

Evolução clínica e fusão *TEL/AML1* em pacientes pediátricos com síndrome de Down e leucemia linfoblástica aguda

Clinical evolution and TEL/AML1 fusion in pediatric patients with Down syndrome and acute lymphoblastic leukemia

Paulo R. G. Zen¹

Liane E. Daudt²

Rafael F. M. Rosa³

Giorgio A. Paskulin⁴

O risco aumentado de desenvolvimento de leucemia apresentado pelos indivíduos portadores de síndrome de Down (SD) já é bem conhecido. Entretanto, a contribuição do cromossomo 21 extraconstitucional ao processo de leucemogênese, ainda não está bem estabelecida. A fusão TEL/AML1 é a anomalia estrutural mais frequentemente encontrada em leucemia linfoblástica aguda (LLA) da infância, mas a sua associação com a LLA em pacientes com SD não é bem clara. Nós investigamos uma amostra de quatro pacientes com LLA e SD (LLA-SD) quanto à sua evolução clínica e seus aspectos citogenéticos, inclusive com pesquisa da fusão TEL/AML1. A idade do diagnóstico variou de 5 anos e 7 meses a 13 anos e 7 meses, o número de leucócitos em sangue periférico de 7.200 a 208.000/mm³ e a porcentagem de blastos na medula óssea de 20% a 95%. Apenas um paciente foi positivo para a fusão TEL/AML1. Todos os pacientes entraram em remissão completa e nenhum apresentou comprometimento extramedular ou recidiva. O tempo de sobrevida variou de 67 a 82 meses e não ocorreu nenhum óbito. Em nossa série de crianças com LLA-SD, os aspectos citogenéticos e a boa evolução clínica observados estão de acordo com o relatado na literatura. Rev. Bras. Hematol. Hemoter.

Palavras-chave: Leucemia; síndrome de Down; fusão TEL/AML1.

Introdução

A associação entre o fenótipo clínico da síndrome de Down (SD) e a presença de um cromossomo 21 extra foi descrita por Lejeune e colaboradores em 1959. Mas já em 1930, Brewster e Cannon haviam descrito o primeiro relato de um caso de leucemia em paciente portador de SD, enquanto a primeira descrição indicando uma incidência aumentada de leucemia nestes pacientes foi feita em 1957 por Krivit e Good.¹

As crianças com SD têm um risco de desenvolver leucemia dez a vinte vezes maior do que a população em geral,^{1,2} sendo que tanto a leucemia linfoblástica aguda (LLA) quanto

a mielóide aguda ocorrem em uma frequência igual de 1 em cada 300 pacientes com SD.¹ A predisposição aumentada para leucemia é observada tanto nos 90% de pacientes com fenótipo típico de SD e trissomia livre do cromossomo 21 quanto naqueles com mosaïcismo para trissomia do 21 (5%), translocações Robertsonianas (1%), trissomia parcial do 21 (0,5%) ou cromossomo 21 em anel (0,5%).^{1,2} O(s) mecanismo(s) pelo(s) qual(ais) o cromossomo 21 adicional contribui para o processo de leucemogênese ainda não são claros.³ Embora já se conheçam diversos oncogenes relacionados à leucemia e que são localizados no cromossomo 21, nenhum é claramente associado ao desenvolvimento de LLA em SD (LLA-SD).^{3,4}

¹Professor Adjunto da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre – Porto Alegre-RS.

²Médica Hematologista Pediátrica, Hospital de Clínicas de Porto Alegre – Porto Alegre-RS.

³Aluno do Programa de Pós-Graduação em Patologia, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre – Porto Alegre-RS.

⁴Professor Associado, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre – Porto Alegre-RS.

Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre – Porto Alegre-RS.

