

**CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO**  
**Curso de Biomedicina**

**Danilo Cordeiro Moreira**  
**Flávia Marraccini Precioso**

**PATOGÊNESE DA LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA EM**  
**CRIANÇAS PORTADORAS DA TRISSOMIA DO**  
**CROMOSSOMO 21**

**São Paulo**  
**2017**

**Danilo Cordeiro Moreira – RA: 001101**  
**Flávia Marraccini Precioso – RA: 000561**

**PATOGÊNESE DA LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA EM  
CRIANÇAS PORTADORAS DA TRISSOMIA DO  
CROMOSSOMO 21**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Biomedicina do Centro Universitário São Camilo, orientado pela Profa. Juliana V. dos Santos Bianchi e coorientado pela Profa. Leila J. Borracha Gonçalves como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

**São Paulo**  
**2017**

**Danilo Cordeiro Moreira**  
**Flávia Marraccini Precioso**

**PATOGÊNESE DA LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA EM  
CRIANÇAS PORTADORAS DA TRISSOMIA DO  
CROMOSSOMO 21**

**São Paulo, 1 de Novembro de 2017**

---

Professora Orientadora Dra. Juliana Vieira dos Santos Bianchi

---

Professor Examinador

## Agradecimentos

Primeiramente, gostaríamos de agradecer à nossas famílias, que sempre se mostraram presentes, nos apoiando, guiando e incentivando. Sem eles, nada disso seria possível.

Aos amigos e colegas que partilharam a mesma jornada, dividindo bons e maus momentos. Juntos, aprendemos o quanto à união e solidariedade são importantes, fizemos deles nossa segunda família, lutamos e crescemos juntos.

Aos Professores, que nos passaram todos seus grandes conhecimentos, que foram nossos mestres e amigos. Que tiveram acima de tudo a paciência para nos guiar.

Em particular, a nossa orientadora Profa. Dra. Juliana Vieira dos Santos Bianchi e a nossa coorientadora Profa. Leila Jaldim Borracha Gonçalves pela paciência e dedicação, por acreditarem em nossos potenciais e confiarem em nossos esforços e resultados.

Você sempre pode desistir,  
Depois da primeira porta fechada  
Depois do primeiro não  
Depois de ter certeza que não daria para seguir,  
Mas o mundo é dos persistentes  
E ninguém pode parar a vontade de conquistar o  
que realmente se quer.

- Autor desconhecido.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

SD	Síndrome de Down
LMA	Leucemia Mieloide Aguda
GATA	<i>GATA binding protein</i>
LLA	Leucemia Linfoide Aguda
LMA-M7	Leucemia Megacarioblástica Aguda
LM-SD	Leucemia Mieloide da Síndrome de Down
DMT	Doença Mieloproliferativa Transitória
LT	Leucemia Transitória
RNs	Recém-Nascidos
LA	Leucemias Agudas
LC	Leucemias Crônicas
FAB	Franco-Americano-Britânico
OMS	Organização Mundial da Saúde
MPO	Mieloperoxidase
CBS	Cistationina Beta Sintase
SOD	Superóxido Desmutase
FOG1	<i>Friend of GATA1</i>
mRNA	Micro ácido desoxirribonucleico
DRM	Doença Residual Mínima
JAK	Janus kinase
CMK	Megacarioblasto
RNA	Ácido desoxirribonucleico
CTCF	<i>CCCTC-Binding Factor</i>
EZH2	<i>Histone-lysine N-methyltransferase enzyme</i>
RN	Recém nascido
MO	Medula óssea
N/C	Núcleo-Citoplasma
SB	<i>Sudan Black</i>
ANAE	Alfa-Naftil Acetato Esterase
CDs	<i>Cluster Designations</i>

IFT	Imunofenotipagem
RC	Recaída
FSC	<i>Forward Scatter</i>
SSC	<i>Side Scatter</i>
FL	Fluorescência Relativa
PE	Ficoeritrina
FITC	Isotiocianato de Fluoresceína
APC	Alofocianina
EDTA	<i>Ethylenediamine tetraacetic acid</i>
GBCFLUX	Grupo Brasileiro de Citometria de Fluxo
HLA-DR	<i>Human leukocyte antigen</i>
POG	<i>Paediatric Oncology Group</i>
TCTH	Transplante de células-tronco hematopoiéticas
ARA-C	Citarabina
CDA	Citadina Desaminase
ARA-U	Uridina Arabinose
DNR	Daunorrubicina
VP-16	Etoposídeo (etoposida)
SR	Sem resposta
CBR1	Carbonil Redutase 1

## Sumário

1 INTRODUÇÃO .....	10
2 OBJETIVOS .....	13
3 METODOLOGIA.....	14
4 DESENVOLVIMENTO .....	15
4.1 Síndrome de Down .....	15
4.2 Classificação das leucemias .....	24
4.3 Leucemia mielóide aguda.....	25
4.4 LMA em crianças portadoras da SD.....	32
5 PATOGÊNESE .....	34
5.1 Mutações secundárias envolvidas na evolução da LT para LM-SD .....	38
6 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL .....	42
6.1 Imunofenotipagem .....	46
7 TRATAMENTO .....	50
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	56
REFERÊNCIAS .....	58

## RESUMO

Síndrome de Down (SD) inicialmente descoberta pelo médico John Langdon Down, foi descrita de fato mais tarde, pelo francês Jerome Lejeun, determinando que os pacientes acometidos apresentavam uma cópia a mais de cromossomos, totalizando 47, sendo a cópia extra localizada no par cromossômico de número 21. A síndrome apresenta características clínicas congênitas, que incluem além do atraso mental, baixa estatura, perfil achatado, olhos com fendas palpebrais oblíquas, prega única nas palmas, entre outras. Leucemia mieloide aguda (LMA) é uma proliferação anormal de células hematopoiéticas progenitoras, acarretando em produção insuficiente de células sanguíneas maduras. Crianças portadoras da SD com idade inferior a três anos apresentam risco 500 vezes maior que as não portadoras, de desenvolver leucemia megacarioblástica aguda, classificada como leucemia mieloide da síndrome de Down, sendo que muitas vezes, essa doença é precedida pelo aparecimento da Leucemia Transitória, sendo esta, bastante importante para a identificação do possível desenvolvimento da Leucemia da síndrome de Down. Foi visto que mutações em diversos genes relacionados à cópia extra do cromossomo 21, em especial, mutações no gene *GATA1* são essenciais para o desenvolvimento da LMA em crianças com SD, que apesar de terem maiores chances de desenvolver leucemia, apresentam um bom prognóstico. O tratamento quimioterápico mediado pela Citarabina tem sugerido a hipótese de que devido ao cromossomo extra, a droga possua uma maior eficiência. Apesar de já se ter conhecimento sobre diversos mecanismos envolvendo LMA e SD, se faz necessário a realização de mais pesquisas para o melhor entendimento da patogênese, contribuindo para a diminuição de incidência e desenvolvimento de novos e melhores tratamentos.

**Palavras-chave:** Criança, Imunofenotipagem, Leucemia mieloide aguda – diagnóstico, Leucemia megacarioblástica aguda, Síndrome de Down.

## Abstract

First discovered by the doctor John Langdon Down, the Down Syndrome was described indeed by the french Jerome Lejeun, determining that the patients affected had presented one more copy of cromossomes, totalizing 47, being the extra copy localized in the cromomossic pair 21. The syndrome presents congenital clinical features, which include mental retardation, low stature, flat profile, cracked eyes, oblique eyelids, fold in the palms, among others. The acute myeloid leukemia is a not normal proliferation of progenitor hematopoetics cells carrying in an insufficient production of mature blood cells. Children with Down Syndrome under the age of three years, presents a 500-fold greater risk than the children who don't have Down Syndrome to develop acute megakarioblastic leukemia, classified as Down Syndrome myeloid leukemia, and this disease is often preceded by Transient Leukemia, being this, quite important for the identification of the possible development of Down syndrome myeloid leukemia. It has been seen that mutations in several genes related to extra copy of 21 cromossome, in special, mutations in the gene *GATA1*, are essential for the development of the Acute Myeloid Leukemia in childrens with Down Syndrome, who despite having greater risks of develop leukemia, presents a good prognostic. The chemotherapy mediated by Citarabine has been suggesting the hypothesis that due to extra cromossome, the drug is more efficient. Although there is already knowledge about several mechanisms involving acute myeloid leukemia and Down Syndrome, it is necessary to carry out further research for better understanding of the pathogenesis, contributing to the decrease of incidence and development of new and better treatments.

**Keywords:** Child, Immunophenotyping, Acute Myeloid Leukemia – diagnostic, Acute Megakaryocitic Leukemia, Down Syndrome.

## 1. INTRODUÇÃO

Trissomia do cromossomo 21 ou Síndrome de Down (SD), é uma alteração genética caracterizada por um conjunto de sinais e sintomas que geram principalmente atraso no desenvolvimento de funções motoras e mentais. Foi descrita inicialmente pelo médico inglês John Langdon Down, porém, o diagnóstico só foi estabelecido posteriormente pelo cientista francês Jerome Lejeun, que estudou os cromossomos de nove portadores, verificando dessa maneira, que ambos apresentavam um cromossomo a mais, ou seja, 47 cromossomos, sendo esse excedente, encontrado no par número 21 o que caracteriza o nome da síndrome (NASCIMENTO, 2006).

As características clínicas da Síndrome de Down são congênicas e incluem, principalmente: atraso mental, fraqueza muscular, baixa estatura, perfil achatado, orelhas pequenas com implantação baixa, olhos com fendas palpebrais oblíquas, língua grande, protrusa e sulcada, prega única nas palmas, entre outras (DUMONT *et al.*, 2007).

Outros problemas de saúde podem ocorrer no portador, como hipotonia (100%), problemas de audição (50-70%), cardiopatias congênicas (40%), entre outras. Atualmente, por conta do aumento da sobrevivência, a prevalência dessa condição tem aumentado na população em geral (MOREIRA *et al.*, 2000).

Crianças com SD frequentemente apresentam alterações no sistema hematopoiético, como macrocitose, anormalidades na contagem de plaquetas e aumento da ocorrência de leucemia (BARROS, 2012).

A ocorrência da leucemia mieloide aguda (LMA) é descrita numa frequência igual de 1 a cada 300 pacientes com SD (NISHIHARA *et al.*, 2014).

Na população geral, a incidência é de 3,5 por 100.000 pessoas ao ano, quando ajustada a idade, é maior nos homens do que nas mulheres (4,3 vs. 2,9) aumentando com a mesma, sendo 1,7 nos indivíduos com menos de 65 anos de idade e de 15,9 naqueles com mais de 65 anos (HEMATOLOGIA E ONCOLOGIA DE HARRISON, 2015).

Embora já se conheçam diversos oncogênes relacionados à leucemia e que são localizados no cromossomo 21, o mecanismo de leucemogênese ainda não está bem claro (NISHIHARA *et al.*, 2014).

LMA é a neoplasia maligna de células hematopoiéticas progenitoras, caracterizada pela proliferação anormal das mesmas, de linhagem mielóide, ocasionando produção insuficiente de células sanguíneas maduras normais com consequente substituição do tecido normal. Dessa maneira, a infiltração da medula é frequentemente acompanhada de neutropenia, anemia e plaquetopenia. O processo neoplásico pode surgir em qualquer estágio do desenvolvimento celular, ou seja, em qualquer fase da hematopoese (MARTINS, 2000; SILVA *et al.*, 2006; HELMAN *et al.*, 2011).

Pode apresentar também graus variáveis de hepatoesplenomegalia, adenomegalia, manifestações hemorrágicas e coagulação intravascular disseminada (LEE, 1999).

Os eventos moleculares precisos e responsáveis pela transformação leucêmica ainda não são conhecidos, no entanto, a ativação de protooncogenes e as mutações (alterações genéticas) em genes supressores que regulam o ciclo celular parecem estar envolvidas na patogênese das leucemias, pois levam à perda dos mecanismos normais controladores da proliferação (divisão celular), diferenciação-maturação e morte celular programada (apoptose) (SILVA, 2006).

A maioria dos pacientes portadores relata cansaço, palidez, sangramentos nas mucosas, febre, dores ósseas e infecções frequentes. (HAMERSCHLAK, 2008).

Crianças com SD com idade superior a quatro anos possuem uma maior incidência ao aparecimento da leucemia linfóide aguda (LLA), sendo essa, aproximadamente 20 vezes maior que na população em geral, enquanto portadores com idade inferior a três anos têm maior probabilidade de desenvolverem leucemia megacarioblástica aguda (LMA-M7 segundo a OMS), cuja incidência é 500 vezes maior que em crianças sem SD (HITZLER *et al.*, 2003; LANGE, 1995).

A LMA-M7 é classificada como leucemia mielóide da síndrome de down (LM-SD), possuindo como características principais, associação com mielodisplasia e megacariopoese. (HASLE *et al.*, 2003; BARROS, 2012).

Possivelmente, isso se deve à cooperação de um subconjunto de genes trissômicos (MALINGE *et al.*, 2009).

Contudo a base desta predisposição não é conhecida, além disso, nos primeiros meses de vida os pacientes tendem a desenvolver uma doença mieloproliferativa transitória (DMT) ou leucemia transitória (LT) (QUEIROZ, 2012).

Acomete cerca de 4% dos Recém Nascidos (RNs) com SD, regredindo na maioria das vezes espontaneamente durante os primeiros meses de vida, sendo considerada uma síndrome pré-leucêmica (KANEZAKI et al., 2010; MASSEY *et al.*, 2006).

A proliferação anormal das células pode ser relacionada à cópia extra do cromossomo 21. As alterações cariotípicas adicionais podem ser as responsáveis pela recaída da doença, sugerindo assim, que a trissomia é o fator predisponente (FETT-CONTE *et al.*, 2000).

O sangue e a medula óssea na DMT ou LT, apresentam modificações que se assemelham às que são típicas da leucemia, resultando em um crescimento rápido de glóbulos brancos anormais que podem desaparecer sem tratamento ou não. Os tratamentos incluem leucoferese (procedimento que filtra as células anormais do sangue) e quimioterapia, na maioria dos casos o prognóstico é bom, com resolução completa da doença sem nenhum tratamento. No entanto, alguns pacientes com DMT ou LT (20 a 25%) desenvolvem LMA (MOVIMENTODOWN.ORG, 2015).

