Luchesa, 2019; Winck *et al.*, 2016). Além disso, a distribuição dos valores espirométricos demonstrou resultados diversos nos pacientes de baixo peso e predomínio maciço do DVO nos pacientes com sobrepeso (Ferreira *et al.*, 2017; Melo *et al.*, 2014; Modena *et al.*, 2019; Tenório *et al.*, 2012);

Figura 2 – Percentual do resultado da espirometria em relação ao IMC de pacientes pediátricos diagnosticados com doença falciforme, janeiro de 2015 a junho de 2019



Em relação aos dados quantitativos, os valores de Z-escore foram significativamente diferentes entre os grupos de distúrbio ventilatório (Tabela 4). Pacientes com DVO apresentaram Z-escore de IMC significativamente maior que os pacientes com DVR ($P = 0,038$, teste de Dunn) e DVI ($P = 0,049$, teste de Dunn).

Tabela 4 – Análise de associação entre o resultado da espirometria e os dados quantitativos de pacientes pediátricos diagnosticados com doença falciforme, janeiro de 2015 a junho de 2019

	Resultado da espirometria pré e pós uso do medicamento								P*
	Normal		DVO		DVI		DVR		
	Mediana	AI	Mediana	AI	Mediana	AI	Mediana	AI	
Idade no exame (anos)	11,50	3,75	10,00	3,00	13,50	5,00	12,50	1,50	0,227
Peso (kg)	32,20	26,38	35,20	14,00	38,00	12,00	31,50	2,50	0,913
Altura (m)	1,41	0,34	1,37	0,15	1,54	0,19	1,50	0,04	0,357
IMC	16,09	4,13	18,52	4,40	15,94	2,15	14,06	0,46	0,104
Z- escore	-0,50	1,00	0,00	2,00	-1,00	1,00	-2,00	0,00	0,021
Idade no diagnóstico (anos)	0,00	0,00	0,00	1,56	0,75	1,63	0,00	0,00	0,079
Idade que começou a usar a hidroxiuréia (anos)	10,00	7,50	6,00	8,00	12,00	5,00	11,00	0,00	0,382
Dose do medicamento no período da complicação (mg/kg/dia)	27,00	2,00	28,00	3,00	25,45	0,45	26,00	0,00	0,659

(*) Teste de Kruskal-Wallis. AI = amplitude interquartil.

Por fim, cabe salientar a limitação da avaliação pré e pós broncodilatador, visto o número limitado de pacientes com ambos os intervalos descritos. Cabe ainda ressaltar o número limitado de pacientes da amostra, apesar de representar uma parcela quase total dos pacientes em atendimento no Distrito Federal.

Conclusão

O presente estudo, demonstrou a correlação intrínseca entre a avaliação pulmonar e DF, bem como os possíveis impactos do uso da HU nos testes de função pulmonar.

Os resultados apresentados pelo estudo apresentaram correlação intrínseca com os achados da literatura mais atual, como é o caso do sexo, idade, cor/raça, diagnóstico precoce (teste do pezinho), idade com maiores alterações pulmonares e medidas gerais de tratamento.

Outro aspecto importante de se salientar é que, embora a prova funcional ainda não seja pré-requisito para início da HU, de acordo com o PCDT, a implementação de um protocolo de função pulmonar de pacientes com DF que iniciarão a HU no HCB seria relevante, uma vez que há grande repercussão pulmonar observada, no sentido de padronizar condutas e melhorar a assistência a esses pacientes.

Dessarte, faz-se fulcral novos estudos na área e valores espirométricos de pacientes pré e pós uso da HU para correta avaliação dos efeitos da medicação na função pulmonar dos pacientes.

Referências

BALLAS, S. *et al.* Hydroxyurea and sickle cell anemia: effect on quality of life. **Health and Quality of Life Outcomes**, v. 4, n. 59, 2006. DOI: 10.1186/1477-7525-4-59.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria Conjunta n. 1, de 19 de fevereiro de 2018**. Brasília: Ministério da Saúde, 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Especializada. **Doença falciforme**: condutas básicas para tratamento. Brasília: Ministério da Saúde, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção Especializada à Saúde. Departamento de Atenção Especializada e Temática. **Perfil das hemoglobinopatias: doença falciforme: dados 2016**. Brasília: Ministério da Saúde, 2021.

BRASIL. **Calculadora médica**: Cálculo de Índice de Massa Corporal (IMC) infantil. Telessaúde, 2009.

BURITY, E. *et al.* Reference values for spirometry in preschool children. **Jornal de Pediatria**, v. 89, n. 4, p. 374-380, 2013. DOI: 10.1016/j.jpedp.2013.01.003.

BVS. **Calculadora de IMC infantil**. [2023]. Disponível em: <https://aps.bvs.br/apps/calculadoras/?page=7>. Acesso em: 21 jul. 2023.

CÉSAR, D. **Complicações respiratórias da doença de células falciformes em idade pediátrica**. 2020. Tese (Doutorado) – Universidade de Lisboa, Lisboa, 2020.

CHARACHE, S. *et al.* Effect of hydroxyurea on the frequency of painful crises in sickle cell anemia. Investigators of the Multicenter Study of Hydroxyurea in Sickle Cell Anemia. **New England Journal of Medicine**, v. 332, n. 20, p. 1317-1322, 1995. DOI: 10.1056/NEJM199505183322001.

DANTAS, M. *et al.* Fatores associados ao acesso precário aos serviços de saúde no Brasil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 24, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/1980-549720210004>.

ENCONTRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DO HOSPITAL DA CRIANÇA DE BRASÍLIA, 7., 2021, Brasília, DF. **Anais eletrônicos** [...]. Brasília, DF: HCB, 2021.

ENCONTRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DO HOSPITAL DA CRIANÇA DE BRASÍLIA, 8., 2022, Brasília, DF. **Anais eletrônicos** [...]. Brasília, DF: HCB, 2022.

ESPÓSITO, T. *et al.* Doença falciforme e índice de massa corporal: aspectos de uma coorte. **Hematology, Transfusion and Cell Therapy**, v. 43, p. S478-S479, 2021. DOI: 10.1016/j.htct.2022.09.1054.

FARIAS, C. M. L. *et al.* Tempo de espera e absenteísmo na atenção especializada: um desafio para os sistemas universais de saúde. **Saúde em Debate**, v. 43, p. 190-204, 19 jun. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-11042019S516>.

FELIX, A. A.; SOUZA, H. M.; RIBEIRO, S. B. F. Aspectos epidemiológicos e sociais da doença falciforme. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 32, n. 3, p. 203-208, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-84842010005000072>.

FERREIRA, M. *et al.* Spirometry and volumetric capnography in lung function assessment of obese and normal-weight individuals without asthma. **Jornal de Pediatria**, v. 93, n. 4, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jped.2016.10.007>.

FONSECA, C. *et al.* Função pulmonar em portadores de anemia falciforme. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 29, p. 85-90, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-05822011000100014>.

FREIRE, S. R. F. **Anemia falciforme**: aspectos gerais. 2011. TCC (Pós-graduação em Genética) – Universidade Federal do Paraná, Votorantim, 2011.

GULBIS, B. *et al.* Hydroxyurea for sickle cell disease in children and for prevention of cerebrovascular events: the Belgian experience. **Blood**, v. 105, n. 7, p. 2685-2690, 2005. DOI: [10.1182/blood-2004-07-2704](https://doi.org/10.1182/blood-2004-07-2704).

JESUS, A. *et al.* Características socioeconômicas e nutricionais de crianças e adolescentes com anemia falciforme: uma revisão sistemática. **Revista Paulista de Pediatria**, V. 36, P. 491-499, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1590/1984-0462/2018;36;4;00010>.

JONES, M. Espirometria em crianças. *In*: MACIEL, R.; AIDÉ, M. A. (org.). **Prática Pneumológica**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. P. 155-163.

JONES, M. *et al.* Valores de referência de espirometria para crianças brasileiras. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 46, n. 3, 2020. DOI: <https://dx.doi.org/10.36416/1806-3756/e20190138> 1/8.

LIMA, D. de *et al.* Desafios enfrentados pelas pessoas com doença falciforme nas situações de crise: Entraves nos serviços de emergência. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 5, p. e45410515078-e45410515078, 2021. DOI: [10.33448/rsd-v10i5.15078](https://doi.org/10.33448/rsd-v10i5.15078).

LUNT, A. *et al.* Longitudinal assessment of lung function in children with sickle cell disease. **Pediatric Pulmonology**, v. 51, n. 7, p. 717-723, 2016. DOI: [10.1002/ppul.23367](https://doi.org/10.1002/ppul.23367).

MELO, L. C. *et al.* Obesity and lung function: a systematic review. **Einstein**, v. 12, n. 1, p. 120-125, 2014. DOI: [10.1590/s1679-45082014rw2691](https://doi.org/10.1590/s1679-45082014rw2691).

MODENA, D. *et al.* Respiratory evaluation through volumetric capnography among grade III obese and eutrophic individuals: a comparative study. **Sao Paulo Medical Journal**, v. 137, n. 2, p. 177-183, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1590/1516-3180.2017.0085011017>.

MOREIRA, G. Repercussões respiratórias da anemia falciforme. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 33, n. 3, p. xviii–xx, maio 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1806-37132007000300002>.

NATIONAL HEART, LUNG, AND BLOOD INSTITUTE (NHLBI). **Evidence-based management of sickle cell disease**: Expert Panel Report, 2014. Washington, DC: National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI), 2014. Disponível em: https://www.nhlbi.nih.gov/sites/default/files/media/docs/sickle-cell-disease-report%20200816_0.pdf. Acesso em: 10 jan. 2024.

OPAS. **Doença Falciforme**. 2017. Disponível em: http://www.paho.org/bra/ind ex.php?option=com_content&view=article&id=395:doenca-falciforme&Itemid=539. Acesso em: 15 dez. 2023.

PAIVA, G. *et al.* O conhecimento de crianças e adolescentes com anemia falciforme sobre seu autocuidado. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 7, e27311729934-e27311729934, 2022. DOI: 10.33448/rsd-v11i7.29934.

PEREIRA, C. A. de C. *et al.* Diretrizes para testes de função pulmonar. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 28 supl. 3, 2002.

PEREIRA, C. A. de C. **Testes de função pulmonar: bases, interpretação e aplicações** Rio de Janeiro: Atheneu, 2021.

REIS, C. *et al.* A importância da triagem neonatal para a detecção precoce da Anemia Falciforme. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 8, p. e38110817539-e38110817539, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i8.17539.

ROCHA, N. **Distúrbios ventilatórios em portadores de Anemia Falciforme**. 2011. Dissertação (Mestrado em Medicina) – Universidade Federal de Sergipe, Aracajú, 2011.

RODRIGUES, J. *et al.* Prova de função pulmonar em crianças e adolescentes. **Jornal de Pneumologia**, v. 28, supl. 3, out. 2022.

SANTOS, V. dos *et al.* Semi-quantificação cintilográfica de defeitos perfusionais pulmonares em portadores de doença falciforme: comparação com sintomas clínicos espirometria. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, n. 3, p. 12276-12299, 2021. DOI: 10.34119/bjhrv4n3-205.

SARAT, C. *et al.* Prevalência da doença falciforme em adultos com diagnóstico tardio. **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 32, p. 202-209, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1590/1982-0194201900028>.

SILVA, C. *et al.* Dificuldade de acesso a serviços de média complexidade em municípios de pequeno porte: um estudo de caso. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 22, p. 1109-1120, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/1413-81232017224.27002016>.

SILVA, R.; LUCHESA, C. Avaliação da força muscular respiratória em pacientes candidatos a cirurgia bariátrica. *In: ENCONTRO CIENTÍFICO CULTURAL INTERINSTITUCIONAL*, 18., 2019. **Anais [...]**. [S. l.]: Centro Universitário, 2020.

SOUSA, G. *et al.* Anemia falciforme. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 7, n. 11, p. 195-209, 2021. DOI: <https://doi.org/10.51891/rease.v7i11.3054>.

STEINBERG, M. *et al.* Effect of hydroxyurea on mortality and morbidity in adult sickle cell anemia: risks and benefits up to 9 years of treatment. **JAMA**, v. 289, n. 13, p. 1645-1651, 2003. DOI: 10.1001/jama.289.13.1645.

STEVENS, M. Hydroxyurea: an overview. **Journal of Biological Regulators Homeostatic Agents**, v. 13, n. 3, p. 172-175, 1999.

TAKSANDE, A. *et al.* Variation in pulmonary function tests among children with sickle cell anemia: a systematic review and meta-analysis. **Pan African Medical Journal**, v. 39, n. 1, 2021. DOI: 10.11604/pamj.2021.39.140.28755.

TEIXEIRA, P. M. dos S. **Hemoglobinopatias: clínica, diagnóstico e terapêutica**. 2014. Dissertação (Mestrado em Medicina) – Universidade de Coimbra, Coimbra, 2014. Disponível em: <https://core.ac.uk/download/pdf/43574814.pdf>. Acesso em: 15 jan. 2024.

TENÓRIO, L. *et al.* Obesidade e testes de função pulmonar em crianças e adolescentes: uma revisão sistemática. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 30, n. 3, p. 423-430, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-05822012000300018> .

VIEIRA, A. *et al.* Função pulmonar em crianças e adolescentes com doença falciforme: temos dado atenção adequada a esse problema? **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 42, p. 409-415, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1806-37562016000000057>.

WINCK, A. *et al.* Efeitos da obesidade sobre os volumes e as capacidades pulmonares em crianças e adolescentes: uma revisão sistemática. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 34, p. 510-517, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rpped.2016.02.008>.

YAHOUDEDEHOU, S. C. M. A. **Farmacogenética da hidroxiuréia em crianças com anemia falciforme**. 2020. Tese (Doutorado) – Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2020.

ZIMMERMAN, S. *et al.* Sustained long-term hematologic efficacy of hydroxyurea at maximum tolerated dose in children with sickle cell disease. **Blood**, v. 103, n.6, p. 2039-2045, 2004. DOI: 10.1182/blood-2003-07-2475.

ESPIROMETRIA EM CRIANÇAS COM ASMA EM HOSPITAL PEDIÁTRICO DO DISTRITO FEDERAL: ANÁLISE COMPARATIVA ENTRE A GLI E O CONSENSO BRASILEIRO

Júlia Anastácio Furtado¹
Carmen Livia Faria da Silva Martins²
Marcus Herbert Jones³

Resumo

A espirometria, considerada um teste de função pulmonar utilizado para o diagnóstico de distúrbios respiratórios obstrutivos, é aplicada na avaliação funcional respiratória de crianças asmáticas. Sua interpretação é direcionada por equações de referência, sendo a equação *Global Lung Function Initiative* (GLI) a mais usada. Atualmente, a Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia (SBPT) estabeleceu um consenso brasileiro para a interpretação de espirometrias realizadas em crianças até os 12 anos de idade. Trata-se de um estudo descritivo, observacional e transversal por meio da análise de dados cadastrais de espirometrias de crianças e adolescentes diagnosticados com asma, que foram realizadas no Laboratório de Função Pulmonar do Hospital da Criança de Brasília José de Alencar, no período de 1º de janeiro de 2015 a junho de 2019. A partir da análise de 468 espirometrias, a equação GLI considerou normal 78% (364) do total das espirometrias, enquanto o consenso brasileiro classificou 60% (278) das espirometrias dentro da normalidade. O consenso brasileiro apresenta a abordagem mais adequada para a avaliação da função pulmonar na faixa etária dos 3 aos 12 anos, corroborando para um diagnóstico mais assertivo das condições respiratórias nessa população pediátrica.

Palavras-chave: espirometria; asma; hospital pediátrico.

Introdução

A diretriz *Global Initiative for Asthma* (GINA) define a espirometria como um teste de função pulmonar não invasivo e de fácil execução que pode ser solicitado por qualquer especialidade médica nos contextos de análise do comprometimento funcional, confirmação de diagnóstico e avaliação de resposta terapêutica da asma (GINA, 2022; Pizzichini *et al.*, 2020). A asma é uma doença respiratória crônica caracterizada por sintomas variáveis de sibilos, falta de ar, aperto no peito e/ou tosse, e por limitação variável do fluxo aéreo expiratório (GINA, 2024).

Os testes de função pulmonar (PFTs) de rotina abordam três propriedades funcionais dos pulmões: fluxo de ar (inspiratório e expiratório), volumes e capacidades pulmonares e capacidade de difusão do monóxido de carbono no pulmão (Stanojevic *et al.*, 2021). Nesse contexto, os comprometimentos ventilatórios definidos pela espirometria são caracterizados

¹ Acadêmica de Medicina da Universidade Católica de Brasília (UCB) e Bolsista de iniciação científica do Hospital da Criança de Brasília (HCB).

² Pneumologista Pediátrica do Hospital da Criança de Brasília (HCB).

³ Pneumologista Pediátrico e Pesquisador da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS).

como distúrbios obstrutivos, restritivos e de transferência de gases. A asma é classificada como um distúrbio respiratório obstrutivo que apresenta resposta positiva após o teste de responsividade ao broncodilatador.

As medições da função pulmonar em crianças são mais variáveis do que em adultos. Isso se deve tanto à fisiologia dos músculos da parede torácica quanto ao desenvolvimento cognitivo, que pode influenciar a qualidade do teste e a variabilidade biológica (Stanojevic *et al.*, 2021). A espirometria é considerada o exame complementar mais usado na avaliação funcional respiratória de crianças (Beydon *et al.*, 2009), sendo sua execução, especialmente na criança, dependente de um técnico bem treinado (Jones *et al.*, 2020).

A interpretação apropriada dos PFTs envolve a classificação dos valores observados como dentro/fora da faixa normal com base em uma população de referência de indivíduos saudáveis, integrando o conhecimento dos determinantes fisiológicos dos resultados dos testes em classificações funcionais, e integrando padrões com outros dados clínicos para estimar o prognóstico (Stanojevic *et al.*, 2021). Estes valores são definidos a partir da aplicação de equações de referência.

As equações de referência expressam a função pulmonar esperada para crianças saudáveis, levando em conta variáveis como idade, sexo, tamanho corporal e grupo étnico. A escolha das equações de referência influencia diretamente a interpretação dos dados da função pulmonar pediátrica (Beydon *et al.*, 2007). As razões para as diferenças observadas na função pulmonar entre pessoas ao redor do mundo são multifatoriais e não totalmente compreendidas (Stanojevic *et al.*, 2021). Tendo em vista que muitas dessas equações foram limitadas a raça caucasiana devido à origem dos dados serem na Europa e região Norte da América (Vidal, 2012), a espirometria ainda não foi amplamente estudada em populações em idade pré-escolar latino-americanas nem brasileiras (França *et al.*, 2016).

O grupo *Global Lung Function Initiative* (GLI) publicou, em 2012, uma equação multiétnica de referência para espirometria na faixa etária de 3 a 95 anos (Vidal, 2012). Essa equação foi derivada matematicamente de quatro grupos populacionais específicos - branco, preto, sudeste asiático, nordeste asiático - e representa uma média entre essas populações (Stanojevic *et al.*, 2021). A utilização de uma única equação de espirometria "Global", considerada uma equação neutra por não exigir raça/etnia, reflete a ampla gama de função pulmonar observada dentro e entre populações (Bowerman *et al.*, 2024). Para o cálculo dessa equação, utiliza-se a idade em anos, a estatura em centímetros e o sexo do paciente, além dos parâmetros espirométricos – Capacidade Vital Forçada (CVF), Volume Expiratório Forçado no Primeiro Segundo (VEF1), Índice de Tiffeneau (VEF1/CVF), Fluxo Expiratório Forçado entre 25% e 75% da CVF (FEF 25-75%), Volume Expiratório Forçado 0,75 segundos (VEF 0,75%) e Fluxo Expiratório Forçado em 75% da CVF (FEF 75%) (GLI, 2024).

A Sociedade Respiratória Europeia (ERS) e a Sociedade Torácica Americana (ATS) adotaram conjuntamente padrões e recomendações com os objetivos de aumentar a exatidão, precisão e qualidade das medições espirométricas e melhorar a experiência do paciente (Graham *et al.*, 2019), sendo a última atualização deste consenso ERS/ATS realizada há 4 anos. Nessa última versão, um dos padrões adicionados relaciona-se a realização de espirometrias em crianças em idade pré-escolar. Vale ressaltar que é importante que os indivíduos tenham sua função pulmonar avaliada em relação à população de referência apropriada para aquele indivíduo (Stanojevic *et al.*, 2021).

Muitos estudos têm sido realizados nos últimos anos, no sentido de desenvolver equações de referência ajustadas a sua realidade populacional atual (Carvalho, 2015), nesse contexto a *Sociedade Brasileira de Pneumologia e Fisiologia* (SBPT) estabeleceu um consenso brasileiro com os valores de referência gerados a partir de indivíduos saudáveis e de mesma etnia (Rodrigues *et al.*, 2002), de acordo com as normas de seleção dos valores de interpretação das provas espirométricas estabelecidas pelas últimas normas da ERS/ATS. O consenso

brasileiro foi atualizado no ano de 2020, sendo publicadas novas referências de função pulmonar para as crianças brasileiras de 3 a 12 anos de idade a partir da elaboração de equações de referência para CVF, VEF1, VEF1/CVF, FEF25-75% e FEF25-75% (Jones *et al.*, 2020). As quais evidenciaram que as equações atualmente em uso no Brasil, que seguem as recomendações da GLI, parecem subestimar a função pulmonar de crianças brasileiras menores de 12 anos de idade (Jones *et al.*, 2020).

Mediante a isso, a relevância do presente estudo se faz na tentativa de elucidar a abordagem mais adequada para a avaliação da função pulmonar na faixa etária pediátrica, tendo em vista que a correta adequação da equação de referência beneficia o indivíduo, uma vez que aumenta a especificidade da interpretação da espirometria (Carvalho, 2015). Sendo primordial, em um hospital de referência, a atualização das equações utilizadas a fim de promover, para a população pediátrica assistida, uma medicina mais individualizada e assertiva quanto aos seus métodos diagnósticos. O que motivou a equipe deste Laboratório, a desenvolver esse estudo, com o objetivo de comparar os resultados do novo consenso da SBPT com o adotado até o momento.

Objetivos

Objetivo geral: O objetivo deste projeto é analisar os dados de espirometria realizados no Hospital da Criança de Brasília José Alencar (HCB) em crianças com idades entre 3 e 12 anos, em conformidade com as diretrizes da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia (SBPT) e diretrizes globais. O propósito é determinar a abordagem mais adequada para a avaliação da função pulmonar nessa faixa etária, visando aprimorar o diagnóstico e o tratamento de condições respiratórias nessa população pediátrica.

Objetivos específicos

1. Avaliar e comparar os parâmetros espirométricos (CVF, VEF, VEF/CF, FEF25-75%) utilizando Z-escores, conforme as equações de referência da Global Lung Function Initiative (GLI) e da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia (SBPT, 2020);
2. Analisar a prevalência dos distúrbios ventilatórios;
3. Verificar a presença de resposta ao broncodilatador.

Metodologia

Materiais e métodos

Trata-se de um estudo descritivo, observacional e transversal por meio da análise de dados cadastrais de espirometrias de crianças e adolescentes diagnosticados com asma, que foram realizadas no Laboratório de Função Pulmonar do Hospital da Criança de Brasília José Alencar, no período de 1º de janeiro de 2015 a junho de 2019. As espirometrias selecionadas foram convertidas em planilhas contendo o número do exame; a data de realização; a idade; o gênero; o peso, a estatura; os índices espirométricos em valor absoluto dos valores preditos e em valor absoluto e percentual pré e pós-broncodilatador (CVF, VEF1, VEF1/CVF, FEF 25-75%); além da presença ou não de reversibilidade ao broncodilatador. Em seguida, os dados espirométricos foram aplicados nas equações de referência.

Para a análise da equação GLI, utilizou-se o software GLI que corresponde a uma calculadora do Excel que contém os valores de referência dessa equação global, derivados do

método LMS e do programa GAMLSS em R. Quanto ao consenso brasileiro, a análise de seus valores de referência foi feita a partir do software R versão 4.3.2 e da interface RStudio, sendo utilizados o pacote ggplot2 para as visualizações. Realizou-se a análise descritiva das variáveis contínuas e categóricas. Após a aplicação dos dados espirométricos em ambas as referências, tanto na equação da GLI quanto no consenso brasileiro, os dados originais das espirometrias foram convertidos em escore Z. Essa transformação em escore Z permite a comparação entre os resultados de diferentes equações, possibilitando a análise da equação que melhor detecta alterações obstrutivas em crianças com asma.

As médias de escore Z foram comparadas segundo o teste de Mann-Whitney e as associações da classificação de paciente com obstrução e o tipo de equação foi analisada pelo teste de Chi-quadrado. Todos os testes foram bilaterais com um coeficiente de significância $\alpha=0.05$. Tais dados foram usados de modo a preservar a integridade de todos os pacientes analisados, sendo compartilhados unicamente entre o orientado e a orientadora.

Critérios de inclusão

Exames de espirometria com critérios de aceitabilidade e reprodutibilidade adequados, realizados no período de 1º de janeiro de 2015 a junho de 2019 no Laboratório de Função Pulmonar do Hospital da Criança de Brasília José de Alencar, em pacientes na faixa etária de 3-12 anos com diagnóstico clínico de asma.

Critérios de exclusão

Exames de espirometria que apresentem inadequação da técnica que interfiram nos critérios de aceitabilidade e reprodutibilidade; ou que o paciente esteja em crise no momento do exame.

Aspectos éticos

Foram respeitadas as premissas éticas, que incluem benefício sem malefício. Foram oferecidos Termo de Compromisso Livre Esclarecido (TCLE) e Termo de Assentimento para as crianças, adolescentes, pais ou responsáveis, além de esclarecidos em caso de dúvidas. Esta pesquisa faz parte de um projeto original, o qual foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa na Plataforma Brasil (CAAE: 19354519.0.0000.5553).

Resultados e discussão

Foram analisadas espirometrias de 473 pacientes asmáticos, com 5 exames excluídos por não atenderem aos critérios de aceitabilidade e reprodutibilidade ou por ausência de dados pós-broncodilatador. Dessa forma, 468 espirometrias foram incluídas na análise (Figura 1). A idade dos pacientes variou entre 3,62 e 12,99 anos, com uma mediana de 9,1 anos (Figura 2).

Figura 1 - Análise quantitativa dos exames na faixa etária estabelecida

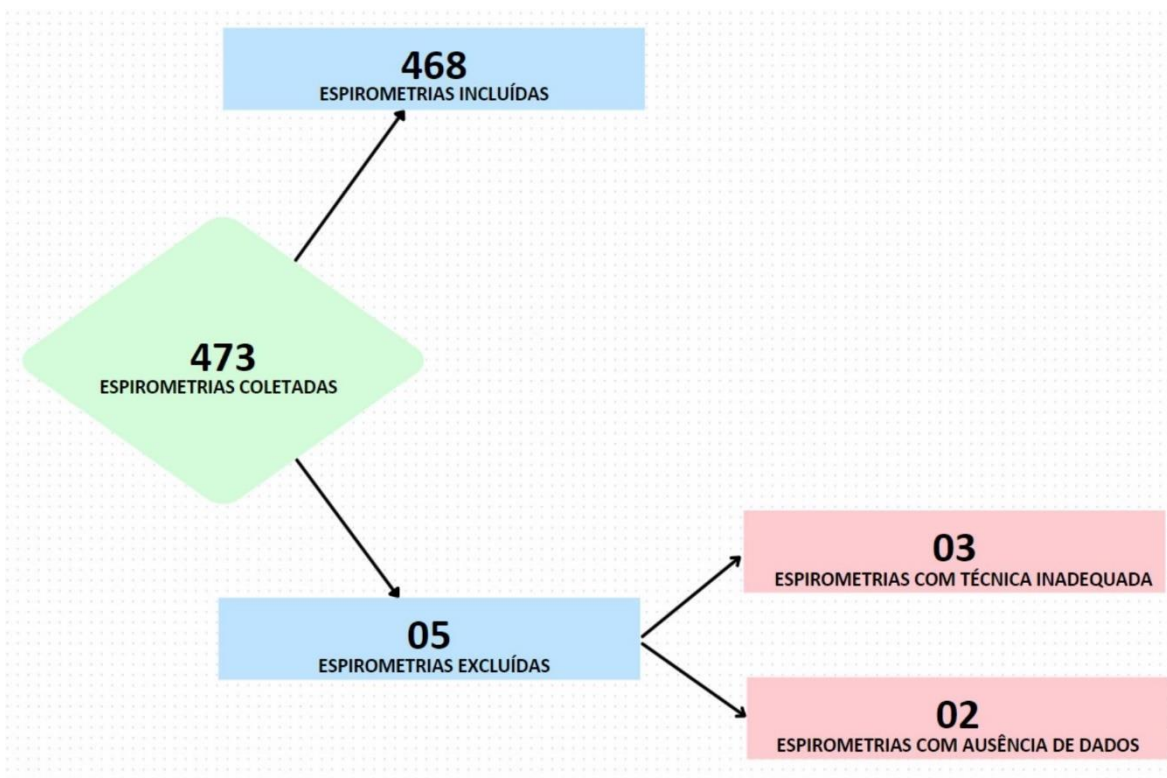
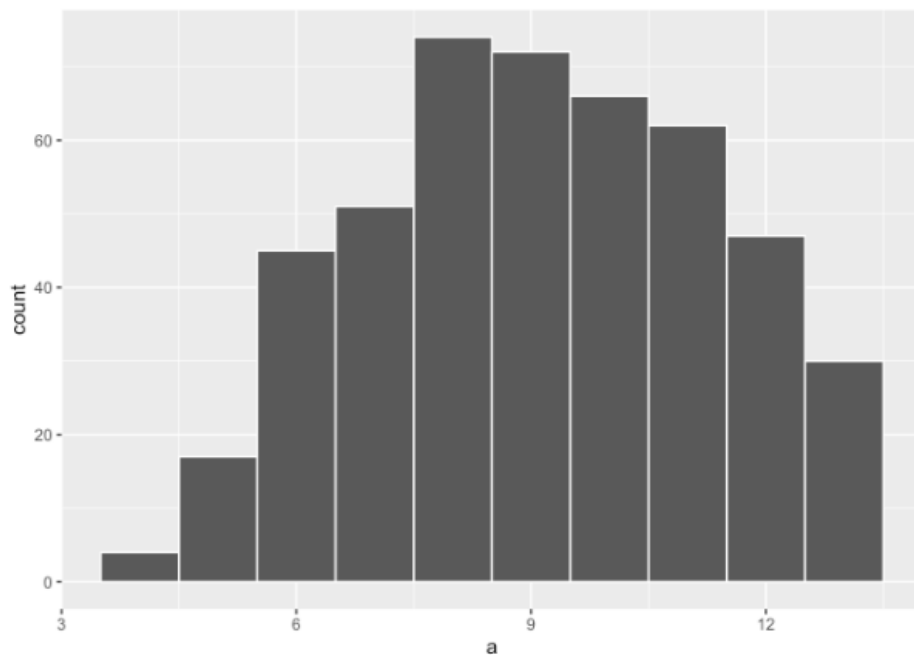


Figura 2 – Histograma da idade: o eixo vertical (*count*) apresenta a quantidade de pacientes e o eixo horizontal (*a*) apresenta o valor da idade em anos



Dentre os pacientes selecionados, 277 (59%) eram do sexo masculino e 191 (41%) do sexo feminino (Figura 3). Sendo a altura mediana de 134 cm, variando de 97 cm a 187 cm (Figura 4).

Figura 3 - Análise quantitativa do sexo dos pacientes

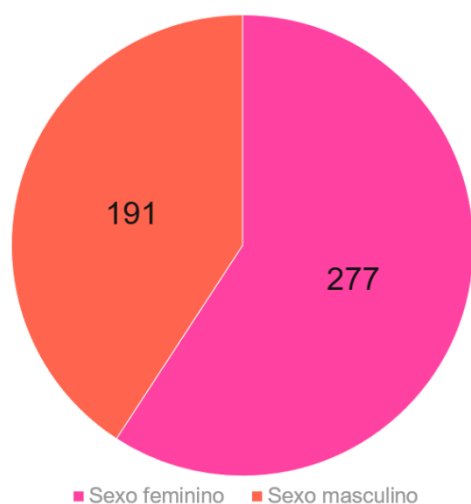
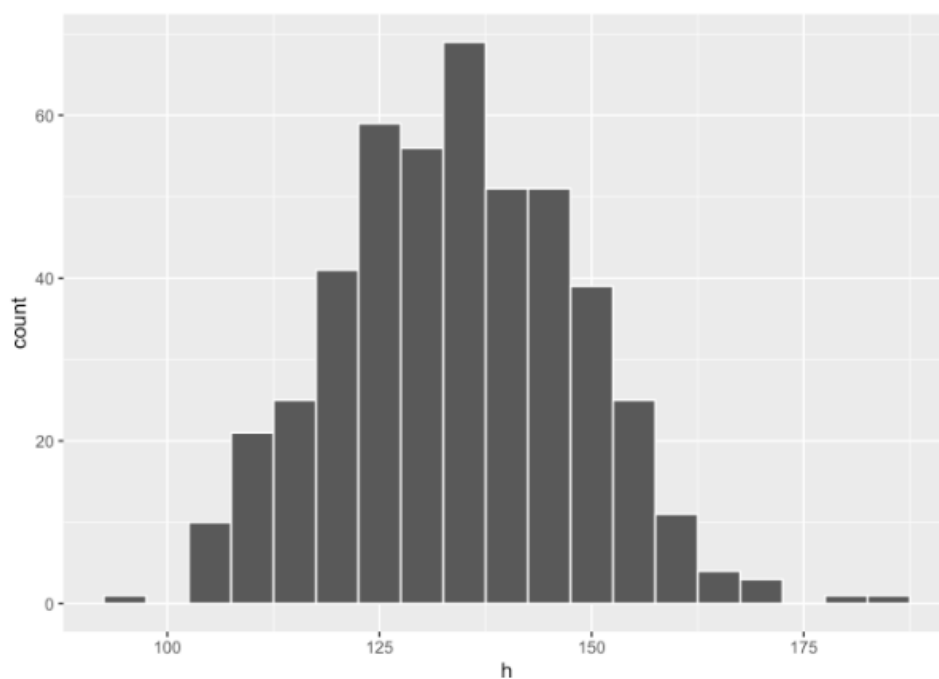


Figura 4 – Histograma da altura: o eixo vertical (*count*) apresenta a quantidade de pacientes e o eixo horizontal (*h*) apresenta o valor da altura em centímetros



O principal parâmetro medido nas espirometrias foi o volume expiratório forçado (VEF1) e a capacidade vital forçada (CVF). A Tabela 1 mostra que, antes da administração do broncodilatador, 90,2% das espirometrias apresentaram CVF dentro dos limites normais, 77,6%

apresentaram VEF1 normal e 66,9% apresentaram o Índice de Tiffeneau (VEF1/CVF) dentro dos limites da normalidade, de acordo com o consenso brasileiro (Jones *et al.*, 2020).

Tabela 1 - Análise quantitativa das espirometrias basais normais, de acordo com a equação brasileira

	Overall (N=468)
CVF dentro dos limites da normalidade	
No	46 (9.8%)
Yes	422 (90.2%)
VEF1 dentro dos limites da normalidade	
No	105 (22.4%)
Yes	363 (77.6%)
VEF1/CVF dentro dos limites da normalidade	
No	155 (33.1%)
Yes	313 (66.9%)

O teste de responsividade ao broncodilatador demonstrou que, após sua administração, houve um aumento na normalidade dos parâmetros analisados: 93,4% das espirometrias apresentaram CVF normal, 88,9% VEF1 normal, e 86,3% o Índice de Tiffeneau normal (Tabela 2). Esses resultados indicam uma resposta positiva ao broncodilatador, corroborando o diagnóstico de distúrbio respiratório obstrutivo.

Tabela 2 - Análise quantitativa das espirometrias normais pós-broncodilatador, de acordo com a equação brasileira

	Overall (N=468)
CVF dentro dos limites da normalidade	
No	29 (6.2%)
Yes	437 (93.4%)
Missing	2 (0.4%)
VEF1 dentro dos limites da normalidade	
No	50 (10.7%)
Yes	416 (88.9%)
Missing	2 (0.4%)
VEF1/CVF dentro dos limites da normalidade	
No	62 (13.2%)
Yes	404 (86.3%)
Missing	2 (0.4%)

Um comprometimento ventilatório obstrutivo é caracterizado por VEF1/CVF abaixo do limiar de normalidade, que é definido como o 5º percentil de uma população normal ou pelo valor fixo de VEF1/CVF de 0,7 (Stanojevic *et al.*, 2021). Tendo este parâmetro como princípio, a análise da prevalência dos distúrbios ventilatórios demonstrou que 31.2% das espirometrias basais apresentaram distúrbio obstrutivo, 60.5% laudo normal, 6.4% distúrbio restritivo/não específico e 1.9% distúrbio misto caracterizado pela presença concomitante de restrição e obstrução, de acordo com a equação brasileira (Jones *et al.*, 2020). A presença da CVF reduzida com VEF1/CVF normal determina o padrão de comprometimento denominado de possível restrição ou padrão “não específico”, que pode incluir doenças que causam obstrução ou restrição (Stanojevic *et al.*, 2021). Após a administração do broncodilatador houve um aumento de 105 espirometrias que passaram a apresentar laudo normal.

A comparação entre as equações da GLI e da SBPT (Jones *et al.*, 2020) revelou que a GLI considerou 78% das espirometrias como normais, enquanto a SBPT diagnosticou apenas 60% como normais. Observou-se que 24% das crianças classificadas como normais pela GLI apresentaram distúrbios obstrutivos, restritivos ou mistos pela equação brasileira. Além disso, a SBPT diagnosticou mais que o dobro de exames com padrão obstrutivo (146 vs. 67) em comparação com a GLI, enquanto ambas apresentaram boa concordância na detecção dos padrões restritivo e misto (Tabela 3).

Tabela 3 – Tabela com as classificações das espirometrias conforme equação brasileira e GLI 2012

		GLI 2012 Caucasiana				
		Normal	Obstrutivo	Restritivo/ Inespecífico	Misto	Total
Jones <i>et al.</i> 2020	Normal	278	0	5	0	283
	Obstrutivo	79	67	0	0	146
	Restritivo/inespecífico	6	0	24	0	30
	Misto	1	0	3	5	9
	Total	364	67	32	5	468

Conclusões

Diante destes resultados, evidenciou-se a relevância em determinar a referência mais adequada para a avaliação da função pulmonar na faixa etária pediátrica. Tendo em vista, que o presente estudo analisou indivíduos sabidamente portadores de asma cujo distúrbio respiratório obstrutivo foi melhor detectado pelo consenso brasileiro, demonstrando, assim, que a equação GLI subestima a função pulmonar de crianças brasileiras menores de 12 anos de idade. Além disso, observou-se a prevalência dos distúrbios obstrutivos, em uma menor quantidade de indivíduos, pela referência da equação GLI (13%) e, em uma maior quantidade de indivíduos, pela equação brasileira (31%), somada à presença da resposta positiva após o teste de responsividade ao broncodilatador.

Dentre as limitações encontradas, destaca-se a restrição do tempo, sendo o consenso brasileiro uma atualização recente da literatura, como um fator que impede o seguimento longitudinal do estudo para o aprimoramento de dados, ainda mais, robustos. Outra limitação encontrada, foi a ausência de uma análise comparativa da gravidade da asma a fim de aprimorar a caracterização do quadro asmático na população estudada. Também é válido pontuar o fato do estudo ter se restringido à análise de um curto período de tempo - de janeiro de 2015 a junho

de 2019 – das espirometrias realizadas no laboratório do hospital pediátrico. Diante disso, tais restrições poderiam ser superadas em estudos futuros.

Por fim, conclui-se que o consenso brasileiro apresenta a abordagem mais adequada para a avaliação da função pulmonar na faixa etária dos 3 aos 12 anos, corroborando para um diagnóstico mais assertivo das condições respiratórias nessa população pediátrica.

Referências

BEYDON, N. *et al.* An official American Thoracic Society/European Respiratory Society statement: pulmonary function testing in preschool children. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 175, n. 12, p. 1304-1345, 15 jun. 2007. DOI: 10.1164/rccm.200605-642ST.

BOWERMAN, C. *et al.* A race-neutral approach to the interpretation of lung function measurements. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 207, n. 6, p. 768-774, 15 mar. 2023. DOI: 10.1164/rccm.202205-0963OC.

CARVALHO, S. R. da S. O impacto dos valores previstos nos testes de função pulmonar. **Pulmão RJ**, v. 24, n. 1, p. 33-38, 2015.

FRANÇA, D. C. *et al.* Prediction equations for spirometry in four- to six-year-old children. **Jornal de Pediatria**, v. 92, n. 4, p. 400-408, jul. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpmed.2015.10.005>.

GINA. **Global strategy for asthma management and prevention main report**. [S. l.: s. n.]: 2022. Disponível em: <https://ginasthma.org/gina-reports/>. Acesso em: 22 jul. 2024.

GINA. **Global strategy for asthma management and prevention main report**. [S. l.: s. n.]: 2024. Disponível em: <https://ginasthma.org/reports/>. Acesso em: 22 jul. 2024.

GLI. **GLI Lung Function Calculator**. [2024]. Disponível em: <https://gli-calculator.ersnet.org/>. Acesso em: 22 jul. 2024.

GRAHAM, B. L. *et al.* Standardization of spirometry 2019 update: an official American Thoracic Society and European Respiratory Society Technical Statement. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 200, n. 8, p. 70-88, 2019. DOI: 10.1164/rccm.201908-1590ST.

JONES, Marcus Herbert *et al.* Reference values for spirometry in brazilian children. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 46, n. 3, p. 1-8, 2020. DOI: <https://doi.org/10.36416/1806-3756/e20190138>.

PIZZICHINI, M. M. M. *et al.* Recomendações para o manejo da asma da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia: 2020. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 46, n. 1, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/1806-3713/e20190307>.

RODRIGUES, Joaquim Carlos *et al.* Provas de função pulmonar em crianças e adolescentes. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 28, p. 207-221, out. 2002.

STANOJEVIC, S. *et al.* ERS/ATS technical standard on interpretive strategies for routine lung function tests. **European Respiratory Journal**, v. 60, n. 1, p. 2101499, 23 dez. 2021. DOI: 10.1183/13993003.01499-2021.