Correspondência: Paulo Ricardo Gazzola Zen
Rua Sarmiento Leite, 245, sala 404 – Centro
90050-170 – Porto Alegre-RS – Brasil
E-mail: paulozen@ufcspa.edu.br
Doi:

Atualmente, já são bem conhecidos vários fatores com potencial prognóstico, como características clínicas (sexo, contagem inicial de células brancas e idade ao diagnóstico), imunológicas (imunofenótipo leucêmico) e genéticas (anomalias cromossômicas recorrentes não ocasionais) associadas com o clone leucêmico e que são avaliáveis ao diagnóstico.⁵⁻⁷ A fusão dos genes *TEL* (também conhecido como *ETV6*) e *AML1* (*RUNX1*) tem sido associada a um prognóstico clínico favorável,⁸⁻¹³ mas alguns estudos não mostram diferença significativa no prognóstico de pacientes portadores ou não desta fusão.¹⁴⁻¹⁷

Aqui apresentamos dados de um estudo realizado com quatro pacientes pediátricos com síndrome de Down e LLA da linhagem B no Rio Grande do Sul, um portador e três não portadores da fusão *TEL/AML1*, com o objetivo de verificar anormalidades citogenéticas e a evolução clínica destes pacientes.

Casuística e Método

Durante os anos 2000 a 2002 foram selecionados quatro pacientes pediátricos portadores de síndrome de Down, atendidos em hospitais do estado do Rio Grande do Sul, com leucemia aguda recém-diagnosticada e imunofenotipagem positiva para os antígenos CD10 e CD19, ou seja, LLA de linhagem B. Somente foram incluídos no estudo pacientes com resultados disponíveis de citogenética convencional e de hibridização *in situ* fluorescente (FISH), realizada com o objetivo de investigar a presença da fusão dos genes *TEL* e *AML1*.

Análise citogenética

Blastos leucêmicos da medula óssea foram incubados por 24-48 horas e, após, foi utilizada uma metodologia padrão para a preparação dos cromossomos. As preparações foram coradas com bandas G pelo método tripsina-Giemsa e os cariótipos foram descritos de acordo com o *International System for Human Cytogenetic Nomenclature (ISCN 2005)*.¹⁸ Foram analisadas no mínimo vinte metáfases de cada caso.

FISH

O protocolo utilizado na realização da técnica de FISH foi o de codenaturação cedido pelos próprios fabricantes da sonda *ETV6/AML1 Translocation Probe - Two Colour Direct Labeled Probe - Aquarius Probes* (Cytocell Ltd., Cambridge, UK), descrito de forma mais detalhada a seguir. As lâminas foram preparadas a partir de amostras estocadas em fixativo de Carnoy, pela aplicação da suspensão de células em uma lâmina úmida e gelada, deixando secar ao ambiente. As lâminas preparadas foram desidratadas em uma série de etanol gelado a 70%, 85% e 100%, um minuto em cada. A seguir as lâminas foram secas ao ar ambiente. A sonda *ETV6/AML1 Translocation Probe* foi removida do congelador e aquecida em temperatura ambiente. Após, foram retirados

10 µl de sonda por teste e colocados em tubo de microcentrífuga. Colocaram-se a sonda, a lâmina com a amostra e a lamínula de vidro (24 x 24 mm) para pré-aquecer a $37 \pm 1^\circ\text{C}$, em estufa, por 10 minutos. A seguir, os 10 µl da sonda foram colocados na lâmina com a amostra celular e, cuidadosamente, a lamínula foi aplicada. A lamínula foi selada com cimento de borracha deixando-se secar completamente. A amostra e a sonda foram desnaturadas simultaneamente, por aquecimento da lâmina em placa aquecida a $72 \pm 1^\circ\text{C}$ por 3 minutos. Em seguida, colocou-se a lâmina preparada em um recipiente úmido e protegido da luz a $37 \pm 1^\circ\text{C}$, por 18 a 20 horas (*overnight*). Após a hibridização, removeram-se com cuidado a lamínula e todo o cimento de borracha, lavando-se a lâmina em 0,4 x SSC (*standard saline citrate*) a $42 \pm 1^\circ\text{C}$ por 2 minutos. Deixou-se drenar a lâmina, seguida de lavagem em 2 x SSC com 0,05% de Tween-20 por 45 segundos a 1 minuto. Depois de secar ao ar ambiente, as lâminas foram contracoradas com 10 µl de DAPI e cobertas com nova lamínula. As lâminas foram colocadas na geladeira por 10 minutos para desenvolver o sinal e, a partir daí, estavam prontas para a análise.¹⁹