Pesquisas recentes demonstram que pacientes leucêmicos portadores da SD e pacientes normais leucêmicos respondem de maneira diferenciada a tratamentos quimioterápicos, sendo que o primeiro grupo responde melhor. Isso se deve principalmente a uma boa resposta ao uso do quimioterápico Citarabina. A eficiência aumentada à Citarabina é explicada pela codificação de sua enzima de metabolização no cromossomo 21. E como os pacientes com Síndrome de Down apresentam três cromossomos 21, conseqüentemente, codificam em maior quantidade esta enzima, o que justifica sua melhor resposta ao tratamento quimioterápico (DUMONT *et al.*, 2007).

## **2. OBJETIVO**

Pesquisar os mecanismos patogênicos envolvidos na leucemia mielóide aguda apresentada por crianças portadoras da trissomia do cromossomo 21 (síndrome de Down), abordando sucintamente os métodos diagnósticos e tratamentos preconizados.

### 3. METODOLOGIA

Para a execução desse trabalho, foram realizados levantamentos bibliográficos em bases de dados e bibliotecas virtuais. Utilizou-se a Biblioteca Eletrônica Científica – Scielo, a ferramenta de pesquisa oferecida pelo Google – Google Acadêmico, além do PubMed, considerado um motor de busca livre à base de dados MEDLINE.

Como critério de inclusão de artigos, foram indexados ao trabalho todos aqueles que abordavam os temas gerais sobre a Síndrome de Down, desde sua história até os dias atuais, sobre as leucemias no aspecto geral como as peculiaridades de cada tipo e subtipo, incluindo o desenvolvimento de cada doença, evolução e o mecanismo de patogênese. Artigos abordando em conjunto a LMA-M7 (LM-SD), aqueles que apresentavam pesquisas clínicas sobre tratamento e tratamento de ambas enfermidades assim como os que comparavam diversos resultados entre crianças portadoras de SD e não portadoras, sendo esses escritos em inglês, espanhol e português.

Como critérios de exclusão dos artigos, não foram indexados ao trabalho, aqueles cujo tema abordava crianças com SD e outros tipos de leucemia que não LMA e os que abordavam apenas a evolução e mecanismo de desenvolvimento da doença (LMA) em crianças não portadoras de SD.

Foram utilizadas as seguintes palavras chave: Síndrome de Down, Leucemia Mielóide Aguda, Leucemia crianças, Leucemias Agudas, Trissomia do Cromossomo 21, LMA crianças com Síndrome de Down, *GATA1*, Mutações do cromossomo 21, Leucemia megacariocítica aguda, morfologia, imunofenotipagem, análise molecular, diagnóstico, Citarabina, Daunorrubicina, Etoposida, Metotrexato, Tratamento LM-SD, cariótipo, *Diagnosis of AML*, leucemia, Down Syndrome, *flow cytometry*, *immunophenotyping*, *megakaryocytic leukemia (AML-M7)*, *acute megakaryocytic leukemia*, *molecular analysis*, *diagnosis of leukemia*, entre outras.

## 4. DESENVOLVIMENTO

### 4.1 Síndrome de Down

A palavra “Down”, que nomeia a mesma, provém do nome do médico que a descobriu. A primeira descrição foi realizada em 1866, quando John Langdon Down, um médico britânico, observou semelhanças fisionômicas entre algumas crianças com atraso mental (quadro 1) (SCHWARTZMAN *et al.*, 1999; MOREIRA, 2000; SUEHIRO, 2008).

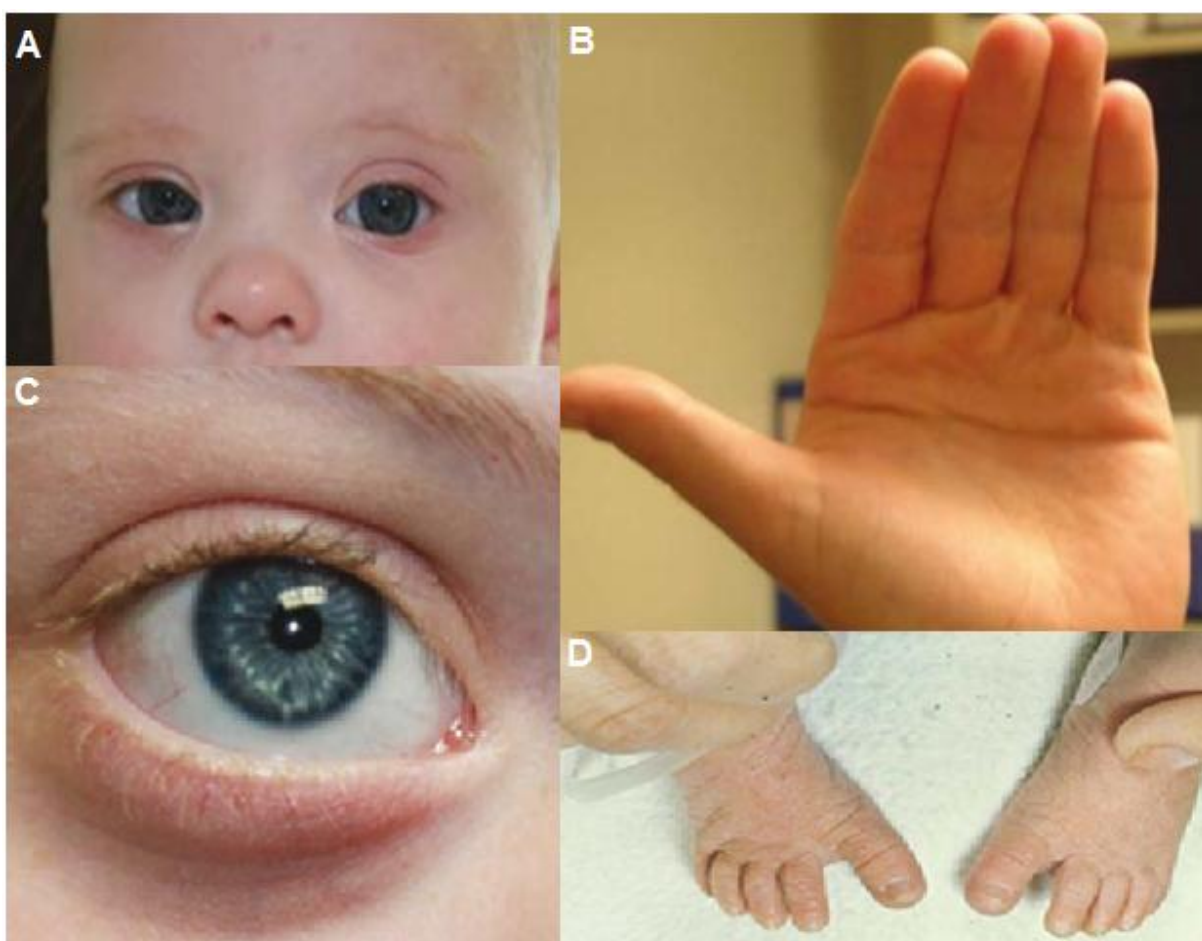
**Quadro 1 - Características marcantes expressas em porcentagem, frequentes em portadores da Trissomia do cromossomo 21 ou Síndrome de Down.**

Características mais frequentes em portadores da SD
<p><b>Achados superiores a 90%</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Microcefalia</li> <li>• Face achatada</li> <li>• Retardo Mental</li> </ul>
<p><b>Achados entre 80 e 90%</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Fissuras palpebrais oblíquas</li> <li>• Excesso de pele no pescoço</li> </ul>
<p><b>Achados entre 60 e 70%</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Falange média curta</li> <li>• Ponte nasal baixa</li> <li>• Boca entreaberta</li> <li>• Displasia pélvica</li> </ul>
<p><b>Achados entre 50 e 60%</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Orelhas displásicas (pequenas, de implantação baixa e malformadas)</li> <li>• Clinodactilia no quinto dedo</li> <li>• Língua protusa</li> </ul>
<p><b>Achados entre 40 e 50%</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Prega transversal palmar única</li> <li>• Pescoço curto e largo</li> <li>• Pregas epicânticas internas</li> </ul>

Fonte: Adaptada de OTTO *et al.*, 2013.

Na época, o médico associou a síndrome a indivíduos oriundos da Mongólia, um país localizado na Ásia Oriental e Central, por encontrar similaridades entre as características físicas de ambos (imagem 1), denominando o distúrbio como Mongolismo e seus portadores ficaram conhecidos como mongoloides (NASCIMENTO, 2006).

**Imagem 1- Características fenotípicas mais frequentes apresentadas por portadores da Síndrome de Down.**

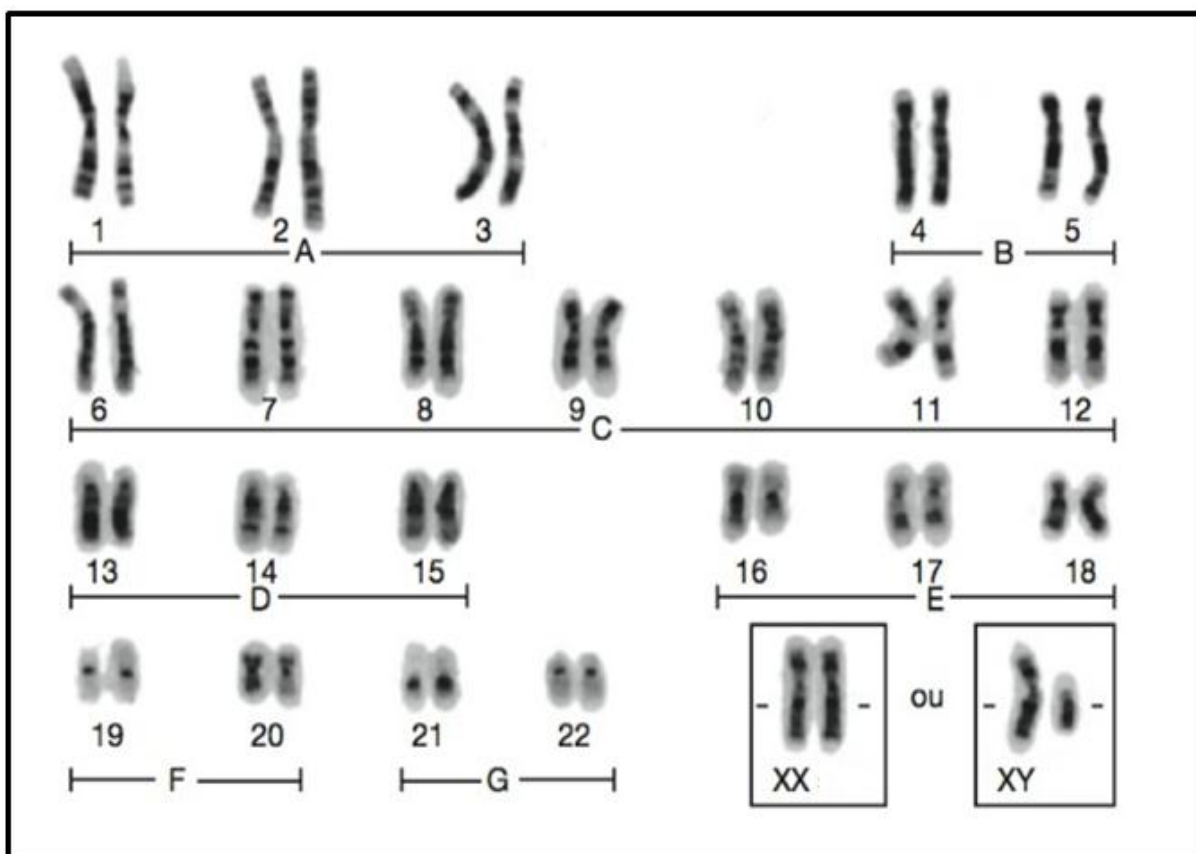


(A) Características faciais típicas; (B) Sulco palmar transversal único; (C) manchas de Brushfield na íris (pequenas manchas de cor clara); (D) Amplo espaço entre o primeiro e o segundo dedos do pé.

Fonte: Adaptada de SCHAEFER *et al.*, 2015.

Apenas em 1959 o diagnóstico foi estabelecido, quando o médico francês Jerome Lejeun, conhecido como o pai da genética moderna e colaboradores, estudaram os cromossomos de um grupo de portadores, expondo pela primeira vez, a hipótese da mesma estar ligada a alterações cromossômicas, verificando dessa maneira não possuírem 46 cromossomos por célula, ou seja, 23 pares (imagem 2), apresentando 47 cromossomos e este sobressalente, de número 21. Dessa maneira o mongolismo passou a ser conhecido como Trissomia do cromossomo 21 (SCHWARTZMAN *et al.*, 1999; NASCIMENTO, 2006; TRINDADE, 2016).

**Imagem 2- Cariótipo humano normal.**



Fonte: Adaptado de SCHAEFER *et al.*, 2015.