VIDAL, P. C. V. **Validação dos valores de referência multi-étnicos para espirometria (GLI 2012) em crianças brasileiras**. 2012. Tese (Doutorado em Pediatria e Saúde da Criança) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

LEUCEMIA LINFOIDE AGUDA PHILADELPHIA POSITIVA EM UM HOSPITAL PEDIÁTRICO PÚBLICO DE BRASÍLIA: ANÁLISE DE CASOS DE 2012 A 2022

Laís Xavier Barros¹
Ricardo Camargo²

Resumo

A Leucemia Linfoblástica Aguda Philadelphia Positivo (LLA Ph+) é uma condição de alto risco em crianças. Este estudo observacional, analítico e longitudinal, do tipo série de casos, conduzido no Hospital da Criança de Brasília (HCB), teve como objetivo geral analisar os aspectos clínicos, biológicos e terapêuticos dessa doença em seis pacientes diagnosticados entre 2012 e 2022. A pesquisa avaliou a sobrevida global e livre de eventos por meio da curva de Kaplan-Meier, além do uso de inibidores da tirosina quinase (ITQ), da adesão aos pontos de monitoramento e das condutas adotadas em casos de recaída. Dos pacientes estudados, quatro apresentaram o fenótipo p190 e dois o p210. Notavelmente, três pacientes desenvolveram intolerância ao imatinibe. Embora a adesão ao tratamento tenha sido completa, intercorrências como a neutropenia febril impactaram o cronograma terapêutico. A doença residual mínima (DRM) foi negativa em todos os pacientes no D78, um indicativo positivo de resposta. No entanto, a sobrevida livre de eventos foi de 33,34%, e a sobrevida global, de 66,67%. O pequeno tamanho da amostra limitou a significância estatística dos resultados. Contudo, os achados sublinham a necessidade de desenvolver protocolos institucionais para padronizar o uso de ITQ e a avaliação da DRM em crianças com LLA Ph+.

Palavras-chave: leucemia linfoide; cromossomo filadélfia; criança; inibidores de tirosina quinases; doença residual mínima.

Introdução

A Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) é a neoplasia mais comum da infância, com pico de incidência aos 5 anos, e caracteriza-se pelo acúmulo de blastos linfoides na medula óssea, sangue periférico e órgãos linfoides (Bhojwani; Yang; Pui, 2015). Entre as alterações genéticas associadas, destaca-se o cromossomo Philadelphia (Ph), presente em 2 a 5% dos casos pediátricos. Essa alteração resulta da translocação t(9;22)(q34;q11), que promove a fusão dos genes *BCR* e *ABL1*, originando o gene de fusão *BCR::ABL1* (Arunachalam *et al.*, 2020).

Esse gene de fusão codifica uma proteína tirosina quinase aberrante, cuja isoforma mais comum na LLA Ph+ é a p190, associada à ativação constitutiva de vias de proliferação celular (Chiaretti *et al.*, 2021). Além da t(9;22), outras anormalidades cromossômicas podem coexistir, como o ganho do cromossomo Philadelphia adicional (Silva; Rego, 2023).

A presença do Ph+ confere pior prognóstico, com maior agressividade clínica e altas taxas de recaída. Antes dos inibidores de tirosina quinase (ITQ), como o imatinibe, o transplante

¹ Acadêmica de Medicina da Escola Superior de Ciências da Saúde (ESCS) e Bolsista de iniciação científica do Hospital da Criança de Brasília (HCB).

² Biólogo e supervisor técnico do laboratório de Pesquisa em Biologia Molecular do Hospital da Criança de Brasília (HCB).

hematopoiético era a principal alternativa terapêutica. Com o advento dos ITQ, observou-se melhora significativa na sobrevida (Shen *et al.*, 2020).

Apesar dos avanços terapêuticos com os ITQ, persistem lacunas relevantes quanto à padronização de seu uso na LLA Ph+. Diferentemente da leucemia mieloide crônica (LMC), em que o tratamento com ITQ já possui critérios bem estabelecidos para a resposta, falha terapêutica e suspensão da medicação (Shima *et al.*, 2022), na LLA Ph+ o manejo ainda é heterogêneo e amplamente influenciado por protocolos institucionais. Além disso, a avaliação da doença residual mínima (DRM) também permanece controversa, sobretudo em relação à sua persistência tardia e ao real impacto prognóstico.

Diante dessas lacunas, este estudo analisa os aspectos clínicos, biológicos e terapêuticos da LLA Ph+ em crianças atendidas em um hospital público de Brasília entre 2012 e 2022. Avalia-se a sobrevida, o tempo entre diagnóstico molecular e início do ITQ, a adesão ao monitoramento e as condutas frente à recaída. Espera-se, com isso, contribuir para o aprimoramento dos protocolos institucionais e a qualificação do cuidado prestado a essa população.

Metodologia

O presente estudo é observacional, analítico e longitudinal, do tipo série de casos, baseado em dados de prontuários médicos de pacientes pediátricos diagnosticados com LLA Ph+, acompanhados no HCB entre outubro de 2012 e outubro de 2022. Foram incluídos pacientes com confirmação molecular das isoformas p190 ou p210 do gene de fusão *BCR::ABL1*, diagnosticados por citometria de fluxo, cariótipo por banda G e RT-PCR. A perda do seguimento clínico no HCB foi critério de exclusão.

Os dados clínicos, laboratoriais e terapêuticos foram extraídos dos prontuários eletrônicos e registrados no sistema REDCap. As variáveis coletadas incluíram características demográficas, achados laboratoriais iniciais, avaliação da doença residual mínima (DRM), intercorrências durante o tratamento, realização de transplante de células-tronco hematopoiéticas, recaída, óbito e causa do óbito.

A análise estatística foi conduzida no software SPSS v.23. Foram aplicadas estatísticas descritivas, o teste exato de Fisher e o teste de Mann-Whitney, conforme aplicabilidade. A sobrevida livre de eventos (SLE) foi estimada pelo método de Kaplan-Meier, considerando como eventos desfavoráveis a recidiva, progressão ou óbito. A SLE foi definida como o intervalo entre o diagnóstico e a ocorrência de evento ou a última avaliação, sendo considerada como tempo zero para pacientes que não atingiram remissão ou faleceram durante a indução.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FEPECS e pelo Centro Integrado e Sustentável de Ensino e Pesquisa (CISEP). Todos os participantes ou responsáveis legais assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Resultados e discussão

Caracterização dos pacientes e achados clínicos

Este estudo avaliou seis pacientes pediátricos diagnosticados com Leucemia Linfoblástica Aguda Philadelphia Positivo (LLA Ph+), admitidos entre outubro de 2012 e outubro de 2022. Desses, quatro eram do sexo feminino. A idade média ao diagnóstico foi de 7,42 anos, com uma variação de 3,58 a 12,58 anos. A leucometria média no momento do diagnóstico foi de 107.000/mm³, com um desvio padrão de 76.115,64/mm³ e valores que oscilaram entre 38.300/mm³ e 190.000/mm³. Essa contagem elevada de leucócitos no

diagnóstico é considerada um fator prognóstico desfavorável, conforme o estudo EsPhALL2004 (Biondi *et al.*, 2019).

Todos os seis pacientes foram diagnosticados com LLA B. Em relação aos fenótipos do gene de fusão *BCR::ABL1*, quatro pacientes apresentaram o fenótipo P190, enquanto dois pacientes (Paciente 1 e Paciente 5) apresentaram o fenótipo P210. Destaca-se que os pacientes 5 e 6 apresentaram um cariótipo com a duplicação do cromossomo Philadelphia.

Protocolo de tratamento e uso de inibidor de tirosina quinase

Todos os seis pacientes foram submetidos a diferentes protocolos de quimioterapia combinada, inicialmente com Mesilato de Imatinibe (ITQ). Metade dos pacientes (n=3) seguiu o protocolo Berlim-Frankfurt-Munich (BFM) 2009 de alto risco, e os outros três, diagnosticados antes de 2020, foram tratados com o protocolo BFM 95 de alto risco. Houve um óbito antes do término da fase de indução.

O imatinibe foi o ITQ de escolha, na dose de 340mg/m², variando entre 200mg/dia e 400mg/dia e iniciado em um intervalo de 1 a 37 dias, com mediana de 6,5 dias. Dados sugerem que a introdução precoce do ITQ pode melhorar as taxas de remissão completa (Abou Dalle *et al.*, 2019). No entanto, não há consenso sobre a suspensão do ITQ em pacientes com LLA Ph+, embora alguns estudos sugiram a interrupção em casos de remissões moleculares sustentadas (Samra *et al.*, 2019).

As diretrizes do Ministério da Saúde (Brasil, 2020) recomendam o uso de imatinibe associado à quimioterapia por um mínimo de 616 dias (280 dias na pré-manutenção e 336 dias na manutenção). Para pacientes submetidos a transplante de medula óssea, a continuidade do ITQ por pelo menos seis meses após o procedimento é preconizada, enquanto o estudo EsPhALL2010 sugeriu um ano pós-transplante (Biondi *et al.*, 2018).

A descontinuação do ITQ na LMC possui critérios mais definidos, como duração mínima de três anos e resposta molecular profunda sustentada (SHIMA *et al.*, 2022). O tratamento da LLA Ph+ é mais complexo e heterogêneo devido à natureza agressiva da doença, o que impede uma padronização clara das definições de resposta, alerta e falha do ITQ.

A Tabela 1 apresenta o tempo entre o início e a descontinuação do ITQ para cada paciente. O termo "N/A" indica óbito antes da descontinuação.

Tabela 1 – Intervalos de tempo entre o início e a descontinuação do inibidor de tirosina quinase em pacientes diagnosticados como portadores de Leucemia Linfoblástica Philadelphia Positivo no HCB, de 2012 a 2022

Paciente	Tempo entre diagnóstico e início do ITQ (em dias)	Tempo entre o término do tratamento e a suspensão do ITQ (em meses)
1	1	N/A
2	6	Em uso
3	2	N/A
4	7	0
5	37	17
6	9	14

Desfechos e intercorrências

O Paciente 1 faleceu durante a fase de indução, e o Paciente 3 faleceu após o segundo ciclo da fase HR2 devido à toxicidade do tratamento e dois episódios de sepse. O Paciente 5 foi submetido a Transplante de Células-Tronco Hematopoiéticas (TCTH) após uma recaída no SNC e utilizou o ITQ por cinco meses pós-transplante.

As intercorrências mais prevalentes incluíram infecções do trato respiratório (observadas em todos os pacientes), plaquetopenia e pneumonia. Mucosite ocorreu em cinco pacientes, abscesso perianal em dois, e sinais de toxicidade da vincristina em quatro. Diabetes mellitus secundária ao uso de corticoides foi observada em dois pacientes. Outras complicações incluíram hipoalbuminemia, trombose venosa profunda, obesidade, neuropatia periférica, esofagite herpética, monilíase oral, celulite periorbital, hipocalemia e hipocalcemia.

Três pacientes apresentaram fortes efeitos colaterais ao imatinibe (diarreia persistente, dor abdominal e náuseas), levando à troca para dasatinibe nos pacientes 4 e 5, e à interrupção no paciente 1. O dasatinibe, um ITQ de 2ª geração, é mais potente e com maior penetração no SNC (Cerchione; Locatelli; Martinelli, 2021), porém sua obtenção foi mais difícil devido ao custo, resultando em interrupções mais prolongadas para os pacientes que o utilizaram.

Alterações no cronograma de tratamento foram necessárias devido às intercorrências. O Paciente 1 realizou tratamento apenas até o dia 22 da indução. O Paciente 2 não foi submetido ao 2º ciclo da fase HR3 devido a neutropenia febril. O Paciente 3 completou apenas a fase de indução e dois ciclos de HR1 e HR2, com alta toxicidade após cada ciclo de quimioterapia. O Paciente 5 teve a dose de vincristina reduzida devido a neuropatia periférica. O Paciente 6 teve a terapia de indução antecipada devido a resposta inadequada à citorredução.

Avaliação da doença residual mínima

A Doença Residual Mínima (DRM) é a presença de células malignas em pacientes em remissão completa, correlacionada com maior probabilidade de recaída, e pode ser medida por citometria de fluxo multiparamétrica (CF) e PCR dos rearranjos *BCR::ABL1* (Berry *et al.*, 2017).

Nos pacientes submetidos ao protocolo BFM 95, a avaliação da remissão foi baseada em critérios morfológicos de medula óssea (MO M1: <5% de blastos; MO M2: 5%-25% de blastos; MO M3: >25% de blastos), de acordo com o GBTLI LLA 2021. O monitoramento do líquido cefalorraquidiano (LCR) foi feito durante a quimioterapia intratecal para profilaxia do SNC. O envolvimento do SNC é confirmado com mais de 5 células/L no LCR com linfoblastos ou infiltrados intracerebrais em tomografia (GBTLI LLA 2021). A RT-PCR para o rearranjo

BCR::ABL1 foi realizada ao término do tratamento.

O Paciente 4 manteve MO M1 nos dias D15, D33 e ao final do tratamento, com RT-PCR negativa para a translocação $t(9;22)(p190) - BCR::ABL1$ p190. Após o término da quimioterapia, o dasatinibe foi interrompido por 23 meses. No retorno, o paciente apresentou leucometria de $88.940/\text{mm}^3$ e 27,5% de blastos, sendo diagnosticado com leucemia aguda de fenótipo ambíguo linfoide B/mieloide. A LLA Ph+ frequentemente exhibe características mieloides e linfoides, o que pode favorecer a persistência do transcrito *BCR::ABL1* e contribuir para a resistência terapêutica (Laxminarayana *et al.*, 2019).

O Paciente 5 teve MO M1 no D15 e D37, e CF com resultado <0,05% no D33. Na semana 51 da manutenção, o LCR foi positivo para infiltração, com 25% de blastos. O Paciente 6 apresentou MO M1 nos D15, D22 e D37. O RT-PCR foi positivo para a translocação $t(9;22)(p190) - BCR::ABL1$ p190 ao término do protocolo e após seis meses. Este paciente continuou com imatinibe por mais 14 meses e, 54 meses após o fim do tratamento, foi readmitido com leucometria de $365.000/\text{mm}^3$ e 95% de blastos no sangue periférico.

Para os três pacientes do protocolo BFM 2009, amostras de medula foram analisadas nos dias D15, D33 ou D37, e D78 por CF, e ao término do tratamento por CF e busca do transcrito BCR::ABL1. DRM positiva foi definida como >0,01% de células com fenótipo aberrante e/ou detecção do transcrito BCR::ABL1. Todos os três pacientes apresentaram DRM positiva no D15 (Paciente 1: 0,03%; Paciente 2: 0,01%; Paciente 3: 2,78%). O Paciente 1 faleceu antes de novas avaliações. No D33, apenas o Paciente 3 manteve DRM positiva (0,32%). No D78, nenhum paciente apresentou DRM. Apesar disso, o Paciente 3 faleceu nove meses após o início do tratamento.

Aproximadamente um mês após o término do tratamento do Paciente 2, o mielograma indicou medula óssea em remissão, mas o RT-PCR qualitativo detectou a translocação t(9;22) (p190). Exames posteriores não mostraram sinais morfológicos de doença, mas o RT-PCR qualitativo continuou identificando a translocação BCR::ABL1 (p190), reforçando a persistência molecular. Dezenove meses após o término do tratamento do Paciente 2, a pesquisa de BCR::ABL1 foi positiva em todas as três amostras testadas, com uma redução de 10,09% em relação ao ponto anterior, mas com a taxa BCR::ABL1/ABL1 permanecendo relativamente estável (0,41).

A persistência da positividade e a estabilidade dos valores reforçam a importância do monitoramento contínuo e a necessidade de manter o imatinibe. Apesar disso, a DRM por citometria de fluxo não foi detectada, e o último mielograma indicou MO M1 com 2% de blastos. A equipe médica decidiu manter o imatinibe em 200 mg/dia, com seguimento clínico e monitoramento regular da DRM.

O valor prognóstico da DRM na LLA Ph+ pediátrica tratada com ITQ ainda não está completamente elucidado, sendo determinado por protocolos institucionais e recursos disponíveis. Em um estudo com 90 crianças, Cazzaniga *et al.* observaram que a negatificação precoce da DRM, especialmente até o segundo time point, associa-se a melhor prognóstico com ITQ e TCTH, enquanto a depuração tardia não impacta significativamente a recidiva. Esses achados indicam que o segundo time point pode ser decisivo para orientar condutas, reforçando a necessidade de padronização por meio de novos estudos.

Recaídas

Foi observado que 50% (n=3) dos pacientes tiveram recaídas e foram submetidos ao protocolo St. Jude ALL-R16 associado ao ITQ e ao TCTH alogênico.

O Paciente 4 apresentou uma recidiva medular isolada 23 meses após o término do tratamento. Embora o dasatinibe fosse indicado devido à toxicidade gastrointestinal prévia com imatinibe, a dificuldade de acesso ao ITQ de 2ª geração levou ao reinício do imatinibe na dose de 600 mg/dia. Entretanto, o paciente apresentou efeitos colaterais significativos que resultaram na suspensão do ITQ, mantida até a realização do TCTH, três meses após a recidiva. O tratamento com dasatinibe (100 mg/dia) foi mantido por 3 anos e 2 meses após o TCTH. A avaliação da DRM foi negativa no 29º dia e nos acompanhamentos de 6 e 12 meses pós-TCTH.

O Paciente 5 apresentou recidiva no SNC em status 3 durante a 51ª semana da terapia de manutenção. A análise do LCR revelou 635 células/mm³, com 25% de blastos e 75% de linfócitos. No diagnóstico, o LCR era negativo para infiltração no SNC. Esse caso reforça a importância do SNC como sítio extramedular de alto risco (Sison; Silverman, 2014), destacando a necessidade da profilaxia com quimioterapia intratecal. A pesquisa qualitativa do BCR::ABL1 por RT-PCR confirmou a presença da translocação no líquor e na medula óssea.

Além do protocolo St. Jude ALL-R16, o paciente recebeu seis sessões de radioterapia craniana. O mielograma apresentou MO M1 nos meses 1, 2 e 3 após a recidiva, e a pesquisa de translocações para BCR::ABL1 foi negativa na MO e no SNC, aos dois e três meses após a

recidiva, respectivamente. O paciente foi submetido ao TCTH cinco meses após a recaída, com resultados negativos para CF e RT-PCR em 30, 100 dias e um ano pós-TCTH. O tratamento com dasatinibe (120 mg/dia) foi interrompido cinco meses após o TCTH devido à dificuldade de obtenção do medicamento.

O Paciente 6 apresentou a primeira recidiva medular isolada tardia, 54 meses após o fim do tratamento, com reinício imediato do imatinibe (600 mg/dia) e DRM de 0,43% no D29. Houve uma segunda recidiva medular isolada oito meses após a primeira, com 32% de blastos na CF. Diante disso, o paciente realizou TCTH, com aumento da dose de imatinibe para 800 mg/dia e ciclo de 28 dias de blinatumomabe (Queudeville; Ebinger, 2021).

As intercorrências relacionadas ao protocolo SJCRH-ALL R16 incluíram neutropenia febril em 100% dos pacientes (n=3); toxicidade à vincristina e trombose em membro superior em 66,67% (n=2); e em 33,34% (n=1) dos pacientes, grave reação de hipersensibilidade a asparaginase, hiperglicemias secundárias a corticoides, pansinusopatia e otomastoidite bilateral, monilíase, herpes genital, hipocalcemia e hiperparatireoidismo.

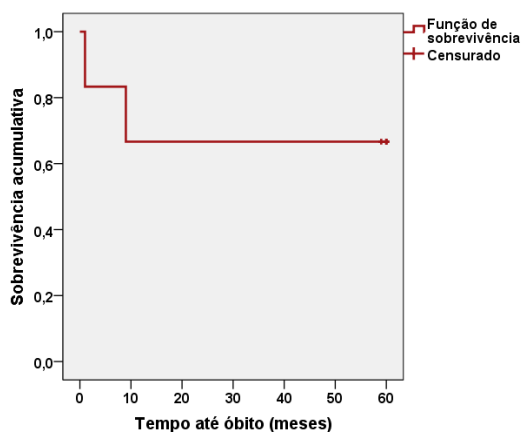
Embora as taxas de remissão completa com ITQ sejam superiores a 90%, a recidiva ocorreu em até 50% dos pacientes, frequentemente associada a mutações de resistência no domínio da quinase *ABL* (Martinelli *et al.*, 2021). Análises genéticas nos pacientes 2 e 4 para mutações no gene *ABL1* e deleções no *IKZF1* (via MLPA) não revelaram alterações.

Sobrevida global e sobrevida livre de eventos

Por fim, 50% (n=3) dos pacientes avaliados vieram a óbito, principalmente devido ao choque séptico, a insuficiência renal aguda e a toxicidade do tratamento.

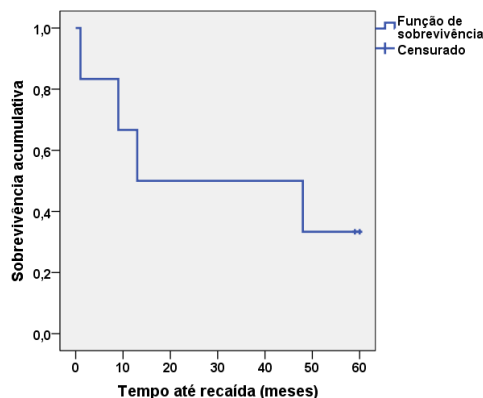
A média estimada para o tempo até o óbito em pacientes com LLA Ph+ foi de 41,67 meses (mediana não alcançada) durante o follow-up de 60 meses. A curva de sobrevida global (Kaplan-Meier) é mostrada na Figura 1, com uma sobrevida acumulativa final de 0,667.

Figura 1 – Curva de probabilidade de sobrevida global, de Kaplan-Meier, para pacientes diagnosticados como portadores de Leucemia Philadelphia Positivo com as isoformas p190 ou p210 de *BCR::ABL1* no HCB, 2012 a 2022. Sobrevivência acumulativa final = 0,667.



A média estimada para o tempo até a recaída/óbito (sobrevida livre de eventos) foi de 31,83 meses, com mediana de 13,00 meses durante o follow-up do estudo. A curva de sobrevida livre de eventos (Kaplan-Meier) é mostrada na Figura 3, com uma sobrevida acumulativa final de 0,333.

Figura 2 – Curva de probabilidade de sobrevida livre de eventos, de Kaplan-Meier, para pacientes diagnosticados como portadores de Leucemia Philadelphia Positivo com as isoformas p190 ou p210 de *BCR::ABL1* no HCB, 2012 a 2022. Sobrevivência acumulativa final = 0,333



Nenhuma variável clínica foi significativamente associada à recaída, o que pode estar relacionado ao tamanho amostral reduzido. Em um estudo similar, a taxa de sobrevida livre de eventos em 5 anos foi de 68,6% em crianças tratadas com ITQ no St. Jude Children's Research Hospital (Jeha *et al.*, 2014). A sobrevida livre de eventos de 33,3% encontrada neste trabalho indica uma situação mais desafiadora, com menos pacientes mantendo a remissão. Essa discrepância pode ser atribuída a diferenças nos regimes de tratamento, características dos pacientes ou outros fatores contextuais.

Conclusão

Este estudo revelou o caráter heterogêneo e agressivo da Leucemia Linfoblástica Aguda Philadelphia Positivo (LLA Ph+) em pacientes pediátricos acompanhados no Hospital da Criança de Brasília (HCB). De modo geral, os pacientes analisados apresentaram um desfecho desfavorável, com altas taxas de recaída, óbito e complicações, o que se reflete na baixa sobrevida livre de eventos observada.

A principal limitação desta análise é o pequeno tamanho amostral, que se deve à baixa prevalência do cromossomo Philadelphia na LLA em crianças e adolescentes. Essa restrição impede generalizações amplas dos resultados, mas destaca a importância de estudos multicêntricos para abordar essa doença rara.

Os achados deste trabalho ressaltam os desafios significativos no tratamento da LLA Ph+ e indicam várias questões em aberto que precisam ser abordadas para otimizar o manejo desses pacientes. Há uma clara necessidade de padronização de protocolos institucionais, especialmente no que tange ao uso de inibidores de tirosina quinase (ITQs) e à avaliação da doença residual mínima (DRM).

Referências

ABOU DALLE, I. *et al.* Treatment of Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. **Current Treatment Options in Oncology**, v. 20, n. 1, p. 4, jan. 2019. DOI: 10.1007/s11864-019-0603-z.

ARUNACHALAM, A. K. *et al.* Prognostic value of MRD monitoring based on BCR-ABL1 copy numbers in Philadelphia chromosome positive acute lymphoblastic leukemia. **Leukemia & Lymphoma**, v. 61, n. 14, p. 3468-3475, 2020. DOI: 10.1080/10428194.2020.1811272.

BERRY, D. A. *et al.* Association of minimal residual disease with clinical outcome in pediatric and adult acute lymphoblastic leukemia: a meta-analysis. **JAMA Oncology**, v. 3, n. 7, p. e170580, jul. 2017. DOI: 10.1001/jamaoncol.2017.0580.

BHOJWANI, D.; YANG, J. J.; PUI, C.-H. Biology of childhood acute lymphoblastic leukemia. **Pediatric Clinics of North America**, v. 62, n. 1, p. 47-60, fev. 2015. DOI: 10.1016/j.pcl.2014.09.004.

BIONDI, A. *et al.* Imatinib treatment of paediatric Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukaemia (EsPhALL2010): a prospective, intergroup, open-label, single-arm clinical trial. **Lancet Haematology**, v. 5, n. 12, p. e641-e652, dez. 2018. DOI: 10.1016/S2352-3026(18)30173-X.

BIONDI, A. *et al.* Long-term follow up of pediatric Philadelphia positive acute lymphoblastic leukemia treated with the EsPhALL2004 study: high white blood cell count at diagnosis is the strongest prognostic factor. **Haematologica**, v. 104, n. 1, p. e13-e16, jan. 2019. DOI: 10.3324/haematol.2018.199422.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Diretrizes diagnósticas e terapêuticas da leucemia linfoblástica aguda em crianças e adolescentes**. Brasília: Ministério da Saúde, 2020.

CAZZANIGA, G. *et al.* Predictive value of minimal residual disease in Philadelphia-chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia treated with imatinib in the European intergroup study of post-induction treatment of Philadelphia-chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia, based on immunoglobulin/T-cell receptor and BCR/ABL1 methodologies. **Haematologica**, v. 103, n. 1, p. 107-115, jan. 2018. DOI: 10.3324/haematol.2017.176917.

CERCHIONE, C.; LOCATELLI, F.; MARTINELLI, G. Dasatinib in the management of pediatric patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. **Frontiers in Oncology**, v. 11, mar. 2021. DOI: 10.3389/fonc.2021.632231.

CHIARETTI, S. *et al.* A multicenter total therapy strategy for *de novo* adult Philadelphia chromosome positive acute lymphoblastic leukemia patients: final results of the GIMEMA LAL1509 protocol. **Haematologica**, v. 106, n. 7, p. 1828-1838, 2021. DOI: 10.3324/haematol.2020.260935.

JEHA, S. *et al.* Impact of tyrosine kinase inhibitors on minimal residual disease and outcome in childhood Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. **Cancer**, v. 120, n. 10, p. 1514-1519, maio 2014. DOI: 10.1002/ncr.28598.

LAXMINARAYANA, S. L. K. *et al.* Multiparametric flow cytometry in mixed phenotype acute leukemia. **Indian Journal of Hematology and Blood Transfusion**, v. 35, n. 3, p. 451-458, jul. 2019. DOI: 10.1007/s12288-019-01101-0.

MARTINELLI, G. *et al.* Long-term follow-up of blinatumomab in patients with relapsed/refractory Philadelphia chromosome–positive B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia: final analysis of ALCANTARA study. **European Journal of Cancer**, v. 146, p. 107-114, mar. 2021. DOI: 10.1016/j.ejca.2020.12.022.

QUEUDEVILLE, M.; EBINGER, M. Blinatumomab in pediatric acute lymphoblastic leukemia—from salvage to first line therapy (a systematic review). **Journal of Clinical Medicine**, v. 10, n. 12, p. 2544, jun. 2021. DOI: 10.3390/jcm10122544.

SAMRA, B. *et al.* Discontinuation of tyrosine kinase inhibitors (TKIs) in Philadelphia chromosome-positive (Ph+) acute lymphoblastic leukemia (ALL). **Blood**, v. 134, n. Supl. 1, p. 3819-3819, 13 nov. 2019. DOI: 10.1182/blood-2019-127499.

SHEN, S. *et al.* Effect of dasatinib vs imatinib in the treatment of pediatric Philadelphia chromosome–positive acute lymphoblastic leukemia: a randomized clinical trial. **JAMA Oncology**, v. 6, n. 3, p. 358-366, 2020. DOI: 10.1001/jamaoncol.2019.5868.

SHIMA, H. *et al.* Discontinuation of tyrosine kinase inhibitors in pediatric chronic myeloid leukemia. **Pediatric Blood & Cancer**, v. 69, n. 8, ago. 2022. DOI: 10.1002/pbc.29699.

SILVA, W.; REGO, E. How to manage Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia in resource-constrained settings. **Cancers (Basel)**, v. 15, n. 24, p. 5783, 2023. DOI: 10.3390/cancers15245783.

SISON, E. A. R.; SILVERMAN, L. B. CNS prophylaxis in pediatric acute lymphoblastic leukemia. **The Hematology American Society Hematology Education Program**, v. 2014, n. 1, p. 198-201, dez. 2014. DOI: 10.1182/asheducation-2014.1.198.

CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA DE PACIENTES PORTADORES DE NEUROFIBROMATOSE TIPO 1 ACOMPANHADOS EM UM HOSPITAL PEDIÁTRICO TERCIÁRIO DO SUS EM BRASÍLIA-DF

Laryssa Kellye Pereira Soares Sousa¹
Renata Lazari Sandoval²

Resumo

A Neurofibromatose do tipo 1 (NF1) é uma desordem genética causada por variantes patogênicas germinativas no gene supressor de tumor NF1. Clinicamente, manifesta-se por manchas café com leite, nódulos de Lisch, efélides inguinais e axilares, neurofibromas subcutâneos, gliomas de via óptica, neurofibromas plexiformes e aumento do risco para tumores malignos. O diagnóstico definitivo é baseado em critérios clínicos e moleculares. O objetivo deste estudo foi descrever as características clínicas de crianças com diagnóstico de NF1 atendidas em um serviço público do Distrito Federal. Trata-se de um estudo observacional retrospectivo com coleta de dados de prontuários dos pacientes. Ao todo, 41 pacientes com NF1 foram estudados, com predomínio do sexo feminino (51,2%) e mediana de idade de 12 anos. Vinte pacientes (48,8%) apresentavam dismorfias menores. Todos os pacientes (100%) apresentaram manchas café com leite, efélides axilares ou inguinais estavam presentes em 61,0% dos casos e neurofibromas cutâneos em 29,3%. Quatorze (34,1%) pacientes tinham história pessoal de câncer, incluindo doze (29,3%) casos de gliomas de baixo grau. Dados deste estudo confirmam que a presença de manchas café com leite é um importante marcador dessa condição. A identificação de portadores é crucial devido ao alto risco de tumores.

Palavras-chave: neurofibromatose 1; síndromes neurocutâneas; pediatria; doenças genéticas; genética.

Introdução

A genética é uma ciência que estuda a herdabilidade de traços entre gerações (Griffiths *et al.*, 2022). O genoma humano contém as informações genéticas necessárias para embriogênese, desenvolvimento, crescimento, especialização, funcionamento celular e reprodução (Griffiths *et al.*, 2022; Nussbaum; McIness; Willard, 2022). As unidades funcionais do DNA, conhecidas como genes, são transcritas e traduzidas em proteínas e enzimas que podem influenciar diretamente o estado de saúde e doença (Nussbaum; McIness; Willard, 2022).

A Neurofibromatose do tipo 1 (NF1) é uma desordem genética, geralmente herdada como uma desordem autossômica dominante, embora até 50% dos casos possam ser decorrentes de variantes genéticas novas, não herdadas (Safier; Cleves-Bayon; Gaesser, 2021). É uma das síndromes neurocutâneas mais comuns, afetando 1 a cada 3000 indivíduos (Safier; Cleves-Bayon; Gaesser, 2021). A neurofibromina, produto gênico do gene NF1, age como um supressor de tumor (Safier; Cleves-Bayon; Gaesser, 2021). Alterações genéticas que envolvem

¹ Acadêmica de Medicina da Universidade de Brasília (UnB) e Bolsista de iniciação científica do Hospital da Criança de Brasília (HCB).

² Médica pediatra, geneticista e pesquisadora do Hospital da Criança de Brasília.

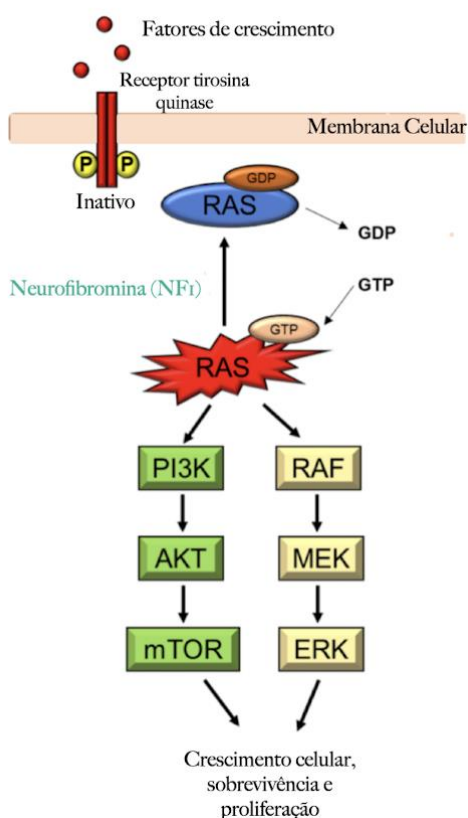
o desenvolvimento de tumores incluem a ativação de proto-oncogenes e a inativação de genes supressores de tumor (Alberts *et al.*, 2022). No caso da NF1, ocorrem alterações germinativas no gene NF1 que levam à perda de função da neurofibromina.

A NF1 faz parte de um grupo de desordens do desenvolvimento denominado RASopatias. Nessas condições, os pacientes apresentam alterações constitutivas em genes que participam da via de sinalização celular denominada via Ras/MAPK. Essa via desempenha um papel crucial em todo o ciclo celular, controlando a proliferação, diferenciação e migração celular, além de participar do processo de sinalização para a apoptose. Alterações nesta via de sinalização também podem estar associadas aos processos carcinogênicos (Vieira, 2019).

Em seu estado normal, as proteínas da família RAS existem em sua forma inativa ligada ao Guanosina Difosfato (GDP) (Figura 1). Fatores de troca de nucleotídeos de guanina (GEFs) são recrutados para a membrana plasmática, seguidos pela estimulação dos fatores de crescimento mitogênicos. Após a ligação das GEFs a RAS, a estabilidade do nucleotídeo ligado é interrompida, levando à liberação do GDP e à formação do nucleotídeo livre. Isso ativa a RAF e outras cascatas recrutadas pela RAS-GTP. A sinalização da RAS é terminada pela hidrólise do GTP, mediada pela enzima intrínseca ativada pela RAS (Bahar; Kim; Kim, 2023).

O gene supressor tumoral NF1 codifica uma proteína ativadora da Ras-GTPase (GAP), que intensifica a atividade de GTPase da Ras normal. Variantes patogênicas germinativas ou variantes oncogênicas somáticas em NF1 causam uma GAP não funcional, deixando a Ras apenas com a atividade de GTPase, que possui um número de renovação muito baixo. Uma vez ativada pela ligação com GTP, a Ras permanece ativa por um longo período e continua a enviar o sinal para a divisão celular (Nelson; Cox; Hoskins, 2022).

Figura 1 – Patogênese molecular do NF1



Fonte: Tamura, (2024) com modificações.

A NF1 ocorre como resultado de uma variante patogênica germinativa em um dos dois alelos do gene supressor de tumor NF1 no cromossomo 17q11.2. A inativação de uma cópia do gene é necessária para a manifestação das características dessa condição, mas para a formação de tumor, é requerida uma perda somática no segundo alelo (Ly; Blakeley, 2019).

As manifestações clínicas da NF1 decorrem da alteração da via RAS/MAPK. As características mais comuns incluem manchas café com leite, efélides axilares e inguinais, neurofibromas subcutâneos e hamartomas de íris (nódulos de Lisch). Anormalidades associadas podem incluir gliomas ópticos, tumores no Sistema Nervoso Central de origem glial ou meningeal, neurofibromas da medula ou dos nervos periféricos, anormalidades ósseas, macrocefalia, epilepsia e alterações do neurodesenvolvimento, como déficit de atenção, dificuldade de aprendizado/comprometimento cognitivo e autismo (Safier; Cleves-Bayon; Gaesser, 2021).

O tipo e a gravidade das manifestações clínicas da NF1 são muito variáveis entre indivíduos. Apesar de mais de 2800 variantes patogênicas terem sido descritas no gene NF1, apenas 31 delas são recorrentes. Microdeleções que envolvem o gene NF1 e algumas variantes que afetam códons específicos podem conferir um fenótipo mais grave, enquanto outras variantes e pequenas deleções podem estar associadas a um fenótipo limitado por manchas café com leite, efélides inguinais e axilares, leve comprometimento cognitivo e baixo risco para neoplasias (Ly; Blakeley, 2019).

O diagnóstico de NF1 geralmente é feito com base nos achados clínicos. O teste genético é normalmente reservado para situações de diagnóstico clínico inconclusivo ou duvidoso. No entanto, o conhecimento de certas correlações genótipo-fenótipo pode permitir uma melhor estimativa de riscos e auxiliar no refinamento das estratégias de vigilância para tumores (Ly; Blakeley, 2019).

Os critérios clínico-diagnósticos desenvolvidos pelo Instituto Nacional de Saúde dos Estados Unidos (NIH) são muito específicos e sensíveis para a maioria dos casos de NF1, exceto para indivíduos muito jovens ou que apresentam mosaicismo constitucional ou variantes em NF1 que não causam achados característicos na pele. Aproximadamente 46% dos pacientes com NF1 de novo não preenchem critérios diagnósticos antes de 1 ano de idade. Diante de qualquer suspeita de NF1, o monitoramento anual até o final da infância é necessário, pois 97% das crianças com pelo menos uma característica de NF1 recebem o diagnóstico clínico definitivo até os 8 anos de idade (Ly; Blakeley, 2019).

O diagnóstico é realizado com base em resultados de testes genéticos (sequenciamento genético do gene NF1) e/ou achados clínicos. Os critérios genéticos envolvem a identificação de variantes patogênicas em NF1 para realizar o diagnóstico definitivo (Karaconji *et al.*, 2019). Os critérios clínicos incluem 7 características (Quadro 1), e o diagnóstico clínico é definido pela presença de dois ou mais critérios (Karaconji *et al.*, 2019).

Quadro 1 – Variantes patogênicas dos pacientes com testagem genética do gene NF1 em laboratórios comerciais, n=11

≥ 6 manchas café com leite iguais ou maiores que 5mm no maior diâmetro em pacientes pré- púberes e 15mm no maior diâmetro em pacientes pós-púberes;
≥ 2 neurofibromas de qualquer tipo ou um neurofibroma plexiforme; Sardas nas regiões axilares ou inguinais;
≥ 2 Nódulos de Lisch (hamartomas de íris);
Glioma óptico;
Lesão óssea característica, como displasia da asa do esfenoide ou afilamento cortical do córtex de ossos longos, com ou sem pseudo-artrose;
• Parente de primeiro grau (pai, irmão ou filho) com NF1 de acordo com os critérios acima mencionados;

O manejo da NF1 é direcionado principalmente às manifestações clínicas (Lee *et al.*, 2023). Ao tratar do público pediátrico, o acompanhamento oftalmológico anual é crucial, já que muitas vezes as crianças não referem sintomas de perda de acuidade visual, um dos sintomas associados ao glioma de vias ópticas (Ly; Blakeley, 2019). A terapia com inibidores de mTOR (sirolimus e everolimus) tem se mostrado uma ferramenta terapêutica importante para gliomas de baixo grau (Ullrich *et al.*, 2020). Esses inibidores também são um potencial tratamento para tumores malignos da bainha do nervo periférico (Endo *et al.*, 2013). Mais recentemente, o selumetinibe mostrou-se muito efetivo para o tratamento de neurofibroma plexiforme (Gross *et al.*, 2020).

Metodologia

Trata-se de um estudo observacional retrospectivo realizado no Laboratório de Pesquisa Translacional (LPT) do Hospital da Criança de Brasília José Alencar (HCB).

A amostra avaliada consiste em pacientes portadores da Neurofibromatose tipo 1 (NF1) atendidos no HCB no período de 2018 a 2024 e que consentiram participação no estudo. Pacientes que não preenchiam critérios clínicos suficientes no momento da revisão dos dados clínicos em prontuário foram excluídos.

O trabalho principal foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa. CAAE: 66964123.4.0000.0144. Foi aplicado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecimento (TCLE) para cada paciente participante da pesquisa e/ou responsável. O Termo de Anuência Livre e Esclarecida (TALE) foi aplicado para os pacientes sem deficiência intelectual e/ou transtornos do desenvolvimento.

Os dados foram coletados no período de março de 2024 a fevereiro de 2025. Os dados foram coletados na plataforma REDCap e codificados utilizando o programa Microsoft Excel 2010. Foram coletados os seguintes dados: identificação do paciente por código, gênero, idade

e data de nascimento; data da primeira e última consulta na genética; histórico de consanguinidade parental, imunodeficiência e câncer; data da última avaliação médica, data da revisão do prontuário e data da primeira consulta no departamento de genética do HCB; manchas café com leite; neurofibroma cutâneo; anormalidades ósseas; neurofibroma plexiforme; efélides axilares ou inguinais; nódulos de Lisch; familiar de primeiro grau com NF1; atraso no desenvolvimento (caracterizado por atraso dos marcos motores); distúrbio de comportamento; deficiência intelectual (comprovada por teste neuropsicológico ou fenótipo grave); tipo e resultado de testagem genética.