Análise dos sinais de FISH

A análise foi realizada em núcleos interfásicos. Nós estudamos 200 núcleos de cada uma das amostras de medula óssea. A microscopia de fluorescência foi realizada com um microscópio Olympus BX51 (Tokyo - Japan) com filtros apropriados e uma câmera CCD (*charged-coupled device*) acoplada. As imagens foram obtidas utilizando o sistema CytoVision (Applied Imaging). Com o objetivo de determinar as taxas de falso positivo para o sinal fusionado de *TEL* e de *AML1* foram usadas quatro amostras controle de sangue periférico, de crianças com cariótipo normal. Na análise de um total de 1.000 núcleos, 2,89% em média apresentaram um sinal justaposto positivo, com um desvio padrão (DP) de 1,8. Neste trabalho foi considerado como ponto de corte para positividade de uma amostra para a fusão *TEL/AML1* o valor da média de núcleos encontrados como positivos mais 3 desvios padrão, ou seja 8,3%. Para maior confiabilidade do estudo, todos os núcleos rompidos, sobredobrados, com sinais ambíguos ou com significativo sinal de fundo (*background*) foram excluídos da análise.¹⁹

As sondas *TEL* e *AML1*

A sonda *Aquarius ETV6/AML1* contém sequências 5' e 3' do gene *ETV6* (130 e 60 kb, respectivamente) e os primeiros cinco éxons do gene *AML1* (~40 kb). A sonda *ETV6* é diretamente marcada com um fluorocromo verde (*fluorescein isothiocyanate spectrum*) e a *AML1* com um fluorocromo vermelho (*Texas red*). A sonda foi planejada para identificar a fusão *TEL/AML1* no cromossomo derivado 21. Em núcleos interfásicos de células normais, os sinais da sonda aparecem como dois distintos sinais verdes e vermelhos. A fusão *TEL/AML1* é representada por um sinal de fusão verde/

vermelho (amarelo) no cromossomo derivado 21, em casos de t(12;21). Em alguns casos o cromossomo derivado 12 é representado por um pequeno sinal verde *TEL* remanescente (Figura 1).

Protocolos de tratamento

A determinação do grupo de risco e o consequente tratamento disponibilizado aos pacientes foram indicados de acordo com protocolos do grupo de estudo *Berlin-Frankfurt-*

Münster ALL Study Group (BFM-ALL).²⁸ A presença da fusão *TEL/AML1* não foi usada para a classificação de risco ou para a indicação de um protocolo de tratamento diferenciado.

Resultados

Os dados clínicos e citogenéticos dos quatro casos selecionados estão sumarizados na Tabela 1. A amostra foi composta por três meninos e uma menina, com idades

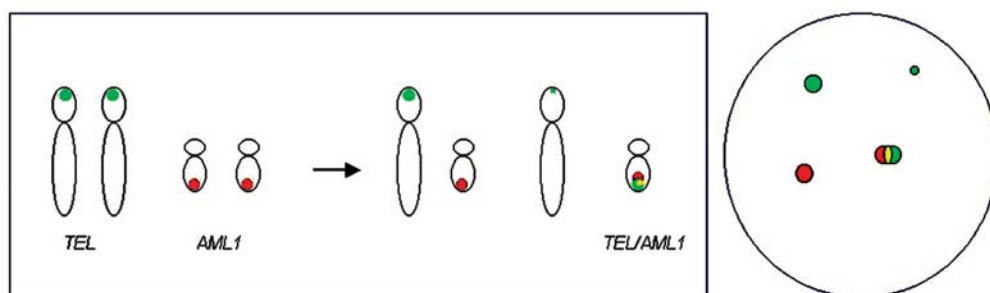


Figura 1. Esquema dos sinais esperados utilizando as sondas selecionadas para o estudo. Em uma célula normal, os sinais verdes são observados no braço curto dos cromossomos 12 e os vermelhos no braço longo dos 21 (à esquerda). No lado direito, o sinal amarelo indica a presença da fusão dos genes *TEL* e *AML1*, os sinais verde e vermelho indicam, respectivamente, os genes selvagens *TEL* e *AML1* localizados nos cromossomos 12 e 21 normais. Um sinal residual de *TEL* pode ser observado no cromossomo 12 envolvido na translocação