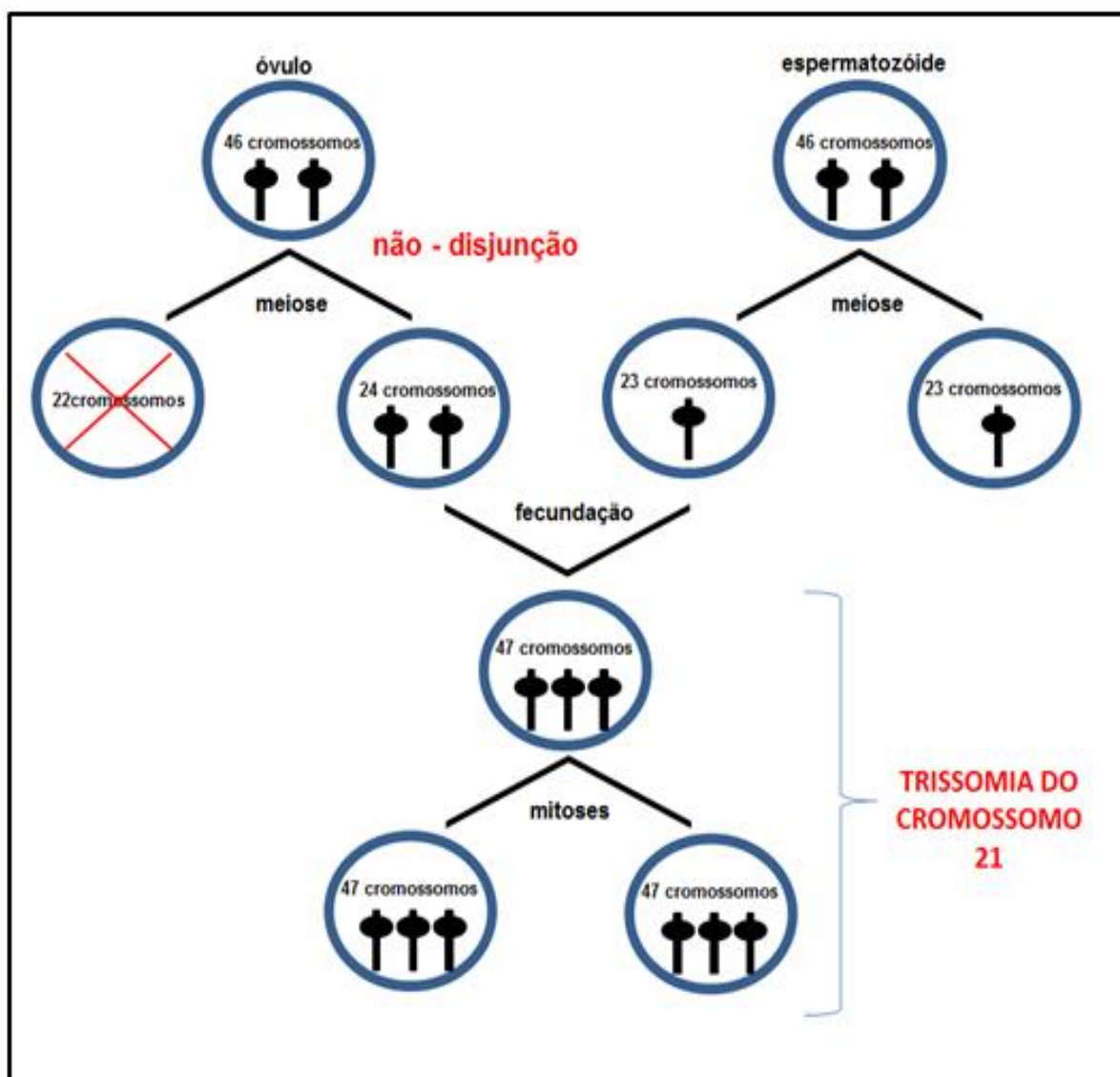
A ciência ainda não possui comprovações dos fatores que levam ao nascimento de crianças portadoras da síndrome. Pesquisas realizadas especulam a ligação de distúrbios hormonais da mãe, exposição a substâncias nocivas e agentes infecciosos como vírus e bactérias. Sabe-se, porém, que a idade materna avançada (acima de 35 anos) tem forte correlação com o nascimento dos mesmos (PAIVA *et al.*, 2017).

A Síndrome de Down faz parte das aneuploidias humanas, sendo que as trissomias são as mais frequentes e comuns dentro deste grupo. Considera-se que a mesma seja a mais viável na raça humana, sendo causada principalmente pela não disjunção meiótica do par cromossômico de número 21 (MARTINS, 2002).

Existem três tipos de alterações citogenéticas capazes de resultar na síndrome de Down: não disjunção cromossômica, translocação Robertsoniana ou mosaicismos (OTTO *et al.*, 2013).

Durante a meiose, uma célula-filha recebe 24 cromossomos e a outra, 22 cromossomos (não conseguindo sobreviver, tão pouco ser fertilizada). Quando isso ocorre, o zigoto resultante da fecundação entre a célula com 24 cromossomos tem 47 cromossomos, e não os 46 cromossomos usuais (figura 1) (KOZMA, 2007).

Figura 1- Não disjunção cromossômica durante a meiose, originando um zigoto com trissomia do cromossomo 21.



Fonte: Adaptado de KOZMA; CHAHIRA, 2007.

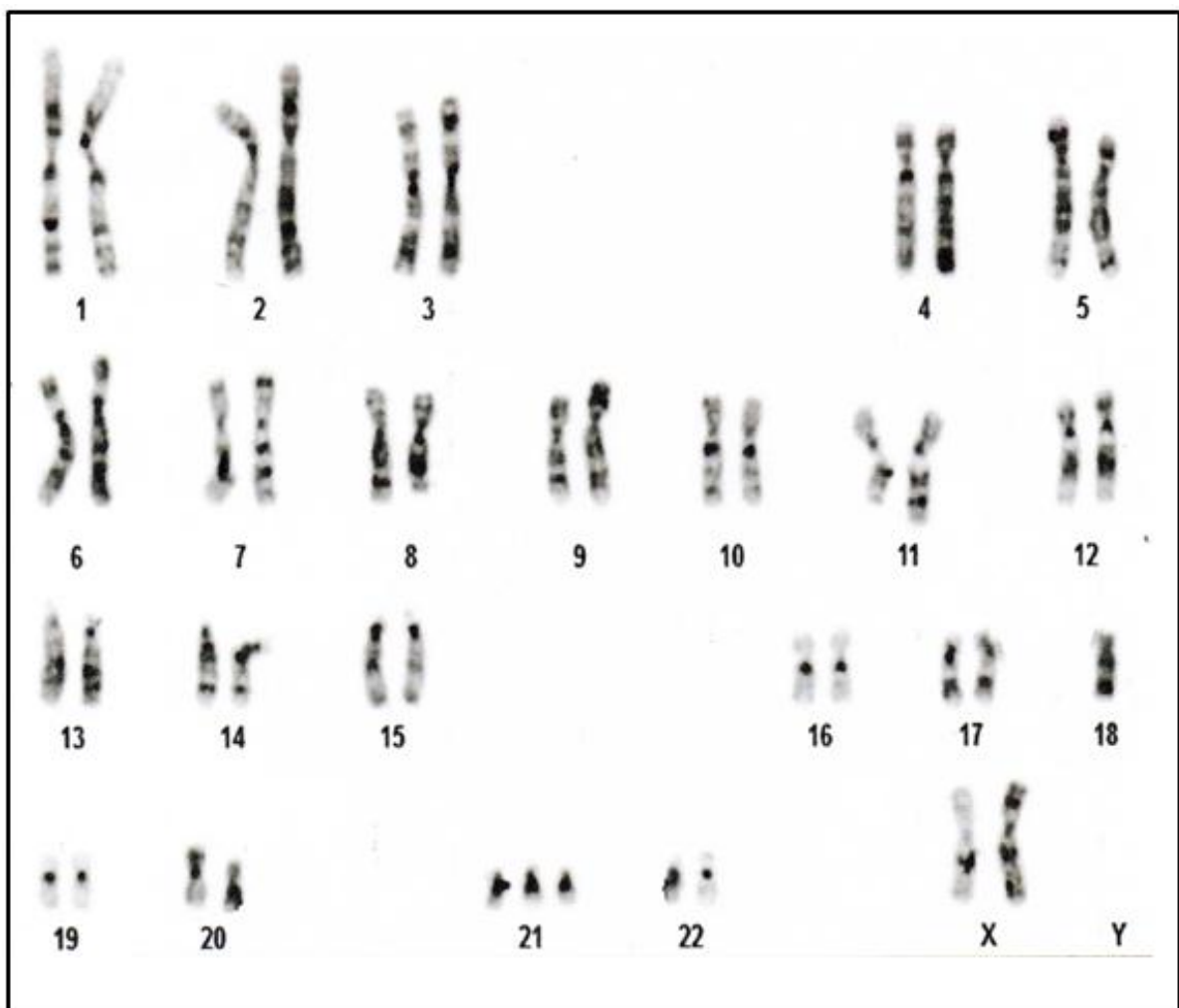
Em 96% dos casos, ocorre uma não-disjunção cromossômica total, ou seja, a forma mais comum para o aparecimento da trissomia (BISSOTO, 2005).

Quando o zigoto se forma e posteriormente o embrião começa a crescer, por divisão e duplicação, o cromossomo extra também é copiado e transmitido a cada nova célula, dessa maneira, todas as células apresentarão esse cromossomo 21 extra (imagem 3) (KOZMA, 2007).

Erros na meiose que resultam na não-disjunção geralmente são de origem materna. Somente 5% ocorrem na espermatogênese (OTTO *et al.*, 2013).

Estudos utilizando marcadores pericentroméricos para saber em que estágio da meiose ocorre a não-disjunção, mostraram que aproximadamente 70% dos erros maternos ocorrem durante a meiose I enquanto outros 30% ocorrem durante a meiose II (BERTELLI *et al.*, 2005).

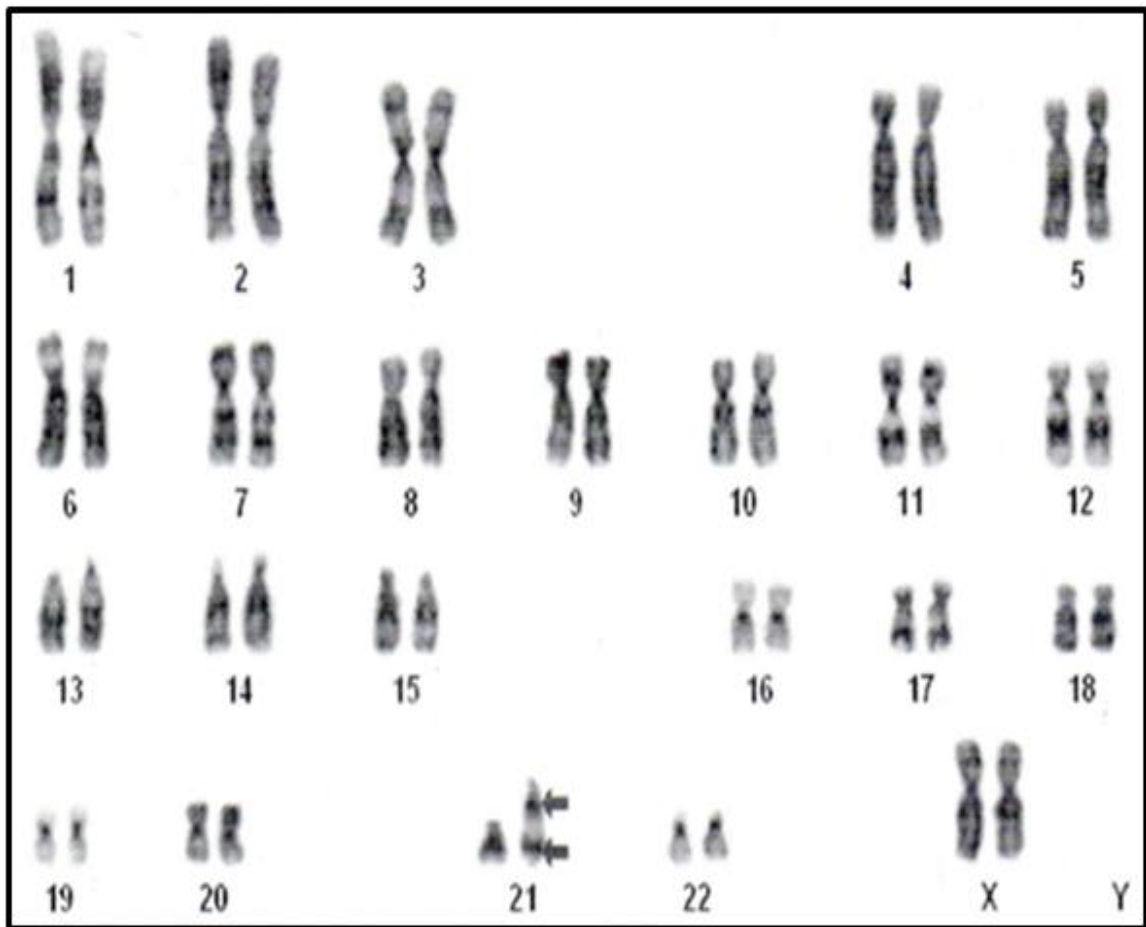
**Imagem 3 - Cariótipo constitucional feminino com presença de trissomia do cromossomo 21 por não disjunção ou trissomia livre.**



Fonte: Disponibilizado pelo laboratório inSitus Genética.

Na trissomia por translocação (imagem 4), existem três cópias do cromossomo 21, porém, o cromossomo extra se encontra conectado a outro cromossomo, geralmente ao cromossomo 14, ou a outro cromossomo 21 (KOZMA, 2007).

**Imagem 4 - Cariótipo constitucional feminino com presença de trissomia do cromossomo 21 por translocação.**



Fonte: Disponibilizado pelo laboratório inSitus Genética.