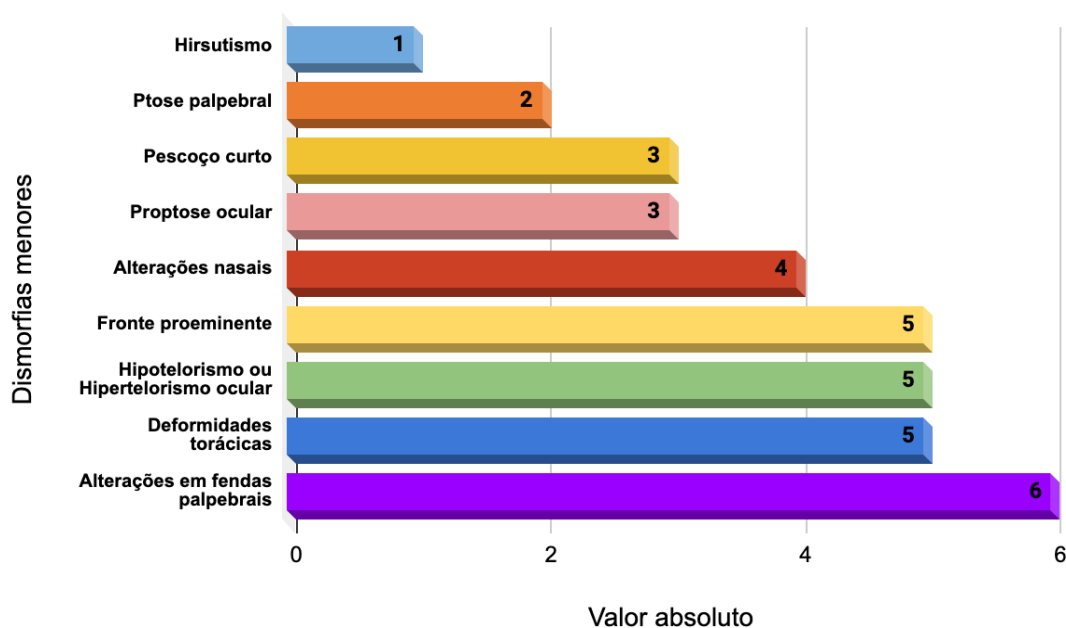
A análise dos dados foi descritiva por frequências absolutas e percentuais para dados qualitativos, utilizando o programa Excel.

Resultados e discussão

No período de março de 2024 a fevereiro de 2025, foram coletados dados de 41 pacientes pediátricos atendidos no serviço de genética do HCB diagnosticados clinicamente com NF1.

Dentre os pacientes analisados, 21 (51,2%) eram do sexo feminino e 20 (48,8%) do sexo masculino. A idade média no período da coleta de dados foi de 11 anos e seis meses, enquanto a mediana foi de 12 anos. Aproximadamente metade dos pacientes (20/41, 48,8%) apresentava dismorfias menores. Entre essas alterações, cinco (12,2%) tinham fronte proeminente, cinco (12,2%) apresentavam hipotelorismo ou hipertelorismo ocular, seis (14,6%) exibiam alterações em fendas palpebrais, quatro (9,8%) apresentavam alterações nasais, três (7,3%) tinham pescoço curto e cinco (12,2%) possuíam deformidades torácicas, hirsutismo foi descrito em um paciente (2,4%), ptose palpebral em dois (4,8%) e proptose ocular em três (7,3%) (Figura 2). Nenhum paciente do estudo foi a óbito durante o período do estudo.

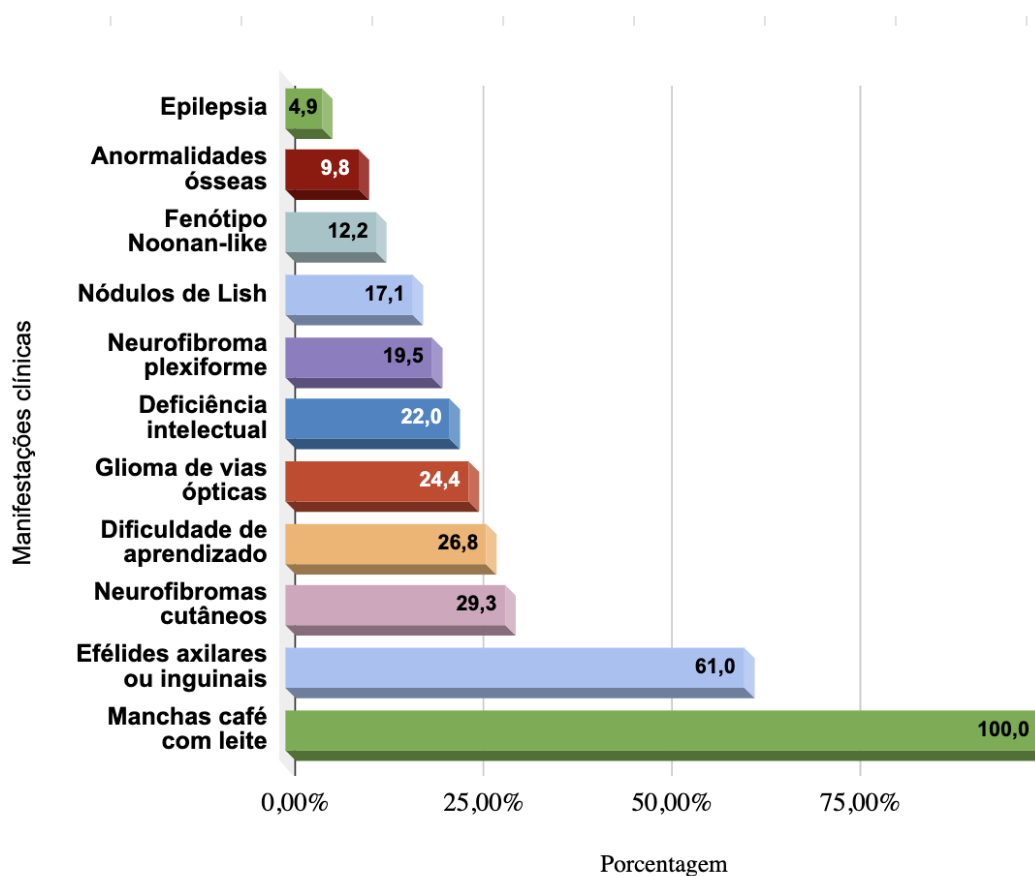
Figura 2 – Dismorfias menores de pacientes portadores de NF1 atendidos em hospital pediátrico terciário, n=41



Legenda: A somatória desses números não é igual ao número total de participantes do estudo, pois cada participante pode ter contribuído para mais de uma categoria.

Entre os 41 pacientes avaliados, dois (4,9%) apresentavam epilepsia, enquanto quatro (9,8%) tinham anormalidades ósseas. Cinco (12,2%) possuíam fenótipo semelhante ao da síndrome de Noonan e dez (24,4%) foram diagnosticados com gliomas de vias ópticas. No que se refere às dificuldades cognitivas, onze (26,8%) apresentavam dificuldades de aprendizado, enquanto nove (22,0%) tinham deficiência intelectual presumida ou confirmada por teste neuropsicológico. No grupo analisado, oito (19,5%) apresentavam neurofibromas plexiformes, enquanto sete (17,1%) possuíam nódulos de Lisch. Neurofibromas cutâneos foram identificados em doze (29,3%) e efélides axilares ou inguinais estavam presentes em vinte e cinco (61,0%) pacientes. Por fim, todos os 41 pacientes (100%) apresentavam manchas café com leite (Figura 3).

Figura 3 – Manifestações clínicas dos pacientes com NF1 atendidos em um Hospital pediátrico terciário, n=41



Os resultados da testagem genética do gene NF1, realizada em laboratórios comerciais, estavam disponíveis em 11 (26,8%) dos casos. A distribuição das variantes patogênicas reportadas, de acordo com o tipo de variante, consistiu em três variantes nonsense, cinco frameshift, duas missense e uma microdeleção (Quadro 2). Um histórico familiar da NF1 foi identificado em sete (17,1%) dos casos. As mutações de frameshift e nonsense são consistentemente relacionadas com a perda de função da proteína neurofibromina. A microdeleção 17q11.2 corrobora um fenótipo mais complexo, frequentemente associado a características clínicas adicionais, como déficits cognitivos. A variante missense (c.3826C>G) demonstra a importância de um único resíduo aminoacídico para a função da proteína. Os tipos de mutação identificados se alinham diretamente com os mecanismos moleculares conhecidos da NF1, fornecendo uma base genética para os achados clínicos dos pacientes.

Quadro 2 – Variantes patogênicas dos pacientes com testagem genética do gene NF1 em laboratórios comerciais, n=11

ID do Paciente	Teste Realizado	Alteração ao Nível Proteico	cDNA
2	Sequenciamento de um único gene	Frameshift	NF1 c.3730_3731del (p.Val1244fs)
3	Painel multigênico	Frameshift	NF1 c.2033dup (p.Ile679Aspfs*21); NF1 c.882dup (p.Val2955Serfs*6)
6	Painel multigênico	Frameshift	NF1 c.2213_2216del (p.Phe738Trpfs*9)
7	Sequenciamento de um único gene	Missense	NF1 c.3826C>G (p.Arg1276Gly)
10	Painel multigênico	Nonsense	NF1 c.1945G>T (p.Glu649Ter)
11	CGH array ou SNP array	Microdeleção	Síndrome de microdeleção 17q11.2
17	Painel multigênico	Nonsense	NF1 c.2994T>G (p.Tyr98*)
20	Sequenciamento completo de exoma	Frameshift	NF1 c.2546dup (p.Val850Serfs*15)
37	Sequenciamento de um único gene	Nonsense	NF1 c.1492A>T (p.Lys498*)
51	Painel multigênico	Frameshift	NF1 c.1756_1759del (p.Thr586Valfs*18)
103	Painel multigênico	Missense	NF1 c.4289A>C (p.Asn1430Thr); rs199474754

Em relação à história pessoal de câncer, quatorze (34,4%) pacientes apresentavam histórico positivo, incluindo dez (24,4%) casos de gliomas de baixo grau em vias ópticas, dois (4,9%) casos de glioma de baixo grau em fossa posterior, um (2,4%) caso de leucemia linfoblástica aguda (LLA) e um (2,4%) caso de astrocitoma pilocítico hipotálamo-quiasmático. A paciente com LLA e o paciente com astrocitoma pilocítico hipotálamo-quiasmático foram submetidos à quimioterapia. Entre os pacientes diagnosticados com glioma de baixo grau, a mediana de idade no diagnóstico foi de 10 anos. Desses, sete (17,1%) foram submetidos à quimioterapia, um (2,4%) passou por intervenção cirúrgica, e quatro (9,8%) permanecem sob conduta expectante.

Os resultados deste estudo reforçam a importância do reconhecimento das manifestações clínicas da NF1 durante a infância, uma vez que todos os pacientes avaliados apresentavam manchas café com leite, um dos principais marcadores fenotípicos da doença. Este achado é consistente com estudos anteriores (Ly; Blakeley, 2019) que demonstram a presença dessas manchas como critério fundamental para o diagnóstico clínico da NF1.

Ademais, a alta frequência de efélides inguinais ou axilares (61,0%) e neurofibromas cutâneos (29,3%) também se alinha à literatura existente (Karaconji *et al.*, 2019), que destaca essas manifestações como características comuns da condição. A variabilidade fenotípica entre os pacientes também foi evidente, com alguns apresentando sinais mais graves como gliomas de vias ópticas (24,4%) e deficiência intelectual presumida ou confirmada por teste neuropsicológico (22,0%).

A análise genética, ainda que em uma proporção limitada da amostra (26,8%), revelou a presença de variantes patogênicas de diversos tipos, incluindo variantes nonsense, frameshift, missense e microdeleção. Essa diversidade genotípica reforça a complexidade molecular do

gene NF1 e a necessidade de estudos mais abrangentes para estabelecer correlações genótipo-fenótipo (Nelson; Cox; Hoskins, 2022). O histórico familiar da NF1 foi identificado em apenas 17,1% dos casos, sugerindo uma alta incidência de variantes *de novo*, como previamente descrito na literatura (Safier; Cleves-Bayon; Gaesser, 2021).

Outro aspecto relevante do estudo foi a identificação de câncer em 34,1% dos pacientes, com predomínio de gliomas de baixo grau. Esse achado reforça a predisposição da NF1 para malignidades e a necessidade de um acompanhamento contínuo e rigoroso (Ullrich et al., 2020). O risco estimado de gliomas de vias ópticas na NF1 é de 15-20% (Cassina et al., 2019), é possível que a prevalência encontrada na nossa amostra tenha sido maior do que o descrito na literatura por sermos um centro de referência para tratamento oncológico pediátrico. Além disso, o manejo desses pacientes pode ser aprimorado pelo uso de terapias-alvo emergentes, como os inibidores de mTOR e selumetinibe, que têm demonstrado eficácia na redução de neurofibromas plexiformes (Gross et al., 2020), considerando que 19,5% da nossa amostra apresenta neurofibromas plexiformes.

Os achados desta pesquisa corroboram dados previamente descritos na literatura e enfatizam a importância do reconhecimento precoce da NF1, do acompanhamento contínuo e da implementação de estratégias terapêuticas avançadas. Dessa forma, este estudo contribui para o aprimoramento do conhecimento da NF1 e conseqüente melhora no manejo clínico da NF1 no público pediátrico e abre caminhos para investigações futuras que possam aprofundar o conhecimento sobre essa condição genética.

Conclusões

A NF1 é uma das síndromes neurocutâneas mais comuns, apresentando ampla variabilidade fenotípica tanto entre indivíduos não aparentados quanto dentro da mesma família. O diagnóstico precoce é essencial para garantir um acompanhamento médico adequado, permitindo a detecção e intervenção oportuna de gliomas e de outras malignidades associadas à doença.

Uma das principais limitações deste estudo foi a dificuldade na identificação dos pacientes com NF1 no HCB, devido à inconsistência no preenchimento da Classificação Internacional de Doenças (CID) nos prontuários eletrônicos. Dessa forma, o número de pacientes incluídos pode não refletir a real prevalência da doença na instituição, visto que apenas aqueles atendidos mais recentemente foram considerados na análise.

A identificação de variantes patogênicas nonsense, frameshift, missense, inframe e microdeleção reforça a heterogeneidade molecular da NF1 e ressalta a importância da testagem genética como ferramenta essencial para o manejo clínico individualizado e o aconselhamento genético. Neste momento, a caracterização de variantes patogênicas em NF1 não direciona condutas terapêuticas, mas é possível que no futuro isso seja uma realidade.

Diante disso, destaca-se a necessidade de ampliação dos estudos genéticos, incluindo o sequenciamento sistemático dos pacientes com diagnóstico clínico de NF1 e a expansão da coorte com novos participantes. A correlação entre genótipo e fenótipo pode oferecer informações valiosas para prognóstico e estratificação de risco, além de auxiliar na identificação de biomarcadores para terapias-alvo emergentes. Dessa forma, os avanços na compreensão das variantes germinativas da NF1 poderão, no futuro, contribuir significativamente para a personalização do tratamento e o aprimoramento das estratégias terapêuticas voltadas para essa população. O HCB possui a tecnologia necessária para realizar os sequenciamentos genéticos e pode desempenhar um papel essencial na saúde de pacientes pediátricos com NF1 no Distrito Federal.

Referências

ALBERTS, B. *et al.* **Molecular biology of the cell**. 7. ed. New York: W. W. Norton & Company, 2022.

BAHAR, M. E.; KIM, H. J.; KIM, D. R.; Targeting the RAS/RAF/MAPK pathway for cancer therapy: from mechanism to clinical studies. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 8, n. 1, p. 455, 2023. DOI: 10.1038/s41392-023-01705-z.

CASSINA, M. *et al.* Optic pathway glioma in type 1 neurofibromatosis: review of its pathogenesis, diagnostic assessment, and treatment recommendations. **Cancers (Basel)**, v. 11, n. 11, p. 1790, 14 nov. 2019. DOI: 10.3390/cancers11111790.

ENDO, M. *et al.* Prognostic significance of AKT/mTOR and MAPK pathways and antitumor effect of mTOR inhibitor in NF1-related and sporadic malignant peripheral nerve sheath tumors. **Clinical Cancer Research**, v. 19, n. 2, p. 450-461, jan. 2013. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-1067.

FERNER, R. E. *et al.* Guidelines for the diagnosis and management of individuals with neurofibromatosis 1. **Journal of Medical Genetics**, v. 44, n. 2, p. 81-88, fev. 2007. DOI: 10.1136/jmg.2006.045906.

GRIFFITHS, A. J. F. *et al.* **Introdução à genética**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2022.

GROSS, A. M. *et al.* Selumetinib in children with inoperable plexiform neurofibromas. **New England Journal of Medicine**, v. 382, n. 15, p. 1430-1442, abr. 2020. DOI: 10.1056/NEJMoa1912735.

KARACONJI, T. *et al.* Neurofibromatosis type 1: review and update on emerging therapies. **Asia-Pacific Journal of Ophthalmology**, v. 8, n. 1, p. 62-72, jan. 2019. DOI: 10.22608/APO.2018182.

LEE, T.-S. J. *et al.* Incidence and prevalence of neurofibromatosis type 1 and 2: a systematic review and meta-analysis. **Orphanet Journal of Rare Diseases**, v. 18, n. 1, p. 292, 2023. DOI: 10.1186/s13023-023-02911-2.

LEGIUS, E. *et al.* Revised diagnostic criteria for neurofibromatosis type 1 and Legius syndrome: an international consensus recommendation. **Journal of Genetics and Genomics**, v. 23, n. 8, p. 1506-1513, ago. 2021. DOI: 10.1038/s41436-021-01170-5.

LY, K. I.; BLAKELEY, J. O. The diagnosis and management of neurofibromatosis type 1. **Medical Clinics of North America**, v. 103, n. 6, p. 1035-1054, 2019. DOI: 10.1016/j.mcna.2019.07.004.

NELSON, D. L.; COX, M. M.; HOSKINS, A. A. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 8. ed. Porto Alegre: Artmed, 2022.

NUSSBAUM, R. L.; McINNES, R. R.; WILLARD, H. F.; **Thompson & Thompson genética médica**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2022.

SAFIER, R. A.; CLEVES-BAYON, C.; GAESSER, J. Neurology. *In: ZITELLI, B. J. et al.* (ed.). **Zitelli and Davis' atlas of pediatric physical diagnosis**. 8. ed. Philadelphia: Elsevier, 2021. p. 562-592.

TAMURA, R. Current understanding of neurofibromatosis type 1, 2, and schwannomatosis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 11, p. 5850, 2021. DOI: 10.3390/ijms22115850.

ULLRICH, N. J. *et al.* A phase II study of continuous oral mTOR inhibitor everolimus for recurrent, radiographic-progressive neurofibromatosis type 1-associated pediatric low-grade glioma: a Neurofibromatosis Clinical Trials Consortium study. **Neuro-Oncology**, v. 22, n. 10, p. 1527-1535, 2020. DOI: 10.1093/neuonc/noaa071.

VIEIRA, T. C. dos S. **Estudo descritivo molecular de pacientes com RASopatias**. 2019. Dissertação (Mestrado em Pesquisa Aplicada à Saúde da Criança e da Mulher) – Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2019.

PERFIL CLÍNICO-LABORATORIAL DE PACIENTES COM DIAGNÓSTICO DE NEUROBLASTOMA EM HOSPITAL PÚBLICO PEDIÁTRICO NO DISTRITO FEDERAL

Marcelle Machado Mendes¹
Robéria Mendonça de Pontes²

Resumo

Neuroblastomas são tumores do sistema nervoso simpático que afetam principalmente crianças em seus primeiros anos de vida. Seu diagnóstico costuma ser tardio, e a carência de estudos publicados prejudica o entendimento de sua heterogeneidade clínica. O objetivo deste trabalho é descrever o perfil clínico-laboratorial de pacientes com neuroblastoma em um hospital público terciário, bem como analisar a relação entre características iniciais da doença e os desfechos clínicos. Trata-se de uma coorte retrospectiva com dados de pacientes entre 2023 e 2024. A análise de sobrevivência utilizou o método de Kaplan-Meier, considerando o tempo entre diagnóstico e desfecho (óbito ou recaída). Foram avaliados 22 pacientes, com predomínio de meninos, negros e idade entre 18 meses e 4 anos. Os sintomas mais frequentemente foram febre e manifestações gastrointestinais. A glândula adrenal foi identificada como o principal sítio primário, enquanto a medula óssea foi o local mais comum de metástase. Casos resistentes ao tratamento inicial foram submetidos a transplante autólogo e imunoterapia. A maioria dos pacientes apresentava estadiamento M e foi classificada como de alto risco. O estudo mostrou que a presença de metástases já no momento do diagnóstico revelou-se um indicativo de prognóstico desfavorável desde o início, e a recaída permanece como um dos principais desafios no manejo dos casos de alto risco. Destaca-se, por fim, importância de maiores investimentos em diagnóstico precoce, padronização de protocolos e capacitação contínua em saúde.

Palavras-chave: oncopediatria; neuroblastoma; epidemiologia; prognóstico.

Introdução

O Neuroblastoma (NB) pertence ao espectro de tumores provenientes de células primitivas do sistema nervoso simpático (Brodeur, 2003). Nos lactentes, o NB é considerado a malignidade mais comum. Trata-se da terceira neoplasia maligna mais frequente na infância e adolescência, após a leucemia e tumores do sistema nervoso central, sendo a neoplasia sólida de tecido extracraniano mais frequente em crianças (Morosini *et al.*, 2016).

Enquanto alguns tumores exibem regressão espontânea, outros demonstram um comportamento metastático agressivo e resistente às abordagens terapêuticas multimodais (Davidoff, 2012). Os principais sinais e sintomas, em geral tardios, são frequentemente inespecíficos e semelhantes a uma variedade de doenças neoplásicas e não neoplásicas da

¹ Acadêmica de Medicina pela Escola Superior de Ciências da Saúde (ESCS), Universidade do Distrito Federal (UnDF) e Bolsista do Projeto de Iniciação Científica do Hospital da Criança de Brasília José Alencar (HCB).

² Doutora em Ciências pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ. Farmacêutica do Hospital da Criança de Brasília José Alencar (HCB).

infância. Devido ao difícil diagnóstico precoce para os pediatras, é comum que os pacientes já apresentem metástase à distância no momento da apresentação clínica (Lucena *et al.*, 2018).

É fundamental reconhecer essa doença como uma condição de forte potencial maligno e que representa um desafio significativo para a saúde pública. Sua caracterização como objeto relevante de pesquisa pode impactar diretamente a formulação de políticas públicas voltadas à população pediátrica. Além disso, a descrição clínico-epidemiológica da doença auxilia profissionais na previsão de desfechos e definição de condutas, especialmente ao considerar sua heterogeneidade biológica e regional. Contudo, observa-se uma lacuna importante de estudos robustos no Centro-Oeste que caracterizem essa doença.

Nesse contexto, o Hospital da Criança de Brasília José Alencar (HCB) destaca-se como centro de referência regional em hemato-oncologia pediátrica, promovendo educação continuada e oferecendo diagnóstico especializado por meio da citometria de fluxo. O laboratório da instituição fortalece a integração entre ciência e assistência, enquanto inovações como o "tubo STOT" — ferramenta experimental para triagem de tumores sólidos — representam avanços tecnológicos promissores para acelerar o diagnóstico e melhorar o prognóstico de crianças com câncer.

A exposição do padrão imunohistoquímico do NB, bem como sua relação com o comportamento tumoral e os desfechos clínicos, fornecerá informações relevantes para a comunidade científica e para a população infantil. O objetivo principal do trabalho é descrever o perfil clínico-laboratorial de pacientes diagnosticados com NB, acompanhados no serviço do HCB entre os anos de 2023 e 2024. Além disso, pretende-se avaliar os desfechos dos pacientes e a sua relação com as apresentações clínicas e a extensão de doença metastática inicial.

Metodologia

Este estudo de coorte retrospectivo avaliou pacientes com diagnóstico de NB, acompanhados pelo HCB, e participantes do estudo Pancâncer conduzido pelo Laboratório de Pesquisa Translacional da instituição. Foram incluídos pacientes em seguimento entre janeiro de 2023 e dezembro de 2024, excluindo-se aqueles sem diagnóstico histopatológico definitivo ou com perda precoce de seguimento. O projeto está vinculado à pesquisa aprovada pelo Comitê de Ética em 2022 (CAAE: 66964123.4.0000.0144), com consentimento assegurado.

Os dados clínico-laboratoriais foram coletados de prontuários eletrônicos por meio de ficha padronizada no *REDCap* e analisados com os softwares Excel (2016) e SPSS v.23. As variáveis incluíram perfil demográfico, sintomas, exames complementares, estadiamento INRG, estratificação de risco COG, tratamento e evolução clínica. Foram aplicados testes estatísticos como Exato de Fisher, Mann-Whitney e Shapiro-Wilk, com nível de significância de 5%. A análise de sobrevivência utilizou o método Kaplan-Meier para estimar sobrevida global (SG) e sobrevida livre de eventos (SLE), considerando recaída ou óbito como desfechos principais.

Resultado e discussão

Foram analisados dados de 22 pacientes. Houve predomínio de meninos (59,1%, n=13), negros (72,7%, n=16), procedentes do Distrito Federal (45,5%, n=10) e com idade entre 18 meses e 4 anos e 11 meses ao diagnóstico (40,9%, n=9). A média de idade foi de 3 anos. Os dados estão dispostos na Tabela 1.

Tabela 1 - Perfil epidemiológico de pacientes com NB

Variáveis	n	%
Sexo (n=22)		
Masculino	13	59,1
Feminino	9	40,9
Etnia		
Negra	16	72,7
Branca	5	22,7
Amarela	1	4,5
Procedência		
Distrito Federal (DF)	10	45,5
Goiás (GO)	4	18,2
Mato Grosso (MT)	4	18,2
Bahia (BA)	1	4,5
Espírito Santo (ES)	1	4,5
Pará (PA)	1	4,5
Roraima (RR)	1	4,5
Idade ao diagnóstico		
Até 11 meses	8	39,4
Entre 12 meses e 17 meses	0	0
Entre 18 meses e 4 anos e 11 meses	9	40,9
Entre 5 anos e 17 anos e 11 meses	5	22,7

Fonte: elaboração própria.

O acometimento maior de meninos já é conhecido na literatura, apesar de ainda não se conhecer a base genética que o justifique (Warlet *et al.*, 2018). Estudos internacionais apontam idade média ao diagnóstico entre 15 e 17 meses, com tendência de detecção cada vez mais precoce em países que adotam protocolos sistemáticos de triagem (Morosini *et al.*, 2016; Sharp; Gelfand; Shulkin, 2011; Berthold *et al.*, 2017). No Brasil, entretanto, os dados ainda são escassos e pouco precisos, com médias de idade ao diagnóstico geralmente superiores às de países desenvolvidos. No presente estudo, apenas uma minoria tinha menos de 18 meses ao diagnóstico. Apesar do avanço em métodos diagnósticos e maior acesso a exames como ultrassonografia e biópsias, ainda há subdiagnóstico em crianças muito pequenas.

O tempo entre o início dos sintomas e o diagnóstico variou de 30 dias a 18 meses, porém não houve diferença entre o tempo de sintomas e o estadiamento dos pacientes, o que parece não ter influenciado na sobrevida. Fatores como barreiras de acesso à atenção terciária e demora na suspeita diagnóstica por profissionais não especialistas podem contribuir para o atraso no diagnóstico.

Como se observa na Tabela 2, os principais sinais e sintomas à admissão foram febre e alterações gastrointestinais como náuseas, vômitos, dor abdominal, diarreia e constipação (54,5%, n=12), seguidos de síndrome anêmica com fadiga, fraqueza, palidez (31,8%, n=7). Apesar do importante predomínio de anemia (52,9%, n=9), boa parte dos pacientes não apresentou qualquer alteração no primeiro hemograma (41,2%, n=7). Estes achados evidenciam

inespecificidade da manifestação inicial da doença, que não traduz a real gravidade do NB. Nenhum paciente manifestou síndromes paraneoplásicas clássicas, como a síndrome de Horner e *opsonus-clonus*, o que reforça a baixa incidência de sintomas característicos. Nesse contexto, o aumento de ferritina e catecolaminas urinárias (66,7%, n=10) se mostraram marcadores diferenciais relevantes.

Tabela 2 – Achados clínico-laboratoriais prévios ao diagnóstico de NB

Variáveis	n	%
Sintomas (n=22)		
Febre	12	54,5
Alterações gastrointestinais	12	54,5
Síndrome anêmica	7	31,8
Claudicação ou dor em membro	6	27,3
Massa abdominal	6	27,3
Perda de peso	5	22,7
Massa torácica	3	13,6
Adenomegalia	3	13,6
Hiporexia	2	9,1
Hepatomegalia	2	9,1
Hipertensão	2	9,1
Icterícia	2	9,1
Massa craniana e cefaleia	2	9,1
Sibilância	2	9,1
Hemograma (n=22)		
Anemia	9	52,9
Reticulócitos	2	11,8
Leucopenia	1	5,9
Plaquetopenia	1	5,9
Pancitopenia	1	5,9
Nenhuma das anteriores	7	41,2
Ferritina (n=15)		
Aumentada	10	66,7
Normal ou diminuída	5	33,3
Ácido vanilmandélico (VMA) urinário (n=15)		
Aumentado	10	66,7
Normal ou diminuído	5	33,3

Fonte: elaboração própria.

A medula óssea foi o tecido mais captado (68,2%, n=15) e o mais frequentemente acometido por metástase (93,3%, n=14), como se verifica nas Tabelas 3 e 4. Encontrou-se no

estudo uma significativa associação entre biópsia de tecido adrenal e recidivas ($p=0,023$). De fato, um ensaio clínico com mais de oito mil pacientes percebeu que os tumores primários adrenais tinham maior probabilidade de estarem associados a características prognósticas desfavoráveis (Vo *et al.*, 2014).

A maior parte dos pacientes foi estadiada como M (40,9%, $n=9$) e estratificada como “alto risco” (50,0%, $n=11$), indicando estágio avançado de doença e pior prognóstico já no início do manejo clínico. O fato de a grande maioria dos pacientes já ter sido diagnosticada na vigência de metástase é compatível com o demonstrado em outros estudos e reflete a importância da suspeição clínica precoce (Lucena *et al.*, 2018; Matthay *et al.*, 2016).

Tabela 3 – Exames solicitados para investigação de NB

Variáveis	n	%
Biópsia/anatomopatológico (n=22)		
Medula óssea	15	68,2
Adrenal	7	31,8
Fígado	3	13,6
Linfonodo	2	9,1
Outros (paravertebral, retroperitoneal, temporal, mediastinal, subcutâneo)	5	22,7
Imunohistoquímica (n=19)		
Cromogranina A	12	63,2
Sinaptofisina	11	57,9
NSE	6	31,6
Expressão de Ki-67	5	26,3
S100	5	26,3
CD56	4	21,1
ALK	2	10,5
Vimentina	2	10,5
Não constam dados	2	10,5
Histologia (n=19)		
Favorável	15	78,9
Desfavorável	4	21,1
Mielograma (n=14)		
Infiltrado	9	64,3
Ausência de infiltrado	5	35,7
Exame genético (n=16)		
Sem alterações	11	68,8
N-MYC amplificado	3	18,8
Inconclusivo	2	12,5

Fonte: elaboração própria.

Os pacientes que receberam outras modalidades de tratamento, além da quimioterapia e da cirurgia, apresentaram recidivas (40,0%, n=2) ou metástases (60,0%, n=3), sendo que, destes últimos, um paciente evoluiu para óbito (Tabela 4). Foram realizadas principalmente as modalidades de transplante autólogo (100,0%, n=5) e de imunoterapia (60,0%, n=5), tendo o Dinutuximabe como droga de escolha. Este medicamento vem sendo incorporado ao cuidado de pacientes de alto risco em cenários de recidivas, mas também como terapia de primeira linha (Yu *et al.*, 2010).

A recaída permanece sendo o principal obstáculo à cura de pacientes com NB de alto risco. Em nossos achados, os três pacientes em recidiva permanecem em tratamento no hospital, revelando certo controle da doença com terapias de resgate. Importante considerar, contudo, que na nossa amostra, nenhum paciente com recidiva também apresentou metástase concomitante, o que se associa a melhor resposta às propostas de terapias adjuvantes. Além disso, a maioria das recorrências ocorrem nos próximos dois anos após o diagnóstico (London *et al.*, 2017), sendo necessária a continuidade do acompanhamento desses pacientes no serviço para estabelecer conclusões definitivas sobre o tema.

Tabela 4 – Comportamento tumoral e resposta ao tratamento de pacientes com NB

Variáveis	n	%
Sítio primário (n=22)		
Adrenal	17	77,3
Retroperitoneal (exceto adrenal)	3	13,6
Mediastinal	2	9,1
Metástase ao diagnóstico (n=22)		
Sim	15	68,2
Não	7	31,8
Sítio de metástase (n=15)		
Medula óssea	14	93,3
Osso	10	66,7
Linfonodos	6	40,0
Fígado	5	33,3
Cadeias simpáticas	3	20,0
Periorbital	2	13,3
Pele	1	6,7
Sistema nervoso central	1	6,7
Estratificação de risco (n=22)		
Baixo	4	18,2
Intermediário	7	31,8
Alto	11	50,0
Protocolos de quimioterapia (n=20)		
CCG 3891	10	50,0
COG	4	20,0

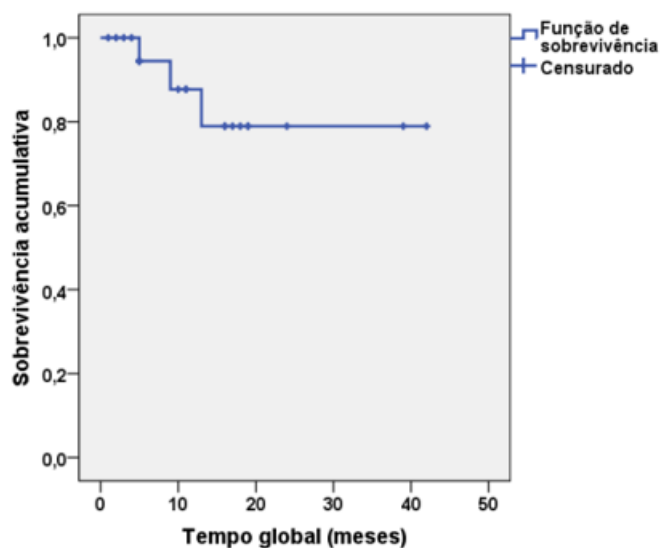
Neuro-X 2010	5	25,0
CAP-ICE	1	5,0
Ann Ha1	1	5,0
Quimioterapia de resgate (n=20)		
Sim	10	50,0
Não	10	50,0
Abordagens cirúrgicas (n=16)		
Ressecção total	11	68,8
Ressecção parcial	5	31,3
Outras modalidades terapêuticas (n=5)		
Transplante autólogo	5	100,0
Imunoterapia	3	60,0
Radioterapia	2	40,0
Seguimento (n=22)		
Em tratamento	14	63,3
Perda de seguimento	4	18,2
Cuidados paliativos	4	18,2
Recidiva	3	13,6
Óbito	3	13,6
Cura	1	4,5
Sítio de recidiva (n=3)		
Adrenal	2	66,7
Medula óssea	1	33,3
Linfonodos	1	33,3

Fonte: elaboração própria.

Houve tendência de associação com N-MYC amplificado, cujo óbito teve mais chance de ocorrer, mas sem significância estatística ($p=0,071$; R.C.24,000). Isso se assemelha ao comportamento mais agressivo e evolução para pior prognóstico que essa alteração genética promoveu em outras pesquisas (Suganuma *et al.*, 2013). Essa distinção é útil para refinar a estratificação de risco e tratamento, e já é consolidada pelas classificações protocoladas atualmente.

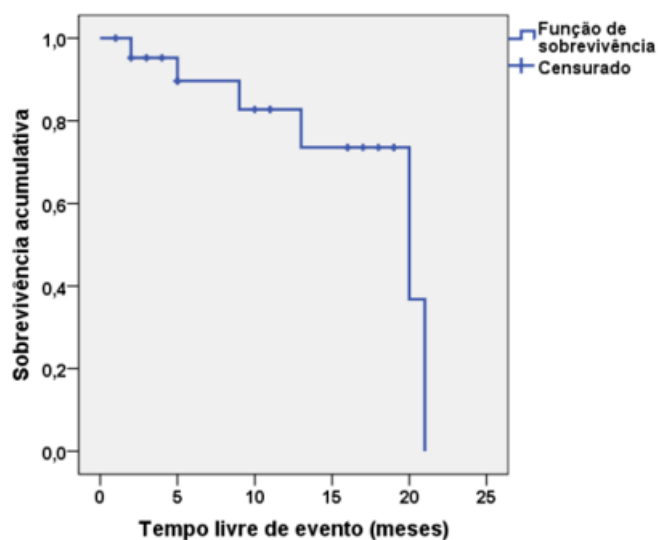
A média estimada para o tempo até o óbito (a partir do diagnóstico) em crianças com NB foi de 35,2 meses durante o follow-up do estudo, cuja curva de sobrevida global (SG) é mostrada na Figura 1. O tempo mínimo foi de 28,2 e o máximo foi de 42,1 meses. A média estimada até o óbito reduziu para 16,2 meses quando na presença de metástase, e para 15,4 meses quando as crianças foram estratificadas em “alto risco”. Para crianças sem metástase e em estadiamento L1 e L2 não houve óbito, por isso a estimativa de sobrevida não foi calculada. Também não foi verificado óbito em crianças com idade superior a 5 anos.

Figura 1 – Curva de probabilidade de Sobrevida Global para pacientes com NB. Sobrevivência cumulativa final = 0,789



Fonte: elaboração própria.

Figura 2 – Curva de probabilidade de Sobrevida livre de evento, de Kaplan-Meier, para pacientes com NB em Hospital Terciário de Brasília, entre 2023 e 2024. Sobrevivência cumulativa final = 0,000



Fonte: elaboração própria.

Já a média estimada para o tempo até o óbito ou recaída (a partir do diagnóstico) em crianças com NB foi de 29,7 meses (mediana = 39 meses) durante o follow-up do estudo, cuja curva de sobrevida livre de eventos (SLE) é mostrada na Figura 2. O tempo mínimo foi de 17,9 e o máximo foi de 60,1 meses.

Conclusão

O presente estudo mostra semelhanças com dados nacionais e internacionais sobre o NB, mas também identifica particularidades que podem ser atribuídas a características regionais. Devido à heterogeneidade biológica e clínica do tumor, somado a uma variedade de fatores prognósticos associados, mais estudos são necessários para melhor entendimento da fisiopatologia e evolução da doença.

As técnicas de imunohistoquímica e de análise genética, gerenciadas no próprio hospital onde os pacientes recebem assistência em saúde, se confirmaram como ferramentas estratégicas que contribuíram para a detecção de marcadores tumorais específicos. Contudo, países em desenvolvimento como o Brasil ainda enfrentam dificuldades na classificação de risco e detecção precoce do NB.

Uma das principais dificuldades encontradas pelos autores envolveu a escassez de informações por vezes encontrada nos prontuários eletrônicos, principalmente com relação à descrição de testes genéticos e exames de imunohistoquímica. Outras perspectivas incluem a ampliação da amostra estudada, que pode permitir análises estatísticas mais robustas.

Em conclusão, o NB segue como um grande desafio na oncologia pediátrica. O acesso limitado à assistência reduz a chance de cura. É fundamental que os profissionais em contato com o público infantil permaneçam em processo de educação permanente constante, de modo que a suspeita diagnóstica possa ser considerada diante de sinais clínicos sugestivos.

Referências

BERTHOLD, F. *et al.* Incidence, survival, and treatment of localized and metastatic neuroblastoma in Germany 1979–2015. **Pediatric Drugs**, v. 19, p. 577-593, 2017. DOI: 10.1007/s40272-017-0251-3.

BRODEUR, G. M. Neuroblastoma: biological insights into a clinical enigma. **Nature Reviews Cancer**, v. 3, p. 203-216, 2003. DOI: 10.1038/nrc1014.

DAVIDOFF, A. M. Neuroblastoma. **Seminars in Pediatric Surgery**, v. 21, n. 1, p. 2-14, 2012. DOI: 10.1053/j.sempedsurg.2011.10.009.

LONDON, Wendy B. *et al.* Long-term survival of high-risk neuroblastoma patients. **Clinical Cancer Research**, Philadelphia, v. 23, n. 1, p. 97-105, 2017. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-20-3909.

LUCENA, J. N. *et al.* Aspectos clínicos, epidemiológicos e sobrevida de crianças com neuroblastoma: 21 anos de experiência do instituto de oncologia pediátrica, São Paulo. **Revista Paulista de Pediatria**, São Paulo, v. 36, n. 3, p. 254-260, 2018. DOI: 10.1590/1984-0462/2018;36;3;00007.

MATTHAY, K. K. *et al.* Neuroblastoma. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 2, p. 16078, 2016. DOI: 10.1038/nrdp.2016.78.

MOROSINI, F. *et al.* Neuroblastoma en niños menores de 18 meses: experiencia de 10 años en Centro Hematooncológico Pediátrico del Centro Hospitalario Pereira Rossell. **Archivos de Pediatría del Uruguay**, v. 87, n. 4, p. 385, 2016. DOI: 10.1016/j.rchipe.2013.05.001.

SHARP, S. E.; GELFAND, M. J.; SHULKIN, B. L. Pediatrics: diagnosis of neuroblastoma. **Seminars in Nuclear Medicine**, v. 41, n. 5, p. 345-353, 2011. DOI: 10.1053/j.semnuclmed.2011.05.001.

SUGANUMA, R. *et al.* Peripheral neuroblastic tumors with genotype-phenotype discordance: a report from the Children's Oncology Group and the International Neuroblastoma Pathology Committee. **Pediatric Blood & Cancer**, v. 60, n. 3, p. 363-370, 2013. DOI: 10.1002/pbc.24238.

VO, K. T. *et al.* Clinical, biologic, and prognostic differences on the basis of primary tumor site in neuroblastoma: a report from the international neuroblastoma risk group project. **Journal of Clinical Oncology**, v. 32, n. 28, p. 3169-3176, 2014. DOI: 10.1200/JCO.2014.56.1621.

WARLET, F. *et al.* Neuroblastoma infantil: características clínicas, tratamento e prognóstico. **Acta Médica**, v. 39, n. 2, p. 259-268, 2018.

YU, Alice L. *et al.* Anti-GD2 antibody with GM-CSF, interleukin-2, and isotretinoin for neuroblastoma. **The New England Journal of Medicine**, Boston, v. 363, n. 14, p. 1324-1334, 2010. DOI: 10.1056/NEJMoa0911123.