Tabela 1. Aspectos clínicos, laboratoriais e citogenéticos dos pacientes

Caso	S/I	Imu	LSP mm ³	Hbg/dL	Plaq mm ³	Blastos BM(%)	HSE	TSD dias	Cariótipo	Fusão <i>TEL/AML1</i>	Sobrevida (meses)
1	M/6.7	B	7.200	7.5	61.000	90	Não	15	53~54,XY,+X,+der(3)(q12q27),+4,+14,i(17)(q10),+18,+21c,+21,+22,+mar[cp6]/47,XY,+21c[13]	-	82
2	M/9.5	B	208.000	10.7	79.000	95	Sim	30	47,XY,+21c[28]	-	76
3	M/5.7	B	133.400	12.6	135.000	20	Sim	4	47,XY,+21c[20]/48,XY,+X,+21c[25]	-	67
4	F/13.7	B	29.300	6.2	91.000	62	Sim	7	94<4n>,XX,+X,+X,+21c,+21c[20]	+	70

S/I, sexo/idade (ano, mês); M, masculino; F, feminino; Imu, imunofenótipo; LSP, leucócitos em sangue periférico; Hb, hemoglobina, Plaq, plaquetas; MO, medula óssea; HSE, hepatoesplenomegalia; TSD, tempo entre o início dos sintomas e o diagnóstico.

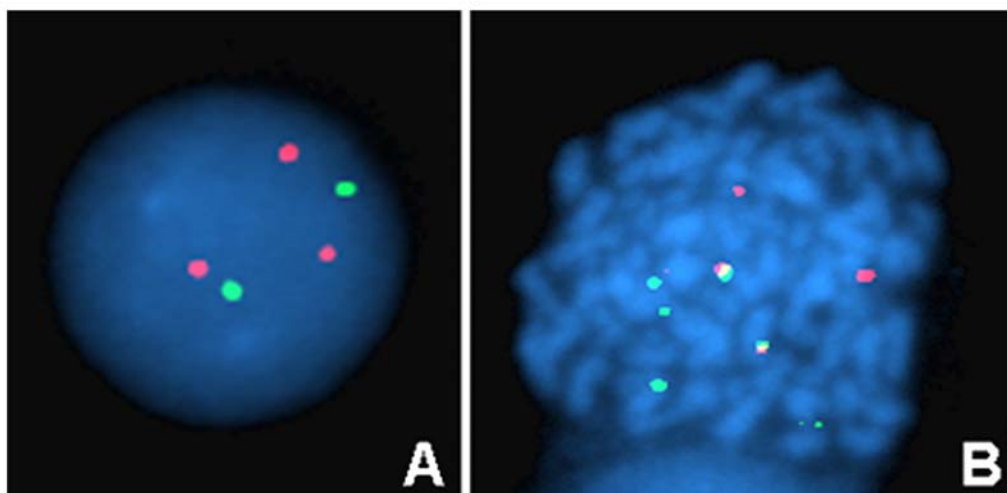


Figura 2. Núcleo interfásico mostrando dois sinais selvagens de *TEL* e *AML1* e um sinal extra de *AML1* (caso 2); B) Metáfase tetraploide com dois sinais fusionados, dois sinais dos alelos selvagens *TEL* e *AML1* e dois sinais residuais de *TEL* (caso 4)

variando entre 5 anos e 7 meses e 13 anos e 7 meses. O tempo entre o início dos sintomas e o diagnóstico variou de 4 a 30 dias. O número de leucócitos em sangue periférico variou de 7.200 a 208.000/mm³, a hemoglobina de 6,2 a 12,6 g/dL, as plaquetas de 61.000 a 135.000/mm³ e o percentual de blastos na medula óssea de 20% a 95%. Somente o paciente 1 não apresentava hepatoesplenomegalia no momento do diagnóstico.

À análise citogenética, o paciente 2 era o único que não apresentava anomalia citogenética adicional, afora o cromossomo 21 extraconstitucional (+21c), e o paciente 4 era tetraploide e o único que apresentava a fusão *TEL/AML1*. Enquanto o paciente 1 apresentava duas linhagens celulares, uma hiperdiploide com mais de 50 cromossomos e a outra apenas com o +21c. O cromossomo X adicional foi a anormalidade mais frequentemente observada (três casos). Na figura 2 pode-se observar um núcleo com três sinais do gene *AML1* e outro com um clone tetraploide positivo para a fusão *TEL/AML1*.