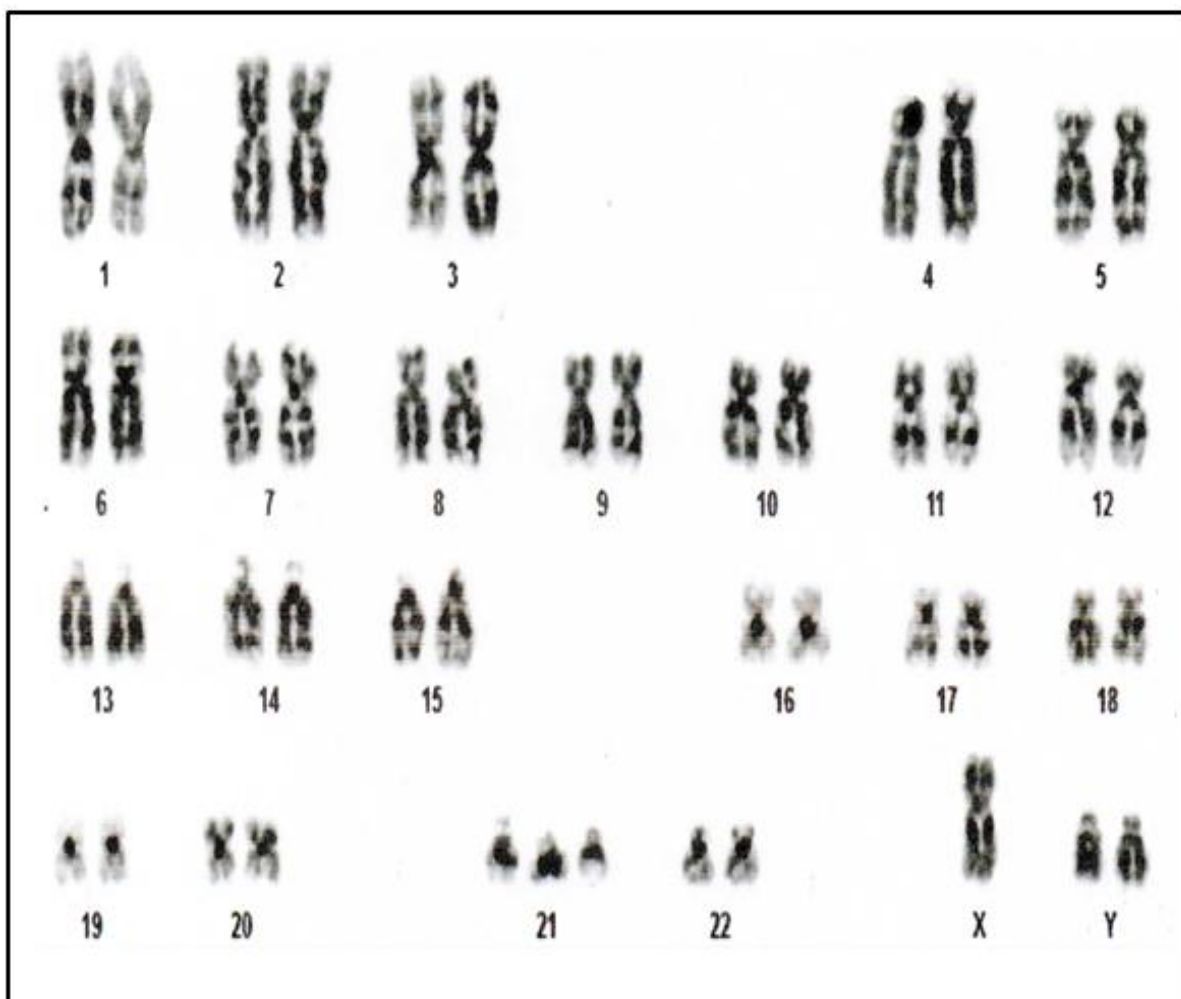
Para que a mesma ocorra, os cromossomos sofrem quebras nas regiões centroméricas, de forma que um novo cromossomo será constituído pelos braços longos do cromossomo 21 e do 14 (ou 15), tornando-se um cromossomo submetacêntrico. Os braços curtos dos cromossomos envolvidos na translocação tendem a se perder nas divisões subsequentes, esse tipo de translocação é chamada Robertsoniana (CAVALCANTE, 2009).

O portador de translocação robertsoniana envolvendo os cromossomos 14 e 21 tem apenas 45 cromossomos, um cromossomo 14 e um cromossomo 21 são perdidos e substituídos pelo cromossomo translocado, logo, não ocorre a trissomia do cromossomo 21 (SILVA et al., 2002).

A forma mais rara é conhecida como mosaïcismo (imagem 5) e apenas 1% de todos os portadores apresentam esse tipo. Nela ocorre uma divisão celular

imperfeita nas primeiras divisões celulares após a fertilização. Quando os cromossomos se dividem desigualmente na segunda ou terceira divisão celular, apenas algumas células do embrião em desenvolvimento apresentarão o cromossomo extra, dessa forma, o portador pode ter menos características físicas usuais da síndrome de Down, bem como uma maior capacidade intelectual. O modo pelo qual a criança é afetada, depende não só do número de células normais que ele possui, mas da região do corpo em que essas células se localizam (KOZMA, 2007).

**Imagem 5 - Cariótipo constitucional portador de trissomia do cromossomo 21 por mosaicism. (Paciente ainda apresenta um cromossomo Y extra.)**

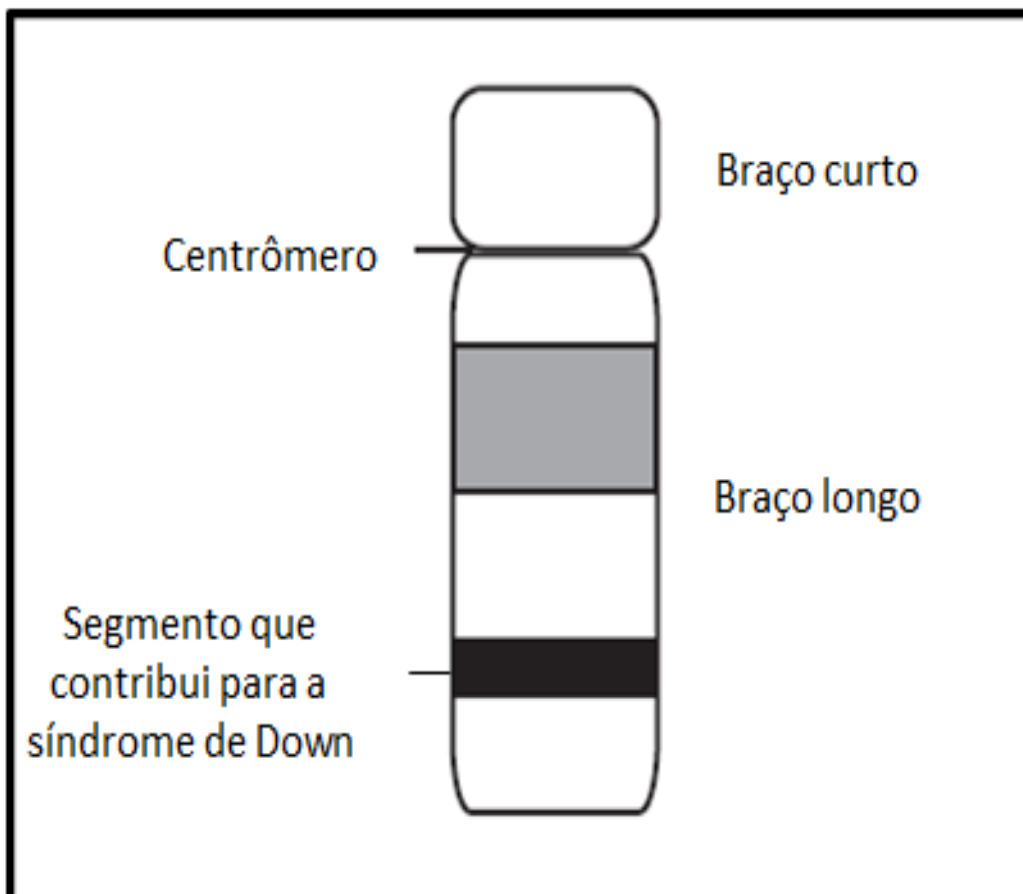


Fonte: Disponibilizado pelo laboratório InSitus Genética.

Cientistas recentemente determinaram que apenas um dos segmentos do cromossomo 21, localizado no braço longo, contribui para a síndrome de Down

(figura 2), sendo este um segmento muito pequeno, entretanto quando presente em triplicata desenvolve a doença (KOZMA; CHAHIRA, 2007).

**Figura 2- Cromossomo 21.**



Fonte: Adaptado de Adaptado de KOZMA; CHAHIRA, 2007.

## 4.2 Classificação das leucemias

As leucemias são classificadas de acordo com o tipo e o grau de maturação das células (OLIVEIRA; NETO, 2004; DA SILVA *et al.*, 2006).

As leucemias agudas (LA) compreendem: leucemia mieloide aguda (LMA) e leucemia linfoblástica aguda (LLA), que são progressivas e agressivas, caracterizadas por rápida proliferação clonal acompanhada de bloqueio maturativo (anaplasia) variável, possibilitando a existência de diferentes subtipos. Já nas leucemias crônicas (LC), a proliferação clonal não está associada inicialmente a um bloqueio maturativo, dessa forma, a população celular diferencia-se e amadurece. Sua progressão é lenta, porém, em 3% dos casos pode ocorrer uma transformação para síndrome de Richter, que se caracteriza como um linfoma de alto grau, podendo ser confundido com uma LA, porém as características imunofenotípicas são de células maduras, e não de blastos linfoides ou mieloides. (OLIVEIRA; NETO, 2004).

As LLAs respondem por quase um terço dos cânceres pediátricos, representando 25% das neoplasias até os 15 anos de idade e 20% nos jovens. Já a LMA, tende a aumentar com a idade, correspondendo a 90% das leucemias em adultos, com maior incidência entre 55 e 60 anos (MINISTÉRIO DA SAÚDE).

Em 1976, o grupo cooperativo Franco-Americano-Britânico (FAB) propôs a classificação para esse grupo de doenças com base em aspectos morfológicos, grau de maturação e presença de componentes específicos. Assim, identificaram seis diferentes subtipos de LMA (M1 a M6), possibilitando dessa forma a comparação de programas terapêuticos a serem utilizados para o tratamento de tais doenças. Mais tarde, houve uma revisão da classificação, tendo sido acrescentados dois novos subtipos (M0 e M7) (QUEIROZ, 2012).

### **4.3 Leucemia mieloide aguda (LMA)**

De acordo com dados do Instituto Nacional do Câncer, é uma neoplasia de mau prognóstico, sendo o tipo mais comum de leucemia em adultos, diagnosticada em idade média de 65 anos e com uma incidência um pouco maior em homens de descendência europeia. Apresenta uma taxa de sobrevida em 5 anos de 50% para pacientes de até 45 anos e de 2% para pacientes com mais de 75 anos no momento do diagnóstico (INCA, 2016).

Geralmente, o diagnóstico de LMA parte de uma suspeita clínica e se baseia na avaliação do sangue periférico e da medula óssea. Embora a morfologia continue sendo o fundamento primordial para o diagnóstico, técnicas adicionais, incluindo imunofenotipagem, avaliação citogenética e estudos de biologia molecular, tornaram-se essenciais, além da avaliação das características clínicas (Quadro 2). O uso de procedimentos diagnósticos permite a identificação do tipo celular envolvido na leucemogênese, o que é fundamental para orientar a terapêutica e determinar o prognóstico (SILVA *et al.*, 2006).

**Quadro 2 - Características clínicas das LMA, avaliadas para diagnóstico.**

<b>Características Clínicas e Laboratoriais das LMA</b>	
<b>Suspeita clínica</b>	Palidez, hepatomegalia, esplenomegalia, linfadenopatia, febre em consequência de infecções, faringite, petéquias e outras manifestações hemorrágicas, dor óssea, hipertrofia gengival, infiltrações cutâneas, etc.
<b>Hemograma</b>	Contagem de plaquetas e hemoglobina baixas, contagem de células brancas variando de 1.000 $\mu$ L a 200.000 $\mu$ L, contagem diferencial de células brancas anormais com neutropenia e presença de blastos, geralmente aparição de <i>flags</i> em equipamento hematológico e anemia normocrômica ou normocítica e trombocitopenia severa.

Fonte: Autores, 2017.

As taxas de remissão para LMAs apresentam um decréscimo com o aumento da idade do paciente, chegando a atingir 90% em crianças, 70% em adultos jovens, 60% em adultos de meia idade, e 40% em pacientes mais velhos (ROSE-INMAN; KUEHL, 2014).

A leucemia é a principal causa de câncer infantil, onde o quadro clínico engloba anemia, palidez progressiva, fadiga, febre de origem obscura manifestada ao entardecer, dor nas pernas, dor abdominal, hepatoesplenomegalia, sangramento oral e petéquias (MANUAL DE ONCOLOGIA CLÍNICA DO BRASIL – MOC, 2016).

Quanto mais jovem o paciente, maiores as taxas de sobrevida global e melhor é o seu prognóstico. A taxa de sobrevida relativa é de 5 anos para pacientes entre 0

e 19 anos é de 62,8%, 48,8% em pacientes com idade entre 20 e 49 anos, de 28,0% para os pacientes em torno de 50 a 64 anos e de 5,4%, em pacientes com idade superior 65 anos (DESANTIS, *et al.*, 2014).

A heterogeneidade entre as LAs e as diferenças de comportamento biológico entre pacientes motivaram o estabelecimento de uma classificação. (BENNETT *et al.*, 1976; 1985; 1991).

Nos últimos anos foram sugeridos diversos sistemas de classificação para as LMAs e, dentre estes, os de maior relevância são os propostos pelo sistema Franco-Americano-Britânico (FAB), e pela Organização Mundial da Saúde (OMS) (ROSE-INMAN; KUEHL, 2014).

A classificação publicada pela FAB entre 1976 e 1994 para as leucemias agudas foi a primeira mundialmente aceita e avalia critérios morfológicos, citotímicos e a presença de mais de 30% de blastos na medula óssea. Primeiramente ela classificava as LMAs em seis subtipos (M1 até M6).

Em 1985 foram adotados critérios imunofenotípicos, incluindo o subtipo LMA M7, por meio da confirmação de blastos plaquetários e o subtipo M0, por meio de marcadores monoclonais (Quadro 3) (BAIN; ESTCOURT, 2013).

### Quadro 3 - Subtipos da Leucemia Mieloide Aguda segundo a FAB

FAB	CARACTERÍSTICAS
M0	Leucemia mieoblástica aguda indiferenciada ou minimamente indiferenciada. (mieloperoxidase (MPO) positiva por método imunológico ou ultraestrutural CD13+ ou CD33+ ou CD11b+)
M1	Leucemia mieloblástica aguda com maturação mínima ou sem maturação. (blastos indiferenciados em alta porcentagem, bastonetes de Auer presentes ou ausentes, MPO ou Sudan Black positivos em mais de 3% dos blastos.)

Fonte: Autores, 2017.