PERFIL CLÍNICO DE PACIENTES COM ALTERAÇÃO DE TRECS EM SERVIÇO DE IMUNOLOGIA DE HOSPITAL PEDIÁTRICO TERCIÁRIO DO DISTRITO FEDERAL

Marcelo Henrique Ribeiro Amoroso¹
Karina Mescouto de Melo²

Resumo

A imunodeficiência combinada grave (SCID) compromete severamente a função imunológica, manifestando-se por infecções recorrentes nos primeiros meses de vida. A triagem neonatal com quantificação de TRECs permite diagnóstico precoce e eficaz, essencial para a intervenção precoce e tratamento adequado. **Objetivo:** Descrever as características clínicas e laboratoriais de pacientes em com redução de TRECs atendidos no ambulatório de Imunologia do Hospital da Criança de Brasília José de Alencar (HCB) no período de 2018 a 2024. **Material e métodos:** Trata-se de um estudo de coorte retrospectivo com análise a partir de prontuários dos pacientes. A coleta de dados abrangeu o período de 2018 a 2024, envolvendo pacientes com até 12 meses de idade que apresentaram resultados alterados em pelo menos um exame de TRECs. **Resultados:** Um total de 52 pacientes foram avaliados, dos quais 32 (61,5%) eram do sexo masculino. A maioria dos pacientes foi encaminhada por pareceres externos (PE), 33 (63,5%), enquanto 19 (36,5%) foram identificados por triagem neonatal. A prematuridade esteve presente em 15 (28,8%) dos casos, e 1 (1,9%) das mães fizeram uso de imunossupressores durante a gestação. Doença cardíaca foi observada em 21 (40,4%) dos pacientes, e 6 (11,5%) apresentavam hipotireoidismo. Síndromes genéticas foram identificadas em 20 (38,5%) dos indivíduos, sendo a trissomia do cromossomo 21 a mais frequente, observada em 11 (57,9%) desses pacientes. A avaliação imunológica revelou que 34 (69,4%) dos pacientes apresentavam valores de CD3 abaixo do percentil 10, enquanto 14 (26,9%) apresentavam IgG abaixo desse limite. A imunodeficiência combinada grave (SCID) foi confirmada em 4 (7,7%) dos pacientes. **Conclusão:** O estudo evidenciou alta prevalência de síndromes genéticas, especialmente Trissomia 21, e alterações imunológicas significativas, como linfopenia T e hipogamaglobulinemia- θ , reforçando a importância da triagem neonatal para identificação precoce de imunodeficiências. Além disso, o estudo mostra a importância da quantificação de TRECs e avaliação de pacientes com comorbidades clínicas associadas, como cardiopatia congênita e síndrome genética.

Palavras-chave: Imunodeficiência Combinada Severa (SCID); diagnóstico precoce; triagem neonatal; síndromes de imunodeficiência; criança.

Introdução

Os linfócitos, assim como todas as células sanguíneas, surgem a partir de células-tronco hematopoiéticas. Todos os linfócitos passam por estágios complexos de maturação,

¹ Acadêmico em Medicina do Centro Universitário do Planalto Central Aparecido dos Santos (UNICEPLAC) e Bolsista de iniciação científica do Hospital da Criança de Brasília (HCB).

² Médica pediatria Imunologista e Pesquisadora do Hospital da Criança de Brasília José Alencar (HCB).

durante os quais expressam receptores antigênicos e adquirem as características funcionais e fenotípicas das células maduras (Abbas; Lichtman; Pillai, 2023). A maturação linfocitária ocorre nos órgãos linfoides primários, que incluem a medula óssea, onde os precursores de todos os linfócitos e as células B se desenvolvem; e o timo, onde as células T sofrem processo de maturação. As células T maduras que saem do timo são conhecidas como linfócitos T *naive*. Embora as células B se desenvolvam principalmente na medula óssea, as etapas finais do seu amadurecimento ocorrem nos órgãos linfoides secundários. As células T e B, então, entram em proliferação, resultando em expansão dos clones antígeno-específicos, em um processo chamado expansão clonal, após contato com antígeno (Abbas; Lichtman; Pillai, 2023).

Os T-cell Receptor Excision Circles, ou Círculos de Excisão do Receptor de Células T (TRECs), são pequenos fragmentos circulares de DNA gerados durante o processo de recombinação do gene do receptor de células T (TCR) no timo (Lynch; Sempowski, 2013). Este processo é parte essencial da maturação dos linfócitos T, no qual os genes do TCR são rearranjados para criar receptores específicos de antígenos. Os TRECs são considerados marcadores de novos linfócitos T e, como os TRECs, não se replicam durante a divisão celular e podem ser amplificados por reação em cadeia da polimerase (polymerase chain reaction - PCR). A quantidade de TRECs no sangue periférico reflete diretamente a atividade tímica. Os valores de TRECs são reduzidos ou ausentes em pacientes com imunodeficiência combinada grave (SCID - do inglês *Severe Combined Immunodeficiency*) ou outras linfopenias de células T (Serana *et al.*, 2013; Kanegae *et al.*, 2017).

SCID representa um grupo de doenças caracterizadas pelo número reduzido ou ausência completa de linfócitos T com ou sem comprometimento no número de linfócitos B e de células natural killer (NK) (Dvorak *et al.*, 2013). Os pacientes com SCID parecem saudáveis ao nascimento. Entretanto, nos primeiros meses de vida, iniciam quadros de infecções recorrentes ou graves, principalmente em trato respiratório e gastrointestinal, por patógenos habituais ou infecções oportunistas, além de déficit de crescimento pondero-estatural (Van Der Burg; Gennery, 2011). Nesse sentido, a vacina BCG, que contém uma cepa viva atenuada de *Mycobacterium bovis*, faz parte do calendário nacional de vacinação brasileira e é administrada a todas as crianças durante o período neonatal. Sabe-se que complicações da vacina, especialmente infecção disseminada, ocorrem em pacientes imunodeficientes, particularmente aqueles com SCID, que são assintomáticos quando recebem a vacina (Dvorak *et al.*, 2013). A doença é fatal nos primeiros dois anos de vida se os pacientes afetados não receberem o tratamento adequado para restaurar a função imunitária, como o transplante de células-tronco hematopoiéticas ou, em alguns casos, a terapia gênica (Van Der Spek *et al.*, 2015). Devido à gravidade da doença e à urgência no diagnóstico e no tratamento, em 2005, pesquisadores dos Estados Unidos desenvolveram a triagem neonatal para imunodeficiência, a qual consiste na quantificação dos círculos de excisão de receptores de células T (TRECs), usando a metodologia de reação em cadeia da polimerase em tempo real (qRT-PCR) (Kanegae *et al.*, 2016, 2017). Estudos têm evidenciado que a quantificação de TRECs possui uma sensibilidade de até 100% para identificar a imunodeficiência combinada grave típica (Kanegae *et al.*, 2016). Além disso, a especificidade também é elevada, tendo sido identificada como 99,98% numa coorte de recém-nascidos submetidos a rastreio neonatal para a imunodeficiência combinada grave (Kanegae *et al.*, 2016).

Diante da relevância do diagnóstico precoce e da gravidade da SCID, este trabalho tem como objetivo principal descrever as características clínicas e laboratoriais de pacientes com redução de TRECs atendidos no ambulatório de Imunologia do Hospital da Criança de Brasília José de Alencar (HCB) no período de 2018 a 2024. Para isso, os objetivos secundários serão: descrever as características clínicas (idade, sexo, consanguinidade, história familiar de imunodeficiência, frequência de comorbidades como doença cardíaca, pulmonar, renal, hematológica, síndrome genética); descrever os dados laboratoriais (linfócitos, nível sérico de

imunoglobulinas IgM, IgG e IgA, subpopulação de linfócitos CD3, CD4, CD8 e CD19, TRECs; descrever o diagnóstico dos pacientes com alteração de TRECs; e descrever o tratamento realizado e o desfecho dos pacientes do estudo.

Metodologia

Este estudo caracteriza-se como um estudo de coorte retrospectivo com análise a partir de prontuários dos pacientes. A coleta de dados abrangeu o período de janeiro de 2018 a dezembro de 2024, envolvendo pacientes com até 12 meses de idade que apresentaram resultados alterados nos exames de TRECs. Os dados foram coletados a partir dos prontuários médicos e inseridos na plataforma REDCap para gerenciamento e organização dos dados. As variáveis coletadas incluem: idade na coleta, sexo, valor de TRECs, presença de cardiopatia, uso materno de imunossuppressores durante a gestação, presença de hipotireoidismo, síndrome genética, prematuridade, contagem absoluta de linfócitos, contagem de células CD3, contagem de células CD4, contagem de células CD8, contagem de células B CD19, níveis de IgG, uso de imunoglobulina, uso de antibióticos e uso de antifúngicos.

Após a inserção dos dados na plataforma REDCap, estes foram exportados para o Microsoft Excel para tabulação e análise. Considerou-se valores de TRECs alterados se abaixo dos valores de referência:

I) Triagem neonatal de Imunodeficiência Primária: TREC <248 cópias/ 105 células;

II) Pacientes atendidos no HCB e que realizaram exame TRECs na própria instituição: TREC <35 cópias/ μ L.

No estudo foram incluídos todos os pacientes com valores abaixo da referência, independente da origem do encaminhamento. Devido às limitações do equipamento laboratorial utilizado, os resultados das dosagens são registrados como 500 quando o valor real ultrapassa essa marca. Portanto, qualquer menção a uma dosagem de 500 deve ser interpretada como um valor superior a 500 cópias/ μ L.

Este estudo foi conduzido em conformidade com os princípios éticos da pesquisa em seres humanos, garantindo a confidencialidade e anonimato dos pacientes. O projeto da pesquisa foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição. Este estudo está vinculado à linha de pesquisa Imunodeficiência primária e secundária: "Características clínico-laboratoriais de pacientes atendidos em ambulatório de Imunologia de hospital pediátrico terciário do Distrito Federal", e teve aprovação na plataforma Brasil, CAAE: 79586824.0.0000.0144

O estudo foi dividido na análise descritiva e de associação. Os dados foram compilados em planilha de dados do software Microsoft Excel (2016) e analisados por meio do programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 23 (IBM Corp., 2015), com testes bilaterais e nível de significância de 5%.

As variáveis qualitativas foram apresentadas por meio de frequência (n) e porcentagem (%), as medidas descritivas utilizadas para as variáveis quantitativas foram: média, mediana, desvio padrão, mínimo, máximo e amplitude interquartil.

Os pacientes com redução de TRECs foram comparados em relação ao grupo de origem: pacientes provenientes da triagem e de pareceres. Esses dois grupos foram associados aos dados clínicos por meio do teste Qui-quadrado de Pearson calculado na forma exata quando necessário (ao menos uma casela apresentava frequência esperada menor que 5). Em tabelas 2 x 2 sem células vazias foi possível calcular a razão de chances (R.C.) com o respectivo intervalo de confiança a 95% (I.C.95%).

Para as variáveis quantitativas foi utilizado o teste não paramétrico U de Mann-Whitney, tendo em vista a ausência da presunção de normalidade avaliada pelo teste Shapiro-Wilk.

Resultados e discussão

A amostra foi composta por 52 pacientes, dos quais a maioria era do sexo masculino, 32 (61,5%) (Tabela 1). Em relação à prematuridade, 15 pacientes (28,8%) nasceram prematuros. Apenas um paciente (1,9%) teve exposição a imunossupressores durante a gestação.

Doença cardíaca esteve presente em 21 pacientes (40,4%), enquanto hipotireoidismo foi identificado em 6 (11,5%). Síndromes genéticas foram diagnosticadas em 20 pacientes (38,5%). Quanto ao perfil imunológico, 34 pacientes (69,4%) apresentaram CD3 abaixo do percentil 10, enquanto 14 (26,9%) tinham IgG abaixo do percentil 10.

O uso contínuo de antibióticos foi observado em 25 pacientes (48,1%), sendo a combinação Sulfametoxazol-Trimetoprima o esquema mais frequente (91,7%). O uso de antifúngicos ocorreu em 4 pacientes (7,7%). Além disso, 24 pacientes (46,2%) apresentaram outras doenças associadas.

Tabela 1 – Características clínicas de pacientes atendidos em serviço de Imunologia de hospital pediátrico terciário com valores de TRECs alterados (n=52) no período de 2018 a 2024 Brasília-DF

Característica	N (%)
origem do paciente	
- Parecer	33 (63,5%)
- Triagem neonatal	19 (36,5%)
Sexo Masculino	32 (61,5%)
Idade (meses)*	3,2 (0,5 - 12,0)
Prematuridade	15 (28,8%)
Imunossupressor na gestação	1 (1,9%)
Doença cardíaca	21 (40,4%)
Hipotireoidismo	6 (11,5%)
Síndrome genética	20 (38,5%)
- Trissomia do cromossomo 21	11 (55,0%)
- Síndrome de microdeleção 22Q11.2	6 (30%)
- IPEX	1 (5,0%)
- Síndrome de Haploinsuficiência de Med 13	1 (5,0%)
- Hiperplasia Adrenal Congênita	1 (5,0%)
Uso de imunoglobulina	21 (40,4%)
- IgSC	11 (52,4%)
- IgIV	10 (47,6%)
Hipótese diagnóstica	

- Imunodeficiência afastada	2 (4,1%)
- Imunodeficiência primária	39 (79,6%)
- Imunodeficiência secundária	8 (16,3%)
- Perda de seguimento	3 (5,7%)
SCID	4 (7,7%)
*mediana (mínimo-máximo)	

Fonte: elaboração própria;

IPEX: síndrome de Imunodesregulação, Poliendocrinopatia e

Enteropatia ligada ao Cromossomo X, IgSC: Imunoglobulina,

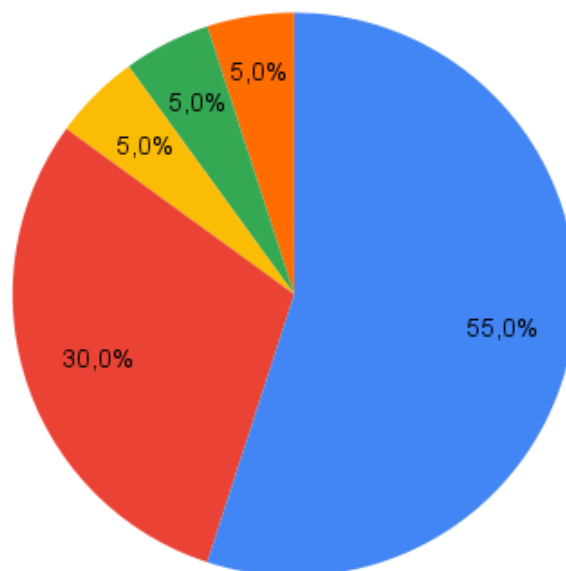
IGIV: Subcutânea Imunoglobulina Intravenosa.

A principal hipótese diagnóstica foi de imunodeficiência primária, presente em 39 pacientes (79,6%), enquanto imunodeficiência secundária foi considerada em 8 (16,3%). Apenas 4 pacientes (7,7%) foram diagnosticados com SCID. Entre aqueles com síndromes genéticas, a Trissomia do cromossomo 21 foi a mais prevalente, identificada em 11 pacientes (57,9%).

Figura 1 – Distribuição de Síndromes Genéticas entre pacientes atendidos em serviço de Imunologia do HCB com valores de TRECs alterados (n=52) no período de 2018 a 2024 Brasília-DF

Síndromes Genéticas

- Trissomia do cromossomo 21
- Síndrome de microdeleção 22Q11.2
- IPEX
- Síndrome de Haploinsuficiência de Med 13
- Hiperplasia Adrenal Congênita



Fonte: elaboração própria.

A idade dos pacientes variou de 0,5 a 12,5 meses, com mediana de 3,2 meses (DP = 3,6). A contagem total de linfócitos variou entre 610 e 9.600 células/mm³, com mediana de 3.500 células/mm³ (DP = 2.067,8).

Na análise das subpopulações linfocitárias, a contagem de células T CD3+ apresentou uma mediana de 1.657 células/mm³ (DP = 1.355,4), com valores variando entre 0 e 6.384 células/mm³. A contagem de células T CD4+ variou de 0 a 2.249 células/mm³, com mediana de

994 células/mm³ (DP = 659,1). Já a contagem de células T CD8+ teve mediana de 409 células/mm³ (DP = 733,4), variando entre 0 e 3.880,1 células/mm³. A contagem de células B CD19+ variou entre 2 e 3.147 células/mm³, com mediana de 783 células/mm³ (DP = 632,4)

Tabela 2 – Análise descritiva dos dados quantitativos de pacientes com redução de TRECs atendidos no ambulatório de Imunologia do HCB no período de 2018 a 2024 (n=52)

	Mediana	Mínimo	Máximo
Idade (meses)	3,2	0,5	12,5
Linfócitos/mm³	3.500,00	610	9.600,00
CD3/mm³	1.657,00	0	6.384,00
CD4 (células/mm³)	994	0	2.249,00
CD8 (células/mm³)	409	0	3.880,10
CD19 (células/mm³)	783	2	3.147,00
IgG (mg/dL)	567,5	36	1.127,00

Fonte: elaboração própria.

Tabela 3 – Análise de associação entre o grupo de origem e os dados clínicos de pacientes com redução de TRECs atendidos no ambulatório de Imunologia do HCB no período de 2018 a 2024

Variável	Categoria		Total (n=52)	Triagem (n=19)	Pareceres (n=33)	p-valor*	R.C.	I.C. 95%
Doença cardíaca	Não	n	31	15	16	0,042	3,984	1,089 - 14,578
		%	59,60%	78,90%	48,50%			
	Sim	n	21	4	17			
		%	40,40%	21,10%	51,50%			
Síndrome genética	Não	n	32	16	16	0,017	5,667	1,384 - 23,198
		%	61,50%	84,20%	48,50%			
	Sim	n	20	3	17			
		%	38,50%	15,80%	51,50%			
SCID	Não	n	48	18	30	1	1,8	0,174 - 18,638
		%	92,30%	94,70%	90,90%			
	Sim	n	4	1	3			
		%	7,70%	5,30%	9,10%			

Fonte: elaboração própria;

R.C: razão de chances; I.C 95%: intervalo de confiança a 95%; * Teste Qui-quadrado de Pearson.

A análise estatística do grupo amostral revelou associações significativas entre a presença de doença cardíaca congênita e de síndrome genética com a necessidade de parecer especializado em imunologia.

Pacientes com doença cardíaca congênita apresentaram maior prevalência no grupo de PE (51,5%) em comparação ao grupo de triagem (21,1%), com diferença estatisticamente significativa ($p = 0,042$). O risco relativo (R.R.) para indivíduos provenientes do parecer especializado foi de 3,984 (IC 95%: 1,089 - 14,578), indicando que cardiopatas apresentam aproximadamente quatro vezes mais chances de serem encaminhados para avaliação imunológica a partir da detecção de TRECs alterados. Esse achado reforça que cardiopatias congênitas são condições clínicas frequentemente associadas a algum grau de comprometimento imunológico, justificando a necessidade de um acompanhamento multidisciplinar.

De forma semelhante, a presença de síndrome genética também foi significativamente mais frequente entre os pacientes que necessitaram de parecer especializado (51,5%) do que no grupo de triagem (15,8%), com $p = 0,017$. O risco relativo para essa variável foi de 5,667 (IC 95%: 1,384 - 23,198), sugerindo que indivíduos com síndromes genéticas possuem uma probabilidade significativamente maior de necessitar de avaliação imunológica adicional após um resultado alterado de TRECs. Essa associação pode ser explicada pela alta prevalência de imunodeficiências primárias em pacientes com alterações cromossômicas, especialmente aquelas que envolvem microdeleções e trissomias. Além disso, a quantificação de TRECs, apesar de ser amplamente utilizada na triagem neonatal, pode ter um papel relevante na identificação de crianças com comprometimento imunológico fora do período neonatal, particularmente em cardiopatas e pacientes com síndromes genéticas.

Como esperado, por se tratar de pacientes hospitalizados, os pacientes que necessitam de PE da Imunologia, apresentaram idade significativamente maior em comparação ao grupo Triagem (mediana de 4,8 meses vs. 1,2 meses; $p < 0,001$). Observou-se também uma diminuição significativa na contagem de células B (CD19) no grupo Pareceres (mediana de 469,5 vs. 1060,0; $p = 0,008$), possivelmente relacionada a maior idade dos pacientes. Apesar de uma tendência de redução nas contagens de linfócitos totais ($p = 0,069$), células T totais (CD3, $p = 0,098$), células T auxiliares (CD4, $p = 0,056$) e células T citotóxicas (CD8, $p = 0,139$) no grupo que foi encaminhado para avaliação do sistema imune não atingiram significância estatística.

Quanto a Imunodeficiência Combinada Grave (SCID), o total de 52 pacientes, apenas 4 (7,7%), tiveram diagnóstico de SCID, sendo 2 casos da triagem neonatal e 2 atendidos via parecer externo. Todos os pacientes foram transplantados, sendo três deles na própria instituição. Três estão vivos e um deles evoluiu com desfecho fatal por complicação do transplante de medula óssea.

A SCID é uma condição grave que afeta a imunidade adaptativa, sendo caracterizada por linfopenia profunda e falha na produção de células T e, em alguns casos, também de células B e NK. No presente estudo, os pacientes diagnosticados com SCID, como observado em outros estudos de avaliação de TRECs apresentaram linfopenia T profunda e foram encaminhados precocemente para transplante, reforçando a importância da triagem neonatal como ferramenta eficaz para a detecção precoce e a redução da morbimortalidade associada à doença. (Currier; Puck, 2021).

Observou-se ainda que pacientes que estavam internados e atendidos via PE apresentaram um risco 3,98 vezes maior de terem doença cardíaca em comparação aos provenientes da triagem (40,4% vs. 21,1%; $p = 0,042$; IC 95%: 1,089 - 14,578). Isto se justifica,

pois os pacientes encaminhados por pareceres apresentam um perfil clínico mais complexo, (40,4% vs. 21,1%, $p = 0,042$), indicando, que cardiopatia congênita é uma alteração que pode estar associada a disfunção de linfócitos T.

Recém-nascidos com defeitos cardíacos congênitos, especialmente aqueles associados à síndrome de deleção 22q11.2, apresentam níveis significativamente mais baixos de TRECs. Isso sugere uma correlação entre defeitos cardíacos e linfopenia de células T, possivelmente devido ao desenvolvimento embrionário compartilhado entre o timo e o coração (Ka *et al.*, 2015). Em particular, pacientes com síndrome de deleção 22q11.2 e defeitos cardíacos conotrunciais apresentam níveis de TREC mais baixos em comparação com aqueles com defeitos cardíacos não sindrômicos (Gul *et al.*, 2020). As doenças conotrunciais são um grupo de defeitos congênitos do coração que resultam de anomalias na formação e septação dos tratos de saída do coração e dos grandes vasos. Esses defeitos incluem a tetralogia de Fallot, transposição das grandes artérias, ventrículo direito de dupla saída, tronco arterioso e arco aórtico interrompido (Puchalski *et al.*, 2019).

Além disso, a baixa contagem de TRECs em pacientes com doença cardíaca congênita foi associada a complicações clínicas, como a necessidade de intervenções cirúrgicas precoces e hospitalizações por infecções (Davey *et al.*, 2019). Isso pode indicar que a linfopenia de células T contribui para a vulnerabilidade imunológica nesses pacientes.

Sobre as síndromes genéticas, pacientes encaminhados por pareceres apresentaram um risco 3,52 vezes maior de terem síndromes genéticas em comparação aos provenientes da triagem (38,5% vs. 15,8%; $p = 0,017$; IC 95%: 1,258 - 9,845). Essa diferença entre os grupos sugere que os pacientes encaminhados por pareceres podem apresentar casos mais complexos, o que explicaria a maior frequência de síndromes genéticas nesse grupo.

Baixos níveis de TRECs estão associados a diferentes formas de imunodeficiências primárias e síndromes genéticas. Por exemplo, pacientes com SCID, síndrome de Omenn, e algumas deficiências específicas como ZAP70 e PNP apresentam baixos níveis de TRECs. Além disso, a síndrome da deleção 22q11.2, que pode incluir características de imunodeficiência, também está associada a baixos níveis de TRECs em recém-nascidos (Ka *et al.*, 2015).

Crianças com síndrome de Down apresentam contagens absolutas reduzidas de linfócitos T, incluindo subpopulações de linfócitos T auxiliares e citotóxicos, em comparação a controles saudáveis (Eissa *et al.*, 2023). A partir disso, pode-se afirmar que a contagem de TRECs baixo pode ajudar a identificar possíveis imunodeficiências associadas à síndrome genéticas.

Outras síndromes genéticas que podem apresentar baixos níveis de TRECs incluem a síndrome de Jacobsen, a síndrome CHARGE, e deficiências como a de CD25 e DOCK8. Essas condições podem ser identificadas durante a triagem neonatal para SCID devido à presença de linfopenia de células T (Dasouki *et al.*, 2020).

Assim, como em relação às características clínicas, a redução de linfócitos B, identificadas nos pacientes encaminhados via PE, sugere um comprometimento da população de linfócitos B, que pode ser decorrente da própria disfunção imune ou condições subjacentes, tais como as síndromes genéticas, e suas implicações clínicas. Síndromes genéticas, como a imunodeficiência comum variável e a síndrome de DiGeorge, estão entre as causas de linfopenia B, levando a um estado de imunodeficiência que aumenta a susceptibilidade a infecções recorrentes e pode predispor a complicações inflamatórias sistêmicas (Biggs; Gilchrist; May, 2023).

Paralelamente, a avaliação dos níveis de TRECs em pacientes submetidos ao transplante, demonstra um potencial benefício como marcador prognóstico da recuperação imunológica precoce. Com isso, o monitoramento permite acompanhar a reconstituição do sistema imune após o procedimento, o que pode ser fundamental para prever tolerância ao

enxerto e identificar pacientes em maior risco de complicações. A quantificação de TRECs pode contribuir para o acompanhamento individualizado e para a tomada de decisões clínicas no período pós-transplante, embora estudos multicêntricos com maior número de pacientes ainda sejam necessários para consolidar seu uso na prática clínica (Elghazawy *et al.*, 2022).

Além disso, os linfócitos B podem atuar na ativação de fibroblastos e no desenvolvimento de fibrose miocárdica, mecanismos implicados na progressão da cardiomiopatia dilatada (Swirski; Nahrendorf, 2018). Nesse sentido, a redução dos níveis de CD19 observada no presente estudo pode refletir não apenas um comprometimento imunológico, mas também um potencial impacto na regulação inflamatória sistêmica e no risco de alterações cardiovasculares, sugerindo a necessidade de um acompanhamento mais detalhado desses pacientes.

Em relação ao desfecho, 43 pacientes (82,7%) permanecem em acompanhamento, enquanto 4 pacientes (7,7%) obtiveram alta do serviço de imunologia e 5 (9,6%) evoluíram para óbito. O uso de imunoglobulina foi indicado para 21 pacientes (40,4%), sendo Imunoglobulina Subcutânea (IGSC) administrada em 11 (52,4%) e Imunoglobulina Intravenosa (IGIV) em 10 (47,6%).

Conclusões

Este estudo descreve as características clínicas, imunológicas e os desfechos de pacientes com valores reduzidos de TRECs atendidos em um serviço de Imunologia de um hospital pediátrico terciário. A maioria dos pacientes é encaminhada por pareceres médicos e a principal hipótese diagnóstica é imunodeficiência primária. Observa-se alta prevalência de síndromes genéticas, sendo a Trissomia do Cromossomo 21 a mais frequente. Além disso, um percentual significativo de pacientes apresenta alterações imunológicas importantes, como linfopenia T e níveis reduzidos de IgG, com impacto direto na necessidade de antibioticoterapia contínua e reposição de imunoglobulina.

A comparação entre pacientes diagnosticados por triagem neonatal e aqueles encaminhados por pareceres médicos revela diferenças estatisticamente significativas. A presença de síndromes genéticas é maior no grupo diagnosticado por pareceres (38,5% vs. 15,8%; $p = 0,017$; IC 95%: 1,258 - 9,845), assim como a ocorrência de cardiopatias congênitas (40,4% vs. 21,1%, $p = 0,042$). Esses achados reforçam a importância da quantificação de TRECs em pacientes que apresentam um quadro clínico com essas condições presentes, permitindo intervenções oportunas e melhor prognóstico clínico.

Os achados deste estudo contribuem para a ampliação do conhecimento sobre o perfil clínico e laboratorial de pacientes com alterações nos TRECs no serviço de Imunologia do HCB, ressaltando a relevância deste exame para a avaliação da criança com suspeita de alguma disfunção do sistema imunológico, em especial no primeiro ano de vida.

Por fim, apesar de a quantificação de TREC ter sido desenvolvida para identificação de casos SCID, este estudo corrobora trabalhos prévios, em que a maioria de crianças com alteração no exame enquadra-se nos casos de linfopenia T não SCID, que podem ter outras complicações clínicas associadas, tais como síndrome genética e cardiopatia congênita.

Referências

ABBAS, Abul K.; LICHTMAN, Andrew H.; PILLAI, Shiv. **Imunologia celular e molecular**. Rio de Janeiro: Grupo GEN, 2023. *E-book*. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788595158924/>. Acesso em: 29 jul. 2024.

BIGGS, S. E.; GILCHRIST, B.; MAY, K. R. Chromosome 22q11.2 Deletion (DiGeorge

Syndrome): immunologic features, diagnosis, and management. **Current Allergy and Asthma Reports**, v. 23, n. 4, p. 213-222, 2023. DOI: 10.1007/s11882-023-01071-4.

CURRIER, R.; PUCK, J. M. SCID newborn screening: what we've learned. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 147, n. 2, p. 417-426, 2021. DOI: 10.1016/j.jaci.2020.10.020.

DASOUKI, M. *et al.* TREC and KREC profiling as a representative of thymus and bone marrow output in patients with various inborn errors of immunity. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 202, n. 1, p. 60-71, 2020. DOI: 10.1111/cei.13484.

DAVEY, B. T. *et al.* T-Cell receptor excision circles in newborns with congenital heart disease. **Journal of Pediatrics**, v. 213, p. 96-102, out. 2019. DOI: 10.1016/j.jpeds.2019.05.061.

DVORAK, C. C. *et al.* The natural history of children with severe combined immunodeficiency: baseline features of the first fifty patients of the primary immune deficiency treatment consortium prospective study 6901. **Journal of Clinical Immunology**, v. 33, n. 7, p. 1156-1164, 2013. DOI: 10.1007/s10875-013-9917-y.

EISSA, E. *et al.* Importance of TREC and KREC as molecular markers for immunological evaluation of down syndrome children. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 15445, 2023. DOI: 10.1038/s41598-023-42370-0.

ELGHAZAWY, M. *et al.* T cell receptor excision circles (TRECs) and kappa-deleting recombination excision circles (KRECs) as markers of early T cell and B cell immune recovery after haematopoietic stem cell transplantation (HSCT). **Egyptian Journal of Immunology**, Cairo, v. 29, n. 4, p. 46-57, out. 2022. PMID: 36197153.

GUL, K. A. *et al.* T-cell receptor excision circles in newborns with heart defects. **Pediatric Cardiology**, v. 41, n. 4, p. 809-815, 2020. DOI: 10.1007/s00246-020-02317-y.

KA, G. *et al.* Neonatal levels of T-cell Receptor Excision Circles (TREC) in patients with 22q11.2 deletion syndrome and later disease features. **Journal of Clinical Immunology**, v. 35, n. 4, p. 408-415, 2015. DOI: 10.1007/s10875-015-0153-5.

KANEGAE, M. P. P. *et al.* Neonatal screening for severe combined immunodeficiency in Brazil. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 92, n. 4, p. 374-380, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2015.10.006>.

KANEGAE, M. P. P. *et al.* Triagem neonatal de imunodeficiências graves combinadas por meio de TRECS e KRECS: segundo estudo piloto no Brasil. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 35, n. 1, p. 25-32, 2017. DOI: 10.1590/1984-0462/;2017;35;1;00013.

LIN, J. *et al.* B lymphocytes subpopulations are associated with cardiac remodeling in elderly patients with advanced chronic kidney disease. **Experimental Gerontology**, v. 163, p. 111805, 2022. DOI: 10.1016/j.exger.2022.111805.

LYNCH, H. E.; SEMPOWSKI, G. D. Molecular measurement of T cell receptor excision circles. **Methods in Molecular Biology**, v. 979, p. 147-159, 2013. DOI: 10.1007/978-1-

62703-290-2_12.

PUCHALSKI, M. D. *et al.* Guidelines for performing a comprehensive transesophageal echocardiographic: examination in children and all patients with congenital heart disease: recommendations from the American Society of Echocardiography. **Journal of the American Society of Echocardiography**, v. 32, n. 2, p. 173-215, 2019. DOI: 10.1016/j.echo.2018.08.016.

SERANA, F. *et al.* Use of V(D)J recombination excision circles to identify T- and B-cell defects and to monitor the treatment in primary and acquired immunodeficiencies. **Journal of Translational Medicine**, v. 11, p. 119, 9 maio 2013. DOI: 10.1186/1479-5876-11-119.

SWIRSKI, F. K.; NAHRENDORF, M. Cardioimmunology: the immune system in cardiac homeostasis and disease. **Nature Reviews. Immunology**, v. 18, n. 12, p. 733-744, 2018. DOI: 10.1038/s41577-018-0065-8.

VAN DER BURG, M.; GENNERY, A. R. Educational paper: the expanding clinical and immunological spectrum of severe combined immunodeficiency. **European Journal of Pediatrics**, v. 170, n. 5, p. 561-571, 2011. DOI: 10.1007/s00431-011-1452-3.

VAN DER SPEK, J. *et al.* TREC based newborn screening for severe combined immunodeficiency disease: a systematic review. **Journal of Clinical Immunology**, v. 35, n. 4, p. 416-430, 2015. DOI: 10.1007/s10875-015-0152-6.

ESTUDO DO MICROAMBIENTE TUMORAL E INVESTIGAÇÃO DE MARCADORES MOLECULARES NA RECAÍDA EM LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA DE CÉLULAS B COM *ETV6/RUNX1*

Marina Mesquita Simões¹
Bruna Cândido Guido²

Resumo

A Leucemia Linfóide Aguda de células precursoras B (LLA-B) com fusão *ETV6/RUNX1* ocorre em 20-25% dos casos e é geralmente associada a um bom prognóstico. No entanto, recaídas tardias ainda representam desafios clínicos. Este estudo analisou o perfil molecular e o microambiente tumoral de 69 pacientes pediátricos do Hospital da Criança de Brasília, diagnosticados com LLA-B e fusão *ETV6/RUNX1* entre 2012 e 2022. Foram coletados dados clínicos e epidemiológicos pelo *software* REDCap, e amostras de medula óssea ou sangue periférico foram analisadas por imunofenotipagem e sequenciamento de nova geração. Embora a maioria tenha respondido bem ao tratamento inicial, 9 pacientes apresentaram recaída, dos quais 2 vieram a óbito, resultando em uma taxa de sobrevivência livre de eventos de 73%. O estudo identificou que a hiperdiploidia associada à fusão *ETV6/RUNX1* pode modificar o perfil prognóstico clássico. Além disso, o aumento de células estromais no D33 foi associado a maior risco de recaída e óbito. Variantes em *IKZF1*, *BCL2* e *NUP98* foram identificadas em pacientes que recidivaram, sugerindo impacto da evolução clonal. Fusões como *RUNX1-CTCI* e a superexpressão de *SET* também podem estar relacionadas a um pior prognóstico. Esses achados reforçam a importância da caracterização molecular e do microambiente tumoral para otimizar a estratificação de risco e aprimorar estratégias terapêuticas.

Palavras-chave: leucemia linfoblástica aguda de células B; pediatria microambiente tumoral; sequenciamento de nova geração.

Introdução

A Leucemia Linfóide Aguda (LLA) é um grupo heterogêneo de doenças e é o tipo de câncer mais comum em crianças e jovens adultos. Embora apresente altas taxas de cura, continua a ser a principal causa de morte por câncer nesse grupo etário. A classificação da LLA depende da célula precursora envolvida, incluindo LLA de células precursoras B (o subtipo mais comum), LLA de células precursoras T e, de forma mais rara, a LLA bifenotípica, que exibe características tanto de células T quanto B, ou antígenos de diferenciação mieloide (Kato; Manabe, 2018; Inaba; Mullighan, 2020; Iacobucci; Mullighan 2017).

Um subtipo comum da Leucemia Linfóide Aguda de células precursoras B (LLA-B) está associado à fusão dos genes *ETV6/RUNX1*, resultante da translocação *t(12;21) (p13;q22)*. Pacientes com este subtipo costumam apresentar uma resposta

¹ Acadêmica de Medicina do Centro Universitário de Brasília (CEUB) e Bolsista de iniciação científica do Hospital da Criança de Brasília (HCB).

² Pesquisador/Analista em Biologia Molecular do Hospital da Criança de Brasília (HCB).

molecular eficaz ao tratamento, com uma taxa de sobrevida livre de doença em cinco anos variando de 80% a 97%, superior a outros subtipos. Logo, esse subtipo geralmente apresenta um prognóstico favorável e é encontrado em cerca de 25% dos casos de LLA infantil entre 2 e 10 anos (Sun; Chang; Zhu, 2017). Contudo, a classificação dessa fusão como um indicador prognóstico positivo tem sido questionada devido a relatos de recaídas, predominantemente tardias, em até 20% dos casos, tornando a relevância prognóstica da fusão *ETV6/RUNX1* um tema de debate (Montaño *et al.*, 2020; Qiu *et al.*, 2021).

A persistência de clones pré-leucêmicos após o tratamento pode contribuir para recidivas tardias em casos de *ETV6/RUNX1*. Embora a quimioterapia elimine o clone dominante, esses clones residuais podem sobreviver. Posteriormente, sob estímulos proliferativos, podem adquirir novas mutações e gerar recaídas (Ampatzidou *et al.*, 2018). Outro fator relevante é a compreensão dos ensaios utilizados para a estratificação de risco, como por exemplo as análises de doença residual mínima (DRM), uma vez que auxiliam na tomada de decisão para estabelecer um protocolo de tratamento e desempenham um papel crucial na investigação dos casos de recaída (Stergaard *et al.*, 2023).

Assim, o sequenciamento de nova geração emerge como uma promissora ferramenta para a gestão clínica, uma vez que identifica amplas alterações genéticas, incluindo mutações de nucleotídeo único. Sua implementação pode agilizar e simplificar o diagnóstico molecular, contribuindo para a estratificação e gestão eficiente dos pacientes (Montaño *et al.*, 2020; Hoffmann *et al.*, 2018). Além das características genético-moleculares das células tumorais, o microambiente também desempenha um papel crucial na resistência a terapias direcionadas. A interação entre essas células estromais e as células tumorais pode promover a tumorigênese, uma vez que influenciam as propriedades biológicas e comportamentais das células cancerígenas. Pesquisas sobre essas interações têm identificado potenciais alvos terapêuticos, como citocinas, vias de sinalização e proteínas relacionadas à hipóxia. Entender os sinais do microambiente tumoral abre novas possibilidades para estratégias terapêuticas que visam tanto o tumor quanto seu ambiente (Dander *et al.*, 2021, Simioni *et al.*, 2021).

No Hospital da Criança de Brasília (HCB), referência nacional no tratamento do câncer pediátrico, a Leucemia Linfóide Aguda representa um dos principais desafios clínicos. O HCB realiza o diagnóstico, tratamento e acompanhamento de crianças com LLA, sendo um centro de excelência no monitoramento da DRM. A necessidade de compreender melhor os mecanismos de recaída em pacientes com LLA, especialmente aqueles com fusão *ETV6/RUNX1*, é fundamental para aprimorar as estratégias terapêuticas adotadas no hospital.

Portanto, melhorar os critérios para uma estratificação de risco mais precisa nos protocolos terapêuticos continua sendo um desafio importante. O objetivo do estudo consiste no uso da técnica de sequenciamento de nova geração juntamente com as análises de microambiente tumoral como uma estratégia de revelar novos marcadores moleculares, as alterações genéticas e de analisar os perfis celulares no microambiente do tumor, a fim de compreender as recidivas e, assim, alcançar o sucesso terapêutico. Logo, o estudo desenvolvido também buscou contribuir para a otimização da estratificação de risco e para o avanço da medicina de precisão no HCB, possibilitando abordagens terapêuticas mais personalizadas, como o uso de terapias alvo combinadas para otimizar a sobrevivência e a qualidade de vida dos pacientes.

Objetivos

Objetivo Geral:

Analisar o perfil molecular e o microambiente tumoral de pacientes pediátricos do Hospital da Criança de Brasília, diagnosticados entre 2012 e 2022, com leucemia linfoblástica aguda do tipo B (LLA-B) que apresentam fusões gênicas *ETV6/RUNX1*, a fim de identificar fatores associados à remissão completa ou à ocorrência de recaídas.

Objetivos Específicos

- Identificar as principais alterações moleculares de amostras de pacientes com LLA-B que apresentam fusões *ETV6/RUNX1* por meio de sequenciamento genético;
- Comparar as características moleculares entre pacientes que atingiram remissão completa e aqueles que apresentaram recaídas, buscando identificar co-ocorrências de alterações genéticas específicas;
- Correlacionar as características do microambiente tumoral em pacientes com LLA-B com fusões *ETV6/RUNX1* com os desfechos clínicos observados

Metodologia

Desenho do estudo

Trata-se de um estudo transversal, descritivo e retrospectivo com pacientes pediátricos (0–18 anos) diagnosticados com LLA-B com *ETV6/RUNX1*, tratados conforme a estratificação no Hospital da Criança de Brasília (HCB). Foram incluídas amostras diagnosticadas entre 2012 e 2022 pelo Laboratório de Pesquisa Translacional (LPT), incluindo casos de recaída durante o projeto. Todos os experimentos foram realizados no LPT-HCB.

Aspectos éticos e critérios de seleção amostral

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital da Criança de Brasília (67108523.9.0000.0144) e seguiu as diretrizes do Conselho Nacional de Saúde. A coleta do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foi realizada previamente à inclusão dos pacientes no estudo, sendo obtido junto aos responsáveis legais após esclarecimentos e todos os dados foram tratados com confidencialidade, respeitando os princípios éticos de autonomia, beneficência e sigilo.