Todos os pacientes entraram em remissão completa e nenhum apresentou comprometimento do sistema nervoso central ou testículos, ou mesmo recidiva. O tempo de sobrevivência variou de 67 a 82 meses e, ao final de um tempo mínimo de seguimento de mais de cinco anos, não ocorreu nenhum óbito.

Discussão

A associação entre o cromossomo 21 adicional nos pacientes com SD e o risco aumentado para o desenvolvimento de neoplasias hematológicas já é bem estabelecida.^{1,20,21} A alta incidência de leucemia da infância em crianças portadoras de SD sugere fortemente que a presença de cópias adicionais do cromossomo 21 seja leucemogênica,²² apesar de o mecanismo pelo qual o +21c contribui para a leucemogênese permanecer não claro. Dentre as possíveis causas de LLA em pacientes portadores de SD podemos citar: a) um efeito oncogênico direto do +21c, de modo similar ao papel do cromossomo 21 adicional nas leucemias esporádicas; b) um efeito sobre o desenvolvimento, em que o +21c possa aumentar a proliferação normal das células progenitoras linfoides fetais, que poderiam evoluir para leucemia se eventos genéticos adicionais ocorrerem; e c) pelo ambiente imunológico alterado e pela taxa aumentada de infecções que caracterizam a SD.²²

Do ponto de vista citogenético, existem relatos de baixa frequência de cariótipos apresentando hipodiploidia, hiperdiploidia com mais de 50 cromossomos, translocações t(1;19) e t(9;22), e aqueles rearranjos envolvendo a região 11q23 em LLA-SD.²³⁻²⁶ Em relação à fusão dos genes *TEL* e *AML1* [t(12;21)], os dados são conflitantes, sendo relatados estudos que não identificaram a sua presença,^{23,27} trabalhos que identificaram uma frequência baixa (< 20%)^{25,26} e outros que observaram uma frequência igual (± 25%) à de pacientes com LLA não portadores de SD.²⁷ Por sua vez, a anormalidade citogenética mais frequentemente observada, associada a

t(12;21), é a trissomia do cromossomo 21.²⁸ Esta é considerada uma alteração secundária comum à fusão *TEL/AML1*, ocorrendo em aproximadamente 15% dos casos^{28,29} e conferiria um bom prognóstico.^{8,30}

A distribuição pela idade e o imunofenótipo são similares em crianças com e sem SD.²² Alguns autores relatam que pacientes portadores de SD, quando submetidos a protocolos de tratamento padrão para LLA, apresentam uma sobrevida de cinco anos, que é similar àquela dos não portadores, apesar de apresentarem uma tolerância ruim ao tratamento.^{1,31} Por outro lado, alguns estudos relatam uma sobrevida livre de evento e sobrevida global menores em LLA-SD.^{24,25}

Os dados obtidos em nosso estudo são concordantes com aqueles descritos na literatura. A identificação de um paciente *TEL/AML1+* (25%) está de acordo com o estudo de Steiner e cols,²⁷ enquanto a observação de que todos os pacientes sobreviveram ao final de um período mínimo de mais de cinco anos é concordante com o relatado por autores como Lange,¹ Chessells e cols,²⁴ e Roizen e Patterson.³¹

A possibilidade de diagnosticar e tratar adequadamente pacientes portadores de LLA, associada à SD ou não, já é uma realidade em nosso meio. Ressaltamos a importância de progressivamente aliar a citogenética convencional a métodos diagnósticos complementares, como o FISH e a reação em cadeia da polimerase (PCR), para a detecção de anomalias específicas e de importância clínica.

Agradecimentos

Este trabalho recebeu o apoio do Programa de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre.