<b>M2</b>	Leucemia mieloblástica aguda com maturação (blastos indiferenciados, diferenciação até promielócito, contém granulações primárias abundantes, bastonetes de Auer frequentes, MPO ou Sudan Black positivos em mais de 3% dos blastos).
<b>M3</b>	Leucemia promielocítica aguda ou hipergranular (grande quantidade de promielócitos hipergranulares, com ou sem bastonetes de Auer, MPO e Sudan Black fortemente positivos).
<b>M4</b>	Leucemia mielomonocítica aguda (diferencia-se de M2 por ter mais de 20% de células monocíticas na medula óssea e/ou sangue periférico).
<b>M4Eos</b>	Leucemia mielomonocítica aguda com eosinofilia
<b>M5</b>	Leucemia monocítica aguda
<b>M6</b>	Leucemia eritroide aguda (eritroleucemia) (30% de blastos mieloides e mais de 50% de blastos da série vermelha (eritroblastos), muitas vezes há mais de 30% de megaloblastos. PAS fortemente positivo nas células eritroblásticas e megaloblásticas)
<b>M7</b>	Leucemia megacarioblástica aguda (megacariócitos pequenos ou megacarioblastos em mais de 30% das células da MO)

Fonte: Autores, 2017.

A classificação FAB está aos poucos sendo substituída pela classificação da OMS, porém mesmo com a classificação da OMS em vigor há mais de dez anos, a classificação FAB ainda é muito utilizada para os subtipos das LMAs na maioria dos países em desenvolvimento devido à limitação de análises citogenéticas (MAHMOOD *et al.*, 2014).

A classificação da Organização Mundial da Saúde, publicada inicialmente em 2001 e com última atualização em 2016, expandiu o uso da imunofenotipagem e incluiu a avaliação de alterações genéticas e moleculares específicas na classificação das LMAs e outras neoplasias hematológicas, abordando esses critérios na classificação dos seus subtipos (Quadro 4) (ARBER *et al.*, 2016).

**Quadro 4 – Classificação da Organização Mundial da Saúde**

<b>LMA</b>	<b>SUBTIPOS</b>
<b>LMA com anormalidades genéticas recorrentes</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- LMA com translocações entre o cromossomo 8 e o 21;</li> <li>- LMA com inversão do cromossomo 16;</li> <li>- LMA com translocação entre o cromossomo 15 e 17;</li> </ul> <p>(pacientes nessa categoria, normalmente possuem uma alta taxa de remissão e um melhor prognóstico).</p>
<b>LMA com displasia multilinear (mielodisplasia)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pacientes que tiveram síndrome mielodisplásica prévia;</li> <li>- Pacientes com doença mieloproliferativa com evolução para LMA.</li> </ul> <p>(categoria frequente em idosos)</p>
<b>Neoplasias Mieloides relacionadas à terapia</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pacientes que realizaram quimioterapia ou radioterapia (Agentes alquilantes e inibidores da topoisomerase II) e posteriormente desenvolveram LMA ou síndrome mielodisplásica;</li> <li>- Anormalidades cromossômicas;</li> </ul> <p>(muitas vezes não possuem bom prognóstico)</p>

Fonte: Autores, 2017.

**Quadro 4- Classificação da Organização Mundial da Saúde.**

<b>LMA</b>	<b>SUBTIPOS</b>
<b>LMA não categorizada</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- LMA pouco diferenciada;</li> <li>- LMA sem maturação;</li> <li>- LMA com maturação;</li> <li>- Leucemia mielomonocítica aguda;</li> <li>- Leucemia monoblástica e monocítica aguda;</li> <li>- Leucemia eritróide;</li> <li>- Leucemia megacariocítica aguda;</li> <li>- Leucemia basofílica aguda.</li> </ul>
<b>Sarcoma mieloide</b>	Não possui subtipos
<b>Proliferações mieloides relacionadas à Síndrome de Down</b>	<p style="text-align: center;">Mielopoiese anormal transitória Leucemia Transitória Síndrome Mieloproliferativa Transitória</p>
<b>Leucemia Agudas de Origem ambígua</b>	<p>- Possuem fenótipo misto ou bifenotípicas (Células podem ser classificadas como mielóides ou linfóides, ou presença de ambos os tipos)</p>

Fonte: Autores, 2017.

#### 4.4 LMA em crianças portadoras da Síndrome de Down

Crianças com SD têm risco 10-20 vezes maiores de desenvolver desordens hematológicas quando comparadas com crianças não portadoras. Aproximadamente 10% desses indivíduos desenvolvem uma doença mieloproliferativa transitória (DMT) ou leucemia transitória (LT) (MATOS, 2016).

A LT é caracterizada pelo acúmulo dos megacarioblastos imaturos no fígado fetal e no sangue periférico, sendo de difícil distinção de um quadro de LA, podendo, progredir para Leucemia mieloide (GAMIS; HILDEN, 2002; HITZLER et al., 2003; PINE et al., 2007; RAINIS et al., 2003; ZIPURSKY, 2003).

Durante o desenvolvimento fetal, a LT pode se manifestar normalmente com hidrúpsia fetal, sendo assim, esse quadro relacionado à trissomia do 21, pode ser indicativo de LT (ROY, 2009).

Uma pequena parte das crianças nascidas com LT, não apresentam sintomas, somente blastos na circulação, com presença ou não de leucocitose. Algumas podem apresentar sintomas como hepatomegalia e esplenomegalia, sendo que em 10% dos pacientes sintomáticos ocorre fibrose do fígado devido à infiltração de blastos, dificilmente causando falência hepática. Sintomas como leucocitose e trombocitopenia, normalmente aparecem em indivíduos acometidos por LT (Roy et al., 2009).

Geralmente, a mesma evolui com remissão espontânea nos primeiros três meses de vida (60% dos casos), sendo portanto, considerada uma síndrome pré-leucêmica, onde em 60% dos casos ocorre remissão espontânea (KANEZAKI et al., 2010; MASSEY et al., 2006).

Cerca de 20% das crianças portadoras de LT desenvolvem LM-SD em até dois ou três anos após a remissão espontânea, sendo que a LM-SD não regride sem o tratamento quimioterápico (CABELOF et al, 2009; MUNDSCHAU et al, 2003).

Relatos mostram que as leucemias agudas correspondem a cerca de 31% das malignidades em crianças e jovens com idade inferior a 15 anos, porém representam 91% dos cânceres nesta mesma faixa etária em crianças com SD (HASLE et al., 2000).

A LMA-M7, pelos critérios morfológicos e citoquímicos, pode ser confundida com as leucemias linfóides agudas e também com a LMA-M0, sendo importante o estudo imunofenotípico para diferenciá-las. Tem maior incidência em crianças com síndrome de Down, que compõem um subgrupo com boa resposta terapêutica, ao contrário dos pacientes sem a trissomia do cromossomo 21, os quais possuem pior prognóstico (MARTINS; FALCÃO, 2000).

Muitas alterações cromossômicas têm sido relacionadas a doenças mieloproliferativas, sendo algumas raras e pouco conhecidas ou até recém encontradas. Estudos com o gene *GATA1* (responsável por regular a diferenciação megacariocítica de células tronco hematopoéticas) e com diversas translocações cromossômicas, indicam que o conjunto de alterações gênicas e cromossômicas tem uma grande influência sobre o prognóstico do paciente. Os genes cistationina- $\beta$ -sintase (CBS) e superóxido desmutase (SOD), localizados no cromossomo 21, codificam enzimas que contribuem para sensibilidade dos mieloblastos às drogas de quimioterapia (citosina arabinose e daunorubicina), explicando a alta taxa de sobrevida de crianças com SD e LMA, comparadas a crianças não portadoras.

Portanto, portadores da SD embora tenham maior predisposição ao desenvolvimento de desordens hematológicas, apresentam maiores taxas de sobrevivência quando expostas aos medicamentos quimioterápicos do que pessoas não portadoras (QUEIROZ, 2012).

## 5. PATOGÊNESE

O mecanismo pelo qual a síndrome de Down predispõe o desenvolvimento de leucemia aguda ocorre por meio da expressão aumentada de um gene ou genes presentes no cromossomo 21, que estimulam a proliferação anormal da *stem cell* (célula tronco) hematopoética na infância. Nos mamíferos, a família de genes *GATA* (*globin transcription factor* – fator de transcrição de globina) é composta por seis grupos divididos em duas subfamílias, com base no perfil de expressão e estrutura gênica (QUEIROZ, 2012).

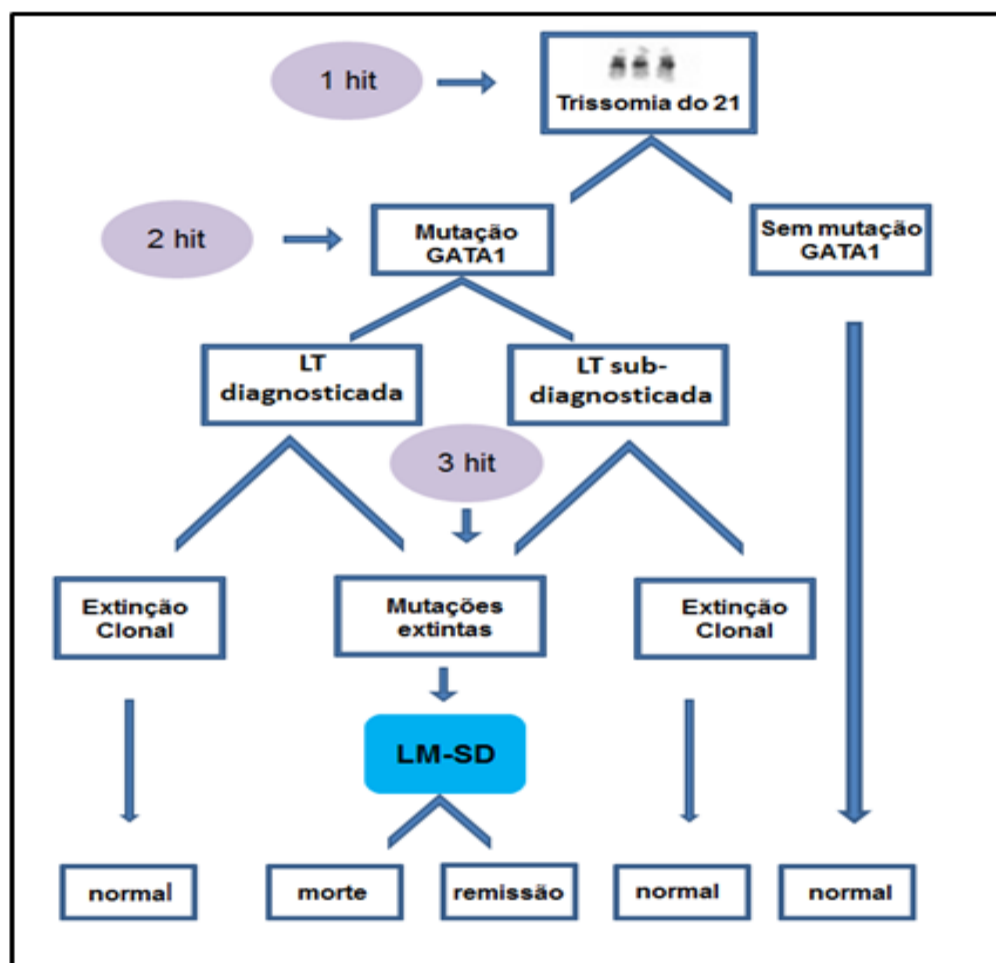
Os grupos expressos principalmente na linhagem hematopoética e envolvidos no desenvolvimento, manutenção e proliferação celular, são *GATA1*, *GATA2* e *GATA3*, sendo que *GATA1* possui significativa importância para o desenvolvimento de células eritrócíticas e megacariocíticas, *GATA2* é crucial para a proliferação e manutenção de células pluripotentes e de progenitores multipotentes e *GATA3*, contribui para o desenvolvimento de células T (SHIMIZU et al., 2008).

Conjuntamente *GATA1* e *GATA2* possuem papéis fundamentais no controle da proliferação e diferenciação de células hematopoiéticas, onde defeitos decorrentes de 6 mutações nesses genes têm sido investigados como possíveis desencadeadores para LM-SD (LMA-M7) (SHIMIZU et al., 2008).

O gene *GATA1*, localizado na região p11.23 do cromossomo X (Xp11.23), codifica a proteína *GATA1* pertencente à família de fatores transcricionais. Essa proteína é essencial para a sobrevivência de células progenitoras eritrócíticas e para a maturação adequada de megacariócitos, exercendo, portanto, papel imprescindível juntamente ao seu cofator, denominado *FOG1* (*friend of GATA1* – “amigo” do *GATA1*), que realiza interação proteica em associação ao *GATA1* mediando a programação transcricional dos megacariócitos, sua ativação e repressão, sendo necessários para a formação de todos os progenitores de linhagem megacariocítica. Devido ao funcionamento do cofator *GATA1* e *FOG1* o silenciamento dos mesmos resulta em letalidade embrionária devido à anemia severa associada à megacariopoese anormal ou ausente (MAGALHÃES et al., 2005; WESCHLER et al., 2002; YU et al., 2002).

Estudos revelaram que mutações do gene *GATA1* na LT ativam a proliferação de progenitores celulares que são necessários para posteriormente promover a LM-SD, caracterizando assim uma progressão chamada de *multi-step* (várias etapas). Esse processo deve envolver a participação de genes e proteínas que ainda não são conhecidas. Esses progenitores megacariocíticos rapidamente desaparecem após o nascimento, porém a base molecular e celular dessa remissão também é desconhecida, o mecanismo aparenta estar relacionado a mudanças epigenéticas do microambiente hematopoiético que ocorrem durante o crescimento e desenvolvimento neonatal. Megacarioblastos afetados com *hits* adicionais (múltiplas anormalidades genéticas) são provavelmente, submetidos à evolução clonal, tornando-os susceptíveis à transformação maligna em células leucêmicas e ao desenvolvimento da LM-SD (figura 3) (QUEIROZ, 2012).

**Figura 3- Modelo *multi-step* da leucemogênese na SD. O acúmulo de *hits* (múltiplas anormalidades genéticas) caracteriza a evolução da LT para LM-SD.**



Fonte: Adaptado de QUEIROZ, 2012.

O gene *GATA1* possui sequência genômica com 7.757 bases, mRNA (ácido ribonucleico do tipo mensageiro) com 6 éxons onde 5 são codificantes, codifica uma fase de leitura de 1.239 nucleotídeos, iniciando-se no éxon 2 (primeiro codificante). Recentemente, mutações somáticas no éxon 2 foram encontradas em blastos da leucemia megacariocítica, em pacientes com SD, indicando um papel importante dessas mutações no desenvolvimento da doença. Essas mutações são encontradas somente em indivíduos com SD, não sendo detectadas em outros tipos de leucemias agudas ou em outros pacientes com leucemia megacariocítica que não apresentam SD (CALLIGARIS et al., 1995; RAINIS et al., 2003; WESCHLER et al., 2002).