Critérios de Inclusão: Pacientes entre 0 e 18 anos com diagnóstico de LLA-B apresentando *ETV6/RUNX1*, submetidos ao protocolo terapêutico adequado à sua estratificação.

Critérios de exclusão: Pacientes com recaídas/refratários por motivos de não adesão ao tratamento.

Coleta de dados e obtenção de amostras

Os dados foram coletados a partir de prontuários eletrônicos e incluíram informações demográficas, clínicas, citogenéticas e de resposta ao tratamento até o dia +78. As informações foram armazenadas no REDCap, com acesso restrito e em conformidade com as normas éticas de sigilo. Para o presente estudo foram utilizadas amostras de aspirado de medula óssea e/ou sangue periférico no momento do diagnóstico e nas recaídas. A obtenção das amostras foi realizada pela equipe do HCB e, posteriormente, permaneceram armazenadas no Biorrepositório do hospital até a

realização das análises. Em seguida, amostras de pacientes diagnosticados com LLA-B com presença de *ETV6/RUNX1* seguiram para a análise do microambiente tumoral, simultaneamente ao monitoramento da DRM durante a terapia e incluídas para testagem por NGS.

Avaliação do microambiente tumoral das LLA-B por citometria de fluxo

Após o diagnóstico de Leucemia Linfóide Aguda de células B (LLA-B), amostras de medula óssea foram avaliadas em momentos específicos (D+15, D+33 e D+78) para detecção de Doença Residual Mínima (DRM). A partir dos dados obtidos por meio do painel utilizado para a detecção de DRM, implementado em 2020, foi feita a análise da distribuição relativa das células estromais (CE) em relação à porcentagem de todas as células nucleadas da medula óssea e ao compartimento de estromais. Dentro do compartimento das células estromais, analisou-se a porcentagem de células endoteliais, identificadas como CD81⁺, CD73⁺, CD45⁻, CD19⁻, CD38⁻, CD34⁺ e CD10⁻, e das células mesenquimais, identificadas como CD81⁺, CD73⁺, CD45, CD19⁻, CD38⁻, CD34⁻ e CD10⁺. O software *Infinicyt* (Cytognos, versão 2.0) foi utilizado para a análise dos dados obtidos.

Sequenciamento genético de nova geração

As amostras de medula óssea ou sangue periférico dos pacientes foram analisadas por sequenciamento de nova geração (NGS) utilizando um painel genético, abrangendo 625 genes. A biblioteca genômica foi gerada por captura híbrida a partir de RNA total. O fluxo do NGS incluiu preparo da biblioteca, controle de qualidade, sequenciamento e análise de dados para a avaliação de expressão gênica, fusões gênicas e a identificação de variantes genéticas, como substituições, inserções e deleções. O alinhamento dos dados foi realizado com STAR-CITE, e a identificação das variantes contou com a plataforma Franklin Gene para anotação e interpretação das mutações.

Análise Estatística

Para traçar a série histórica dos dados de pacientes, entre 2012 e 2022, foi utilizado o próprio módulo de análises estatísticas do sistema REDCap. Na avaliação da predição de recidiva, foi realizada a análise da Curva *Receiver Operating Characteristic* (ROC), a fim de determinar o valor preditivo das variáveis estudadas. A sobrevida livre de eventos foi analisada pelo método de Kaplan-Meier e comparada com o teste de log-rank. Utilizou-se a regressão de Cox para identificar fatores prognósticos associados à recidiva e desfechos clínicos. As análises estatísticas foram realizadas por meio do software GraphPad Prism (versão 8) e o programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 23 (IBM Corp., 2015), com testes bilaterais e nível de significância de 5%.

Resultados e discussão

No total, foram identificados 69 pacientes diagnosticados com Leucemia Linfóide Aguda de células precursoras B (LLA-B) com a fusão gênica *ETV6/RUNX1*, no período do estudo, os quais foram selecionados para análise. Entre os pacientes estudados, 36 (52%) eram do sexo masculino e 33 (48%) do sexo feminino. A idade média ao diagnóstico foi de 4 anos, com idades variando de 1 a 15 anos (Tabela 1). Além disso, 6

pacientes foram identificados também com alta hiperdiploidia e a maioria dos pacientes foi classificada como de baixo risco no momento do diagnóstico (54%), com base nas características clínicas e biológicas apresentadas (Tabela 1).

Tabela 1 – Perfil clínico e epidemiológico dos pacientes com EVT6/RUNX1

Características	Pacientes
Idade n(%)	
1 - 10 anos	64 (93%)
10 - 15 anos	5 (7%)
Média	4
Sexo n(%)	
Feminino	33 (48%)
Masculino	36 (52%)
Hiperdiplóide n(%)	6 (8%)
Classificação de risco ao diagnóstico n(%)	
Baixo risco	37 (54%)
Risco intermediário	17 (25%)
Alto risco	6 (8%)
Não classificado	9 (13%)
Pacientes que recaíram n(%)	9 (13%)
Total de pacientes	69

A maioria dos pacientes deste estudo é procedente do Distrito Federal (52%) e de Goiás (31%). Dentre os protocolos de tratamento, o mais utilizado foi o Berlim-Frankfurt- Münster (BFM) 95 (43%) e em seguida o BFM 2009 (31%). Durante o período de indução realizado por essas terapias também foram observadas as possíveis intercorrências que os pacientes poderiam apresentar. Cerca de 18 pacientes apresentaram infecções, dos quais 66% necessitaram de terapia intensiva; 7 pacientes apresentaram trombose e 8 pacientes vieram a óbito. Além disso, dentre os 69 pacientes que apresentavam a fusão gênica *ETV6/RUNX1*, 9 tiveram recaídas em uma média de 3 anos após o diagnóstico da doença.

Como é possível observar na Tabela 2 dentre os 4 pacientes que apresentaram múltiplas recaídas, 2 deles também apresentavam alta hiperdiploidia e tiveram um desfecho ruim. Embora a alta hiperdiploidia, na faixa de 51-65/67 cromossomos, esteja associada a um bom prognóstico, a sua coexistência com a translocação *ETV6/RUNX1* apresenta um cenário mais complexo e o impacto prognóstico dessas duas alterações genéticas ainda não é completamente compreendido (Raimondi *et al.*, 2006; Katsibardi *et al.*, 2014). Observou-se que um dos pacientes que recaiu possuía um número de cromossomos superior a 65 (76~85), o que o coloca fora da categoria de bom prognóstico (EnshaeI *et al.*, 2023). Já outro paciente que recaiu apresentou 62 cromossomos, dentro do perfil de bom prognóstico, o que reforça a importância do número cromossômico na avaliação da LLA-B e indica a necessidade de investigar outros fatores que influenciam a resposta ao tratamento e o risco de recaída.

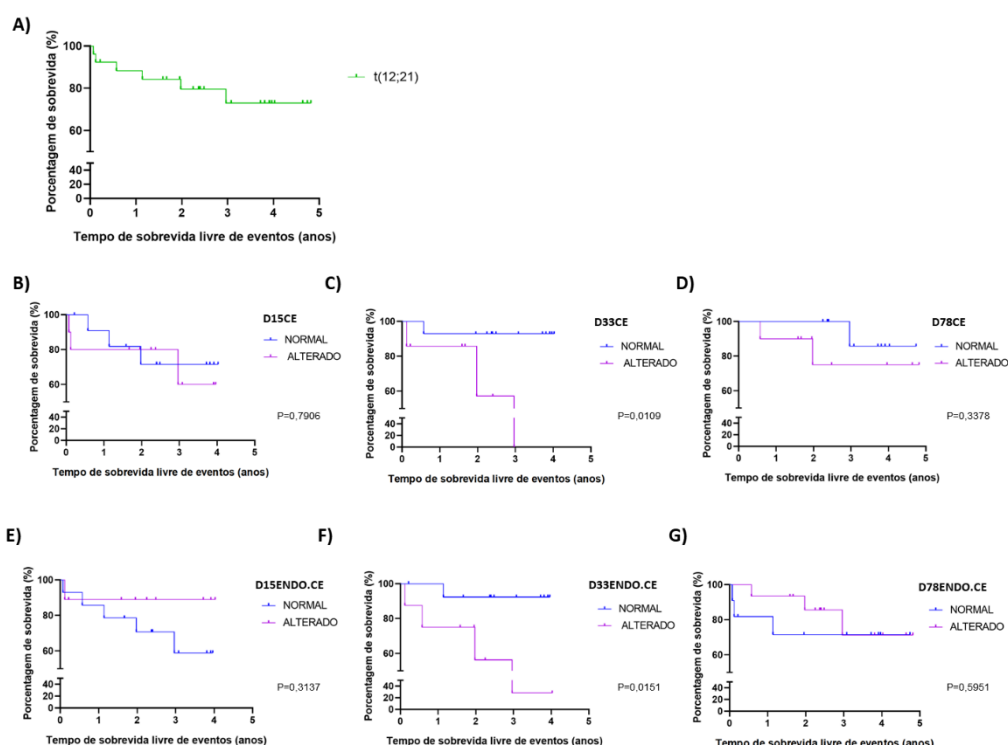
Tabela 2 – Perfil dos pacientes que recaíram no período do estudo

Paciente	Idade ao diagnóstico	Sexo	Leucometria da recaída	Tempo da primeira recaída (anos)	Hiperdiploidia	SNC	Múltiplas recaídas	Protocolo de tratamento	
BM 374/1	3	Feminino	2.600	3.47	-	-	Sim	BFM 2002	d
BM 434/1	7	Feminino	5.800	2.97	Sim	-	Sim	BFM 90	
BM 488/1	5	Masculino	12.500	3.59	-	-	-	BFM 90	morf d
BM 565/1	2	Masculino	5.700	3.04	-	-	Sim	BFM 90	morf d
BM 770/1	11	Masculino	10.000	2.66	Sim	-	Sim	BFM 2002	
BM 943/1	4	Feminino	5.710	5.11	-	-	-	BFM 2002 / GBTLI 99	morf i
BM 1072/1	1	Masculino	4.210	3.25	-	-	-	BFM 2002	morf i
BM 1284/1	2	Feminino	18.330	1.8	-	-	-	BFM 2002	
BM 1333/1	5	Masculino	10.780	2.7	-	-	-	BFM 2002	

SNC = infiltração de blastos no Sistema Nervoso Central, DRM = doença residual mínima, TMO = transplante de medula ossea

A análise do microambiente tumoral foi realizada a partir dos arquivos de citometria de fluxo utilizados no acompanhamento da DRM. Em 2020, a implementação de um novo painel de anticorpos possibilitou a avaliação das células estromais (CE), que, segundo Simioni *et al.* (2021), podem influenciar na persistência da doença. No entanto, devido à introdução recente desse painel, apenas 26 amostras de pacientes puderam ser analisadas, dos quais tiveram duas recaídas e quatro óbitos. Durante o follow-up do estudo, a análise de sobrevida livre de eventos dos pacientes com LLA-B com $t(12;21)$ mostrou um percentual de sobrevivência de 73% (Figura 1.A). A partir da análise de sobrevida livre de eventos com cortes definidos pela curva ROC, foi possível observar pelo teste de Log Rank (Mantel-Cox), que houve diferença estatística significativa para as curvas de sobrevida em relação as análises de D33CE ($P = 0,0109$) e D33ENDO.CE ($P = 0,0151$). Já para D15 e D78 não houve diferença estatística, quando comparado os grupos normal e alterado com base no corte definido pela curva de ROC (Figura 1).

Figura 1 – Curva de probabilidade de sobrevida livre de eventos, de Kaplan-Meier, para pacientes pediátricos atendidos no serviço de Oncologia do HCB diagnosticados com LLA-B $t(12;21)$ que foram realizados as análises de microambiente tumoral (n=26)



Legenda: A) Curva de probabilidade de sobrevida livre de eventos dos pacientes com LLA-B $t(12;21)$. B-D) Curva de probabilidade de sobrevida livre de eventos dos pacientes com LLA-B $t(12;21)$ por células estromais (CE) em relação ao D15, D33 e D78. E-G) Curva de probabilidade de sobrevida livre de eventos dos pacientes com LLA-B $t(12;21)$ por células endoteliais do compartimento de CE (ENDO.CE) em relação ao D15, D33 e D78. Os valores considerados normais e alterados foram estabelecidos pela curva de ROC.

A regressão de COX permitiu avaliar o efeito de múltiplas variáveis sobre o tempo até o evento (óbito ou recaída). A tabela 3 mostra que a alteração no parâmetro hematológico no D33CE, aumentou o risco em 30,326 vezes de ter óbito ou recaída. Já para as alterações relacionadas com D33ENDO.CE não foram significativas.

Tabela 3 – Análise da regressão de COX para os grupos D33CE e D33ENDO.CE

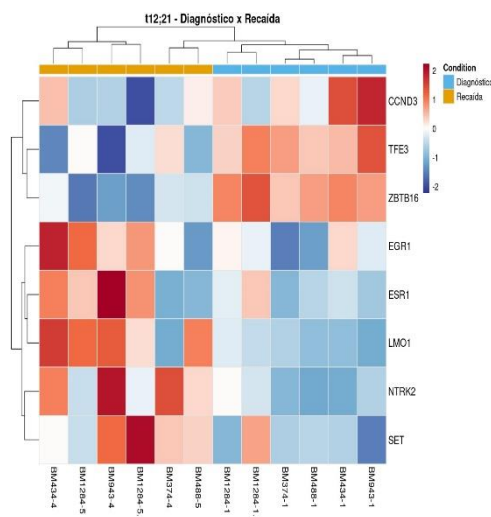
Grupos	B	EP	Wald	GL	p	Exp(B)	95.0% CI para Exp(B)	
							Inferior	Superior
D33CE	3,412	1,440	5,611	1	0,018	30,326	1,802	510,400
D33ENDO.CE	0,037	0,052	0,494	1	0,482	1,037	0,937	1,148

Legenda: β = coeficiente de regressão, EP = erro padrão, GL = graus de liberdade, D33CE = células estromais no D33, D33ENDO.CE = células endoteliais no compartimento CE no D33 .

Esses achados sugerem que o microambiente tumoral, especialmente a presença aumentada de células estromais no D33, pode contribuir para a resistência ao tratamento. Desse modo, esses resultados convergem com o estudo de Oliveira *et al.* (2022), que destacou a associação entre a composição do compartimento estromal e o prognóstico na LLA-B, no qual a combinação entre DRM e porcentagem de células endoteliais no D+78 mostrou-se um importante fator de estratificação de risco.

Recentemente, o sequenciamento de nova geração (NGS) pode facilitar a monitorização contínua das alterações genéticas ao longo do tratamento, oferecendo *insights* possíveis mecanismos de resistência (Shen *et al.*, 2023). Dessa maneira, o presente estudo realizou as análises de variantes, expressão gênica e fusões gênicas de 63 amostras de LLA-B. A análise de expressão gênica revelou alterações no perfil dos pacientes entre o diagnóstico e a recaída. No diagnóstico, houve uma expressão mais pronunciada dos genes *CCND3*, *TFE3* e *ZBTB16* (Figura 2). Na recaída, observou-se um aumento na expressão de *EGR1*, *NTRK2*, *ESR1*, *LMO1* e *SET*. Esses genes estão relacionados à diferenciação e maturação de células hematopoiéticas, no entanto, a relação desses genes com a LLA-B ainda é pouco estudada (Ketzer *et al.*, 2022; Kulkarni, 2022).

Figura 2 – Análise de expressão gênica de pacientes com LLA-B t(12;21)



Legenda: Heatmap de expressão gênica comparando as amostras de diagnóstico e de recaída dos mesmos pacientes com LLA-B. As colunas representam as amostras, e as linhas, os genes analisados. A intensidade da cor reflete os níveis de expressão gênica, com tons de vermelho indicando alta expressão, azul indicando baixa expressão e branco representando valores intermediários. Os dados foram normalizados por Z-score e analisados por clusterização hierárquica para identificar padrões de expressão.

A fusão gênica *SET-NUP214* tem sido associada à altas taxas de recidiva em leucemias linfóides agudas, mesmo após transplante de células-tronco, conforme demonstrado por Shen *et al.* (2023). Esse tipo de fusão pode intensificar a expressão de genes como *SET*, contribuindo para a falha terapêutica. A observação de níveis elevados de *SET* em amostras de recaída sugere seu possível papel na progressão da doença, reforçando a importância de investigar suas implicações funcionais e seu impacto na resistência ao tratamento (Shen *et al.*, 2023).

A Tabela 4 resume os achados moleculares dos pacientes em remissão com variantes patogênicas ou provavelmente patogênicas, excluindo aqueles sem alterações relevantes. Também inclui os resultados de todos os pacientes que apresentaram recaídas. Foi possível observar que pacientes com remissão apresentaram variantes nos genes *KMT2A*, *ETV6*, *NSD2* (Tabela 4), que estão frequentemente descritas na literatura no contexto da LLA-B (Górecki *et al.*, 2023; Nishii *et al.*, 2021; Narang *et al.*, 2023). Já em relação aos pacientes que tiveram recidivas, nenhuma variante identificada possuía uma classificação conhecida, destacando que as consequências de diversas variantes ainda são desconhecidas. Contudo, é possível identificar que algumas variantes encontradas apresentam uma predição de perda de função e estão correlacionadas a locais de transcrição de genes importantes para a evolução da LLA-B, como: o *IKZF1*, *BCL2*, *NUP98*, *NTRK1* e *SMARCB1*. As variantes no gene *IKZF1* estão cada vez mais relacionadas à LLA-B, pois ele codifica o fator de transcrição *IKAROS*, essencial para o desenvolvimento de linfócitos e estão associadas à resistência ao tratamento (Paulino *et al.*, 2024). Os resultados indicam que a recaída envolve mecanismos mais complexos do que apenas variantes patogênicas conhecidas, evidenciando a complexidade da evolução da doença.

Dessa maneira, é importante investigar outras alterações, como as fusões gênicas. Apesar de a fusão *ETV6-RUNX1* ser tradicionalmente associada a um bom prognóstico em pacientes com LLA e geralmente estar relacionada a um risco mais baixo de recaída, os dados do estudo indicam que 9 pacientes com a fusão *ETV6-RUNX1* apresentaram recaídas e 1 desses pacientes também possui a fusão *RUNX1-CTCI* (Tabela 4). Isso sugere que, embora a *ETV6-RUNX1* seja favorável, a presença de outras variantes ou fusões envolvendo o gene *RUNX1*, como a *RUNX1-CTCI*, pode influenciar negativamente o curso do tratamento (Jakobczyk *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2021; Six *et al.*, 2021).

Durante o estudo, foram realizadas análises de *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification* (MLPA) a fim de encontrar deleções e duplicações de regiões específicas do DNA (Tabela 4). Observou-se deleções na região pseudoautosômica 1 (PAR1) e na região codificadora do gene *PAX5*. A região PAR1 inclui genes como *CRLF2*, *IL3RA*, *P2RY8* e *ZFY*. Logo, deleções nesta região podem gerar fusões como *P2RY8::CRLF2*, que podem desempenhar um papel importante durante a progressão da LLA-B (Lin *et al.*, 2023; Gil *et al.*, 2024). Além disso, alterações em *PAX5* são frequentes na LLA-B e desempenham papel crucial na transformação leucêmica. Sua presença em pacientes que recidivaram reforça a importância de investigar alterações moleculares. Isso porque essas mutações podem estar associadas à resistência ao tratamento e à persistência de clones mais agressivos (Jia; Gu, 2022).

Tabela 4 – Análise dos resultados do sequenciamento de nova geração (NGS) dos pacientes de LLA-B com alterações patogênicas ou de significado incerto

Paciente	% de blastos	MLPA	Fusões	Genes das variantes	Prova
Remissão					
BM 448/1	96	-	<i>ETV6/RUNX1</i>	<i>KMT2A</i>	
BM 604/1	97	-	<i>ETV6/RUNX1</i>	<i>KMT2A</i>	
BM 706/1	55	-	<i>ETV6/RUNX1</i>	<i>ETV6</i>	
BM 799/1	83,3	-	<i>ETV6/RUNX1</i>	<i>NSD2</i>	
Recaída					
BM 374/1	93	-	-	<i>FHIT</i> <i>NUP98</i> <i>IKZF1</i>	
BM 434/1	70	-	-	-	
BM 488/1	90	-	<i>ETV6-RUNX1</i>	<i>BCL2</i>	
BM 565/5	79	-	<i>ETV6-RUNX1</i>	-	
BM 70/13	68.6	<i>PAR1</i>	<i>ETV6-RUNX1</i>	<i>SMARCB1</i>	
BM 943 BM 943/1	77,8	<i>PAX5</i>	-	<i>NTRK1</i>	
BM 943/4	97.7	<i>PAX5</i>	<i>LOC643201-ATRX; ETV6-RUNX1 3 breakpoints</i>	<i>NTRK1</i> <i>NCOA3</i>	Ganho
BM 1072/1	82,5	<i>PAX5</i>	-	<i>INPP5D</i>	
BM 1284 BM 1284/1	85.9	-	<i>ETV6-RUNX1, RUNX1-CTC1</i>	<i>NCOA3</i> <i>STAT6</i> <i>MLLT6</i>	Efeito
BM 1284/5	81.8	<i>PAR1</i>	<i>ETV6-RUNX1, RUNX1-CTC1</i>	<i>NCOA3</i> <i>STAT6</i> <i>MLLT6</i> <i>ABL2</i>	Efeito
BM 1333/1	65,8	-	-	<i>BCR</i> <i>KAT6A</i>	

Desse modo, os achados do estudo mostram como a técnica de NGS, realizada a partir do RNA, permitiu não apenas a identificação de fusões gênicas e a análise da expressão gênica, mas também a detecção de alterações ainda pouco compreendidas, que podem desempenhar um papel fundamental na resistência terapêutica e na recaída da doença. Dessa forma, a investigação contínua desses marcadores moleculares é essencial para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais eficazes e personalizadas. Portanto, os resultados do presente estudo destacam a importância de integrar dados genômicos, a discriminação de células no microambiente tumoral e a resposta ao tratamento para compreender os fatores que contribuem para a recaída e resistência terapêutica na LLA-B. Estudos futuros com amostras ampliadas e análises funcionais detalhadas serão essenciais para validar esses achados e explorar novos alvos terapêuticos que possam melhorar os desfechos dos pacientes.

Conclusão

Os achados deste estudo demonstram que, mesmo entre pacientes com LLA-B portadores da fusão gênica *ETV6/RUNX1*, tradicionalmente associada a bom prognóstico, a evolução clínica pode ser complexa, com 73% de sobrevida livre de eventos e recaídas podem estar associadas a alterações genéticas, como alta hiperdiploidia, variantes em *IKZF1*, *BCL2* e *NUP98*, além de alterações no microambiente tumoral, como o aumento de células estromais no D33. A detecção de novas fusões gênicas e a evolução clonal reforçam a necessidade de uma abordagem integrada entre caracterização molecular e avaliação do microambiente para aprimorar a estratificação de risco. Apesar dos desafios enfrentados, como ausência de dados de DRM, limitações nos prontuários e dificuldades na padronização do NGS, os resultados destacam o potencial das tecnologias avançadas para melhorar os desfechos clínicos, exigindo estudos complementares para validação e aprofundamento dessas evidências.

Referências

ALKASHGARI, H. R. *et al.* TSLP as a potential therapy in the treatment of CRLF2 B Cell acute lymphoblastic leukemia. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 1, p. 474, 2023. DOI: 10.3390/ijms24010474. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/24/1/474>. Acesso em: 5 fev. 2025.

AKHTAR, M. *et al.* Paget's "seed and soil" theory of cancer metastasis: an idea whose time has come. **Advances in Anatomy Pathology**, 26, n. 1, p. 69-74, 2019. DOI: 10.1097/PAP.0000000000000219. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30339548/>. Acesso em: 2 fev. 2025.

AMPATZIDOU, M. *et al.* ETV6/RUNX1-positive childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL): the spectrum of clonal heterogeneity and its impact on prognosis. **Cancer Genetics**, 224, p. 1-11, 2018. DOI: 10.1016/j.cancergen.2018.03.001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29778230/>. Acesso em: 5 fev. 2025

CHEN, H. *et al.* Minimal residual disease detection by next-generation sequencing of different immunoglobulin gene rearrangements in pediatric B-ALL. **Nature Communications**, 14, p. 7468, 2023. DOI: 10.1038/s41467-023-43171-9. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41467-023-43171-9>. Acesso em: 5 fev. 2025.

DANDER, E. *et al.* The Bone Marrow Niche in B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia: The Role of Microenvironment from Pre-Leukemia to Overt Leukemia. **International Journal of Molecular Sciences**, 22, n. 9, p. 4426, 2021. DOI: 10.3390/ijms22094426. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/9/4426>. Acesso em: 5 fev. 2025

ENSHAEL, A. *et al.* Real-world evaluation of UK high hyperdiploidy profile using a large cohort of patients provided by HARMONY data platform. **Leukemia**, v. 37, n. 12, p. 2493-2496, dez. 2023. DOI: 10.1038/s41375-023-02046-0. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41375-023-02046-0>. Acesso em: 5 fev. 2025.

GIL, J. V. *et al.* Comprehensive detection of *CRLF2* alterations in acute lymphoblastic leukemia: a rapid and accurate novel approach. **Frontiers in Molecular Biosciences**, v. 11, p. 1362081, 2024. DOI: 10.3389/FMolb.2024.1362081. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmolb.2024.1362081/full>. Acesso: 5 jan. 2025.

GÓRECKI, Mateusz *et al.* Updates in KMT2A Gene Rearrangement in Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia. **Biomedicines**, v. 11, n. 3, p. 821, mar. 2023. DOI: 10.3390/biomedicines11030821. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/biomedicines11030821>. Acesso: 5 jan. 2025.

HOFFMANN, J. *et al.* High sensitivity and clonal stability of the genomic fusion as single marker for response monitoring in ETV6-RUNX1-positive acute lymphoblastic leukemia. **Pediatric Blood & Cancer**, v. 66, n. 8, 2019. DOI: 10.1002/pbc.27780. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/pbc.27713>. Acesso: 9 jan. 2025

IACOBUCCI, I.; MULLIGHAN, C. G. Genetic Basis of Acute Lymphoblastic Leukemia. **Journal of clinical oncology**. 35, n. 9, p. 975-983, 2017. DOI: 10.1200/JCO.2016.70.7836. Disponível em: <https://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2016.70.7836>. Acesso: 9 jan. 2025.

INABA, H.; MULLIGHAN, C. G. Pediatric acute lymphoblastic leucemia. **Haematologica**, 105, n. 11, p 2524-2539, 2020. DOI: 10.3324/haematol.2020.247031. Disponível em: https://haematologica.org/article/view/haematol.2020.247031?utm_source=chatgpt.com. Acesso em: 9 jan. 2025.

JAKOBCZYK, H. *et al.* ETV6-RUNX1 and RUNX1 directly regulate RAG1 expression: one more step in the understanding of childhood B-cell acute lymphoblastic leukemia leukemogenesis. **Leukemia**, v. 36, p. 549-554, 2022. DOI: 10.1038/s41375-021-01409-9. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29143423/>. Acesso em: 9 jan. 2025.

JEHA, S. *et al.* Clinical significance of novel subtypes of acute lymphoblastic leukemia in the context of minimal residual disease-directed therapy. **Blood Cancer Discovery**, v. 2, n. 4, p. 326-337. DOI: 10.1158/2643-3230.BCD-20-0229. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8265990/>. Acesso em: 9 jan. 2025.

JIA, Z.; GU, Z. PAX5 alterations in B-cell acute lymphoblastic leukemia. **Frontiers in Oncology**, v. 12, p. 1023606, 2022. DOI: 10.3389/fonc.2022.1023606. Disponível em:

https://www.frontiersin.org/journals/oncology/articles/10.3389/fonc.2022.1023606/full?utm_source=chatgpt.com. Acesso em: 9 jan. 2025.

KATO, M.; MANABE, A. Treatment and biology of pediatric acute lymphoblastic leucemia, **Pediatrics International**, v. 60, p. 4-12, 2018. DOI: 10.1111/ped.13457. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29143423/>. Acesso em: 9 jan. 2025.

KATSIBARDI, K. *et al.* Clinical outcome of the coexistence of ETV6/RUNX1 and high hyperdiploidy in pediatric acute lymphoblastic leukemia. **Leukemia & Lymphoma**, v. 55, n. 8, p. 1946-1948, 2014. DOI: 10.3109/10428194.2013.861071. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24188477/>. Acesso em: 10 jan. 2025.

KETZER, F. *et al.* CCND3 is indispensable for the maintenance of B-cell acute lymphoblastic leukemia. **Oncogenesis**, v. 11, n. 1, p. 1, 2022. DOI: 10.1038/s41389-021-00377-0. Disponível em: https://www.nature.com/articles/s41389-021-00377-0?utm_source=chatgpt.com. Acesso em: 10 jan. 2025.

KROEZE, L. *et al.* Leucemia linfoblástica aguda de células B com mutação PAX5 P80R com transformação para sarcoma histiocítico: avaliação da evolução clonal usando análise de clonalidade e mutação de imunoglobulina baseada em NGS. **Virchows Arch**, v. 483, n. 1, p. 105-110, 2023. DOI: 10.1007/s00428-022-03428-y. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36241730/>. Acesso em: 10 jan. 2025.

KULKARNI, R. Early growth response factor 1 in aging hematopoietic stem cells and leukemia. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 10, p. 925761, 2022. DOI: 10.3389/fcell.2022.925761. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/cell-and-developmental-biology/articles/10.3389/fcell.2022.925761/full>. Acesso em: 10 jan. 2025.

LI, Y. *et al.* Germline RUNX1 variation and predisposition to childhood acute lymphoblastic leukemia. **Journal of Clinical Investigation**, v. 131, n. 17, p. 147898, 2021. DOI: 10.1172/JCI147898. Disponível em: <https://www.jci.org/articles/view/147898>. Acesso em: 10 jan. 2025.

LIM, S. H. *et al.* Prevalence of RAF1 aberrations in metastatic cancer patients: real-world data. **Biomedicines**, v. 1, n. 12, p. 3264, 2023. DOI: 10.3390/biomedicines11123264. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2227-9059/11/12/3264>. Acesso em: 10 jan. 2025.

LIN, D. *et al.* Poor outcome of pediatric B-cell acute lymphoblastic leukemia associated with high level of CRLF2 gene expression in distinct molecular subtypes. **Frontiers Oncology**, v. 13, 2023. DOI: 10.3389/fonc.2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38023153/>. Acesso em: 10 jan. 2025.

MONTAÑO, A. *et al.* ETV6/RUNX1 fusion gene abrogation decreases the oncogenicity of tumour cells in a preclinical model of acute lymphoblastic leukaemia. **Cells**, v. 9, n. 1, p. 215, 2020. DOI: 10.3390/cells9010215. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31952221/>. Acesso em: 10 jan. 2025.

MONTAÑO, A. *et al.* Comprehensive custom NGS panel validation for the improvement of the stratification of B-acute lymphoblastic leukemia patients. **Journal of Personalized**

Medicine, v. 10, n. 3, p. 137, 2020. DOI: 10.3390/jpm10030137. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2075-4426/10/3/137>. Acesso em: 10 jan. 2025.

MORENO LORENZANA, D. *et al.* CRLF2 and IKZF1 abnormalities in mexican children with acute lymphoblastic leukemia and recurrent gene fusions: exploring surrogate markers of signaling pathways. **Journal of Pathology Clinical Research**, v. 7, n. 4, p. 410-421, 2021. DOI: 10.1002/cjp2.211. Disponível em: <https://pathsocjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cjp2.211>. Acesso em: 10 jan. 2025.

NARANG, S. *et al.* NSD2 E1099K drives relapse in pediatric acute lymphoblastic leukemia by disrupting 3D chromatin organization. **Genome Biology**, v. 24, n. 1, p. 64, 2023. DOI: 10.1186/s13059-023-02905-0. Disponível em: <https://genomebiology.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13059-023-02905-0>. Acesso em: 23 fev. 2025.

NISHII, Rina *et al.* Molecular basis of ETV6-mediated predisposition to childhood acute lymphoblastic leukemia. **Blood**, v. 137, n. 3, p. 364-373, 21 jan. 2021. DOI: 10.1182/blood.2020006164. Disponível em: <https://ashpublications.org/blood/article/137/3/364/461432/Molecular-basis-of-ETV6-mediated-predisposition-to>. Acesso em: 23 fev. 2025.

OLIVEIRA, E. *et al.* Bone marrow stromal cell regeneration profile in treated B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia patients: association with MRD status and patient outcome. **Cancers**, v. 14, n. 13, p. 3088, 2022. DOI: 10.3390/cancers14133088. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6694/14/13/3088>. Acesso em: 23 fev. 2025.

PAOLINO, J. *et al.* IKZF1 alterations and therapeutic targeting in B-cell acute lymphoblastic leukemia. **Biomedicines**, v. 12, n. 1, p. 89, 2024. DOI: 10.3390/biomedicines12010089. Disponível em: https://www.mdpi.com/2227-9059/12/1/89/review_report. Acesso em: 23 fev. 2025.

QIU, K. *et al.* Prognostic value and outcome for *ETV6/RUNX1*-positive pediatric acute lymphoblastic leukemia: a report from the South China children's leukemia group. **Frontiers in Oncology**, v. 11, 2021. DOI: 10.3389/FOnc.2021.797194. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34988026/>. Acesso em: 23 fev. 2025.

RAIMONDI, S. C. *et al.* Near-triploidy and near-tetraploidy in childhood acute lymphoblastic leukemia: association with B-lineage blast cells carrying the ETV6–RUNX1 fusion, T-lineage immunophenotype, and favorable outcome. **Cancer Genetics and Cytogenetics**, v. 169, v. 1, p. 50-57, 2006. DOI: 10.1016/j.cancergencyto.2006.04.006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16875937/>. Acesso em: 23 fev. 2025.

SHEN, Y. *et al.* The outcome of acute leukemia patients with SET-NUP214 fusion after allogeneic stem cell transplantation. **Frontiers in Oncology**, v. 13, p. 1256043, 2023. DOI: 10.3389/fonc.2023.1256043. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/oncology/articles/10.3389/fonc.2023.1256043/full>. Acesso em: 23 fev. 2025.

SILVA, F. F. da; LATORRE, M. R. D. O. Sobrevida das leucemias linfoides agudas em crianças no Município de São Paulo, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 38, n. 6, p. e00000021, 2022. DOI: 10.1590/0102-311X00008019. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/csp/a/kXGjvjz6fFzrww5JXxqsvbw/>. Acesso em: 23 jun. 2025.

SIMIONI, C. *et al.* The complexity of the tumor microenvironment and its role in acute lymphoblastic leukemia: implications for therapies. **Frontiers in Oncology**, v. 11, p. 673506, 2021. DOI: 10.3389/fonc.2021.673506. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/oncology/articles/10.3389/fonc.2021.673506/full>. Acesso em: 23 fev. 2025.

SIX, K. A. *et al.* B-cell acute lymphoblastic leukemia in patients with germline RUNX1 mutations. **Blood Advances**, v. 5, n. 16, p. 3199-3202, 2021. DOI: 10.1182/bloodadvances.2021004653. Disponível em: <https://ashpublications.org/bloodadvances/article/5/16/3199/476596/B-cell-acute-lymphoblastic-leukemia-in-patients>. Acesso em: 23 fev. 2025.

STERGAARD, A. *et al.* The prognostic effect of *IKZF1* deletions in *ETV6::RUNX1* and high hyperdiploid childhood acute lymphoblastic leukemia. **HemaSphere**, v. 7, n. 5, p. e875, 2023. DOI: 10.1097/HS9.0000000000000875. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37153875/>. Acesso em: 23 fev. 2025.

SUN, C.; CHANG, L.; ZHU, X. Pathogenesis of *ETV6/RUNX1*-positive childhood acute lymphoblastic leukemia and mechanisms underlying its relapse. **Oncotarget**, v. 8, n. 21, p. 35445-35459, 2017. DOI: 10.18632/oncotarget.16367. Disponível em: <https://www.oncotarget.com/article/16367/>. Acesso em: 23 fev. 2025.

GATILHOS DE DESCONFORTO EM PACIENTES COM TRANSTORNO DO PROCESSAMENTO SENSORIAL: ESTUDO PARA O DESENVOLVIMENTO DE AMBIENTES NO HOSPITAL DA CRIANÇA DE BRASÍLIA, DISTRITO FEDERAL

Marina Vasconcellos Nunes¹
Daniela Arruda Guterres Soares²

Resumo

O Transtorno do Processamento Sensorial (TPS) é uma condição que afeta a capacidade de interpretar e responder a estímulos do ambiente, causando impacto nas esferas motora, emocional e comportamental. Pacientes pediátricos com diagnóstico de TPS enfrentam desafios significativos em ambientes hospitalares, frequentemente agravados por gatilhos como ruídos excessivos, luz intensa e texturas incômodas. Este estudo objetivou mapear esses gatilhos em um hospital pediátrico terciário de Brasília e propor soluções baseadas em jardins sensoriais, buscando atenuar os desconfortos sensoriais identificados nos pacientes. Metodologicamente, combinou-se revisão bibliográfica com entrevistas semiestruturadas envolvendo tutores dos pacientes. Essas entrevistas exploraram percepções sobre gatilhos sensoriais, com foco nos efeitos emocionais e comportamentais. Os resultados evidenciaram que os gatilhos sensoriais mais comuns estão associados aos sentidos tátil, auditivo e visual. A partir disso, desenvolveu-se o projeto "Jardim Sensorial Primavera", que incorpora elementos como barreiras vegetais para conforto acústico, áreas sombreadas e estruturas táteis inclusivas, promovendo bem-estar e humanização no cuidado hospitalar.

Palavras-chave: terapia hortícola; arquitetura de instituições de saúde; transtorno do neurodesenvolvimento; hospitais pediátricos.

Introdução

O TPS é uma condição que afeta a qualidade de vida dos indivíduos, independentemente da idade. Essa desordem se revela por meio de dificuldades na interpretação e utilização de estímulos sensoriais, resultando em desorganização nas reações físicas, comportamentais e emocionais. Como efeito, muitos indivíduos afetados pelo TPS enfrentam desafios em suas atividades diárias, comprometendo sua capacidade de funcionamento em diversas situações cotidianas.

A identificação do TPS remonta à atuação da terapeuta ocupacional Anna Jean Ayres, que, em 1972, analisou crianças com dificuldades de aprendizagem e sugeriu que o comprometimento do processamento sensorial poderia levar a uma ampla gama de problemas funcionais. Esta condição, que evoluiu para a atual denominação de TPS, pode se manifestar de maneira isolada ou concomitante a outras condições, como o Transtorno do Espectro Autista

¹ Acadêmica de Arquitetura e Urbanismo do Centro Universitário de Brasília (CEUB) e bolsista de Iniciação Científica do Hospital da Criança de Brasília (HCB).

² Arquiteta e Urbanista, Especialista em Arquitetura Hospitalar, Mestre em Arquitetura e Urbanismo e Orientadora do projeto no Hospital da Criança de Brasília (HCB).

e o Transtorno do Déficit de Atenção/Hiperatividade, Transtorno do Desenvolvimento da Coordenação e a Síndrome do X Frágil. Evidenciando uma prevalência que varia de 5% a 16% na população geral e entre 30% a 80% em indivíduos com diagnósticos específicos. (Miller, 2012 *apud* Machado *et al.*, 2017, p. 93).

Nos últimos anos, o TPS tem recebido crescente atenção, especialmente em relação às suas manifestações em crianças autistas, que muitas vezes apresentam reações atípicas a estímulos sensoriais, como aversão a determinadas texturas ou sons. Nesse cenário, a terapia ocupacional com enfoque na integração sensorial tem demonstrado eficácia, promovendo mudanças significativas nas interações e comportamentos dessas crianças. Estudos relevantes, como o de Case-Smith e Bryan (2015), sublinham a importância de abordagens observacionais em ambientes naturais para compreender melhor as necessidades de comunicação e interação social dessa população.

Com isso, a presente pesquisa apresenta uma proposta de intervenção voltada para a mitigação do desconforto sensorial em ambientes hospitalares por meio da implementação de um jardim terapêutico. Reconhecidos por seus benefícios à saúde e ao bem-estar, esses espaços verdes contribuem na redução do estresse e favorecem o desenvolvimento de indivíduos com TPS. Com foco nos gatilhos de desconforto sensorial identificados em pacientes de um hospital pediátrico terciário, a proposta consiste no desenvolvimento de um jardim sensorial que integra funções lúdicas e terapêuticas, aliando sustentabilidade, acessibilidade e projeto arquitetônico centrado no usuário. Além de minimizar os gatilhos negativos, a iniciativa busca promover a humanização do cuidado hospitalar e contribuir para o conforto físico e emocional dos pacientes.

Objetivos

1. Identificar as características específicas do Transtorno de Processamento Sensorial e sua relação com o ambiente físico em hospitais pediátricos, por meio de uma revisão da literatura;
2. Propor recomendações de design baseadas nos resultados da pesquisa, a fim de melhorar o planejamento e a construção de espaços externos em hospitais para pacientes pediátricos com TPS.
3. Desenvolver proposta (projeto) para o jardim entre os blocos do Hospital da Criança de Brasília José Alencar considerando o uso de materiais ecológicos.

Metodologia

A pesquisa adotou uma abordagem qualitativa, combinando revisão bibliográfica, coleta de dados primários e desenvolvimento projetual. A revisão bibliográfica foi conduzida nas bases SciELO e Google Scholar, com foco em publicações relacionadas a gatilhos sensoriais em ambientes hospitalares e intervenções baseadas em jardins terapêuticos. Posteriormente, foram realizadas entrevistas semiestruturadas com tutores de pacientes do HCB, visando compreender as percepções sobre os desconfortos sensoriais no ambiente hospitalar.

Os dados coletados nas entrevistas foram analisados qualitativamente para identificar padrões e gatilhos sensoriais mais recorrentes. Essas informações fundamentaram o desenvolvimento de um projeto de jardim sensorial, concebido para mitigar os desconfortos sensoriais mapeados e oferecer um ambiente acolhedor e funcional. A proposta adota uma abordagem integrada, reunindo soluções práticas e criativas que atendem às necessidades dos usuários e promovem interação, relaxamento e bem-estar. Essa metodologia possibilitou não apenas a identificação de demandas específicas do público-alvo, mas também a criação de uma

solução projetual alinhada às suas necessidades e preferências, contribuindo para a humanização do cuidado hospitalar.