Abstract

*The increased risk of developing leukemia found in Down syndrome (DS) patients is already well-known. However, the contribution of the extra copy of chromosome 21 to this leukemogenesis is still not well established. The *TEL/AML1* fusion is the most frequently found structural anomaly in acute lymphoblastic leukemia (ALL) in childhood, but its association with ALL in DS patients is not very clear. We investigated a sample of four patients with ALL and DS (ALL-DS) in terms of their clinical evolution and cytogenetic aspects, including a study of the *TEL/AML1* fusion. The ages of the patients ranged from 5 years and 7 months to 13 years and 7 months, the number of leukocytes in peripheral blood was 7,200 to 208,000 x 10⁶ and the percentage of blasts in the bone marrow was 20 to 95%. Only one patient tested positive for the *TEL/AML1* fusion. All patients achieved complete remission and none presented extramedullary involvement or relapse. The survival period ranged from 67 to 82 months and there was no death. In our series of children with ALL-DS, the cytogenetic aspects and the good clinical evolution observed are in agreement with the literature. Rev. Bras. Hematol. Hemoter.*

Key words: Leukemia; Down syndrome; *TEL/AML1* fusion.

Referências Bibliográficas

1. Lange B. The management of neoplastic disorders of haematopoiesis in children with Down's syndrome. *Br J Haematol.* 2000; 110 (3):512-24.
2. Fong CT, Brodeur GM. Down's syndrome and leukemia: epidemiology, genetics, cytogenetics and mechanisms of leukemogenesis. *Cancer Genet Cytogenet.* 1987;28(1):55-76.
3. Whitlock JA. Down syndrome and acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol.* 2006;135(5):595-602.
4. Gurbuxani S, Vyas P, Crispino JD. Recent insights into the mechanisms of myeloid leukemogenesis in Down syndrome. *Blood.* 2004;103(2):399-406.
5. Pui CH, Evans WE. Treatment of acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med.* 2006;354(2):166-78.
6. Chauvenet AR, Martin PL, Devidas M, Linda SB, Bell BA, Kurtzberg J, et al. Antimetabolite therapy for lesser-risk B-lineage acute lymphoblastic leukemia of childhood: a report from Children's Oncology Group Study P9201. *Blood.* 2007;110(4):1105-11.
7. Stanulla M, Cario G, Meissner B, Schrauder A, Mörcke A, Riehm H, et al. Integrating molecular information into treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia--a perspective from the BFM Study Group. *Blood Cells Mol Dis.* 2007;39(2):160-3.
8. Borkhardt A, Cazzaniga G, Viehmann S, Valsecchi MG, Ludwig WD, Burci L, et al. Incidence and clinical relevance of TEL/AML1 fusion genes in children with acute lymphoblastic leukemia enrolled in the German and Italian multicenter therapy trials. Associazione Italiana Ematologia Oncologia Pediatrica and the Berlin-Frankfurt-Münster Study Group. *Blood.* 1997;90(2):571-7.
9. Rubnitz JE, Downing JR, Pui CH, Shurtleff SA, Raimondi SC, Evans WE, et al. TEL gene rearrangement in acute lymphoblastic leukemia: a new genetic marker with prognostic significance. *J Clin Oncol.* 1997;15(3):1150-7.
10. Jamil A, Theil KS, Kahwash S, Ruyman FB, Klopfenstein KJ. TEL/AML-1 fusion gene. its frequency and prognostic significance in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Genet Cytogenet.* 2000;122(2):73-8.
11. Uckun FM, Pallisgaard N, Hokland P, Navara C, Narla R, Gaynon PS, et al. Expression of TEL-AML1 fusion transcripts and response to induction therapy in standard risk acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma.* 2001;42(1-2):41-56.
12. Loh ML, Goldwasser MA, Silverman LB, Poon WM, Vattikuti S, Cardoso A, et al. Prospective analysis of TEL/AML1-positive patients treated on Dana-Farber Cancer Institute Consortium Protocol 95-01. *Blood.* 2006;107(11):4508-13.
13. Schultz KR, Pullen DJ, Sather HN, Shuster JJ, Devidas M, Borowitz MJ, et al. Risk- and response-based classification of childhood B-precursor acute lymphoblastic leukemia: a combined analysis of prognostic markers from the Pediatric Oncology Group (POG) and Children's Cancer Group (CCG). *Blood.* 2007;109(3):926-35.