As mutações mais frequentes se referem a inserções, deleções e duplicações no éxon 2 do *GATA1* correspondendo a 74%, seguido pela substituição de base com 26%. Há relatos de que mais de 95% das mutações descritas em pacientes com LT e LM-SD ocorrem no éxon 2 (QUEIROZ, 2012).

As mutações que consistem em inserções, deleções e substituições de bases no mesmo, resultam na eliminação da proteína *GATA1* de comprimento total com preservação da isoforma *GATA1s*. A presença de *GATA1s* na ausência de *GATA1* bloqueia a diferenciação megacariocítica e promove a proliferação de megacarioblastos. O desenvolvimento de mutações no gene *GATA1* parece estar envolvido na leucemogênese da SD e contribuir para a DMT ou LT e LM-SD. Estes são dois estágios de uma única forma de leucemia que ocorre somente em células que são trissômicas para o cromossomo 21 (FARIAS; BIERMANN, 2007).

A expressão reduzida de *GATA1* é decisiva para a gênese da DMT ou LT e LM-SD (LMA-M7), pois passa a exercer função direta como um oncogene na presença da trissomia do cromossomo 21 (RAINIS et al., 2003, SHIMIZU et al., 2008).

Foi documentado que diferentes classes de mutações no *GATA1* resultam em uma eficiência variável de tradução do mesmo, além disso, que o nível de expressão da proteína *GATA1* está correlacionada com o risco de progressão para LM-SD (KANEZAKI et al., 2010).

Entretanto, um estudo subsequente realizado por Saida (2016), mostrou que o tipo de mutação no *GATA1* não é prognóstico de quais pacientes com LT irão progredir para LM-SD, uma vez que, nenhuma diferença foi observada nos tipos de mutação entre os pacientes com LT e com LM-SD (ALFORD *et al.*, 2011).

Devido ao fato de não existir nenhuma maneira de prever quais pacientes com LT irão desenvolver LM-SD ou quais pacientes com LM-SD irão recair após quimioterapia, mutações somáticas de cada paciente podem ser utilizadas como marcadores moleculares estáveis para o monitoramento da doença residual mínima (DRM), na evolução da LT e na resposta terapêutica dos pacientes com LM-SD (ALFORD *et al.*, 2011; HITZLER; ZIPURSKY, 2005; PINE *et al.*, 2005).

Mutações no *GATA1* não foram identificadas em crianças não portadoras da SD, em crianças com SD e outros tipos de LA, em outros subtipos da LMA ou síndromes mielodisplásicas de crianças sem SD e sem mosaicismo, enfatizando a cooperação específica dessas mutações com a trissomia do cromossomo 21 na LM-SD, sendo assim, apesar de mutações no *GATA1* gerarem outras doenças, como pode exemplo anemia, as mutações apresentadas nesse estudo, colaboram especificamente para o desenvolvimento de LM-SD (QUEIROZ, 2012).

### 5.1 Mutações secundárias envolvidas na evolução da LT para LM-SD.

Devido somente 5 a 30% dos casos de LT evoluírem para LM-SD, é possível que existam outras anormalidades genéticas adicionais, além de mutações no gene *GATA1*, que podem estar envolvidas na progressão da doença. O desenvolvimento da LM-SD está relacionada à anormalidades cariotípicas presentes tanto no braço curto, como no braço longo dos cromossomos (SAIDA *et al.*; 2016).

Foram identificadas durante estudos, mutações secundárias ainda pouco conhecidas que podem estar envolvidas na evolução da LT para LM-SD, essas mutações incluem alterações nos genes: *JAK3*, *TP53*, *FLT3* e *JAK2* (MALINGE *et al.*, 2009; 2012).

Mutações que ativam genes da tirosina quinase em amostras de LT têm sido detectadas, evidenciando novas ideias sobre sua transformação em LM-SD. A maioria das mutações foram consideradas como ganho de função, porém, estudos mais recentes determinaram que mutações no *JAK3*, encontradas em células da linhagem CMK (células que não expressam *GATA1* do tipo selvagem e são extraídas dos pacientes portadores de LM-SD), estão presentes com mesma frequência em indivíduos normais e em pacientes com LMA, sugerindo polimorfismo. Estudos adicionais são necessários para determinar se essas diferenças nas variações do *JAK3* afetam o desenvolvimento megacariocítico e se realmente estas atuam na leucemogênese da LM-SD. Mutações nos genes *JAK2* e *FLT3* também descritas primeiramente em amostras de LT e LM-SD, não foram capazes de desenvolver o fenótipo típico da LM-SD *in vivo* em estudos posteriores (QUEIROZ, 2012).

Foi visto que a expressão genética alterada desses genes são essenciais para promover a desregulação da proliferação e diferenciação dos megacariócitos durante o processo de LT, porém, essas mutações sozinhas, não são capazes de promover a evolução para LM-SD, e apesar de estarem presentes durante a mesma, são necessários mais estudos para concluir de fato quais e quantos processos cooperativos são essenciais para promover a evolução da LT para LM-SD. Existem mais de 20 genes que estão envolvidos no metabolismo oxidativo e estão localizados no cromossomo 21, dentre esses genes, encontram-se o gene

superóxido dismutase (SOD) e Cistationina Beta Sintase (CBS) (CABELOF et al., 2009).

A trissomia do 21 pode resultar então em estresse oxidativo e acarretar também em alterações no metabolismo do folato, fazendo com que existam grandes chances de ocorrer mutações no gene *GATA1* e conseqüentemente, levar ao desenvolvimento da LT e possível progressão para LM-SD (CABELOF et al., 2009).

Conhecido por codificar 19 microRNA's (pequenos RNAs que regulam a tradução proteica), o cromossomo 21 possui genes que codificam miR-125b-2, que apresenta expressão elevada em blastos de LT e LM-SD quando comparados a megacariocitos normais (KLUSMANN et al., 2008).

O miRNA conhecido como miR-125b-2 parece ser essencial na regulação da megacariopoiese e na patogênese da LT e LM-SD, cooperando com mutações ocorridas no *GATA1*, caracterizando-se por ser altamente expresso em blastos e esta superexpressão fundamental no controle da proliferação de progenitores eritrocíticos/megacariocíticos. Foi visto que em células de camundongos e humanos, que a superexpressão dos mesmos, acarreta em aumento proliferativo e auto-renovação de células progenitoras megacariocíticas e progenitores eritrocíticos/megacariocíticos, sem afetar sua diferenciação normal (KLUSMANN et al., 2010).

Os miR-125b-2 podem exercer potencial oncogênico por meio do bloqueio da regulação gênica mediada por miRNA. Dependendo do contexto celular, o mesmo pode trabalhar como um supressor tumoral ou como um oncogene. Porém o papel exato do miR-125b-2 na leucemogênese ainda não foi totalmente esclarecido (KLUSMANN et al., 2010).

A ideia de que o aumento da expressão de genes e dos fatores de transcrição facilitam o desenvolvimento de megacariopoiese anormal são suportadas por dados experimentais. Porém, acredita-se que outros genes também tenham papel importante na ocorrência de doenças hematológicas em crianças com SD (MALINGE et al., 2009).

Atualmente, fatores que levam à superexpressão de miR-125b-2, particularmente em blastos de LT e LM-SD ainda não foram definidos. (Queiroz, 2012).

Um estudo vem concluindo detalhes de mudanças genômicas durante o processo evolutivo da LM-SD, alguns genes associados a tumores foram identificados durante a evolução da mesma e estudos sobre LT tem revelado uma alta frequência de mutações na coesina, *CCCTC-binding factor* (CTCF ou *zinc finger transcriptional repressor*- repressor transcricional do “dedo” de zinco 11), e em outros reguladores epigenéticos. Porém a função normal dessas proteínas ainda não foi totalmente compreendida, alguns papéis para a coesina e CTCF tem sido pesquisados, sugerindo a ideia de que as funções dessas proteínas são as de coordenar a longa distancia, interações entre os reguladores genômicos e reguladores epigenéticos, como o oncogene *EZH2* (*histone-lysine N-methyltransferase enzyme* – enzima histona-lisina n-metiltransferase). A frequência de alelos variantes das mutações nos componentes das coesinas, *CTCF* e *EZH2* implica que estas, apresentam papel importante no estágio de desenvolvimento inicial da SD-LM (SAIDA, 2016).

Na tabela abaixo (Tabela 1), é possível observar a frequência em que ocorrem as mutações e suas respectivas localizações, sendo que de acordo com estudos realizados, mutações no *GATA1* são mais frequentes em LT do que em LM-SD, enquanto mutações nos genes *TP53* e *JAK3* são mais frequentemente observadas em processos de LM-SD do que em processos de LT, além disso, é possível observar que durante o desenvolvimento da LM-SD, pode ocorrer o surgimento de mutações em genes como o *JAK2* e *FLT3*, sugerindo que para o processo de evolução da LT para LM-SD, é necessário o aparecimento de outras mutações secundárias cooperativas, tornando o processo de investigação laboratorial por meio de biopsias de medula óssea, citogenética e imunofenotipagem (QUEIROZ, 2012).

**Tabela 1: Alterações genéticas identificadas em leucemias associadas à SD.**

Tipos de Leucemia	Genes Mutados	Localizações	Frequências registradas
LT	GATA1 JAK3 TP53	Xp11.23 19p13.1 17p13.1	97,3% 12,5% 7,7%
LM-SD	GATA1 TP53 JAK3 JAK2 FLT3	Xp11.23 17p13.1 19p13.1 9p24.1 13q12.2	89,2% 21,4% 13,2% 6,2% 5,7%

Fonte: Adaptado de QUEIROZ, 2012.

## 6. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

A citogenética e os estudos moleculares são capazes de detectar anormalidades dentro do clone leucêmico, sendo de muita utilidade na definição do diagnóstico e/ou prognóstico. Alterações cromossômicas e moleculares recorrentes, fornecem quando identificadas, informações de prognóstico valiosas tais como: resposta a indução da quimioterapia, risco de recidiva e sobrevida global do paciente. Sendo assim, pode-se observar que a citogenética seguida da genética molecular são fundamentais para desvendar a heterogeneidade das LMAs (ILYAS *et al.*, 2015).

O diagnóstico da LT ocasionalmente ocorre durante as primeiras semanas de vida na forma de hidropsia fetal. O recém nascido (RN) pode ser assintomático, a não ser pela contagem sanguínea elevada associada com hepatoesplenomegalia. A síndrome clínica pode ser desenvolvida completamente, na segunda ou terceira semana de vida. A extensão sanguínea mostra células vermelhas nucleadas, plaquetas gigantes e fragmentos de megacariócitos, típicos blastos basofílicos com projeções características de blastos megacariocíticos (MALINGE *et al.*, 2009).

A LM-SD é precedida em 20-60% dos casos por uma fase mielodisplásica caracterizada por trombocitopenia e alterações displásicas. O aspirado da medula óssea (MO) é geralmente escasso, com detecção de fibrose na biópsia de MO (CREUTZIG *et al.*, 2005; LANGE *et al.*, 1995).

A realização do hemograma com contagem diferencial e análise morfológica sugere o diagnóstico de LA, sendo esta suspeita confirmada com análise citomorfológica do mielograma (VARDIMAN *et al.*, 2002; HASLE *et al.*, 2003).

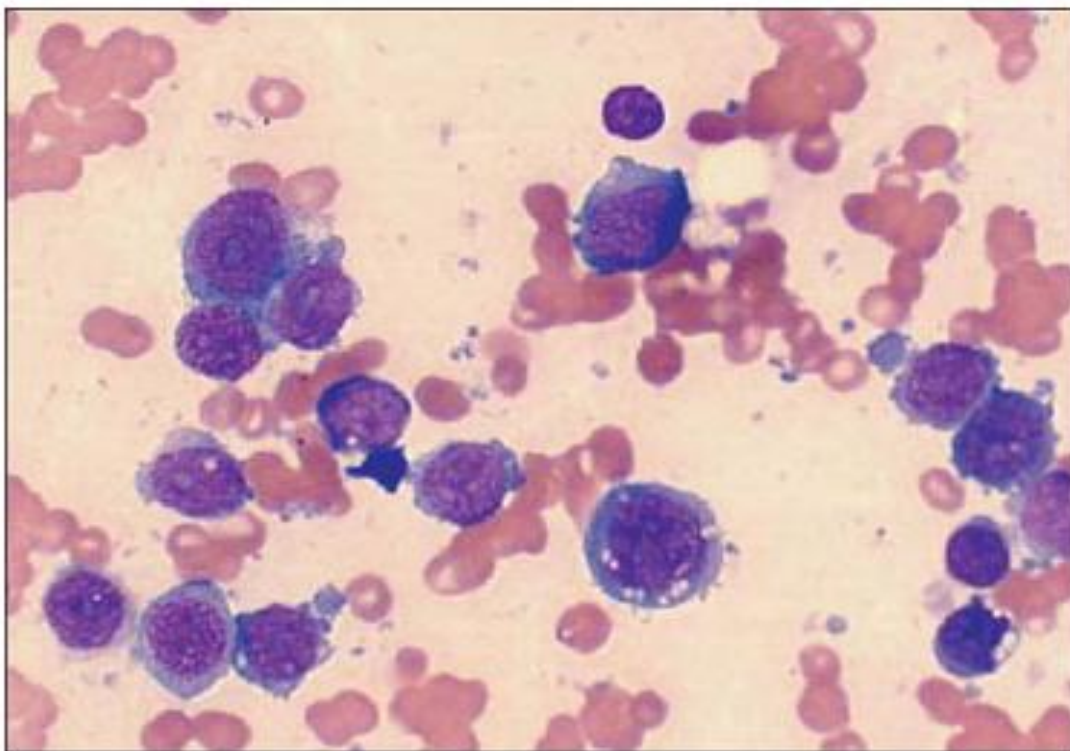
É importante a realização do hemograma, onde o sangue periférico pode apresentar pancitopenia com leucopenia e anemia (normocítica e normocrômica). A presença de fragmentos de megacariócitos pode ser indicativo de importante componente megacarioblástico na medula. No mielograma, o critério diagnóstico da LMA-M7 (classificação FAB), consiste na presença de 20%, ou mais, de blastos do total de células nucleadas da medula óssea, excluindo linfócitos e plasmócitos, sendo mais de 50% dos blastos de linhagem megacariocítica (FARIAS; BIERMANN, 2007).