Resultados e discussão

Resumo bibliográfico

O estudo de Case-Smith e Bryan (2015) com crianças pré-escolares com autismo destacou a relevância das medidas observacionais em ambientes naturais e discutiu os desafios metodológicos na pesquisa sobre intervenções para essa população. A pesquisa concluiu que a terapia ocupacional com foco na integração sensorial pode promover mudanças positivas nas brincadeiras intencionais e nos comportamentos não engajados dessas crianças, apoiando o uso dessas técnicas na prática terapêutica para o autismo.

Em ambientes naturais, como jardins terapêuticos, a terapia ocupacional pode proporcionar benefícios significativos aos pacientes. A interação com a natureza durante as sessões terapêuticas pode reduzir o estresse, melhorar o humor e a sensação de bem-estar, além de estimular a cognição, desenvolver capacidades físicas e emocionais, e incentivar a socialização e a responsabilidade. A presença de elementos naturais aumenta a motivação dos pacientes para a participação ativa nas atividades, favorecendo a adesão ao tratamento e potencializando os resultados terapêuticos. O uso de jardins terapêuticos também pode contribuir para o desenvolvimento da autonomia, autoestima e qualidade de vida, além de melhorar o processo de reabilitação e tratamento (Wagenfeld; Atchison, 2014).

A pesquisa de Bishop, Underwood, Burrows, Fraser e Shawe (2022) evidenciou que a combinação da terapia ocupacional com ambientes naturais e espaços ao ar livre representa uma abordagem promissora na saúde mental. As intervenções em áreas naturais, como jardins hospitalares, parques ou espaços rurais, resultam em melhorias no bem-estar psicológico e emocional dos pacientes.

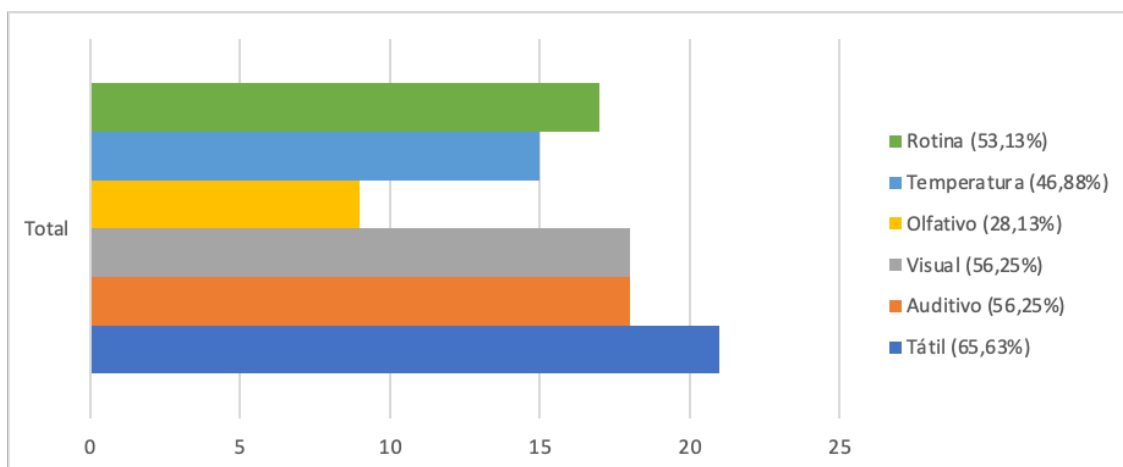
No contexto das necessidades educacionais especiais, a criação de jardins assume ainda mais importância, pois oferece um ambiente que promove o bem-estar e a inclusão. Tais espaços podem ser utilizados para o desenvolvimento de técnicas de terapia ocupacional, ao invés de serem realizados em ambientes fechados. Borges e Paiva (2009 *apud* Toledo; Cordeiro, 2023) apontam que os jardins são concebidos para proporcionar entretenimento e satisfação, permitindo aos indivíduos com condições especiais vivenciar experiências sensoriais que contribuem para o aprimoramento de sua qualidade de vida.

Análise dos Gatilhos

A análise das entrevistas com 32 tutores de pacientes pediátricos do HCB revelou os principais gatilhos sensoriais que impactam negativamente o bem-estar das crianças. Entre os participantes, 65,63% relataram desconforto com estímulos táteis, como texturas de roupas, pulseiras hospitalares e superfícies de contato. Gatilhos auditivos, como ruídos constantes, foram apontados por 56,25% dos entrevistados. Além disso, a exposição à luz intensa e ambientes visualmente sobrecarregados também afetaram 56,25% das crianças (Figura 1).

Esses gatilhos sensoriais frequentemente resultam em agitação, estresse e dificuldade de adaptação ao ambiente hospitalar. Os dados coletados reforçam a importância de intervenções específicas para mitigar esses estímulos, proporcionando um ambiente adequado às necessidades das crianças com TPS.

Figura 1 – N total de apresentação de gatilhos de pacientes diagnosticados com condições clínicas relacionadas ao Transtorno de Processamento Sensorial



Projeto Jardim Sensorial Primavera

Os jardins terapêuticos são espaços naturais projetados para estimular os sentidos dos usuários através de elementos como cores, aromas, texturas e sons, facilitando tanto atividades passivas, como observação, quanto ativas, como caminhada e interação com plantas e animais (Sousa, 2016). Esses ambientes têm se mostrado valiosos na promoção da saúde e bem-estar, especialmente em hospitais. De acordo com Sarmento (2020), a interação com a natureza em jardins terapêuticos reduz o estresse, melhora a qualidade do sono e contribui para a recuperação dos pacientes. Um estudo realizado em um hospital pediátrico evidenciou que a presença de jardins terapêuticos aumentou a satisfação dos usuários, recomendando a implementação desses espaços em outros ambientes assistenciais.

Para Paris, Mukai e Roesler (2021), a principal função dos jardins terapêuticos em hospitais é auxiliar na recuperação e humanização do atendimento de saúde, proporcionando benefícios físicos e emocionais aos pacientes e criando um ambiente acolhedor. O Jardim *Morgan Stanley*, do *Great Ormond Street Hospital*, é um exemplo notável, combinando design e natureza para promover conforto e bem-estar emocional dos pacientes.

Além disso, jardins sensoriais têm ganhado destaque, especialmente para pessoas com limitações físicas ou mentais. Esses jardins, projetados para estimular os cinco sentidos humanos, visam promover o desenvolvimento individual e a integração social, sendo benéficos na estimulação sensorial, conscientização ambiental e aprendizado interdisciplinar (Leão, 2007 *apud* Cardoso, 2022; Osório, 2018). A origem dos jardins sensoriais remonta à década de 1970 no Reino Unido, inicialmente destinados a pessoas com deficiência visual, mas a partir da década de 1980, passaram a ser abertos ao público em geral, simbolizando um marco na acessibilidade e inclusão social (Hussein, 2010 *apud* Cardoso, 2022).

A pesquisa de Sousa (2016) destaca a importância de planejar jardins sensoriais com elementos que estimulem os sentidos, como plantas aromáticas, texturas variadas e elementos sonoros, criando um ambiente estimulante e agradável. Esses espaços devem ser adaptados às necessidades específicas da população atendida, promovendo uma experiência única de interação com a natureza.

No contexto do autismo, Mostafa (2015) enfatiza a importância de controlar os estímulos sensoriais no ambiente, ajustando-o conforme as necessidades específicas de indivíduos autistas. Sua pesquisa levou ao desenvolvimento do índice "ASPECTSS", que fornece diretrizes para criar espaços arquitetônicos inclusivos, considerando aspectos como acústica, zoneamento sensorial e segurança.

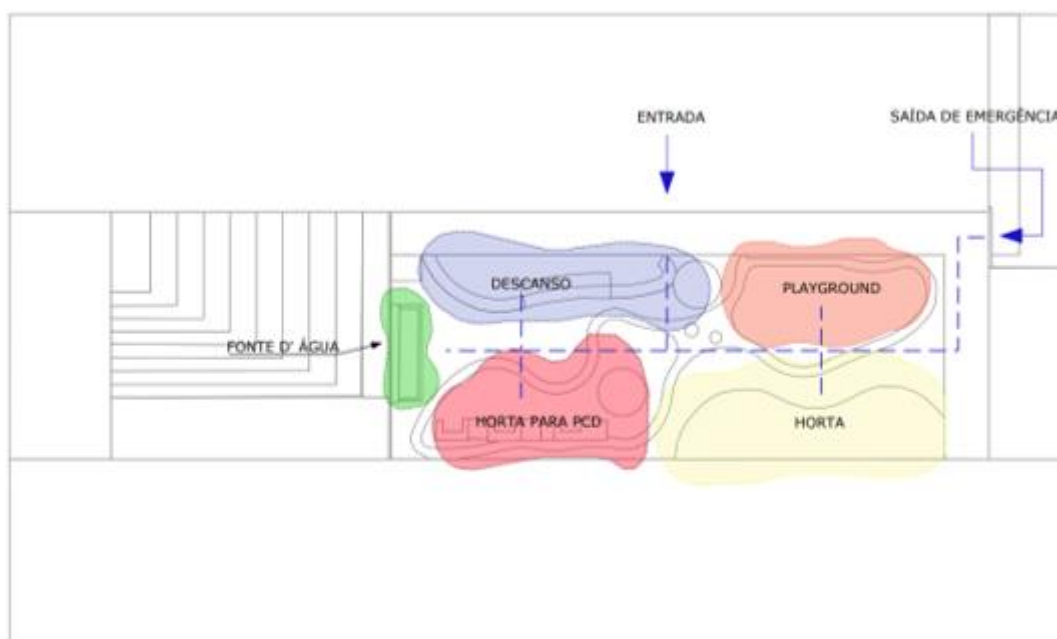
O Jardim Sensorial Primavera é um projeto desenvolvido para o HCB, com o objetivo de promover o bem-estar e a recuperação das crianças em tratamento, especialmente aquelas

com TPS. Pensado como um espaço terapêutico, o jardim foi idealizado para oferecer um ambiente de alívio sensorial e emocional, proporcionando momentos de descanso, aprendizado e interação com a natureza durante o período de tratamento.

O projeto inclui diversas áreas planejadas para estimular os sentidos das crianças de forma inclusiva e segura. A horta foi projetada para permitir a interação com plantas, desenvolvendo os sentidos e promovendo atividades de jardinagem. O parque sensorial, por sua vez, possui elementos que estimulam o tato e a visão, com pisos de diferentes texturas e cores vibrantes. Para garantir a acessibilidade, o projeto contempla mesas adaptadas para cadeirantes, além de permitir a interação entre crianças com e sem limitações de mobilidade, favorecendo a socialização.

O espaço de descanso foi idealizado para ser um local tranquilo, com sombra adequada e um ambiente de contato com a natureza, promovendo relaxamento para as crianças, pais e funcionários. O projeto do jardim busca ser um ambiente acolhedor e terapêutico, criando um refúgio dentro do hospital, onde as crianças possam se sentir mais confortáveis e conectadas à natureza. Embora o projeto ainda não tenha sido executado, ele representa uma proposta para criar um espaço inclusivo, sensorial e terapêutico no contexto hospitalar, visando contribuir para o processo de recuperação e qualidade de vida das crianças (Figura 2).

Figura 2 – Diagrama de Bolhas - Distribuição das áreas.



Fonte: a autora.

Conclusão

O Jardim Sensorial Primavera é um projeto desenvolvido para o HCB, com o objetivo de criar um ambiente terapêutico que auxilia no tratamento de crianças com TPS. Com foco em bioconstrução e design sustentável, o projeto propõe o uso de materiais ecológicos e paisagismo que favoreçam tanto a estimulação sensorial quanto o bem-estar das crianças. Ao integrar elementos naturais e práticas sustentáveis, busca-se oferecer um espaço que contribua para a recuperação, promovendo uma experiência inclusiva, terapêutica e ambientalmente responsável.

Referências

- BISHOP, R.; UNDERWOOD, F.; BURROWS, L.; FRASER, F.; SHAW, J. Characteristics of natural environment use by occupational therapists working in mental health: a scoping review protocol. **JBI Evidence Synthesis**, v. 21, n. 4, p. 753-761, 2022. DOI: 10.11124/JBIES-22-00075.
- CARDOSO, V. L. **Proposta projetual de jardim sensorial para pessoas com Transtorno do Espectro Autista (TEA) aplicado aos princípios da arquitetura biofílica**. 2022. TCC (Graduação em Arquitetura e Urbanismo) – Centro Universitário Salesiano, Vitória, 2022.
- CASE-SMITH, J.; BRYAN, T. The effects of occupational therapy with sensory integration emphasis on preschool - age children with autism. **American Journal of Occupational Therapy**. v. 53, n. 5, p. 489-497, set./out. 2015. DOI: 10.5014/ajot.53.5.489.
- LEÃO, J. **Identificação, e seleção de espécies vegetais destinadas à instalação de jardins sensoriais táteis para deficientes visuais em Piracicaba (SP), Brasil**. 2007. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.
- MACHADO, A. *et al.* Processamento sensorial no período da infância em crianças nascidas pré-termo: revisão sistemática. *Revista Paulista de Pediatria*, v. 35, n. 1, jan./mar. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/1984-0462/;2017;35;1;00008>.
- MOSTAFA, M. Arquitetura e design para pessoas com autismo: o índice ASPECTSS. **Revista Brasileira de Arquitetura e Urbanismo**, São Paulo, v. 50, n. 2, p. 123-145, 2015.
- OSÓRIO, M. G. W. **O jardim sensorial como instrumento para educação ambiental, inclusão e formação humana**. 2018. TCC (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2018.
- PARIS, B. C.; MUKAI, H.; ROESLER, D. A. Jardins terapêuticos hospitalares: bases teóricas e diretrizes projetuais. **Revista Projetar**, v. 6, n. 3, p. 84-90, set. 2021. DOI: 10.21680/2448-296X.2021v6n3ID25099.
- SARMENTO, B. R. **O projeto de jardins terapêuticos e suas relações com a saúde**. 2020. TCC (Estágio Supervisionado de Arquitetura e Urbanismo) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2020.
- SOUSA, S. **Jardins terapêuticos em unidades de saúde: aplicação de uma metodologia de projeto centrado no utilizador para populações com necessidades especiais: caso de estudo do Centro de Reabilitação e Integração Ouriense**. 2016. Dissertação (Mestrado em Arquitetura Paisagista) – Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2016.
- TOLEDO, M.; CORDEIRO, H. Florindo a jornada da inclusão: os benefícios dos jardins sensoriais na promoção do bem-estar e desenvolvimento de pessoas com necessidades educacionais específicas (NEE). *In: JORNADA CIENTÍFICA IFSULDEMINAS*, 2023. **Anais [...]**. Muzambinho: IFSULDEMINAS, 2023.
- WAGENFELD, A.; ATCHISON, B. Putting the occupation back in occupational therapy: a survey of occupational therapy practitioners' use of gardening as an intervention. **The Open**

Journal of Occupational Therapy, v. 2, n. 4, 2014. DOI: <https://doi.org/10.15453/2168-6408.1128>.

ESTUDO DO MICROAMBIENTE TUMORAL EM LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA B DE BOM PROGNÓSTICO EM PACIENTES PEDIÁTRICOS

Paschoal Macedo Calori Rosseti¹
João Lucas Cruz Souza²

Resumo

Introdução: a Leucemia Linfoblástica Aguda de linhagem B (LLA-B) representa cerca de 80% dos casos pediátricos. Os subtipos t(12;21), t(1;19) e hiperdiploidia estão associados a um bom prognóstico, mas ainda apresentam risco significativo de recaída. O microambiente tumoral, composto por células imunes e estromais, influencia a progressão da doença e a resposta ao tratamento. **Objetivos:** analisar o microambiente tumoral em pacientes com LLA-B e correlacionar seus achados com desfechos clínicos. **Métodos:** estudo retrospectivo, com 140 pacientes do Hospital da Criança de Brasília (HCB). Os dados foram coletados no REDCap e analisados no Excel. A avaliação do microambiente tumoral foi realizada por citometria de fluxo, incluindo células mesenquimais, endoteliais e estromais. **Resultados:** foram analisados 43 pacientes, permitindo avaliar a influência celular no prognóstico. Os parâmetros D33ESTR e D33MESENQTOTAL mostraram impacto na sobrevivência global e taxa de recaída. **Conclusão:** a caracterização do microambiente tumoral nos subtipos t(12;21) e t(1;19) pode aprimorar a compreensão das interações celulares e auxiliar no desenvolvimento de estratégias terapêuticas personalizadas.

Palavras-chaves: leucemia linfoblástica aguda; microambiente neoplásico; aberrações cromossômicas; criança.

Introdução

A Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) é uma neoplasia hematológica agressiva caracterizada pela proliferação maligna de precursores linfóides imaturos, com origem na medula óssea. Dentre suas variantes, a LLA de linhagem B (LLA-B) representa a forma mais prevalente na infância. Embora a leucemia, em geral, demande múltiplas mutações genéticas para sua instalação, no caso da LLA, menos de dez alterações são frequentemente suficientes para desencadear a transformação neoplásica. Alterações em genes de fusão, como ETV6/RUNX1 e TCF3/PBX1, além de hiperdiploidia (presença de mais de 50 cromossomos), estão entre as alterações genéticas mais comuns, especialmente em casos pediátricos. A via RAS e os receptores de tirosina quinase também participam da cascata molecular da LLA, conferindo potencial proliferativo e resistência à apoptose às células leucêmicas.

¹ Acadêmico de Medicina da Escola Superior de Ciências da Saúde do Distrito Federal (ESCS) e bolsista de iniciação científica do Hospital da Criança de Brasília (HCB).

² Biólogo pela Universidade de Pernambuco (UPE), Mestre em Biociências e Biotecnologia em Saúde pela Fundação Oswaldo Cruz e Citogeneticista do LPT do Hospital da Criança de Brasília (HCB).

Apesar dos avanços terapêuticos, a LLA ainda constitui a principal causa de óbito por câncer em crianças e jovens adultos. A estratificação de risco com base em marcadores genéticos tem desempenhado papel fundamental no ajuste terapêutico, especialmente diante da variabilidade prognóstica entre subgrupos moleculares. Embora fusões gênicas e hiperdiploidia estejam associadas a bom prognóstico, recaídas continuam sendo um desafio clínico significativo, exigindo abordagens terapêuticas cada vez mais personalizadas.

Do ponto de vista clínico, a apresentação da LLA-B é frequentemente inespecífica, dificultando o diagnóstico precoce. Artralgias e dores ósseas podem ser os únicos sintomas iniciais. Uma anamnese minuciosa pode revelar sinais adicionais como fadiga, dispneia, hematomas, distensão abdominal, parestesias, linfadenopatia e inchaço testicular. O exame físico pode evidenciar esplenomegalia, hepatomegalia, petéquias, equimoses e até massas testiculares ou abdominais, indicando envolvimento multissistêmico. Tais manifestações, quando associadas a alterações laboratoriais, devem aumentar a suspeita diagnóstica.

O diagnóstico da LLA baseia-se na integração de dados clínicos, hemogramas, biópsia de medula óssea e imunofenotipagem por citometria de fluxo. A presença de $\geq 20\%$ de linfoblastos na medula óssea ou sangue periférico é critério diagnóstico segundo as diretrizes atuais. A citometria de fluxo permite caracterização detalhada das populações celulares, com destaque para marcadores como CD34, CD117, CD133, CD99, CD45 e TdT, fundamentais para definir a imaturidade celular e a linhagem envolvida. Alterações hematológicas como anemia, leucopenia, trombocitopenia e evidências de coagulação intravascular disseminada (com aumento de fibrinogênio e dímero-D) são achados comuns. Marcadores bioquímicos, como elevação de DHL, ácido úrico, potássio e fosfato, apontam para síndrome de lise tumoral, especialmente nos casos com alta carga tumoral.

O tratamento segue protocolos poliquimioterápicos divididos em três fases: indução, consolidação e manutenção. A fase de indução utiliza vincristina, corticosteróides, pegaspargase, com ou sem antraciclinas. A consolidação visa eliminar clones resistentes e prevenir recaídas precoces. A fase de manutenção, com duração de dois a três anos, inclui profilaxia do sistema nervoso central. A estratificação baseada em Doença Residual Mínima (DRM), avaliada por citometria de fluxo, é essencial para guiar a intensidade terapêutica. No Brasil, o protocolo GBTLI é amplamente adotado em centros de referência como o Hospital da Criança de Brasília.

Nos últimos anos, tem-se reconhecido o papel determinante do microambiente tumoral na fisiopatologia da LLA. A interação entre as células leucêmicas e o estroma medular cria um nicho permissivo para a sobrevivência e evasão imunológica. No microambiente da medula óssea, o eixo CXCL12-CXCR4, a sinalização por β -catenina e a presença de macrófagos do tipo M2 (TAMs) promovem crescimento celular e angiogênese, via liberação de VEGF. Estudos sugerem que o processo leucêmico pode iniciar ainda in utero, com expansão clonal favorecida por um segundo "hit" genético pós-natal, que desencadeia a conversão para células B leucêmicas (BCP-ALL). A modulação do microambiente, portanto, representa um campo promissor para terapias-alvo emergentes.

O objetivo geral do trabalho foi analisar o microambiente tumoral de pacientes pediátricos do HCB com leucemia linfoblástica aguda do tipo B (LLA-B) que apresentam fusões gênicas *ETV6/RUNX1*, *TCF3/PBX1*, ou alta hiperdiploidia, a fim de identificar fatores associados à remissão completa ou à ocorrência de recaídas. De maneira mais específica, os objetivos foram: descrever os achados clínicos e laboratoriais dos pacientes pediátricos do HCB classificados nos grupos de bom prognóstico de LLA-B do período de 2012 a 2022; analisar a composição celular estromal do microambiente tumoral em pacientes selecionados, a partir de 2020, por meio dos arquivos de citometria de fluxo para avaliação da DRM; avaliar a influência do microambiente tumoral na ocorrência de eventos de recaída; correlacionar o perfil celular de microambiente e o desfecho do paciente.

Metodologia

Este estudo transversal descritivo retrospectivo foi conduzido a partir da análise de prontuários médicos e do banco de dados do Laboratório de Pesquisa Translacional (LPT) do Hospital da Criança de Brasília (HCB), com foco em pacientes diagnosticados com Leucemia Linfoblástica Aguda de linhagem B (LLA-B) entre 2012 e 2022. Para análise do microambiente tumoral, foram incluídos apenas os casos diagnosticados a partir de 2020, quando se iniciou a utilização sistemática de painéis de anticorpos para avaliação da doença residual mínima (DRM) por citometria de fluxo multiparamétrica, possibilitando a caracterização de subpopulações celulares estromais.

As amostras utilizadas incluíram aspirado de medula óssea e/ou sangue periférico coletados no diagnóstico e nas recaídas, bem como arquivos citométricos obtidos durante o monitoramento terapêutico conforme protocolo clínico. Os critérios de inclusão abrangeram pacientes de 0 a 18 anos com LLA-B associada a ETV6/RUNX1, TCF3/PBX1 ou alta hiperdiploidia, submetidos a protocolos terapêuticos apropriados à sua estratificação de risco. Foram excluídos pacientes com recaída ou refratariedade atribuídas à não adesão terapêutica.

As variáveis analisadas contemplaram dados demográficos (idade, sexo), clínicos (data do diagnóstico, protocolo terapêutico, classificação de risco baseada na DRM) e genéticos (translocações t(12;21) e t(1;19), hiperdiploidia). A DRM e a composição do microambiente tumoral foram avaliadas por citometria de fluxo, utilizando os painéis de oito cores do EuroFlow, com anticorpos específicos para CD81, CD66c, CD123, CD19, CD34, CD10, CD38, CD20, CD45, CD73 e CD304. Os dados citométricos foram processados no software Infinicity (Cytognos) e validados por dupla análise independente.

Todos os dados foram armazenados na plataforma REDCap, com acesso restrito e conforme diretrizes éticas estabelecidas. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCB (CAAE: 67108523.9.0000.0144), com consentimento informado dos responsáveis e assentimento dos pacientes, quando aplicável.

A análise estatística foi realizada nos softwares Microsoft Excel (2016) e SPSS v.23, com testes bilaterais e nível de significância de 5%. Foram aplicadas análises descritivas, curvas ROC, testes de associação, correlação e análise de sobrevivência (Kaplan-Meier e regressão de Cox), com categorização das variáveis em níveis quantitativos e qualitativos para identificação de padrões clínicos e biológicos relevantes.

Resultados e discussão

A presente investigação aprofunda-se no papel prognóstico do microambiente tumoral em pacientes pediátricos com Leucemia Linfoblástica Aguda de linhagem B (LLA-B), demonstrando, por meio de dados clínicos, moleculares e citométricos, que a caracterização quantitativa e funcional das células estromais e endoteliais pode contribuir de forma substancial para a estratificação de risco e para a predição de recaída ou óbito. Tais achados corroboram e expandem o entendimento de que o microambiente não atua como mero suporte estrutural, mas como um elemento dinamicamente ativo na biologia leucêmica.

Entre os 140 pacientes avaliados retrospectivamente, uma proporção significativa (68,6%) apresentou translocações genéticas recorrentes, sendo t(12;21) a mais prevalente, e 36,4% exibiram hiperdiploidia, ambos considerados fatores de bom prognóstico conforme literatura vigente. Contudo, mesmo dentro desses subgrupos, a ocorrência de recaídas e óbitos foi observada, o que levanta hipóteses sobre a existência de variáveis prognósticas adicionais — entre elas, o comportamento do microambiente tumoral e a resposta terapêutica aferida pela doença residual mínima (DRM).

Na análise do subgrupo com avaliação do microambiente (n=43), a cinética de negatificação da DRM mostrou-se relevante (tabela 1): enquanto 90,7% dos pacientes eram DRM-positivos no 15º dia (D15), esse número caiu para 16,3% no 33º dia (D33) e apenas 5% no 78º dia (D78), o que está em consonância com os protocolos contemporâneos que consideram a negatificação precoce da DRM um forte indicador de resposta adequada à quimioterapia. Porém, a presente análise vai além ao integrar esses dados com o perfil imunofenotípico do microambiente.

Tabela 1 – Análise descritiva das variáveis qualitativas do resultado do DRM durante o tratamento de LLA-B CMA, n=43

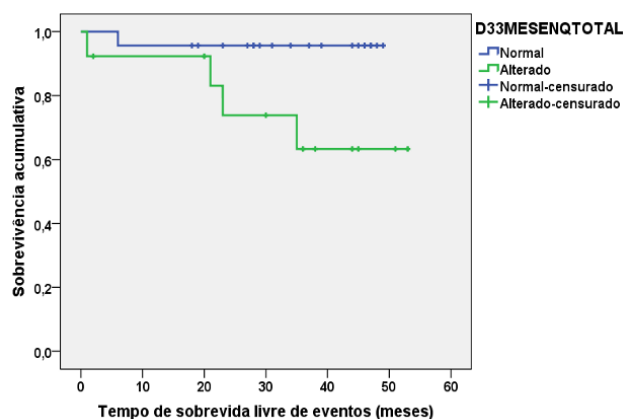
		n	%
DRM 15	Negativos	4	9,30
	Positivos	39	90,70
DRM 33	Negativos	36	83,72
	Positivos	7	16,28
DRM 78	Negativos	35	81,39
	Positivos	2	4,65
	Sem informação	6	13,95

As análises de citometria de fluxo, realizadas com painéis multiparamétricos de oito cores, permitiram quantificar células estromais, endoteliais e mesenquimais nos diferentes momentos de avaliação. Utilizando curvas ROC, foram definidos pontos de corte para variáveis como DRM15VALOR, D33ESTR, D33ENDOTOTAL e D33MESENQTOTAL. Pacientes com valores acima desses pontos apresentaram sobrevida significativamente menor, tanto em termos de sobrevida global quanto de sobrevida livre de eventos. Tais associações foram estatisticamente robustas, como evidenciado pelas curvas de Kaplan-Meier e pelos testes de Log Rank com valores de $p < 0,05$ para todas essas variáveis.

Notavelmente, a regressão de Cox apontou que pacientes com DRM positiva no D15 tinham risco 13 vezes maior de recaída ou óbito ($p = 0,027$) (figura 1), enquanto alterações em D33ESTR conferiram um risco 30 vezes superior ($p = 0,018$). Essa magnitude de associação fortalece a hipótese de que o microambiente tumoral pode conferir resistência ao tratamento, especialmente em fases precoces da indução quimioterápica, possivelmente por promover nichos protetores para as células leucêmicas.

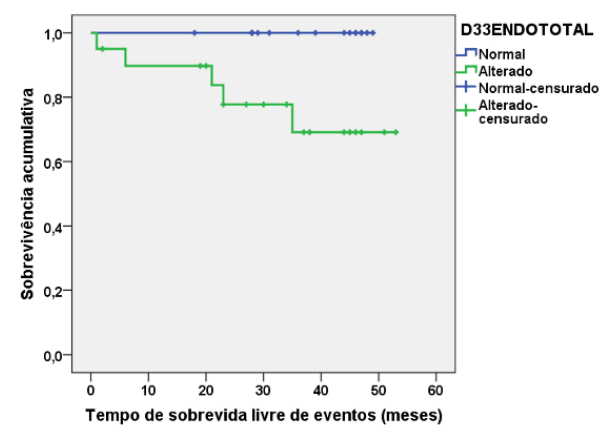
Esses dados convergem com achados prévios da literatura, como os relatados na tese de doutorado de Oliveira (2019), que também identificou o aumento de células endoteliais como fator de risco independente para pior evolução clínica. No presente estudo, a análise bivariada confirmou que alterações nos parâmetros D33ESTR e D33MESENQTOTAL (figura 1) foram significativamente associadas a maior risco de recaída ou óbito, com razões de chance de 11,5 e 9,8, respectivamente ($p = 0,034$ e $p = 0,047$). Tais valores reforçam que o ambiente perivascular e mesenquimal não apenas abriga, mas ativa vias de sinalização que favorecem a persistência da doença.

Figura 1 – Curva de probabilidade de sobrevida livre de eventos por D33MESENQTOTAL, de Kaplan-Meier, para pacientes pediátricos atendidos no serviço de Oncologia do HCB diagnosticados com LLA-B, no Laboratório de Pesquisa Translacional (LPT), de janeiro de 2020 a dezembro de 2022. Sobrevivência acumulativa final = 0,957 (normal) e 0,633 (alterado)



Ao contrário de outras análises prognósticas baseadas exclusivamente em genética ou cinética da DRM, esta abordagem integrada permite reconhecer pacientes que, mesmo apresentando translocações favoráveis como t(12;21) ou hiperdiploidia, mantêm componentes microambientais desfavoráveis que podem comprometer a erradicação completa da doença. Esse fenômeno é particularmente evidente nos pacientes com alteração em D33ENDOTOTAL, cuja análise de sobrevivência demonstrou que nenhum paciente classificado como “normal” apresentou recaída ou óbito — evidência de forte valor preditivo negativo (figura 2).

Figura 2 – Curva de probabilidade de sobrevida livre de eventos por D33ENDOTOTAL, de Kaplan-Meier, para pacientes pediátricos com LLA-B no Laboratório de Pesquisa Translacional (LPT)



Outro aspecto relevante do presente estudo foi a capacidade da análise do microambiente de antecipar desfechos clínicos antes que estes se tornassem clinicamente evidentes, o que abre margem para intervenções precoces e individualizadas. Pacientes com DRM15VALOR alterada e idade ao diagnóstico inferior apresentaram risco significativamente aumentado de eventos adversos, destacando a importância da interação entre fatores biológicos intrínsecos do paciente (idade, carga genética) e extrínsecos (nicho tumoral).

Do ponto de vista metodológico, a padronização dos painéis de anticorpos utilizados (EuroFlow) confere alta reprodutibilidade e aplicabilidade clínica aos achados. Além disso, o uso de ferramentas estatísticas robustas — como análise multivariada de Cox, curvas ROC e testes exatos de Fisher — garante a solidez dos resultados, ainda que o tamanho amostral seja relativamente modesto (n=43) para a subcoorte com microambiente caracterizado. Tal

limitação, no entanto, é atenuada pela significância estatística obtida, que indica forte poder discriminativo mesmo em coorte reduzida.

Em síntese, os dados aqui apresentados contribuem de forma substancial para o avanço da compreensão do papel do microambiente tumoral na LLA-B pediátrica, propondo que variáveis como D33ESTR e D33MESENQTOTAL sejam consideradas como potenciais biomarcadores prognósticos complementares à DRM e aos dados genéticos. Estes achados sugerem a viabilidade de incorporar avaliações do microambiente em protocolos clínicos de estratificação de risco e vigilância terapêutica, sobretudo em pacientes inicialmente classificados como de bom prognóstico, mas que apresentam perfis microambientais desfavoráveis.

Do ponto de vista translacional, este estudo reforça o paradigma emergente de que o sucesso terapêutico na LLA-B depende não apenas da eliminação da célula leucêmica em si, mas também da modulação do nicho tumoral que a sustenta. Nesse contexto, estratégias terapêuticas combinadas — incluindo agentes direcionados a componentes estromais e endoteliais — merecem investigação futura como adjuvantes à quimioterapia convencional.

Finalmente, os dados aqui relatados abrem caminho para futuros estudos multicêntricos e de validação externa, que deverão ampliar a coorte, diversificar os contextos clínicos e testar intervenções precoces baseadas na modulação do microambiente. Tais iniciativas serão fundamentais para consolidar o valor clínico das variáveis microambientais e viabilizar sua integração nos algoritmos contemporâneos de manejo da LLA-B pediátrica.

Conclusões

Este estudo evidencia o papel determinante do microambiente tumoral na evolução clínica da Leucemia Linfoblástica Aguda de linhagem B (LLA-B), ao demonstrar que parâmetros celulares — como a proporção de células estromais e endoteliais — e a cinética da doença residual mínima (DRM) estão fortemente associados ao risco de recaída e óbito. Marcadores como D33ESTR e D33MESENQTOTAL mostraram significância estatística como preditores de desfecho adverso, reforçando a ideia de que o nicho medular não apenas abriga, mas protege as células leucêmicas da ação terapêutica. Esses achados dialogam com a literatura recente, especialmente com a tese da Dra. Elen de Oliveira (2019), e ampliam a compreensão sobre a interação entre células tumorais e seu microambiente.

Apesar da limitação imposta pelo tamanho amostral reduzido, os resultados obtidos oferecem fundamentos sólidos para futuros estudos com maior poder estatístico. O Hospital da Criança de Brasília, enquanto centro de excelência, dispõe da infraestrutura e do volume de casos necessários para a expansão dessa linha de pesquisa. A incorporação de biomarcadores do microambiente à estratificação de risco pode aprimorar a personalização do tratamento, possibilitando intervenções precoces e estratégias terapêuticas mais precisas, com potencial impacto positivo na sobrevida e na qualidade de vida de pacientes pediátricos com LLA-B.

Referências

ACUTE Lymphoblastic Leukemia in Children. **Clinicalkey:** Clinical Overview, 20 mar. 2025. Disponível em: https://www.clinicalkey.com/#!/content/clinical_overview/67-s2.0-d814669e-9145-4ffc-bafa-afc2fb806c22. Acesso em: 10 ago. 2024.

BAKHTIYARI, M. *et al.* The role of bone marrow microenvironment (BMM) cells in acute myeloid leukemia (AML) progression: immune checkpoints, metabolic checkpoints, and signaling pathways. **Cell Communication and Signaling**, v. 21, n. 1, p. 252, set. 2023. DOI: 10.1186/s12964-023-01282-2.

BOGLIOLO, L.; BOGLIOLO, A. M. **Patologia**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018.

CICALI, E. J.; MOSLEY, S. A.; CAVALLARI, L. H. Pharmacogenetics. *In*: WECKER, L. (ed.). **Brody's human pharmacology**. 6. ed. [S. l.]: Elsevier, 2019. p. 41-48.

DONGEN, J. J. M. *et al.* Standardized RT-PCR analysis of fusion gene transcripts from chromosome aberrations in acute leukemia for detection of minimal residual disease: Report of the BIOMED-1 Concerted Action: Investigation of minimal residual disease in acute leukemia. **Leukemia**, v. 13, n. 12, p. 1901-1928, 1999. DOI: 10.1038/sj.leu.2401592.

FORD, A. M. *et al.* Origins of "late" relapse in childhood acute lymphoblastic leukemia with TEL-AML1 fusion genes. **Blood**, v. 98, n. 3, p. 558-564, 1 ago. 2001. DOI: 10.1182/blood.v98.3.558.

GARCIA-GIMENEZ, A.; RICHARDSON, S. E. The role of microenvironment in the initiation and evolution of B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. **Frontiers in Oncology**, v. 13, p. 1150612, 7 mar. 2023. DOI: 10.3389/fonc.2023.1150612.

HANAHAN, D. Hallmarks of cancer: new dimensions. **Cancer Discovery**, v. 12, n. 1, p. 31-46, 2022. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-21-1059.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. **Cell**, v. 144, n. 5, p. 646-674, 2011. DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013.

KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; ASTER, J. C. **Robbins e Cotran: bases patológicas das doenças**. 10. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2018.

LAKS, D. *et al.* Avaliação da sobrevida de crianças com leucemia linfocítica aguda tratadas com o protocolo Berlim-Frankfurt-Munique. **Jornal de Pediatria**, v. 79, n. 2, p. 149-158, 2003. DOI: 10.1590/S0021-75572003000200010.

OLIVEIRA, E. de. **Contribuição da imunofenotipagem por citometria de fluxo multiparamétrica no estudo do microambiente da leucemia linfoblástica aguda de precursor B**. 2019. Monografia (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

PALMI, C. *et al.* Cytoskeletal regulatory gene expression and migratory properties of B-cell progenitors are affected by the ETV6–RUNX1 rearrangement. **Genomics**, v. 104, n. 6, p. 530-537, dez. 2014. DOI: 10.1016/j.ygeno.2014.09.003.

VIAPIANO, M. S.; LAWLER, S. E. Malignant glioma microenvironment. *In*: WINN, H. R. (ed.). **Youmans and winn neurological surgery**. 7. ed. [S. l.]: Elsevier, 2017. p. 952-952.

VOM STEIN, A. F.; HALLEK, M.; NGUYEN, P. H. Role of the tumor microenvironment in CLL pathogenesis. **Seminars in Hematology**, v. 61, n. 3, p. 142-154, jun. 2024. DOI: 10.1053/j.seminhematol.2023.12.004.

WOOD, B. L.; CHERIAN, S.; BOROWITZ, M. J. The flow cytometric evaluation of hematopoietic neoplasia. *In*: McPHERSON, R. A.; PINCZOWSKI, M. R. (ed.). **Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods**. 23. ed. [S. l.]: Elsevier, 2017. p. 689-707.

XU, B. *et al.* Metabolic regulation of the bone marrow microenvironment in leukemia. **Blood Reviews**, v. 48, jul. 2021. DOI: 10.1016/j.blre.2020.100786.

XU, M. J.; HUMTSOE, J. O.; HA, P. K. Biology of head and neck cancers. *In*: HANKINSON, J. L. (ed.). **Cummings otolaryngology: head and neck surgery**. 6. ed. [S. l.]: Elsevier, 2021. p. 1032-1042.

PERFIL FENOTÍPICO E GENOTÍPICO DE CASOS SUSPEITOS E CONFIRMADOS DE DOENÇA GRANULOMATOSA CRÔNICA ATENDIDOS EM HOSPITAL TERCIÁRIO DO DISTRITO FEDERAL

Valkiria Kohlrausch Vidal Araujo¹
Karina Mescouto de Melo²

Resumo

Objetivo: Identificar as alterações genético-moleculares de pacientes com Doença Granulomatosa Crônica atendidos no ambulatório de imunologia do Hospital da Criança de Brasília José Alencar. **Metodologia:** Estudo transversal retrospectivo e prospectivo com dados de prontuários de pacientes com suspeita de imunodeficiência atendidos no serviço de Imunologia do Hospital da Criança de Brasília (HCB) no período de setembro de 2021 a dezembro de 2024. **Resultados:** Foram estudados 280 pacientes, 61,1% do sexo masculino e 37,86% eram lactentes. Abscessos e pneumonias foram as principais manifestações clínicas em 20,64% e 18,09% dos casos, respectivamente. O principal patógeno observado foi o *Staphylococcus aureus*. Ao todo, seis casos de Doença Granulomatosa Crônica (DGC) foram diagnosticados. Quatro pacientes apresentavam mutação no gene *NCF1* e dois no gene *CYBB*. Dois pacientes foram submetidos ao tratamento curativo de transplante de medula óssea (TMO). **Conclusão:** Houve uma frequência elevada de casos confirmados de DGC, 1 em cada 46 testes realizados, o que demonstra a importância do exame para a população estudada. Foi possível ainda estabelecer a conduta terapêutica específica, incluindo o TMO, nos casos positivos, permitindo a cura da doença e aumento na expectativa de vida dos pacientes.

Palavras-chave: doença granulomatosa crônica; doenças da imunodeficiência primária; NADPH oxidase; citometria de fluxo; pediatria.

Introdução

A Doença Granulomatosa Crônica (DGC) é um Erro Inato da Imunidade (EII) raro, com uma incidência de 1 caso a cada 200.000 a 250.000 nascidos vivos (Holland, 2013; O'donovan *et al.*, 2024). A DGC é caracterizada pela disfunção do complexo NADPH oxidase, que é responsável por produzir espécies reativas de oxigênio (ROS) nos fagossomos das células fagocitárias como os macrófagos, neutrófilos, monócitos e eosinófilos (Kutlug *et al.*, 2018).

O complexo enzimático NADPH oxidase é composto por duas proteínas presentes na membrana celular: a gp91 phox e gp22 phox, codificadas respectivamente pelos genes *CYBB* e *CYBA*, e por outras três proteínas presentes no citosol: p47 phox, p67 phox, p40 phox, codificadas respectivamente pelos genes *NCF1*, *NCF2* e *NCF4*. O defeito da proteína gp91 é a forma mais comum da DGC, conhecida também como DGC ligada ao X (X-DGC). A forma autossômica recessiva da DGC (AR-DGC) é relacionada às outras subunidades codificadas

¹ Acadêmica de Medicina do Centro Universitário do Planalto Central (UNICEPLAC) e Bolsista de iniciação científica do Hospital da Criança de Brasília (HCB).

² Médica Pediatra Imunologista e Pesquisadora do Hospital da Criança de Brasília (HCB).