14. Hann I, Vora A, Harrison G, Harrison C, Eden O, Hill F, et al. UK Medical Research Council's Working Party on Childhood Leukaemia. Determinants of outcome after intensified therapy of childhood lymphoblastic leukaemia: results from Medical Research Council United Kingdom acute lymphoblastic leukaemia XI protocol. *Br J Haematol.* 2001;113(1):103-14.
15. Hubeek I, Ramakers-van Woerden NL, Pieters R, Slater R, Beverloo HB, van Wering ER, et al. TEL/AML1 fusion is not a prognostic factor in Dutch childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol.* 2001;113(1):254-5.
16. Pui CH, Sandlund JT, Pei D, Campana D, Rivera GK, Ribeiro RC, et al. Improved outcome for children with acute lymphoblastic leukemia: results of Total Therapy Study XIII at St Jude Children's Research Hospital. *Blood.* 2004;104(9):2690-6.
17. Moghrabi A, Levy DE, Asselin B, Barr R, Clavell L, Hurwitz C, et al. Results of the Dana-Farber Cancer Institute ALL Consortium Protocol 95-01 for children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2007;109(3):896-904.
18. ISCN. An International System for Human Cytogenetic Nomenclature. Basel: S. Karger; 2005.
19. Zen PR, Lima MC, Coser VM, Silla L, Daudt L, Fernandes MS, et al. Prevalence of TEL/AML1 fusion gene in Brazilian pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Genet Cytogenet.* 2004; 151(1):68-72.
20. Hasle H, Clemmensen IH, Mikkelsen M. Risks of leukaemia and solid tumours in individuals with Down's syndrome. *Lancet.* 2000;355(9199):165-9.
21. Hill DA, Gridley G, Cnattingius S, Mellekjaer L, Linet M, Adami HO, et al. Mortality and cancer incidence among individuals with Down syndrome. *Arch Intern Med.* 2003;163(6):705-11.
22. Izraeli S, Rainis L, Hertzberg L, Smooha G, Birger Y. Trisomy of chromosome 21 in leukemogenesis. *Blood Cells Mol Dis.* 2007; 39(2):156-9.
23. Lanza C, Volpe G, Basso G, Gottardi E, Perfetto F, Cilli V, et al. The common TEL/AML1 rearrangement does not represent a frequent event in acute lymphoblastic leukaemia occurring in children with Down syndrome. *Leukemia.* 1997;11(6):820-1.
24. Chessells JM, Harrison G, Richards SM, Bailey CC, Hill FG, Gibson BE, et al. Down's syndrome and acute lymphoblastic leukaemia: clinical features and response to treatment. *Arch Dis Child.* 2001;85(4):321-5.
25. Bassal M, La MK, Whitlock JA, Sather HN, Heerema NA, Gaynon PS, et al. Lymphoblast biology and outcome among children with Down syndrome and ALL treated on CCG-1952. *Pediatr Blood Cancer.* 2005;44(1):21-8.
26. Forestier E, Izraeli S, Beverloo B, Haas O, Pession A, Michalová K, et al. Cytogenetic features of acute lymphoblastic and myeloid leukemias in pediatric patients with Down syndrome: an iBFM-SG study. *Blood.* 2008;111(3):1575-83.
27. Steiner M, Attarbaschi A, König M, Nebral K, Gadner H, Haas OA, et al. Equal frequency of TEL/AML1 rearrangements in children with acute lymphoblastic leukemia with and without Down syndrome. *Pediatr Hematol Oncol.* 2005;22(3):229-34.
28. Loncarevic IF, Roitzheim B, Ritterbach J, Viehmann S, Borkhardt A, Lampert F, et al. Trisomy 21 is a recurrent secondary aberration in childhood acute lymphoblastic leukemia with TEL/AML1 gene fusion. *Genes Chromosomes Cancer.* 1999;24(3):272-7.
29. Raynaud SD, Dastugue N, Zoccola D, Shurtleff SA, Mathew S, Raimondi SC. Cytogenetic abnormalities associated with the t(12;21): a collaborative study of 169 children with t(12;21)-positive acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia.* 1999;13(9): 1325-30.
30. McLean TW, Ringold S, Neuberg D, Stegmaier K, Tantravahi R, Ritz J, et al. TEL/AML-1 dimerizes and is associated with a favorable outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 1996;88(11):4252-8.
31. Roizen NJ, Patterson D. Down's syndrome. *Lancet.* 2003; 361 (9365):1281-9.

Avaliação: Editor e dois revisores externos
 Conflito de interesse: sem conflito de interesse

Recebido: 17/12/2008
 Aceito após modificações: 19/02/2009