A medula óssea, frequentemente, apresenta aumento das fibras de reticulina, devido à produção de citocinas e fatores de crescimento pelos megacarioblastos, o

que pode dificultar a obtenção do aspirado medular, podendo apresentar um número escasso de blastos. Outras vezes mostra-se hipercelular com infiltrado de blastos, formados por células relativamente pequenas e monomórficas, ou por células grandes e pleomórficas (FARIAS; BIERMANN, 2007).

Os blastos podem variar de pequenas células arredondadas com alta relação núcleo/citoplasma (N/C), assemelhando-se a linfoblastos de L1, a células um pouco maiores com relação N/C mais variada, assemelhando-se aos linfoblastos de L2. A cromatina, algumas vezes, é relativamente densa. O núcleo é geralmente arredondado ou com contorno discretamente irregular, cromatina frouxa contendo de um a três nucléolos. O citoplasma é tipicamente basofílico, e pode ou não, ser vacuolado ou apresentar projeções citoplasmáticas. Mostra-se agranular, mas algumas vezes exibe uma fina granulação (FARIAS; BIERMANN, 2007) (IMAGEM 5).

**Imagem 5- Distensão de MO exibindo blastos com citoplasma basofílico, nucléolo evidente, agranular com projeções citoplasmáticas (vacúolos) normalmente presente em casos de LMA-M7 ou LM-SD.**



Fonte: (FARIAS; BIERMANN, 2007).

O diagnóstico citoquímico tem grande importância na classificação das leucemias, estas reações revelam uma determinada substância marcadora da série mielóide, linfóide ou monocítica. O exame morfológico e citoquímico das estenções da medula óssea e de sangue periférico permitem o diagnóstico e classificação na maioria dos casos de leucemia (MARTINS *et al.*; 2000).

Apesar dos progressos da imunofenotipagem, as reações citoquímicas ainda são úteis no diagnóstico das LMA (DA SILVA, 2006).

Pode-se utilizar:

- Mieloperoxidase, *Sudan black* (SB) e cloroacetato esterase: os blastos M7 são negativos, exceto quando há associação com mieloblastos. Essas colorações são insuficientes para diferenciar megacarioblastos de blastos linfóides.
- Alfa-naftil acetato esterase (ANAE) e esterase inespecífica com inibição pelo fluoreto: os megacarioblastos geralmente têm positividade distinta e bem localizada, em contraste com um padrão mais difuso das células monocíticas.

Deve-se realizar a Biópsia de medula óssea principalmente em casos de aumentada fibrose medular, propiciando o aumento da visualização do número de blastos e alguma vezes, de megacariócitos. Isso permite uma confirmação inequívoca de blastos da série plaquetária por meio do uso de marcadores imunológicos, uma vez que o aspirado, muitas vezes, é de difícil obtenção. A imunofenotipagem por citometria de fluxo é uma técnica que possibilita a análise de múltiplos parâmetros, sendo que os principais marcadores imunofenotípicos observados para LM-SD e LT são a quantidade de CD36, CD34+, CD41, CD42 e CD61 (abordados no item - 6.1 Imunofenotipagem) (MILLER; PILISHOWSKA, 2014). Deve-se realizar um estudo das alterações cromossômicas (citogenética) afim de classificar a LMA, definir um prognóstico, terapia e principalmente para prever uma posterior doença residual mínima (recaída ou evolução clonal). A porcentagem de cariótipo anormal na LMA-M7, representa aproximadamente 80% dos casos em crianças, onde a t(1;22) (p13;q13) é encontrada em aproximadamente metade dos casos e ocorre em crianças com menos de 6 meses de idade. O cariótipo pode se apresentar normal em aproximadamente 10% dos casos (FARIAS; BIERMANN, 2007).

Uma avaliação qualitativa e quantitativa de padrões de expressão de antígenos (*Clusters designations* – CDs) em populações celulares, por meio da ligação com anticorpos monoclonais específicos auxilia tanto na diferenciação de tecido, mieloide ou linfoide, quanto na caracterização da etapa maturativa da célula afetada (PETERS & ANSARI, 2011).

A análise cromossômica tem identificado um grande número de alterações recorrentes, numéricas e/ou estruturais, adicionais e complexas, associadas aos aspectos morfológicos e imunofenotípicos específicos de cada leucemia (REGO, 2002).

A abordagem de técnicas moleculares permite uma maior sensibilidade e especificidade para detecção de mutações no *GATA1* e tornam-se essenciais para a identificação de alterações genéticas presentes nas leucemias. As técnicas moleculares têm sido fundamentais na clínica, evidenciando o melhor esquema terapêutico a ser seguido, que proporciona uma melhor qualidade de vida aos pacientes (OLIVEIRA *et al.*, 2004).

## 6.1 Imunofenotipagem

A utilização da imunofenotipagem nas leucemias agudas resultou no reconhecimento de alguns subtipos cuja identificação não era possível apenas pelos critérios morfológicos e citoquímicos. Dessa maneira, foram definidos dois novos subtipos de LMA, sendo elas LMA-M0 e LMA-M7 (FAB) (MARTINS, FALCÃO, 2000).

A imunofenotipagem (IFT) eleva para 99% o percentual de diagnósticos corretos, permitindo identificar a linhagem celular e os diferentes estágios de maturação. É realizada a partir da citometria de fluxo, método preferencial para uma melhor análise das linhagens e da maturação das células nas leucemias, pois a utilização de anticorpos monoclonais conjugados a fluorocromos permite determinar múltiplos antígenos (de superfície, citoplasmático e nuclear) expressos por células leucêmicas (SILVEIRA, 2012).

A IFT por citometria de fluxo é uma técnica que começou a surgir com o desenvolvimento dos corantes citológicos. Porém, apenas em 1950, foi provada a detecção de antígenos por meio de anticorpos fluorescentes e com isso, o uso de fluorescência se tornou habitual e a citometria de fluxo usual nas áreas de hematologia e imunologia (KHAN; BOLTON, 2014).

Atualmente, os citômetros de fluxo modernos são empregados em pesquisas biológicas e diagnósticos clínicos para a determinação do número e concentração de um ou mais tipos de células sanguíneas. A análise é realizada pela passagem das células, separadamente, por uma corrente estreita onde incide um feixe de *laser* e sinais como a dispersão frontal da luz (FSC- *Forward scatter* – dispersor frontal), dispersão lateral da luz (SSC - *Side scatter*- dispersor lateral) e emissão de luz fluorescente (FL – Fluorescência relativa) são simultaneamente mensurados para obtenção de informações como o tamanho das células, granulosidade ou complexidade interna (HUANG *et al.*, 2014).

Trata-se de um método especial que detecta e identifica marcadores celulares expressos em cada tipo e subtipo das LA's, mostrando em que estágio de desenvolvimento encontra-se o clone leucêmico (Rothe, Schmitz, 1996; Wood *et al.*, 2007).

Baseia-se na reação antígeno-anticorpo, utilizando-se anticorpos monoclonais conjugados a fluorocromos como a ficoeritrina (PE), o isotiocianato de fluoresceína (FITC) e a alofococianina (APC) na identificação dos diferentes marcadores celulares, os quais podem ser intracitoplasmáticos e/ou de superfície celular (ROTHER, SCHMITZ, 1996; WOOD *et al.*, 2007).

Algumas recomendações devem ser observadas para a execução da IFT. A primeira requer que as células (medula óssea, linfonodo ou sangue) sejam recém coletadas, para que desse modo produzam resultados em poucas horas. A segunda é que o material coletado deve ser cuidadosamente misturado com anticoagulante (EDTA, heparina) e rapidamente transportado, em temperatura ambiente, para o laboratório que realizará a citometria de fluxo e preferencialmente, deve ser analisado em até 24 horas após a coleta. (BASSO *et al.*, 2001; BÉNÉ, 2005).

As células hematopoéticas apresentam muitos antígenos de superfície, podendo também serem intracitoplasmáticos e intranucleares e através da imunofenotipagem por citometria de fluxo, estes podem ser reconhecidos a partir do uso de anticorpos monoclonais específicos (FARIAS; BIERMANN, 2007).

Por meio dessa técnica, podem-se revelar quais blastos são positivos para CD33, CD34, CD41, CD61, glicoforina A e muitas vezes CD7 e CD36 (LANGERBRAKE *et al.*, 2005; MASSEY *et al.*, 2006).

Os marcadores imunofenotípicos de linhagem mieloide mais frequentes são: mieloperoxidase (MPO), CD13, CD33, CD117, CD15, sendo os principais o CD13, o CD33 e a MPO (MILLER; PILISHOWSKA, 2014). Porém, devido a evidente heterogeneidade imunofenotípica apresentada pelas LMAs, existem marcadores bem característicos de acordo com seus diversos subtipos. No Brasil, o Grupo Brasileiro de Citometria de Fluxo (GBCFLUX), padronizou em 2015, painéis de triagem para leucemias agudas, incluindo as leucemias mieloides agudas (COSTA, 2017) (Quadro 5).

**Quadro 5 - Painel de triagem para leucemias mielóides agudas.**

Tubos	Fluorocromos e marcadores			
	FITC	PE	PerCP-Cy5.5	APC
1	HLA-DR	CD117	CD45	CD34
2	CD16	CD13	CD45	CD11b
3	CD36	CD16	CD45	CD14
4	CD71	CD235a	CD45	CD33
5	CD15	CD61	CD45	CD13
6	CD2	CD56	CD45	CD4
7	CD38	CD117	CD45	CD34

Fonte: Adaptado de IKOMA *et al.*, 2015.

A LMA-M7 (FAB) pode não expressar CD13 ou CD33, ou expressar em baixa porcentagem dos blastos, com menos intensidade que na LMA clássica. Os megacarioblastos são positivos para os marcadores de células imaturas HLA-DR (80-90% dos casos), CD34 e, em alguns casos, podem ser HLA-DR negativos e não expressam antígenos linfoides B e ainda em outros casos, podem ser antígenos linfoides T (CD2 e/ou CD7) positivos. O diagnóstico da LMA-M7 requer positividade para os antígenos da linhagem megacariocítica CD41a (complexo glicoproteico IIb/IIIa), CD42b (glicoproteína Ib), CD61 (glicoproteína IIIa) ou antígeno relacionado ao fator VIII (fator de Von Willebrand), confirmados por imunocitoquímica (FARIAS; BIERMANN, 2007).

Foi observado que blastos de crianças com LM-SD (OMS) expressam CD36, em contraste com a baixa ou não expressão de CD36 nas LM sem SD (SAVASAN; RAVINDRANATH, 2003).

A imunofenotipagem dos blastos na LM-SD é geralmente similar à LT, exceto pela porcentagem de CD34+ nas células ser menor na LM-SD (LANGEBRAKE, 2005). Por exemplo, no estudo realizado por Queiroz (2012), foram feitas a imunofenotipagem, de portadores de LM-SD e de portadores de LT, onde foi visto que a taxa de CD34+ dos pacientes com LM-SD apresentou-se em menor quantidade enquanto que a taxa de CD34+ dos pacientes com LT apresentou-se em maior quantidade. (PELLOSO *et al.*, 2003).

Os marcadores megacariocíticos CD41, CD42a e CD61 também contribuem para o diagnóstico de LM-SD. Além do diagnóstico da leucemia, a imunofenotipagem contribui para o monitoramento da DRM (PELLOSO *et al.*, 2003).

Apesar de já existirem marcadores imunofenotípicos predefinidos nos painéis de diagnóstico para LMAs, ainda há grande necessidade do estudo de novos marcadores para serem incluídos na rotina, com o objetivo de cada vez mais aumentar a precisão no diagnóstico devido à heterogeneidade desse grupo de neoplasias, para que sejam definidas medidas de tratamento mais adequadas e, conseqüentemente haja uma melhoria na sobrevida global e uma diminuição na taxa de mortalidade associada a tratamento das LMAs (LARSEN *et al.*, 2011).

## 7. TRATAMENTO

Pacientes que apresentam LMA em conjunto com a SD, possuem características únicas e dessa forma, apresentam também diferenças significativas na resposta ao tratamento e perfil de toxicidade, quando comparados a portadores de LMA sem SD (XAVIER *et al.*, 2010).

O tratamento consiste em quimioterapia em quatro etapas (indução, consolidação, re-indução e manutenção). Nos casos de recidiva, o tratamento deve consistir nas mesmas fases, somadas ao transplante de medula óssea. (MANUAL DE ONCOLOGIA CLÍNICA DO BRASIL - MOC BRASIL, 2016).

A maioria das crianças que apresentam SD e LMA, não eram tratadas nos anos de 1960 e 1970 e somente a partir de 1983, ocorreu a inclusão de crianças com SD em grupos de estudos. Foi observado, com apenas algumas exceções, que as crianças com SD obtiveram um resultado significativamente melhor em relação ao tratamento do que outras crianças com LMA sem SD (LANGE *et al.*, 1998).