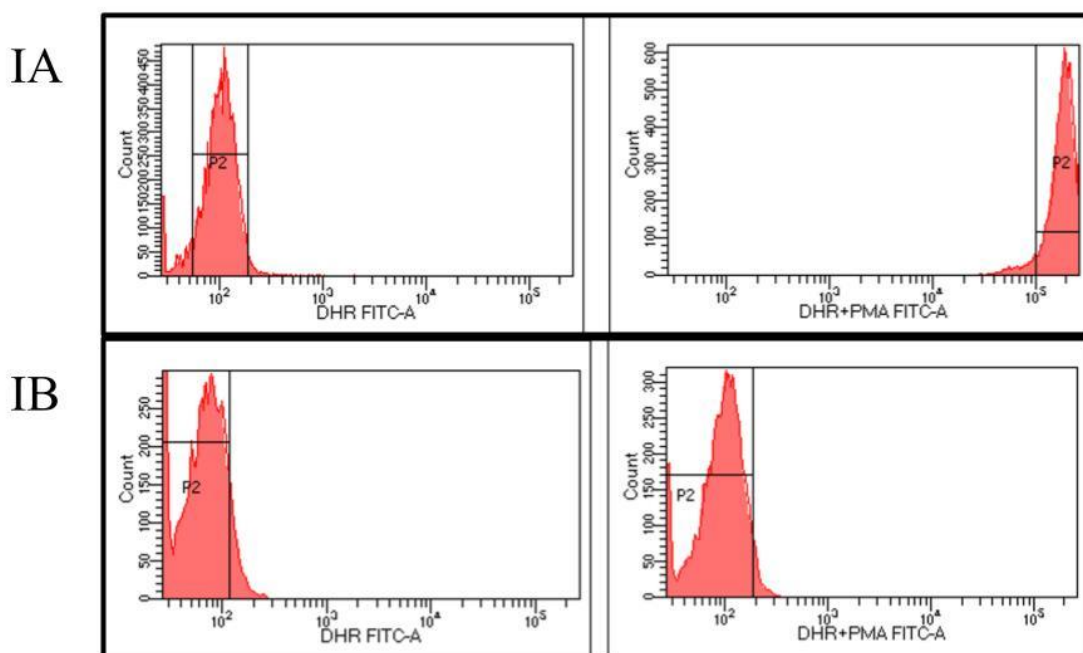
pelos Genes *CYBA*, *NCF1*, *NCF2* e *NCF4*, com destaque para o gene *NCF1* responsável pela principal forma autossômica e a segunda maior causa de DGC após a X-DGC (Segal *et al.*, 2000; Justiz-Vaillant *et al.*, 2023; Staudacher; Von Bernuth, 2024; O'donovan *et al.*, 2024).

O resultado da alteração no complexo NADPH é a incapacidade de destruição de microrganismos, provocando infecções graves e de repetição, especialmente em pulmão, pele, linfonodos e fígado. A DGC ligada ao X (X-DGC) tende a ter uma clínica mais grave, com manifestação clínica e óbito precoces, quando comparada às formas autossômicas recessivas. Os principais microrganismos relacionados à DGC são bactérias (com destaque para as catalase positivas) como por exemplo: *Staphylococcus aureus*, *Burkholderia cepacia*, *Serratia marcescens*, *Nocardia sp*, *Salmonella sp* e Bacilo Calmette-Guérin (BCG) e fungos como *Aspergillus sp.* e *Candida sp.* (Holland, 2013; Justiz-Vaillant *et al.*, 2023; Staudacher; Von Bernuth, 2024).

O diagnóstico é realizado por meio da avaliação clínica, além de exames laboratoriais. Entre os exames, citam-se os que avaliam a produção de reativos de oxigênio, entre eles o ânion superóxido, como o teste nitroblue tetrazolim (NBT) e o teste Di-hidrorodamina (DHR), além do sequenciamento genético. O DHR é o principal teste utilizado devido a sua simplicidade e boa sensibilidade (Oliveira-Junior *et al.*, 2015; Staudacher; Von Bernuth, 2024).

O teste DHR avalia a produção de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) pelos neutrófilos periféricos após estímulo com Phorbol-12-miristato-13-acetato (PMA) (Figura 1), que induz a ativação dessas células. Em seguida, há adição do corante fluorescente Di-hidrorodamina (DHR 123), e posteriormente é feita a análise por citometria de fluxo. Dessa maneira, os pacientes com desempenho adequado do complexo NADPH oxidase possuem forte fluorescência, em contrapartida, os pacientes com DGC demonstram ausência de fluorescência (Sun *et al.*, 2022).

Figura 1- Exemplo de análise por citometria de fluxo do teste Di-hidrorodamina (DHR). Figura 1A, exemplo de paciente com resultado normal. Observa-se aumento na fluorescência entre a amostra de sangue não estimulada e após a estimulação com PMA. Isso sugere de forma indireta a normalidade da atividade da NADPH oxidase nos granulócitos. 1B: Não há mudança na fluorescência entre a amostra com e sem estímulo de PMA. Isso indica a falta de produção de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) nos granulócitos após estímulo, sendo sugestivo de DGC



PMA : Phorbol-12-Miristato-13-Acetato

Fonte: elaboração da autora.

Em relação ao tratamento da DGC, a profilaxia de eventos infecciosos é realizada com uso de antibióticos, principalmente o Sulfametoxazol+Trimetoprim (SMZ-TMP) e antifúngicos como o Itraconazol. O tratamento curativo é feito com o transplante de medula óssea (TMO) (Holland, 2013; Slack; Thomsen, 2018; Staudacher; Von Bernuth, 2024).

Objetivos

Identificar as alterações genético-moleculares de pacientes com Doença Granulomatosa Crônica atendidos no serviço de imunologia do Hospital da Criança de Brasília José Alencar (HCB) e encaminhados para a realização do teste da Di-hidrorrodamina (DHR).

Como objetivos específicos: caracterizar as principais manifestações clínicas e dados laboratoriais dos pacientes com quadro clínico compatível de DGC; avaliar a função oxidativa de neutrófilos com produção de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) pelo teste da Di-hidrorrodamina (DHR) por citometria de fluxo em amostras de sangue periférico de pacientes com suspeita de DGC; identificar a presença de mutação específica no gene relacionado a DGC, por meio de sequenciamento do DNA nos pacientes com DHR alterado; comparar as alterações genético-moleculares encontradas com o fenótipo clínico-laboratorial dos pacientes estudados.

Metodologia

Estudo transversal retrospectivo e prospectivo, realizado no ambulatório de Imunologia do Hospital da Criança de Brasília José de Alencar (HCB) e no Laboratório de Pesquisa Translacional (LPT) do hospital.

Os dados foram recrutados entre setembro de 2021 e dezembro de 2024 com dados de prontuários dos pacientes. Em seguida, os dados foram coletados e processados pelo software REDCap. O recrutamento para pesquisa ocorreu durante as consultas no ambulatório de imunologia. Foram coletados os termos de Consentimento Livre e Esclarecido e o de Assentimento quando aplicável. O projeto de pesquisa principal foi protocolado na Plataforma Brasil, com o parecer aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa: CAAE: 54370121.2.0000.0144 Parecer nº:5.563.008.

Os dados coletados para estudo foram: data de nascimento, idade na realização do teste DHR, gênero, histórico clínico, história familiar, medicação prévia, transplante de medula óssea, internação, dias de internação, hemograma, imunoglobulinas séricas, subpopulação de linfócitos, se possui teste DHR prévio e seu resultado, laudo do teste DHR, índice de oxidação, sequenciamento genético e exames de cultura.

Resultados e Discussão

Dados epidemiológicos de pacientes com suspeita de DGC

Foram atendidos 280 pacientes de setembro de 2021 até dezembro de 2024, no ambulatório de Imunologia do HCB, com suspeita de DGC, encaminhados para a realização do teste DHR. Do total de pacientes, 61,1% (n=171) eram do sexo masculino e 38,9% (n=109) eram do sexo feminino, com mediana de idade de 3,25 anos, e intervalo de um mês até 18 anos.

Do total, 37,86% (n=106) eram lactentes (de 0 a 2 anos); 26,43% (n= 74) pré-escolares (de 2 a 6 anos); 20,36% (n=57) escolares (de 6 a 12 anos) e 15,36% (n=43) de adolescentes (de

12 a 18 anos). Assim como descrito na literatura (Staudacher; Von Bernuth, 2024), os primeiros sintomas são detectados principalmente na primeira infância.

Dentre as justificativas clínicas evidenciou-se a prevalência dos casos de abscessos (n=89), entre os quais, abscessos cutâneos (n=37), abscesso cerebral (n=18), abscesso pulmonar (n=13) e abscesso hepático (n=2). Houve ainda um número importante de casos de pneumonias (n=78), pneumonia grave (n=28), pneumonia recorrente (n=21) e pneumonia com derrame pleural (n=29). Em relação às outras justificativas relevantes foram observados 62 casos de doenças do trato gastrointestinal, sendo considerados casos de doença inflamatória intestinal de início precoce (n=18), diarreia crônica (n=29), fístula perianal (n=10) e Doença de Crohn (n=15). Houve ainda 12 casos de tuberculose (5 pulmonar e 7 extrapulmonar). As justificativas clínicas marcadas como “Outros” são formadas por várias outras manifestações clínicas, tais como: otite, meningite, endocardite, ITU, artrite séptica, monilíase, furunculose de repetição.

Como esperado, houve grande número de pacientes com quadros de infecções, principalmente com quadros de abscessos e pneumonias, sendo a doença pulmonar mais comum em pacientes com DGC (Justiz-Vaillant *et al.*, 2023). Além do comprometimento do trato gastrointestinal (TGI), acredita-se que 33% a 60% dos pacientes com DGC tenham comprometimento do sistema digestivo, sendo principalmente importante na primeira década de vida dos pacientes (Arnold; Heimall, 2017). Desta forma, os pacientes avaliados possuíam indicação clínica de realização do exame.

Outra manifestação importante, principalmente no contexto brasileiro e latino-americano, é a presença de BCGíte (Justiz-Vaillant *et al.*, 2023; Oliveira-Junior *et al.*, 2015). A vacina BCG faz parte do programa nacional de imunização do Brasil, contendo o patógeno vivo atenuado, assim os indivíduos com EII são mais suscetíveis a apresentar reações adversas como a BCGíte (Lyra *et al.*, 2022; Vignesh *et al.*, 2023). Por ser administrada logo após o nascimento, as reações adversas da vacina BCG podem ser a primeira manifestação da DGC (Khalili *et al.*, 2021), assim a indicação do exame nestes pacientes é mandatória (Oliveira-Junior *et al.*, 2015).

Em relação aos medicamentos em uso durante a coleta para o teste de DHR, 93 (%) dos pacientes já estavam em uso da medicação profilática com Sulfametoxazol + Trimetoprima (n=93). Porém um número relevante de pacientes fazia uso de outros medicamentos. Entre o grupo outros, citam-se: anti-inflamatórios, antieméticos, broncodilatadores, anticonvulsivantes e suplementos vitamínicos. O que evidencia a heterogeneidade dos pacientes avaliados.

Quanto ao histórico de hospitalização, 73,6% (n=206) pacientes foram internados no HCB e em 26,4% (n=74) não havia relato de internação prévia. A média de tempo de internação prévia foi de 24,30 dias, mediana de 17, com intervalo de 1 a 127 dias de internação.

Quanto aos testes de cultura, 146 realizaram uma ou mais culturas, totalizando em 245 testes, do total, apenas 92 exames de cultura vieram com resultado positivo. Dentre os microrganismos identificados, o principal foi o *Staphylococcus aureus* (n=16), seguido por *Klebsiella pneumoniae* (n= 11) e *Staphylococcus epidermidis* (n= 8).

Um percentual importante dos pacientes encaminhados para realização de DHR, tinha histórico de infecções graves, alguns por germes oportunistas, o que corrobora a necessidade da realização do exame para a exclusão ou confirmação da doença. Apesar dos diversos exames de cultura realizados nos pacientes com DGC confirmada, apenas uma paciente (DHR 123) apresentou resultado positivo, detectado o patógeno *Staphylococcus haemolyticus* em cultura de ponta de cateter vascular.

Em comparação dos microrganismos encontrados na amostra com a literatura (Holland, 2013; Oliveira-Junior *et al.*, 2015), foi observado a presença de outros patógenos relacionados com a DGC entre eles: *Burkholderia cepacia*, *Serratia marcescens* e *Candida sp.* Porém, o único microrganismo isolado em paciente com DGC confirmado não é descrito com significância na literatura, apenas em relatos de casos (Curnutte; Kipnes; Babior, 1975; Zhang *et al.*, 2022).

Sobre o resultado final dos pacientes que realizaram o teste DHR, 269 (96,07%) tiveram resultados normais em comparação ao controle, 4 (1,42%) foram inconclusivos e 7 (2,5%) pacientes tiveram resultado alterado. Em relação aos pacientes que realizaram mais de um de DHR, foi avaliado o resultado mais recente. O resultado do índice de oxidação apresentou uma mediana de 402, com o valor mínimo de 1 e máximo de 3373. Os valores mais baixos foram dos pacientes portadores de DGC: DHR-93 (IO= 1); DHR 123 (IO=18); DHR 124 (IO=1); DHR 45 (IO=2); DHR 221 (IO=2).

O paciente DHR-31, realizou o teste DHR após transplante de célula tronco, realizado em fevereiro de 2020, o teste foi normal, demonstrando a cura pelo transplante. Não foi possível refazer o teste nos pacientes com resultado inconclusivo por perda de seguimento e óbito. A paciente DHR 53, apesar de ter um resultado alterado (OI= 27), possuía diversas comorbidades e, por isso, fazia uso de diversas medicações durante o período de coleta do DHR. Foi realizado o sequenciamento genético onde nenhuma variante foi encontrada.

Quanto ao desfecho destes pacientes (com teste DHR normal), aproximadamente 44 pacientes receberam alta da imunologia por não haver identificação de EII, 112 pacientes mantêm o acompanhamento na especialidade. Outros 55 pacientes apresentaram diagnósticos de outros defeitos do sistema imunológico ou condições secundárias que o afetam, tais como: Deficiência de G6PD, Doença de Crohn, Deficiência de Anticorpo Específico, Deficiência Seletiva de IgM, Linfopenias, Hipogamaglobulinemias, Neutropenias e Síndromes (Desregulação imune, poliendocrinopatia e enteropatia ligada ao X ou síndrome IPEX, Wiskott-Aldrich, Linfoproliferativa Ligada ao X- XLP, entre outras). Dois pacientes foram diagnosticados com DGC fora da instituição, apresentando DHR normal após TMO, quando foi coletado o teste. Cerca de 55 pacientes perderam o seguimento após a realização do teste DHR e 6 pacientes evoluíram para óbito.

Dados clínicos de casos confirmados de DGC

Do total de 280 pacientes, 6 confirmaram DGC por sequenciamento genético, 5 com variantes patogênicas no gene *NCF1* e um no gene *CYBB*: c.676C>Tp.Arg226Ter no Éxon 7. Identificou-se ainda uma paciente com estado de portadora de variante patogênica no gene *CYBB* (DHR 268), irmã do paciente DHR 124. Dentre os resultados alterados do gene *NCF1*, três pacientes apresentaram mutação *NCF1*:c.75_76del, localizado no Éxon 2, em Homozigose e uma paciente com mutação *NCF1*:c.75_76del, localizado no Éxon 2, em Heterozigose e *NCF1*:c.269G>A, Éxon 4. (Quadro 1).

A manifestação clínica mais comum foi o abscesso e 5 pacientes foram diagnosticados na infância, assim como previsto e demonstrando a eficácia no reconhecimento e manejo diagnóstico do serviço (Staudacher; Von Bernuth, 2024).

Alteração no gene *NCF1* foi a variante mais comum entre os pacientes da amostra, sendo um resultado contrário ao esperado pelos conhecimentos prévios sobre DGC, que relatam a prevalência da alteração no gene *CYBB* (O'donovan *et al.*, 2024).

Atualmente, 5 pacientes estão vivos, 3 aguardam TMO, 2 foram transplantados (Quadro 1). Dos transplantados, apenas 1 (DHR 124) não obteve melhora no índice de oxidação do teste DHR, configurando um quadro de perda de enxertia pós-TMO, com necessidade de novo TMO. A paciente DHR 123 apresentou quadro de choque séptico refratário seguido de parada cardiorrespiratória evoluindo a óbito. Nesse caso em específico a paciente possuía baixa adesão ao tratamento com uso irregular das medicações profiláticas e histórico de substâncias psicoativas ilícitas.

Foi observada a importância da pesquisa entre os familiares, já que ao analisar o DHR e o sequenciamento genético dos progenitores e irmãos dos portadores de DGC, foi possível identificar as variantes genéticas de duas crianças (uma configurando estado de portadora e

outra patogênica com necessidade de intervenção terapêutica) que ainda não manifestaram nenhum quadro de infecção.

Paciente DHR-221, 3 anos, masculino, irmão da paciente DHR-45, realizou o teste DHR com 1 ano e 8 meses e, assim como sua irmã, o resultado do teste mostrou-se alterado e o sequenciamento genético demonstrou alteração no gene *NCF1* (*NCF1*:c.75_76del p.Tyr26HisfsTer26) em homozigose no éxon 2. Atualmente está aguardando o TMO.

A paciente DHR-268, 1 ano e 5 meses, feminino, irmã do paciente DHR-124, apresentou 49% dos granulócitos com padrão normal ao estímulo com PMA e 61% dos granulócitos mostraram estímulo heterogêneo ou pouco responsivo ao estímulo com PMA com razão Estimulado/Espontâneo de 13,2. Ao sequenciamento genético foi observado a mesma mutação que o irmão, no gene *CYBB* (*CYBB*:c.676C>T p.Arg226Ter) no éxon 7, em Heterozigose. Sendo assim, caracterizada como portadora de DGC. Também foi possível a identificação de mutação em heterozigose no material genético materno.

Quadro 1 - Análise dos dados clínicos, laboratoriais e genéticos de pacientes com DGC confirmado

Paciente	DHR 45	DHR 93	DHR 123	DHR 124	DHR 221	DHR 268
Idade	9 anos	8 anos	18 anos	3 ano	3 anos	1 ano
Sexo	Feminino	Masculino	Feminino	Masculino	Masculino	Feminino
Clínica	Abscesso Hepático e esplênico	Pneumonia grave e abscesso pulmonar	Tuberculose pulmonar	BCGíte, adenite supurativa	Irmão da paciente DHR 45	Irmã do paciente DHR 124
Medicação	SMZ-TMP + Itraconazol	SMZ-TMP + Itraconazol	Rifampicina + Isoniazida + Pirazinamida + Etambutol + SMZ-TMP	SMZ-TMP	SMZ-TMP + Itraconazol	
Dias de internação	17 dias	15 dias	89 dias	30 dias	-	-
Patógeno isolado	-	-	<i>Staphylococcus Haemolyticus</i> <i>M. Tuberculosis</i>	-		
Gene alterado	<i>NCF1</i>	<i>NCF1</i>	<i>NCF1</i>	<i>CYBB</i>	<i>NCF1</i>	<i>CYBB</i>
Variante	<i>NCF1</i> :c.75_76del, Éxon 2, Homozigoto	<i>NCF1</i> :c.75_76del, Éxon 2, Homozigoto	<i>NCF1</i> :c.75_76del, Éxon 2, Heterozigoto e <i>NCF1</i> :c.269G>A, Éxon 4	<i>CYBB</i> :c.676C>Tp.Arg226Ter, Éxon 7	<i>NCF1</i> :c.75_76del, Éxon 2, Homozigoto	<i>CYBB</i> :c.676C>Tp.Arg226Ter, Éxon 7

Fonte: elaboração da autora.

Dentre as limitações do estudo, citam-se a avaliação de apenas dois genes (*NCF1* e *CYBB*) relacionados a DGC e ausência de entrevistas individuais dos participantes do estudo.

Conclusões

Os dados finais deste estudo, com um total de 280 pacientes com suspeita de DGC evidenciaram 6 casos confirmados da doença. Foi possível ainda a identificação de variantes patogênicas no gene NCF1 em quatro pacientes, e no gene CYBB em 2 paciente, o que demonstra uma diferença em relação à literatura, já que é descrita a prevalência da mutação do gene CYBB nos casos de DGC. Dos casos confirmados, as manifestações clínicas principais foram abscessos e pneumonias, assim como no total dos casos suspeitos. Embora o único microorganismo identificado nos casos de DGC, *Staphylococcus Haemolyticus*, não tenha sido o principal patógeno identificado na casuística total, nem com dados prévios da literatura.

Conclui-se que com o estabelecimento do teste DHR no laboratório de pesquisa translacional (LPT) do HCB foi possível a identificação de 6 portadores de EII raro, com manejo adequado, desde o diagnóstico até o tratamento. O que melhora de forma significativa a qualidade e expectativa de vida dos pacientes.

Referências

ARNOLD, Danielle E.; HEIMALL, Jennifer R. A review of chronic granulomatous disease. **Advances in Therapy**, v. 34, n. 12, p. 2543-2557, 22 nov. 2017. DOI: 10.1007/s12325-017-0636-2.

CURNUTTE, John T.; KIPNES, Ruby S.; BABIOR, Bernard M. Defect in pyridine nucleotide dependent superoxide production by a particulate fraction from the granulocytes of patients with chronic granulomatous disease. **New England Journal of Medicine**, v. 293, n. 13, p. 628-632, 25 set. 1975. DOI: 10.1056/NEJM197509252931303.

HOLLAND, Steven M. Chronic granulomatous disease. **Hematology/Oncology Clinics of North America**, v. 27, n. 1, p. 89-99, fev. 2013. DOI: 10.1016/j.hoc.2012.11.002.

JUSTIZ-VAILLANT, Angel A. *et al.* Chronic Granulomatous Disease (CGD): commonly associated pathogens, diagnosis and treatment. **Microorganisms**, v. 11, n. 9, p. 2233, 5 set. 2023. DOI: 10.3390/microorganisms11092233.

KHALILI, Nastaran *et al.* BCGitis as the primary manifestation of chronic granulomatous disease. **IDCases**, v. 23, p. e01038, 2021. DOI: 10.1016/j.idcr.2020.e01038.

KUTLUG, S. *et al.* Seven chronic granulomatous disease cases in a single-center experience and a review of the literature. **Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology**, v. 36, p. 5-41, 2018. DOI: 10.12932/AP0859.

LYRA, Paula T. *et al.* Inborn errors of immunity in patients with adverse events following BCG vaccination in Brazil. **Journal of Clinical Immunology**, v. 42, n. 8, p. 1708-1720, nov. 2022. DOI: 10.1007/s10875-022-01302-9.

O'DONOVAN, Conor J. *et al.* Diagnosis of chronic granulomatous disease: strengths and challenges in the genomic era. **Journal of Clinical Medicine**, v. 13, n. 15, p. 4435, 29 jul. 2024. DOI: 10.3390/jcm13154435.

OLIVEIRA-JUNIOR, Edgar Borges de *et al.* Clinical and genotypic spectrum of chronic granulomatous disease in 71 latin american patients: first report from the LASID Registry. **Pediatric Blood & Cancer**, v. 62, n. 12, p. 2101-2107, 15 jul. 2015. DOI: 10.1002/pbc.25674.

RIDER, N. L.; JAMESON, M. B.; CREECH, C. B. Chronic granulomatous disease: epidemiology, pathophysiology, and genetic basis of disease. **Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society**, v. 7, p. S2-S5, maio 2018. Supl. 1. DOI: 10.1093/jpids/piy008.

SEGAL, Brahm H. *et al.* Genetic, biochemical, and clinical features of chronic granulomatous disease. **Medicine (Baltimore)**, v. 79, n. 3, p. 170-200, maio 2000. DOI: 10.1097/00005792-200005000-00004.

SLACK, Maria A.; THOMSEN, Isaac P. Prevention of infectious complications in patients with chronic granulomatous disease. **Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society**, v. 7, p. S25-S30, maio 2018. Supl. 1. DOI: 10.1093/jpids/piy016.

STAUDACHER, Olga; VON BERNUTH, Horst. Clinical presentation, diagnosis, and treatment of chronic granulomatous disease. **Frontiers in Pediatrics**, v. 12, 28 jun. 2024. DOI: 10.3389/fped.2024.1384550.

SUN, Bijun *et al.* Variant type X91+ chronic granulomatous disease: clinical and molecular characterization in a chinese cohort. **Journal of Clinical Immunology**, v. 42, n. 7, p. 1564-1579, out. 2022. DOI: 10.1007/s10875-022-01324-3.

VIGNESH, Pandiarajan *et al.* Tuberculosis and bacillus calmette-guérin disease in patients with chronic granulomatous disease: an experience from a tertiary care center in North India. **Journal of Clinical Immunology**, v. 43, n. 8, p. 2049-2061, nov. 2023. DOI: 10.1007/s10875-023-01581-w.

ZHANG, Jie *et al.* Identification of a novel mutation in CYBB gene in a Chinese neonate with X-linked chronic granulomatous disease. **Medicine (Baltimore)**, v. 101, n. 10, p. e28875, 11 mar. 2022. DOI: 10.1097/MD.00000000000028875.

TRATAMENTO E PERFIL DAS CRIANÇAS COM ATROFIA MUSCULAR ESPINHAL SUBMETIDAS AO USO DE NUSINERSENA E DE ONASEMNOGENO ABEPARVOVEQUE

Vanessa Menezes de Oliveira¹
Natália Spinola Costa da Cunha²

Resumo

Introdução: A atrofia muscular espinhal (AME) é uma desordem neuromuscular, que causa incapacidade, fraqueza muscular e óbito. **Objetivo:** Analisar o perfil clínico e epidemiológico de pacientes pediátricos com AME sob o uso do nusinersena e/ou onasemnogeno abeparvoeque no Hospital da Criança de Brasília José Alencar. **Material e métodos:** Estudo retrospectivo com uso de dados de prontuário e de via telefônica. Foram incluídos 25 pacientes, avaliando a função respiratória, motora e a deglutição, antes e após os tratamentos, idade, sexo, tipo de tratamento, número de cópias SMN2, comorbidades, tipo de AME, idade do início do tratamento, idade do início dos sintomas, efeitos adversos e idade de diagnóstico. **Resultados e discussão:** Após os tratamentos, houve melhora motora e de qualidade de vida, embora não estatisticamente significativa nas pontuações da escala CHOP INTEND, no entanto observou-se estabilização quanto aos dispositivos respiratórios e nível de suporte, exceto no tipo 1 de AME sob uso da nusinersen. Após o uso da nusinersen, os tipos 2 e 3 não houveram alterações quanto aos tipos de dispositivos nutricionais, ao contrário do tipo 1 que passou a utilizá-los posteriormente. **Conclusão:** Mostrou-se uma visão mais ampla das várias características clínicas dos pacientes e a importância do tratamento precoce.

Palavras-chave: Atrofia Muscular Espinhal; terapêutica; perfil epidemiológico; pediatria.

Introdução

A atrofia muscular espinhal (AME) é um distúrbio neurodegenerativo progressivo autossômico recessivo, a qual é causada por uma deleção, conversão ou mutação do gene do neurônio motor de sobrevivência 1 (*SMN1*). A degeneração dos neurônios motores da medula espinhal tem como consequências a incapacidade, a fraqueza muscular e a morte, nas formas mais graves. A prevalência da doença é de aproximadamente 1 em 10.000 nascidos vivos. Ela é uma das doenças mais comuns que afetam a função muscular na infância e possui alta morbimortalidade, podendo se manifestar em diferentes idades e em níveis de gravidade diferentes (Fay, 2023; Strauss *et al.*, 2022; Nicolau *et al.*, 2021).

A AME pode ser dividida em 5 tipos clínicos, mostrados no quadro 1:

Quadro 1- Classificação dos tipos de AME e suas características

¹ Acadêmica de Medicina do Centro Universitário de Brasília (UnICEUB) e Bolsista de iniciação científica do Hospital da Criança de Brasília (HCB).

² Neuropediatra e neurofisiologista do Hospital da Criança de Brasília José Alencar (HCB).

Tipo 0	Forma congênita (Início no pré-natal ou nascimento)- Tem expectativa de vida, sem tratamento, menor que 3 meses); Possuem contraturas, insuficiência respiratória e diplegia facial.
Tipo 1	Início antes dos 6 meses- Têm incapacidade de sentar ou ficar em pé sozinho.
Tipo 2	Início entre 6 e 18 meses- Consegue sentar mas não anda sozinho
Tipo 3	Início depois dos 18 meses- Alcança a habilidade de andar alguma vez na vida
Tipo 4	Forma tardia- Início na vida adulta

Fonte: Strauss *et al.* (2022) e Fay (2023).

A genética da AME é advinda de uma duplicação de muitos genes no braço longo do cromossomo 5(5q), o qual cria dois genes altamente homólogos que são o *SMN1* e o *SMN2*. O gene *SMN1* tem a função de produzir a proteína do neurônio motor de sobrevivência (*SMN*) funcionante, a qual faz a montagem das pequenas ribonucleoproteínas heteronucleares. A AME é causada pela perda de ambas as cópias de *SMN1*, o que faz o gene *SMN2* excluir o exon 7 em 90% dos transcritos, criando uma proteína instável, de menor expressão *SMN* e mal funcionante (Fay, 2023; Oliveira Netto *et al.*, 2023).

O exon 7 tem o papel de gerar a proteína *SMN* completa e funcional. Na AME, ocorre uma mutação no local que regula a inclusão do éxon 7 no transcrito do RNA mensageiro, uma vez que ocorre essa mutação, ela produz um RNA mensageiro sem o exon 7, o que faz os transcritos do gene *SMN2* produzirem uma proteína instável. Assim, na AME, há dependência dos genes *SMN2* para a expressão da proteína *SMN*. O gene *SMN2* pode ter o papel de modificador da gravidade da doença, já que é menos ativo que o *SMN1*. (Fay, 2023; Oliveira Netto *et al.*, 2023).

A história natural da doença mostra que a perda da função motora é inevitável durante o tempo. Mesmo na fase adulta, os pacientes com AME tipo 2 e 3 podem perder marcos motores, sendo imperioso a estabilização desses marcos motores mesmo em idades mais avançadas (Ribeiro *et al.*, 2023).

Anteriormente ao desenvolvimento do tratamento medicamentoso, a terapêutica da AME era exclusivamente de suporte, no entanto o tratamento de suporte ainda é utilizado para prevenir ou tratar complicações, principalmente respiratórias, que são a maior causa de óbito nessa condição (Nicolau *et al.*, 2021).

Nusinersen (Spinraza®) é um oligonucleotídeo antisense que tem como alvo o sítio silenciador de splicing dentro do RNA pré mensageiro do gene *SMN2*, o qual possibilita a inclusão do éxon 7 durante o processamento do RNA mensageiro, possibilitando a geração de uma maior quantidade de proteínas funcionantes pelo gene *SMN2* (Zanoteli *et al.*, 2024).

Onasemnogene abeparvovec (OAV101 ou Zolgensma®) é uma terapia de substituição genética, na qual um vírus carrega a cópia funcional do gene *SMN1* humano (Zanoteli *et al.*, 2024).

Por fim, o Hospital da Criança de Brasília José Alencar (HCB) exerce papel crucial no tratamento e acompanhamento de pacientes com doenças raras, utilizando uma equipe multidisciplinar para exercer um atendimento integral de excelência focado no cuidado e qualidade de vida. Além disso, o local tem importância histórica no SUS, visto que foi escolhido pelo Ministério da saúde para a primeira aplicação gratuita de terapia genética em crianças (Paciente [...], 2025).

O intuito deste estudo é analisar o perfil clínico e epidemiológico dos pacientes pediátricos do HCB que utilizaram nusinersena e/ou onasemnogene abeparvovec e suas

evoluções, bem como avaliar a relação entre o perfil epidemiológico e a idade do diagnóstico e tratamento. Além disso, tem como objetivo comparar e analisar o tipo de suporte ventilatório, dispositivo nutricional e função motora antes e após a medicação entre os tipos de AME do HCB, como também da literatura.

Metodologia

Foram incluídos nesse trabalho somente pacientes entre 1 e 14 anos que foram atendidos pelo HCB, de ambos os sexos, com diagnóstico de AME submetidos a nusinersena ou nusinersena e onasemnogeno abeparvoveque.

A coleta de dados foi realizada pela análise de dados clínicos e epidemiológicos via prontuário eletrônico e via telefone, com as respostas dos responsáveis dos pacientes quando havia a necessidade de informações complementares não contempladas pelo prontuário. Posteriormente, os dados foram registrados em uma planilha no *Google Sheets* com as variáveis: Data de nascimento, sexo, tipo de AME, tipo de tratamento, número de cópias *SMN2*, comorbidades, divididas posteriormente pela sua presença ou ausência dessa e pela negação de qualquer patologia, além da AME, idade do início dos sintomas, idade do início de tratamento do nusinersena e do onasemnogeno abeparvoveque, tempo de duração dos primeiros sintomas e o tratamento instituído, tempo de duração do diagnóstico e início do tratamento, tratamento realizado, idade do diagnóstico de AME, efeitos adversos dos medicamentos, tipo de suporte respiratório, nível de suporte ventilatório, tipo de dispositivo nutricional e função motora antes e após a medicação.

Para a análise motora foram utilizadas duas escalas: Hammersmith Functional Motor Scale Expanded (HFMSE) e CHOP INTEND, variando entre 0 a 66 e 0 a 64, respectivamente, sendo 0 a pontuação mais baixa (Alves *et al.*, 2023).

A análise respiratória foi realizada pela avaliação do tipo de suporte respiratório, a qual foi dividida entre ausência de suporte respiratório, ventilação mecânica (VM), BIPAP (em inglês, *Bilevel Positive Airway Pressure*) e ventilação não invasiva (VNI), bem como o nível de suporte ventilatório, contínuo ou não contínuo, estabelecendo que o nível contínuo de suporte ventilação é aquele em que a necessidade de suporte ventilatório é maior do que 16 horas por dia por um período maior que 30 dias.

A avaliação da deglutição foi feita pela necessidade de suporte nutricional, dividida entre não está em uso de dispositivo nutricional, sonda nasoenteral (SNE) ou gastrostomia (GTT).

Para as análises estatísticas e de confecção dos gráficos, foram utilizados as informações compiladas posteriormente no software Microsoft Excel (2016) e analisadas pelo programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 23 (IBM Corp., 2015), com testes bilaterais e nível de significância de 5%.

Os resultados antes e depois dos tratamentos foram avaliados nos diferentes tipos de AME, por meio do teste de Wilcoxon para dados qualitativos ordinais e teste t de Student para dados quantitativos. As escalas de função motora foram avaliadas antes e após a medicação, sendo esta última o resultado da média dos escores avaliados entre o mês 1 e o mês 42 (CHOP INTEND) ou o mês 1 e o mês 51 (HFMSE), uma vez que há diferentes intervalos entre cada sessão de fisioterapia.

Resultados e discussão

Este presente estudo trata-se de um estudo observacional, quantitativo, analítico do tipo coorte retrospectivo, o qual dentre 28 pacientes que passaram pelos critérios de inclusão, analisou-se 25 pacientes, entre 1 e 14 anos, com AME submetidos ao tratamento com

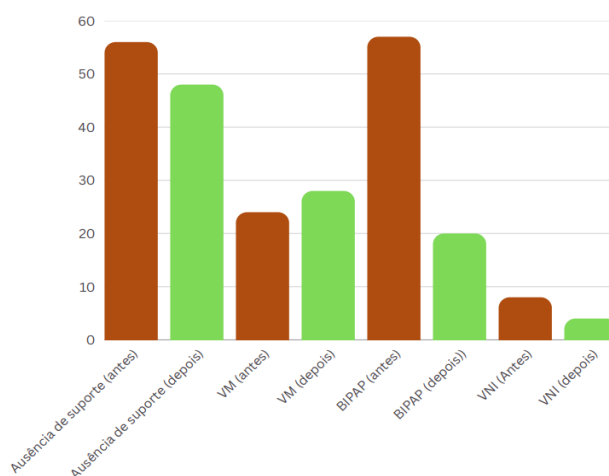
nusinersena ou nusinersena e onasemnogeno abeparvoveque no Hospital da Criança de Brasília José de Alencar (HCB), sendo esse último aplicado em hospitais de referência de outros estados, uma vez que não havia na época o medicamento em Brasília. Ademais, o tempo de acompanhamento com o neurologista variou entre 14 meses e 77 meses, com média aproximada de 53,88 meses e mediana de 54 meses.

Foram analisados 11 pacientes com a AME-1 (44%), 10 com a AME-2 (40%) e 4 com a AME-3 (16%). De todos os participantes, 72% (n=18) fizeram o uso somente de nusinersena e 28% (n=7) ambos os tratamentos, nusinersena e onasemnogeno abeparvoveque, sendo que somente aqueles com AME-1 tiveram ambos os tratamentos e 36,36% (n=4) da AME-1 fizeram o uso somente do Nusinersena. Das pessoas que informaram o número de cópias do *SMN2* no prontuário (n=14), 100% dos indivíduos convivendo com AME-1 (n=7) possuem 2 cópias, 75% com AME-2 possuem 3 cópias (n=3) e um indivíduo possui duas cópias e 100% com AME-3 possuem 3 cópias (n=3).

Em nosso estudo, 28% (n=7) fizeram o uso do onasemnogeno abeparvovec e a média de idade foi, com desvio padrão, de $17,29 \pm 5,47$ meses de idade, amostra com idade superior a estudos famosos, como o SPRINT, o STRIVE e o START (Strauss *et al.*, 2022; Day *et al.*, 2021; Paul *et al.*, 2021). Além disso, neste presente estudo observou-se que 81,82%(n=9) com AME-1 e 75% com AME-3 (n=3) eram do sexo feminino o que corresponde a maioria dos pacientes da amostra, o que não corrobora com a literatura (Sun; Harrington; Porter, 2023). Sendo assim, por apresentar diferentes idades em comparação aos outros estudos, também implica em resultados divergentes, fazendo-se imperioso o diagnóstico e tratamento precoce no prognóstico desses indivíduos

Antes do tratamento com nusinersena, 56% (n=14) da amostra não apresentava necessidade da utilização suporte ventilatório (n=14), 24% fazia uso de ventilação mecânica (n=6), 12% fazia uso do BIPAP (n=3) e 8% da VNI (n=2), após a terapêutica, 42% permaneceu sem suporte ventilatório (42%), evoluindo 2 pacientes para o uso de dispositivos respiratórios, como mostrado no gráfico da figura 1. Sendo assim, corrobora com estudos famosos supracitados de haver poucas mudanças em relação aos aparelhos ventilatórios (Lavie *et al.*, 2021; Mendonça *et al.*, 2021; Pane *et al.*, 2019; Paul *et al.*, 2021; Lomauro *et al.*, 2019; Audic *et al.*, 2020).

Figura 1 – Percentual do tipo de suporte ventilatório antes e depois do tratamento com Nusinersena



Legenda: marrom corresponde ao percentual antes do tratamento, enquanto o verde, o depois.

Quanto ao nível de suporte ventilatório antes do tratamento com Nusinersena, 32%

(n=8) faziam uso contínuo do dispositivo ventilatório e em 12% (n=3) o nível de suporte não era contínuo, enquanto que a maioria não necessitava de suporte. Posteriormente ao uso do Nusinersena, essas porcentagens aumentaram, o nível de suporte contínuo passou a ser 36% (n=9), e o não é contínuo passou a ser 16% (n=4).

Na análise de associação entre o tipo de AME e dados clínicos, 80% dos pacientes convivem com AME-2 (n=8) e 100% daqueles com AME-3 (n=4) não estavam em uso de suporte ventilatório antes do uso pela primeira vez do Nusinersena, enquanto que na AME-1, 54,55% já fazia uso do suporte, sendo em sua maioria, ventilação mecânica (n=6). Após o uso dessa terapia medicamentosa, as pessoas com AME-2 e AME-3 não tiveram mudanças quanto à ausência ou a necessidade de um dispositivo respiratório. 72,73% (n=8) dos jovens com AME-1 estavam em nível de suporte contínuo em relação ao dispositivo ventilatório com aumento para 81,82% (n=9) após o uso do Nusinersena e 20% (n=2) do tipo 2 de AME estavam em uso não contínuo do suporte, permanecendo o mesmo após o tratamento.

Antes do tratamento com Onasemnogene abeparvovec, 42,9% (n=3) estavam em uso de ventilação mecânica, 42,9% (n=3) usavam BIPAP e 14,3% (n=1) VNI e após o uso desse medicamento não houve alteração no tipo de suporte ventilatório. O nível de suporte ventilatório antes e depois do Onasemnogene abeparvovec permaneceu, também o mesmo, 71,4% (n=5) nível de suporte contínuo e 28,6% (n=2) nível não contínuo.

Na análise de associação, 27,27% (n=3) do tipo 1 de AME não estava em uso de ventilatório antes do Nusinersena, 90% (n=9) no tipo 2 de AME e 100% (n=4) no tipo 3 de AME. Somente no tipo 1 de AME houve o uso de SNE antes desse medicamento. O uso de GTT foi feito por 27,27% (n=3) pela AME-1 e 10% pela AME-2 (n=1), mostrado na tabela 1.

Tabela 1 – Análise descritiva dos dados clínicos de pacientes com AME submetidos ao tratamento com Nusinersena e/ou Onasemnogene abeparvovec no HCB

		n	%
Sexo	Masculino	11	44,0
	Feminino	14	56,0
Tipo de AME	I	11	44,0
	II	10	40,0
	III	4	16,0
Número de cópias do SMN2	2	8	57,1
	3	6	42,9
	Não se aplica	11	
Tratamento instituído	Ambos	7	28,0
	Nusinersena	18	72,0
Tipo de suporte ventilatório antes do tratamento Nusinersena	Não está em suporte ventilatório	14	56,0
		6	24,0
	Ventilação mecânica	3	12,0
		2	8,0
	Bipap		
	VNI		

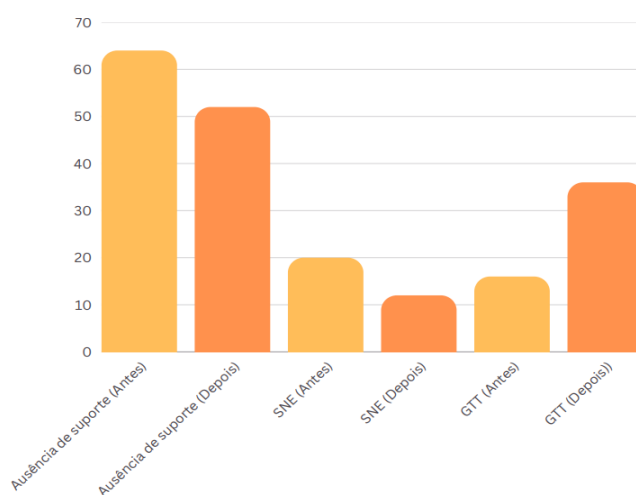
Tipo de suporte ventilatório antes do tratamento Onasemnogene abeparvovec	Ventilação mecânica	3	42,9
	Bipap	3	42,9
	VNI	1	14,3
Tipo de suporte ventilatório após do tratamento Nusinersena	Não está em suporte ventilatório	12	48,0
	Ventilação mecânica	7	28,0
	Bipap	5	20,0
	VNI	1	4,0
Tipo de suporte ventilatório após do tratamento Onasemnogene abeparvovec	Ventilação mecânica	3	42,9
	Bipap	3	42,9
	VNI	1	14,3
Nível de suporte ventilatório antes do tratamento Nusinersena	Não está em suporte ventilatório	14	56,0
	Não contínuo	3	12,0
	Contínuo	8	32,0
Nível de suporte ventilatório antes do tratamento Onasemnogene abeparvovec	Não contínuo	2	28,6
	Contínuo	5	71,4
	Sistema	18	
Nível de suporte ventilatório após o tratamento Nusinersena	Não está em suporte ventilatório	12	48,0
	Não contínuo	4	16,0
	Contínuo	9	36,0
Nível de suporte ventilatório após o tratamento Onasemnogene abeparvovec	Não contínuo	2	28,6
	Contínuo	5	71,4
	Sistema	18	
Evolução em meses para suporte ventilatório após o tratamento Nusinersena(meses)	1 mês (Sem suporte respiratório para VM)	1	25,0
	2 meses (VNI para VM)	1	25,0
	2 meses (Sem suporte respiratório para VM)	1	25,0
	2 meses (Bipap para VM)	1	25,0
	Não se aplica		
Dispositivo nutricional antes do	Não está em uso de dispositivo nutricional	16	64,0
		5	20,0

tratamento Nusinersena	SNE	4	16,0
	GTT		
Dispositivo nutricional antes do tratamento	SNE	3	42,9
	GTT	4	57,1
Onasemnogene abeparvovec	Não se aplica	18	
Dispositivo nutricional após o tratamento	Não está em uso de dispositivo nutricional	13	52,0
	SNE	3	12,0
Nusinersena	GTT	9	36,0
Dispositivo nutricional após o tratamento	SNE	2	28,6
	GTT	5	71,4
Onasemnogene abeparvovec	Não se aplica	18	
Total		25	100%

Fonte: dados da pesquisa.

A respeito dos dispositivos nutricionais, 64% (n=16) estavam sem o uso de dispositivo nutricional antes do tratamento com Nusinersena, 20% (n=5) estavam em uso de SNE e 16% (n=4) estavam em uso de GTT. Desses, 52% (n=13) continuaram sem uso de dispositivo nutricional, 12% (n=3) estão em uso de SNE e 36% (n=9) em uso de GTT após o tratamento com Nusinersena, conforme figura 2.

Figura 2 – Percentual do tipo de suporte nutricional antes e depois do tratamento com Nusinersena



Em relação a análise de associação, após o uso do nusinersen, na AME tipo 2 e 3 não houveram alterações, no entanto, aumentou o número de indivíduos com AME-1 usando dispositivos nutricionais, SNE ou GTT ($p < 0,001$), concordando com as literaturas supracitadas (Kariyawasam *et al.*, 2020; Osredkar *et al.*, 2021; Lavie *et al.*, 2021; Mendonça *et al.*, 2021; Pane *et al.*, 2019).

Em relação ao antes e depois do uso de dispositivo nutricional com Onasemnogene abeparvovec, apenas 1 indivíduo evoluiu de SNE para GTT, não havendo nenhuma variável significativa.

Dos 25 pacientes da amostra (100%), 68% ($n=17$) disseram ter algum tipo de comorbidade e 32% ($n=8$) negaram possuir alguma doença crônica ou condição que levasse ao maior risco de agravamento ou óbito pela doença. Ao fazer uma análise de associação, foi observado que há mais indivíduos em cada tipo com alguma comorbidade do que sem comorbidade, sendo 54,55% ($n=6$) na AME-1, enquanto na AME-2 70% ($n=7$) e AME-3 100% ($N=4$).

Os efeitos adversos dos pacientes tratados com nusinersena foram dor no local da aplicação 12% ($n=3$), sangramento no local de aplicação 8% ($n=2$), cefaléia 4% ($n=1$), alopecia 4% ($n=1$) e alopecia juntamente da dor no local da aplicação 4% ($n=1$), no entanto a maioria daqueles que receberam a medicação (68%) não tiveram efeitos adversos, desses a maioria eram do tipo 1 e 2 de AME.

A idade de início do tratamento com Nusinersena foi de $23,18 \pm 38,42$ meses na AME-1; $59,70 \pm 37,69$ meses na AME-2; $85,50 \pm 24,19$ meses na AME-3. O tempo de duração dos primeiros sintomas percebidos pelos responsáveis até início do tratamento com Nusinersena foi de $20,27 \pm 37,36$ meses na AME-1; $51,44 \pm 35,86$ meses na AME-2; $67,50 \pm 22,13$ meses na AME-3. O tempo de duração do diagnóstico até início do tratamento com Nusinersena foi de $17,32 \pm 35,02$ meses na AME-1; $39,30 \pm 39,08$ meses na AME-2; $59,50 \pm 24,20$ meses na AME-3.

Houve melhora da função motora avaliada pelo CHOP INTEND após tratamento com nusinersena e/ou onasemnogeno na AME-1, com média com o desvio padrão de $19,75 \pm 9,54$ pontos antes do nusinersena, e depois de $26,12 \pm 12,15$ pontos, e $33,29 \pm 12,75$ pontos antes do onasemnogene abeparvovec e $41,58 \pm 8,05$ depois, o que corrobora parcialmente com as literaturas atuais, as quais tiveram aumentos mais significativos expressivos (Day *et al.*, 2021; Paul *et al.*, 2021).

O HFMSE após o tratamento com nusinersena na AME-3, também houve melhora com $34,25 \pm 21,42$ pontos antes do nusinersena e $34,60 \pm 22,99$ pontos depois, e piora no AME-2, $19,71 \pm 13,33$ pontos e $18,64 \pm 12,95$ pontos depois, como mostrado na tabela 2.

Tabela 2 – Comparação antes e depois de escores de função motora nos diferentes tipos de AME em pacientes submetidos ao tratamento com Nusinersena e/ou Onasemnogeno abeparvovec no HCB

	Score	n	Antes Média (DP)	Depois Média (DP)	P*
AME 1	CHOP INTEND- Nusinersena	4	19,75(9,54)	26,12(12,15)	0,247
	CHOP INTEND- Onasemnogene abeparvovec	7	33,29(12,75)	41,58(8,05)	0,061
AME 2	HFMSE-Nusinersena	7	19,71(13,33)	18,64(12,95)	0,369

Conclusões

O diagnóstico e o tratamento precoce são primordiais para um melhor prognóstico. Ademais, é imperioso o tratamento com as drogas modificadoras de curso, uma vez que apesar de elas não curarem a doença, tem papel importante na qualidade de vida futura desses pacientes, além de terem potencial de estabilização das funções motoras, respiratória e de deglutição.

Referências

ALVES, R. M. R. *et al.* Brazilian version of the CHOP INTEND scale: cross-cultural adaptation and validation. **Arquivos de Neuro-psiquiatria**, v. 81, n. 9, p. 816-824, 2023. DOI: 10.1055/s-0043-1772832.

AUDIC, F. *et al.* Effects of nusinersen after one year of treatment in 123 children with SMA type 1 or 2: a French real-life observational study. **Orphanet Journal of Rare Diseases**, v. 15, n. 1, p. 1-10, 2020. DOI: 10.1186/s13023-020-01414-8.

DAY, J. W. *et al.* Onasemnogene abeparvovec gene therapy for symptomatic infantile-onset spinal muscular atrophy in patients with two copies of *SMN2* (STRIVE): an open-label, single-arm, multicentre, phase 3 trial. **Lancet Neurology**, v. 20, n. 4, p. 284-293, 2021. DOI: 10.1016/S1474-4422(21)00001-6.

FAY, A. **Spinal muscular atrophy: a (now) treatable neurodegenerative disease.** **Pediatric Clinics**, v. 70, n. 5, p. 963-977, 2023. DOI: 10.1016/j.pcl.2023.06.002.

KARIYAWASAM, D. *et al.* Motor unit changes in children with symptomatic spinal muscular atrophy treated with nusinersen. **Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**, v. 92, n. 1, p. 78-85, 2021. DOI: 10.1136/jnnp-2020-324254.

LAVIE, M. *et al.* Nusinersen for spinal muscular atrophy type 1: real-world respiratory experience. **Pediatric Pulmonology**, v. 56, n. 1, p. 291-298, 2021. DOI: 10.1002/ppul.25140.

LOMAURO, A. *et al.* Effect of nusinersen on respiratory muscle function in different subtypes of type 1 spinal muscular atrophy. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 200, n. 12, p. 1547-1550, 2019. DOI: 10.1164/rccm.201906-1175LE.

MENDONÇA, R. de H. *et al.* Clinical outcomes in patients with spinal muscular atrophy type 1 treated with nusinersen. **Journal of Neuromuscular Diseases**, v. 8, n. 2, p. 217-224, 2021. DOI: 10.3233/JND-200533.

NICOLAU, S. *et al.* Spinal muscular atrophy. **Seminars in Pediatric Neurology**, v. 37, p. 100878, abr. 2021. DOI: 10.1016/j.spen.2021.100878.

OLIVEIRA NETTO, A. B. et al. Neonatal screening for spinal muscular atrophy: A pilot study in Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, v. 46, n. 3, p. e20230126, 2023. Supl. 1. DOI: 10.1590/1678-4685-GMB-2023-0126.

OSREDKAR, Damjan *et al.* Children and young adults with spinal muscular atrophy treated with nusinersen. **European Journal of Paediatric Neurology**, v. 30, p. 1-8, 2021. DOI: 10.1016/j.ejpn.2020.11.004.

PACIENTE com AME atendida pelo Hospital da Criança de Brasília recebe a primeira infusão de terapia gênica gratuita para estabilização da doença. **Site do Hospital da Criança de Brasília**, Brasília, 15 maio 2025. Disponível em: https://www.hcb.org.br/geral/paciente_com_ame_atendida_pelo_hospital_da_crianca_de_brasilia_recebe_a_primeira_infusao_de_terapia_genica_gratuita_para_estabilizacao_da_doenca. Acesso em: 15 jun. 2025.

PANE, M. *et al.* Nusinersen in type 1 spinal muscular atrophy: twelve-month real-world data. **Annals of Neurology**, v. 86, n. 3, p. 443-451, 2019. DOI: 10.1002/ana.25533.

PAUL, G. R. *et al.* The respiratory impact of novel therapies for spinal muscular atrophy. **Pediatric Pulmonology**, v. 56, n. 4, p. 721-728, 2021. DOI: 10.1002/ppul.25135.

RIBEIRO, V. A. *et al.* Systematic literature review of the natural history of spinal muscular atrophy: motor function, scoliosis, and contractures. **Neurology**, v. 101, n. 21, p. e2103-e2113, 2023. DOI: 10.1212/WNL.0000000000207878.

STRAUSS, K. A. *et al.* Onasemnogene abeparvovec for presymptomatic infants with two copies of SMN2 at risk for spinal muscular atrophy type 1: the Phase III SPR1NT trial. **Nature medicine**, v. 28, n. 7, p. 1381-1389, 2022. DOI: 10.1038/s41591-022-01866-4.

SUN, J.; HARRINGTON, M. A.; PORTER, B. Sex difference in spinal muscular atrophy patients: are males more vulnerable? **Journal of Clinical Neuromuscular Disease**, v. 10, n. 5, p. 847-867, 2023. DOI: 10.3233/JND-230011.

ZANOTELI, E. *et al.* Consenso da Academia Brasileira de Neurologia para diagnóstico, aconselhamento genético e uso de terapias modificadoras na atrofia muscular espinhal 5q. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 82, n. 2, p. 1-18, 2024. DOI: 10.1055/s-0044-1779503.

ANÁLISE EPIDEMIOLÓGICA E PROGNÓSTICA DE PACIENTES COM LEUCEMIA AGUDA DE CÉLULAS T EM UM HOSPITAL PEDIÁTRICO PÚBLICO EM BRASÍLIA

Vitória Maria Xavier Silva¹
Ricardo Camargo²

Resumo

A Leucemia Linfoblástica Aguda de células T (LLA-T) é uma neoplasia rara e agressiva, representando aproximadamente 15% das leucemias pediátricas, frequentemente associada a fatores de alto risco e prognóstico desfavorável. Este estudo transversal e retrospectivo analisou 51 pacientes diagnosticados com LLA-T no Hospital da Criança de Brasília José Alencar (HCB), entre os anos de 2007 e 2024. A média de idade ao diagnóstico foi de 8,52 anos, com predomínio do sexo masculino (64,7%). A leucometria inicial foi elevada, com média de 223.602 células/ μ L, e 27,5% dos pacientes apresentaram infiltração no sistema nervoso central, ambos fatores associados à maior gravidade clínica. A doença residual mínima (DRM) foi detectável ao final da indução em 32,5% dos casos, configurando-se como um marcador relevante de resistência terapêutica e desfechos adversos. Os protocolos de tratamento mais empregados foram o BFM-95 (69,6%) e o GBTLI-2021 (10,9%), com desempenho semelhante na negatificação da DRM. O estudo identificou recaídas em 24% dos casos e óbito em 23,5%, com forte associação entre recaída e mortalidade. Os achados reforçam a importância da estratificação de risco baseada em biomarcadores e da adoção de terapias-alvo e imunoterapias como estratégias complementares para o manejo da LLA-T.

Palavras-chave: oncologia pediátrica; leucemia linfoblástica aguda de células T; prognóstico; epidemiologia.

Introdução

A leucemia linfoblástica aguda (LLA) é uma neoplasia maligna heterogênea do sistema hematopoético, caracterizada pela multiplicação desordenada de células blásticas, resultando no acúmulo de células jovens na medula óssea. É a doença maligna pediátrica mais comum, representando 80% dos casos infantis e 20% em adultos. A LLA é mais frequente na primeira infância (menores de 5 anos), com um pico de incidência entre 2 e 3 anos de idade, sendo composta por mais de 30 subtipos geneticamente distintos, de importância prognóstica (Iacobucci; Kimura; Mullighan, 2021).

Nesse contexto, a LLA-T é um subgrupo agressivo, responsável por cerca de 15% de todos os casos. Esse subtipo apresenta maior prevalência em meninos em comparação a meninas (proporção de aproximadamente 5:1) e geralmente afeta crianças mais velhas (Linabery; Ross, 2008). A LLA-T é caracterizada por alta contagem de células blásticas no

¹ Acadêmica de Medicina da Universidade Católica de Brasília e Bolsista de iniciação científica do Hospital da Criança de Brasília (HCB).

² Coordenador de Laboratório de Pesquisa Translacional (LPT) do Hospital da Criança de Brasília (HCB).

sangue periférico e na medula óssea, aumento dos gânglios linfáticos, massa mediastinal e envolvimento do sistema nervoso central (Van Vlierberghe *et al.*, 2012). Os sinais e sintomas são inespecíficos e incluem fadiga, dispneia e palidez associadas à anemia, hemorragias relacionadas à trombocitopenia, febre devido à neutropenia e dor óssea resultante do aumento de células imaturas na medula óssea. A hiperleucocitose ($>100 \times 10^9/L$) é uma anormalidade laboratorial comum em pacientes com LLA-T (Hastings *et al.*, 2015).

A classificação genotípica da LLA-T permite identificar genes causadores da doença, avaliar o espectro e a clonalidade, além de determinar a importância prognóstica das alterações somáticas e da linha germinativa. A transformação maligna de células T está associada a translocações cromossômicas adquiridas e a alterações genéticas e epigenéticas, como a superexpressão de genes específicos (TLX3, TLX1, TAL1, TAL2, LMO1/2, LEF1, WT1 e BCL11B). Mutações em vias de sinalização, como NOTCH1 e PI3K, levam à perda do controle do ciclo celular, autorrenovação ilimitada e aumento da proliferação de células blásticas (Grabher; Von Boehmer; Look, 2006).

Quanto ao tratamento, a intensificação precoce da terapia melhora os resultados da LLA-T (Linabery; Ross, 2008). Esses pacientes são frequentemente alocados em protocolos de alto risco devido à menor eficácia de tratamentos quimioterápicos. Dentre os corticosteroides utilizados, a dexametasona, embora associada a maior morbimortalidade infecciosa em comparação à prednisona, apresenta maior eficácia na redução de recaídas, devido à sua potência e penetração no SNC. Esquemas terapêuticos incluem a indução de quatro medicamentos contendo dexametasona e uma antraciclina, seguidos de consolidação com ciclofosfamida. A nelarabina tem demonstrado benefício na prevenção de recidivas no SNC, mas seu impacto na sobrevida global permanece limitado (Teachey; O'Connor, 2020).

A estratificação de risco na LLA-T atualmente baseia-se principalmente na doença residual mínima e na resposta morfológica da medula óssea. A maior parte dos pacientes com DRM detectável ao final da indução tem prognósticos menos favoráveis, mas os resultados podem ser revertidos se a DRM for reduzida a níveis indetectáveis até o final da consolidação (Schrappe *et al.*, 2011).

Diante disso, este estudo busca analisar as características epidemiológicas, clínicas e biológicas de pacientes diagnosticados com Leucemia Linfoblástica Aguda de células T no Hospital da Criança de Brasília José Alencar, entre 2007 e 2024, correlacionando variáveis como idade, sexo, histórico familiar, leucometria, infiltração no SNC e DRM com os desfechos clínicos. Também busca descrever o perfil dos pacientes, identificar fatores associados à gravidade da doença e avaliar a eficácia dos protocolos terapêuticos adotados, como o BFM 95 e o GBTLI 2021, visando aprimorar as estratégias de tratamento.

Metodologia

Este é um estudo transversal, retrospectivo, baseado na análise de 51 prontuários físicos e eletrônicos de pacientes diagnosticados com leucemia linfoblástica aguda de células T no Hospital da Criança de Brasília José Alencar, entre 2007 e 2024. Foram incluídos apenas pacientes com diagnóstico confirmado e dados clínico-laboratoriais completos. As variáveis analisadas englobaram dados demográficos, laboratoriais, genéticos, clínicos e terapêuticos. As informações foram coletadas por meio da plataforma REDCap, organizadas em planilhas do Excel e analisadas estatisticamente no software SPSS v.23, utilizando testes de associação como Qui-quadrado e Mann-Whitney, com nível de significância de $p < 0,05$. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e conduzido em conformidade com a Declaração de Helsinque. Todos os dados foram codificados para garantir a privacidade e a confidencialidade das informações dos pacientes.

Resultado e discussão

Epidemiologia da LLA-T

Entre os 51 pacientes com LLA-T avaliados, 64,7% (n = 33) eram do sexo masculino e 35,3% (n = 18) do sexo feminino, resultando em uma razão de aproximadamente 1,8:1 entre meninos e meninas. Embora esse dado confirme o predomínio do sexo masculino, a razão observada foi inferior à frequentemente reportada na literatura, que aponta proporções de até 5:1 entre os sexos. Essa diferença pode ser atribuída ao tamanho da amostra, ao recorte temporal de 17 anos e ao perfil específico da população atendida, que inclui pacientes com doenças genéticas e comorbidades associadas à maior predisposição. Estudos recentes têm apontado variações regionais e institucionais nessa razão de gênero, especialmente em centros de referência que concentram pacientes de maior complexidade (Zhu *et al.*, 2024; Xue *et al.*, 2023; Hunger; Mullighan, 2015). A média de idade ao diagnóstico foi de 8,52 anos, com maior prevalência entre crianças mais velhas e adolescentes.

Esses achados reforçam o perfil peculiar da LLA-T, que afeta predominantemente meninos em idade escolar, geralmente com características clínicas mais agressivas, como massas mediastinais (17,6%, n = 9) e infiltração no SNC (27,5%, n = 14). A LLA-T apresenta um comportamento biológico distinto, marcado por alterações genéticas como as translocações TAL1 e mutações em NOTCH1, que contribuem para a agressividade clínica (Van Vlierberghe *et al.*, 2012).

O histórico familiar de neoplasias, observado em 13,7% (n = 7) dos pacientes, levanta questões importantes sobre a predisposição genética. Embora a frequência não seja tão alta, a ocorrência de neoplasias familiares é significativa, uma vez que estudos indicam que variantes germinativas em genes envolvidos na hematopoese podem predispor ao desenvolvimento de leucemias linfoblásticas (Brady *et al.*, 2022; Hunger; Mullighan, 2015). Genes como PAX5, ETV6 e RUNX1, frequentemente associados à LLA-B, também têm implicações em subtipos raros de LLA-T, especialmente em famílias com histórico de malignidades hematológicas.

Além disso, os relatos de neoplasias familiares sugerem a possibilidade de síndromes genéticas subjacentes, como a síndrome de Li-Fraumeni e a neurofibromatose tipo 1, ambas associadas a mutações germinativas em genes supressores de tumor (TP53 e NF1, respectivamente) (Iacobucci; Kimura; Mullighan, 2021). Essas condições genéticas podem influenciar o comportamento biológico da LLA-T e justificar a avaliação genética de pacientes com histórico familiar relevante.

Outro fator genético relevante na LLA-T é a associação com mutações no gene ATM, observadas em pacientes com ataxia-telangiectasia. O gene ATM desempenha um papel crucial na resposta ao dano ao DNA e na manutenção da estabilidade genômica, e sua disfunção pode resultar em um aumento da instabilidade cromossômica, predispondo ao desenvolvimento de malignidades hematológicas, incluindo LLA-T (Teachey; O'Connor, 2020; Van Vlierberghe *et al.*, 2012). Pacientes com mutações em ATM frequentemente apresentam resistência ao tratamento convencional, tornando essencial a investigação dessa alteração para possíveis ajustes terapêuticos (Grabher; Von Boehmer; Look, 2006).

Os achados do presente estudo (tabela 1) também reforçam a importância de investigar potenciais mutações herdadas em pacientes pediátricos diagnosticados com LLA-T. Além de permitir um melhor entendimento da patogênese, essa abordagem pode contribuir para a identificação precoce de indivíduos de risco em famílias afetadas, permitindo intervenções preventivas ou diagnóstico precoce. Tendências familiares de câncer podem fornecer insights valiosos sobre os mecanismos genéticos e epigenéticos envolvidos no desenvolvimento da LLA (Linabery; Ross, 2008).

Tabela 1 – Perfil clínico-epidemiológico de pacientes com Leucemia Linfoblástica Aguda de células T atendidos no Hospital da Criança de Brasília José Alencar (2007–2024)

Variável	Categoria / Valor	n	%
Sexo	Masculino	33	64,7
	Feminino	18	35,3
Idade ao diagnóstico	Média: 8,52 anos	< 1 ano: 3	< 1 ano: 5,88
		1 a 10 anos: 27	1 a 10 anos: 52,94
		>10 anos: 21	>10 anos: 41,18
Massa mediastinal	Presente	9	17,6
	Ausente	42	82,4
Infiltração no sistema nervoso central	Presente	14	27,5
	Ausente	37	72,5
Histórico familiar de neoplasia	Presente	7	13,7
	Ausente	44	86,3
Grau de parentesco com histórico familiar	Avô	2	28,57
	Avó	1	14,29
	Tia	1	14,29
	Prima	2	28,57
	Provável síndrome familiar	1	14,29

Fonte: elaboração própria com base nos dados coletados no Hospital da Criança de Brasília José Alencar (2024).

Leucometria inicial e idade ao diagnóstico

No presente estudo, a leucometria inicial média foi de 223.602 células/ μ L, com valores variando de níveis normais até extremos superiores a 1.000.000 células/ μ L. O diagnóstico e a estratificação inicial de pacientes com LLA-T baseiam-se em critérios clínicos e laboratoriais amplamente validados, incluindo a análise da leucometria no momento da apresentação. Segundo o National Cancer Institute (NCI), valores acima de 50.000 células/ μ L classificam os pacientes como de alto risco, com maior necessidade de intensificação terapêutica. No entanto, em LLA-T, a presença de hiperleucocitose grave (>200.000 células/ μ L) é frequentemente utilizada como indicador adicional de risco elevado (Schrappe *et al.*, 2011).

A hiperleucocitose é uma característica marcante da LLA-T e está associada a uma maior carga tumoral inicial, além de complicações secundárias, como síndrome de lise tumoral e maior risco de infiltração em órgãos, incluindo SNC e pulmões. A leucometria inicial elevada é um dos critérios mais consistentes de estratificação, com impacto direto na probabilidade de recaída e na sobrevida livre de eventos (Hunger; Mullighan, 2015; Zhu *et al.*, 2024).

Neste estudo, observou-se que pacientes com hiperleucocitose apresentaram maior incidência de DRM positiva ao final da indução. A persistência de células residuais em pacientes com alta leucometria inicial sugere uma resistência intrínseca à quimioterapia inicial, que pode ser atribuída a alterações genéticas, como mutações em NOTCH1 e PI3K, frequentemente presentes na LLA-T (Iacobucci; Kimura; Mullighan, 2021).

O envolvimento de características imunofenotípicas como a expressão de CD34 tem se mostrado relevante, com associação direta entre alta leucometria, presença desse marcador e risco futuro de recaída, evidenciando a necessidade de abordagem terapêutica mais agressiva já nas fases iniciais (Gao *et al.*, 2024). A presença de carga tumoral elevada também tem sido relacionada a menor resposta precoce e maior resistência aos protocolos convencionais (Xue *et al.*, 2023).

Pacientes com leucometria inicial superior a 200.000 células/ μ L frequentemente necessitam de protocolos intensificados, como a inclusão de antraciclinas na indução e esquemas de consolidação mais robustos, para melhorar o controle da doença. Apesar desses ajustes, esse grupo de pacientes continua a apresentar desfechos menos favoráveis em comparação àqueles com leucometria inferior (Hastings *et al.*, 2015).

A idade ao diagnóstico é considerada um dos principais critérios prognósticos em leucemia pediátrica. Pacientes com LLA diagnosticados antes dos 10 anos tendem a apresentar melhor resposta aos tratamentos, enquanto adolescentes e jovens adultos frequentemente apresentam desfechos mais adversos. Isso pode ser explicado pela presença de alterações genéticas distintas, maior incidência de resistência ao tratamento e menor adesão ao protocolo terapêutico em faixas etárias mais altas (Brady *et al.*, 2022). A média de idade dos pacientes analisados foi de 8,52 anos, com uma distribuição que incluiu crianças de 0,42 a 17 anos. Embora a LLA-B apresente um pico de incidência entre 2 e 5 anos, a LLA-T geralmente acomete crianças mais velhas e adolescentes, o que também foi observado no presente estudo (Hunger; Mullighan, 2015).

Embora a idade ao diagnóstico não tenha apresentado associação estatística significativa com recaídas ou óbitos neste estudo ($p > 0,05$), a literatura sugere que essa variável deve ser considerada em conjunto com outros fatores prognósticos, como leucometria inicial e DRM, para a estratificação de risco (Teachey; O'Connor, 2020; Niu; Soberbo, 2025).

Os resultados deste estudo reforçam que a leucometria inicial elevada e a idade ao diagnóstico são parâmetros fundamentais na estratificação de risco e na personalização do tratamento de LLA-T. Enquanto a hiperleucocitose está diretamente associada a uma doença mais agressiva, a idade ao diagnóstico deve ser avaliada em conjunto com biomarcadores moleculares, como a DRM, para fornecer uma perspectiva prognóstica mais precisa. A integração de critérios clínicos e genéticos pode melhorar a estratificação de risco e otimizar as estratégias terapêuticas, contribuindo para melhores desfechos (Iacobucci; Kimura; Mullighan, 2021; Xue *et al.*, 2023).

Protocolos de tratamento

Os pacientes do estudo foram tratados principalmente com os protocolos BFM 95 (69,6%, $n = 35$), BFM 2009 (13%, $n = 6$) e GBTLI 2021 (10,9%, $n = 5$). A escolha do protocolo é influenciada por fatores como estratificação de risco inicial, leucometria, infiltração no SNC e presença de DRM detectável ao final da indução. Em relação à estratificação de risco, a maioria dos pacientes (75,6%, $n = 38$) foi classificada como de alto risco, enquanto 19,5% ($n = 10$) foram classificados como risco intermediário e apenas 4,9% ($n = 2$) como baixo risco. Essa estratificação baseou-se em critérios como leucometria inicial, idade ao diagnóstico, infiltração no sistema nervoso central e presença de doença residual mínima ao final da indução. Pacientes

de alto risco tiveram maior prevalência de DRM detectável (32,5%, n = 16) e apresentaram piores desfechos clínicos, incluindo taxas mais elevadas de recaída e mortalidade.

Pacientes tratados com os protocolos BFM 95 e GBTLI 2021 apresentaram taxas semelhantes de DRM detectável ao final da indução, com o BFM 95 mostrando uma ligeira vantagem na redução da presença de DRM. Especificamente, 80,65% (n = 28) dos pacientes tratados com BFM 95 apresentaram DRM indetectável, enquanto no GBTLI 2021 essa taxa foi de 80% (n = 4).

Em contrapartida, os protocolos BFM 2009 e Recife 2000 (LLA Recife 200) apresentaram significativamente mais casos de DRM positiva (p < 0,05). Esses protocolos, frequentemente aplicados a pacientes de maior risco, mostraram limitações em alcançar a eliminação completa das células residuais, provavelmente devido à alta carga tumoral inicial e às características moleculares adversas desses subgrupos.

Esses resultados destacam que, embora os protocolos BFM 95 e GBTLI 2021 sejam eficazes na redução da DRM, ajustes terapêuticos adicionais podem ser necessários para pacientes de alto risco tratados com protocolos menos eficazes. A presença de DRM é um dos principais preditores de recaída e mortalidade, mesmo em esquemas intensivos (Schrappe *et al.*, 2011; Xue *et al.*, 2023).

Apesar de apresentarem resultados semelhantes quanto à DRM, os protocolos BFM 95 e GBTLI 2021 diferem em sua abordagem terapêutica. O GBTLI 2021 é mais flexível, permitindo ajustes baseados em biomarcadores moleculares e resposta precoce, enquanto o BFM 95 segue um esquema mais padronizado, mas ainda eficaz, particularmente em pacientes de risco intermediário e baixo.

Por outro lado, a alta prevalência de DRM positiva em pacientes tratados com BFM 2009 e LLA Recife 200 reflete a necessidade de intensificação terapêutica nesses esquemas. A introdução de agentes mais eficazes, como nelarabina, pode melhorar os desfechos nesses subgrupos, especialmente em casos de infiltração no SNC e alta leucometria inicial (Hastings *et al.*, 2015; Niu; Soberbo, 2025).

Biologia molecular e estratificação de risco

As translocações cromossômicas, em particular a del(1p32)-SIL-TAL1, foram detectadas em 36,7% (n = 18) dos pacientes analisados. Essa alteração está associada à expressão aberrante de TAL1, um fator de transcrição que promove a proliferação descontrolada de linfoblastos T. Essa translocação é um marcador de pior prognóstico, reforçando a necessidade de terapias-alvo específicas (Van Vlierberghe *et al.*, 2012).

As alterações genéticas como TAL1, NOTCH1 e PI3K são frequentemente identificadas na LLA-T e desempenham um papel crucial na transformação maligna das células T. Mutações no gene NOTCH1, por exemplo, ocorrem em mais de 60% dos casos de LLA-T e promovem a proliferação celular descontrolada, sendo consideradas alvos promissores para terapias-alvo (Van Vlierberghe *et al.*, 2012).

No presente estudo, a pesquisa de translocações limitou-se à SIL-TAL1, o que evidencia uma limitação no diagnóstico molecular atual do laboratório de pesquisa do HCB. Embora essa translocação seja altamente relevante no contexto da LLA-T, outras alterações genéticas importantes, como rearranjos envolvendo os genes TLX1, TLX3, HOXA e LMO2, não foram incluídas na investigação molecular. Essa limitação restringe a capacidade de caracterizar completamente o perfil biológico da doença, comprometendo a identificação de subgrupos específicos que poderiam se beneficiar de terapias mais direcionadas.

Os dados deste estudo sugerem que a presença de SIL-TAL1 está associada a características clínicas adversas, como maior prevalência de DRM positiva e infiltração no SNC. Esses achados são consistentes com a literatura, que associa essa translocação a desfechos

mais desfavoráveis em pacientes com LLA-T, particularmente em subgrupos de alto risco (Iacobucci; Kimura; Mullighan, 2021).

Além disso, mutações adicionais, como as encontradas nas vias PI3K/AKT e RAS, têm sido associadas à resistência ao tratamento e maior probabilidade de recaída. A identificação dessas alterações moleculares, ainda pouco exploradas em muitos centros, amplia o entendimento da resistência biológica e reforça a importância de uma abordagem diagnóstica que vá além da citometria e da morfologia convencional (Brady *et al.*, 2022; Niu; Soberbo, 2025).

A expressão de marcadores como CD34 também tem sido correlacionada a desfechos desfavoráveis, especialmente quando associada a mutações em NOTCH1 e à persistência de DRM. A avaliação conjunta desses biomarcadores pode aprimorar significativamente a estratificação de risco e auxiliar na definição precoce de estratégias de intensificação terapêutica (Gao *et al.*, 2024).

A investigação molecular limitada ao SIL-TAL1 ressalta a necessidade de expandir as análises genéticas realizadas no laboratório, incorporando a pesquisa de outros marcadores relevantes e tecnologias avançadas. Além de melhorar a estratificação de risco, isso possibilitaria a identificação de novos alvos terapêuticos e a introdução de estratégias mais personalizadas, como o uso de inibidores de NOTCH1 e imunoterapias (Teachey; O'Connor, 2020).

No futuro, a integração de tecnologias modernas e a ampliação do painel de marcadores moleculares poderão oferecer melhores perspectivas de manejo clínico para pacientes com LLA-T, especialmente aqueles classificados como de alto risco. Tais avanços são essenciais para superar as limitações atuais e garantir um tratamento mais eficaz e direcionado (Xue *et al.*, 2023).

Relação entre dados clínicos, recaídas e óbitos

Entre os 51 pacientes avaliados, 24% (n = 12) apresentaram recaída e 23,5% (n = 11) evoluíram para óbito ao longo do prazo. A infiltração no sistema nervoso central (SNC) esteve significativamente associada a ambos os desfechos, com aumento de 10,67 vezes no risco de recaída (p = 0,002) e 6,4 vezes no risco de morte (p = 0,011). A barreira hematoencefálica dificulta a penetração de agentes quimioterápicos no SNC, comprometendo o controle da doença e elevando a chance de recidiva e mortalidade (Schrappe *et al.*, 2011).

A presença de trombocitopenia (plaquetas <100.000/mm³) também se associou a maior frequência de recaídas e óbitos, ainda que sem significância estatística no caso da recaída (p = 0,091). Já para óbito, a trombocitopenia apresentou odds ratio de 11,579, e o sangramento de mucosas, de 8,7, revelando o impacto da disfunção hematopoiética em fases avançadas da LLA-T. Esses achados refletem a fragilidade clínica de pacientes com medula óssea severamente infiltrada, com menor capacidade de regeneração e resposta ao tratamento (Teachey; O'Connor, 2020; Xue *et al.*, 2023).

Embora a associação entre leucometria inicial e recaída não tenha sido estatisticamente significativa neste estudo (p = 0,255), valores superiores a 200.000 células/μL indicam carga tumoral elevada e tendência a quadros mais agressivos, condição que pode antecipar recaídas e comprometimento terapêutico (Hastings *et al.*, 2015; Gao *et al.*, 2024).

No presente estudo, dos 51 pacientes analisados, 24% (n = 12) apresentaram recaída e 23,5% (n = 11) evoluíram para óbito. Destaca-se que, entre os pacientes que recaíram, 58,3% (n = 9) não sobreviveram, evidenciando uma forte associação entre recaídas e desfechos fatais. Isso evidencia que a recaída é o principal preditor de desfechos fatais, especialmente no subtipo T, onde o comportamento biológico recidivante tende a ser mais instável, com acúmulo de alterações genéticas secundárias, aumento da heterogeneidade clonal e menor sensibilidade aos

protocolos de reindução (Schrappe *et al.*, 2011; Zhu *et al.*, 2024). A doença recidivante tende a expressar maior instabilidade genética, com mutações associadas a proliferação descontrolada e resistência farmacológica, como as que envolvem NOTCH1 e ativação da via PI3K/AKT/mTOR (Hunger; Mullighan, 2015).

Pacientes com DRM positiva apresentaram taxas significativamente maiores de recaída e óbito, o que reforça a importância do monitoramento precoce da resposta ao tratamento. A persistência de DRM indica resistência biológica ao protocolo terapêutico, o que exige ajustes terapêuticos mais agressivos, como a intensificação do regime quimioterápico ou a introdução de imunoterapias (Teachey; O'Connor, 2020). A análise aprofundada da DRM como fator prognóstico demonstra forte poder discriminatório para eventos adversos, especialmente por se tratar de um fator independente na LLA-T que possui capacidade para prever recidivas sistêmicas e extramedulares (Zhu *et al.*, 2024). A aplicação de protocolos ajustados à resposta inicial e guiados por DRM mostra impacto direto na redução da mortalidade, com ênfase em estratégias de intensificação precoce e individualização do tratamento, sobretudo nos subgrupos de alto risco.

Conclusão

Este estudo descreve as características epidemiológicas, clínicas e biológicas da LLA-T. Identifica predominância de pacientes de alto risco. Observa associação entre infiltração no SNC, leucometria elevada e DRM positiva com piores desfechos. Avalia a resposta aos protocolos terapêuticos utilizados. Evidencia limitações na investigação molecular e nos registros clínicos. Destaca a importância da estratificação de risco e do monitoramento da DRM. Ressalta a necessidade de aprimoramento diagnóstico e terapêutico na LLA-T, a fim de promover uma abordagem terapêutica mais personalizada e eficaz, com menor toxicidade para os pacientes.

Referências

BRADY, Samuel W. *et al.* The genomic landscape of pediatric acute lymphoblastic leukemia. **Nature genetics**, v. 54, n. 9, p. 1376-1389, 2022. DOI: 10.1038/s41588-022-01159-z.

GAO, Hui *et al.* Association of CD34 expression with future relapse in pediatric T-cell Acute Lymphoblastic Leukemia. **Innovate Journal of Pediatrics**, v. 34, n. 6, p. e141344, 2024. DOI: 10.5812/ijp-141344.

GRABHER, Clemens; VON BOEHMER, Harald; LOOK, A. Thomas. Notch 1 activation in the molecular pathogenesis of T-cell acute lymphoblastic leukaemia. **Nature Reviews Cancer**, v. 6, n. 5, p. 347-359, 2006. DOI: 10.1038/nrc1880.

HASTINGS, Caroline *et al.* Increased post-induction intensification improves outcome in children and adolescents with a markedly elevated white blood cell count ($\geq 200 \times 10^9/l$) with T cell acute lymphoblastic leukaemia but not B cell disease: a report from the Children's Oncology Group. **British Journal of Haematology**, v. 168, n. 4, p. 533-546, 2015. DOI: 10.1111/bjh.13160.

HUNGER, Stephen P.; MULLIGHAN, Charles G. Acute lymphoblastic leukemia in children. **New England Journal of Medicine**, v. 373, n. 16, p. 1541-1552, 2015. DOI: 10.1056/NEJMra1400972.

IACOBUCCI, Ilaria; KIMURA, Shunsuke; MULLIGHAN, Charles G. Biologic and therapeutic implications of genomic alterations in acute lymphoblastic leukemia. **Journal of Clinical Medicine**, v. 10, n. 17, p. 3792, 2021. DOI: 10.3390/jcm10173792.

LINABERY, Amy M.; ROSS, Julie A. Trends in childhood cancer incidence in the US (1992–2004). **Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society**, v. 112, n. 2, p. 416-432, 2008. DOI: 10.1002/cncr.23169.

NIU, Fengfeng; SOBERBO. 儿童急性 T 淋巴细胞白血病微小残留病研究现状及展望 [Estado atual e perspectivas da pesquisa sobre doença residual mínima na leucemia linfoblástica T aguda infantil]. **Chinese Journal of Hematology**, v. 46, n. 1, p. 97-102, 2025. DOI: 10.3760/cma.j.cn121090-20240701-00239.

SCHRAPPE, Martin *et al.* Late MRD response determines relapse risk overall and in subsets of childhood T-cell ALL: results of the AIEOP-BFM-ALL 2000 study. **Blood**, v. 118, n. 8, p. 2077-2084, 2011. DOI: 10.1182/blood-2011-03-338707.

TEACHEY, David T.; O'CONNOR, David. How I treat newly diagnosed T-cell acute lymphoblastic leukemia and T-cell lymphoblastic lymphoma in children. **Blood**, v. 135, n. 3, p. 159-166, 2020. DOI: 10.1182/blood.2019001557.

VAN VLIERBERGHE, Pieter *et al.* The molecular basis of T cell acute lymphoblastic leukemia. **Journal of Clinical Investigation**, v. 122, n. 10, p. 3398-3406, 2012. DOI: 10.1172/JCI61269.

XUE, Yu-juan *et al.* Clinical analysis of pediatric T-cell acute lymphoblastic leukemia using the MRD-oriented strategy system. **Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia**, v. 23, n. 7, p. 477-483, 2023. DOI: 10.1016/j.clml.2023.03.013.

ZHU, Jiashi *et al.* 儿童T系急性淋巴细胞白血病单中心10年随访研究 [Estudo de acompanhamento de 10 anos de leucemia linfoblástica aguda T em crianças em um único centro]. **Chinese Journal of Hematology**, v. 45, n. 12, 2024.



Hospital da Criança de Brasília José Alencar
AENW 3, Lote A - Setor Noroeste
Brasília - DF - CEP 70.684-831
www.hcb.org.br
0800 0022345



Secretaria de Saúde GOVERNO DO DISTRITO FEDERAL