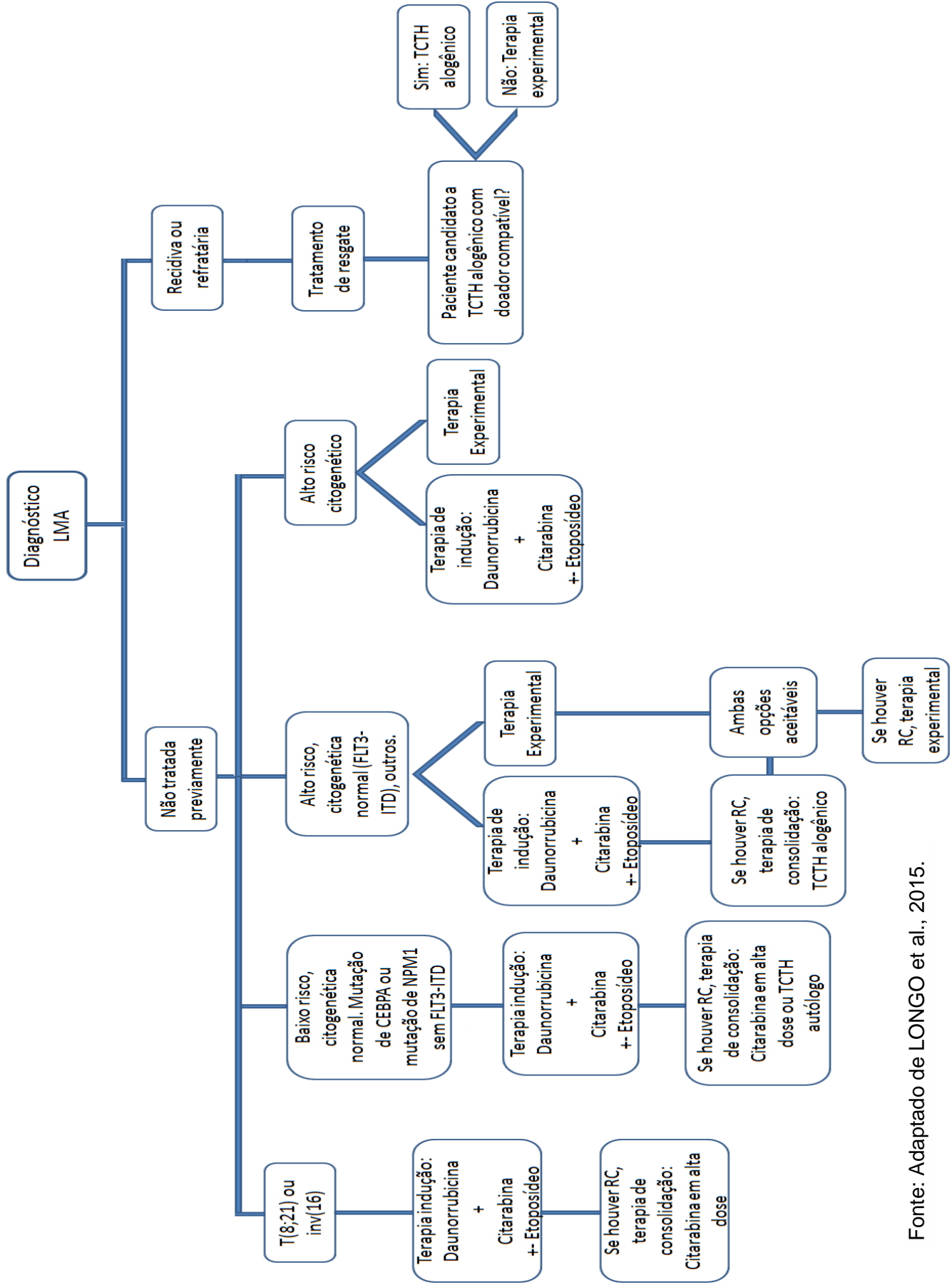
O *Paediatric Oncology Group* – Grupo de Pediatria Oncológica (POG), foi responsável pelas primeiras publicações envolvendo altos índices de sobrevivência sem recaída, quando utilizado um tratamento intensivo para LMA. (CREUTZIG *et al.*, 2005).

Balancear a terapia para cura, e ao mesmo tempo prevenir o paciente contra potenciais eventos envolvendo toxicidade, é um dos maiores desafios encontrados quando o assunto é tratamento de crianças com LMA e SD. Diversos estudos realizados com crianças portadoras de LMA e SD, particularmente LMA-M7, mostraram que os mesmos apresentam índices altos de cura. Foi previsto ainda, que os índices de pacientes sem recaída, após o tratamento se manteve próximo ao 100% (XAVIER *et al.*, 2010).

A terapia padrão inclui uma infusão contínua por sete dias de citarabina (100-200mg por dia) e um ciclo de 3 dias de daunorrubicina (60-90mg por dia), podendo haver a administração de etoposídeo ou novas terapias baseadas no risco previsto de recidiva (LONGO, *et al.*, 2015).

A idarrubicina (12-13mg por dia) pode ser utilizada no lugar da daunorrubicina. Os pacientes que atingem a remissão completa são submetidos a terapia de consolidação pós remissão, incluindo ciclos sequenciais de citarabina em altas doses, transplante de células tronco hematopoéticas (TCTH) autólogo, TCTH alogênico ou novas terapias, com base no risco previsto de recidiva (LONGO, et al., 2015). A figura 3 ilustra o fluxo de tratamento realizado em casos de LMA realizado, incluindo o tratamento da LM-SD citado nos parágrafos anteriores.

Figura 3- Fluxograma para a terapia da leucemia mieloide aguda para todas as formas de LMA (exceto a leucemia promielocítica aguda).



Foi demonstrado que crianças com SD e LMA, são mais suscetíveis a sofrer com uma significativa toxicidade mediada pela quimioterapia, mais particularmente, pelo metotrexato, o fato pode estar relacionado a características biológicas únicas apresentadas pelos blastos de crianças portadoras de SD ou ainda a uma quantidade maior de certos genes, devido à super expressão causada pela presença do cromossomo 21 extra (XAVIER *et al.*, 2010).

Estudos realizados indicam que os índices de cura sem recaída, estão relacionados com a maior sensibilidade *in vitro* dos megacarioblastos presentes na SD ao quimioterápico Citarabina (ara-C), e também, a Daunorrubicina, devido em parte, a presença de mutações do *GATA1* (XAVIER *et al.*, 2010).

A presença de mutações no *GATA1*, e a geração de genes provenientes do mesmo, acaba resultando em interações e modulações na expressão de diferentes genes, como o gene citadina desaminase (CDA), localizado no cromossomo 1. O CDA está envolvido no processo irreversível de desaminação hidrolítica do ara-C para o metabolito inativo ara-U, e alguns estudos *in vitro*, apresentaram resultados em que os níveis de transcrição do CDA, em blastos de crianças portadoras de SD e LM-SD, são significativamente menores que em blastos de crianças não portadoras de SD porém com LMA. Proteínas antiapoptóticas como a BCL2 (cujo gene está localizado no cromossomo 18) e HSP70 (cujo gene está localizado no cromossomo 5), apresentam menor expressão em blastos da LM-SD quando comparados aos blastos de crianças não portadoras de LMA, porém com SD, sugerindo então que os megacarioblastos de crianças com SD, são mais suscetíveis a apoptose mediada pela quimioterapia (XAVIER *et al.*, 2010).

Uma pesquisa realizada com nove crianças (todas diagnosticadas a partir de anticorpos monoclonais plaqueta-específicos) que foram separadas em dois grupos onde três delas foram submetidas a quimioterapia induzida com ara-C e daunorrubicina (KOJIMA *et al.*, 1993).

Durante a consolidação, um paciente se manteve em remissão completa da doença por mais de 5 anos, outro paciente teve uma recaída durante a consolidação e acabou indo a óbito, e outro paciente acabou falecendo devido a insuficiência cardíaca. Para as outras seis crianças restantes, a indução da quimioterapia para remissão da doença consistiu no uso de daunorrubicina, ara-C e etoposida onde todas elas obtiveram remissão completa da doença. Cinco tiveram a quimioterapia finalizada, sendo que durante esse mesmo período outras duas crianças com LMA-

M7 sem SD, foram tratadas seguindo o mesmo protocolo aplicado às crianças com SD, onde constatou-se que as mesmas falharam em obter remissão completa da doença. O resultado apresentado pelo estudo realizado sugere que a LMA em crianças com SD, é altamente responsável ao tratamento mediado pela quimioterapia, utilizando Daunorrubicina e Ara-C (Tabela 2), porém não se sabe ao certo porque alguns pacientes não responderam bem ao tratamento, sendo necessário a realização de mais pesquisas (KOJIMA et al., 1993).

Foi constatado também que o tratamento utilizando doses menos intensivas de ara-C, combinado com etoposida, é útil para o tratamento de crianças com SD e LMA (KOJIMA et al., 1993).

Sabe-se que o uso de antraciclina é responsável por um maior risco ao desenvolvimento de problemas relacionados a toxicidade em crianças portadoras de LMA e SD. Foi realizado um estudo envolvendo 6.493 crianças em que as mesmas foram tratadas com antraciclina, verificando que as crianças com SD apresentam um risco relativo de 3,4% de desenvolver toxicidade cardíaca. O risco aumentado de desenvolver toxicidade cardíaca com o uso de antraciclina para tratamento, é possivelmente causado devido a localização dos genes superóxido desmutase (SOD) e carbonil redutase 1 (CBR1), que estão situados no cromossomo 21. Esses genes estão fortemente envolvidos nos processos que geram radicais livres e no metabolismo da antraciclina. Além disso, crianças portadoras de SD, ao serem expostas a agentes antagonistas do folato como o metotrexato, podem desenvolver uma grave toxicidade sistêmica, como por exemplo, mielossupressão, e lesões hepatotóxicas, sugerindo então que as células de pacientes portadores de SD tem um metabolismo do folato alterado (XAVIER et al., 2010).

**Tabela 2- Dados clínicos e laboratoriais da Leucemia Megacarioblástica Aguda na Síndrome de Down**

Idade em meses (Começo da terapia)	Sexo	Leucócitos (x10 <sup>9</sup> /L)	Blastos Periféricos (%)	Tratamento	Resposta	Duração da Remissão após fim da terapia (Meses)	Sobrevivência (Meses)	Terapia Finalizada?	Histórico
24	F	10.1	30	DNR, AraC	RC	>68	>70	Sim	Sobreviveu
32	F	9.0	20	DNR, AraC	SR	0	1	Não	Falha do Coração
23	F	10.5	10	DNR, AraC	RC	5	15	Não	Recaída
21	M	7.2	24	DNR, AraC, VP-16	RC	>48	>51	Sim	Sobreviveu
32	M	5.4	10	DNR, AraC, VP-16	RC	>40	>41	Sim	Sobreviveu
14	F	6.4	17	DNR, AraC, VP-16	RC	>37	>39	Sim	Sobreviveu
21	M	6.2	39	DNR, AraC, VP-16	RC	>30	>32	Sim	Sobreviveu
18	F	17.2	59	DNR, AraC, VP-16	RC	>8	>9	Sim	Sobreviveu
18	M	3.8	4	DNR, AraC, VP-16	RC	>4	>5	Não	Sobreviveu

Abreviações: DNR, Daunorrubicina; AraC, Citarabina; VP-16, Etoposida; RC, Remissão Completa; SR, Sem resposta.

Fonte: Adaptado de KOJIMA et al., 1993

O metotrexato é um agente capaz de causar toxicidade em portadores de SD e LMA-M7 devido a seu mecanismo de ação. Ele participa do processo de transporte ativo intracelular via proteína transmembrana. O gene responsável pelo controle dessa proteína fica localizado no cromossomo 21 e devido a cópia extra do mesmo nas células dos portadores de SD, acabam por apresentar uma expressão elevada desse gene, fazendo com que a expressão da proteína também seja aumentada, acarretando em uma maior entrada do metotrexato nas células de vários tecidos, prejudicando o funcionamento dos mesmos, levando dessa maneira a uma toxicidade (XAVIER *et al.*, 2010).

## 8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Crianças com SD têm risco 10 a 20 vezes maior de desenvolver desordens hematológicas, onde 10% desenvolvem doença mieloproliferativa transitória ou leucemia transitória (LT) e 20% das mesmas desenvolvem posteriormente leucemia mielóide aguda (LMA-M7 ou LM-SD). O mecanismo que leva à predisposição de crianças com SD a desenvolverem leucemia, ocorre por meio da expressão aumentada do gene *GATA1* presente no cromossomo 21.

Para diagnóstico laboratorial, além da análise do sangue periférico e medula óssea, a análise da forma e da citogenética bem como a imunofenotipagem por citometria de fluxo, são importantes para análises de múltiplos parâmetros onde a porcentagem de cariótipo anormal representa aproximadamente 80% dos casos em crianças onde a  $t(1;22)(p13;q13)$  é encontrada em aproximadamente metade dos casos, ocorrendo em crianças com menos de 6 meses de idade, o cariótipo ainda pode se apresentar normal em aproximadamente 10% dos casos.

A LMA-M7 é caracterizada por apresentar alta incidência de anormalidades cromossômicas e complexidade cariotípica em relação aos outros subtipos de leucemia mieloide aguda.

O diagnóstico da LMA-M7 por imunofenotipagem requer positividade para os antígenos da linhagem megacariocítica CD41a (complexo glicoproteico IIb/IIIa), CD42b (glicoproteína Ib), CD61 (glicoproteína IIIa) ou antígenos relacionados ao fator VIII.

Esses pacientes apresentam características únicas e significativas na resposta ao tratamento por conta de um perfil de toxicidade aumentado. A terapia padrão inclui uma infusão contínua por sete dias de citarabina e um ciclo de 3 dias de daunorrubicina, podendo haver a administração de etoposídeo ou novas terapias baseadas no risco previsto de recidiva. Foi observado, com apenas algumas exceções, que as crianças com SD obtiveram na maioria dos casos, um resultado significativamente melhor em relação ao tratamento do que outras crianças com LMA sem SD. Foi previsto ainda, que os índices de pacientes sem recaída após o tratamento se manteve próximo aos 100%.

Balancear a terapia de cura e prevenção contra esse evento é um dos maiores desafios encontrados. Existe uma grande necessidade de mais informações e estudos voltados a este público, aumentando, dessa maneira, a precisão do diagnóstico e conseqüentemente melhoria do tratamento.

## REFERÊNCIAS

**A SÍNDROME DE DOWN E SUA PATOGÊNESE: CONSIDERAÇÕES SOBRE O DETERMINISMO GENÉTICO: Down syndrome and its pathogenesis: considerations about genetic determinism.** Bahia: **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 22, n. 2, jun. 2000. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-4446200000200011](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-4446200000200011)>. Acesso em: 25 nov. 2016.

ALFORD, K.A.; REINHARDT, K.; GARNETT, C.; NORTON, A., et al. Analysis of GATA1 mutations in Down syndrome transient myeloproliferative disorder and myeloid leukemia. **Blood**, 118: 2222-2238, 2011.

ARBER, Daniel A. et al. The 2016 revision to the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. **Blood**, p. blood-2016-03-643544, 2016.

BAIN, B. J.; ESTCOURT, L. FAB Classification of Leukemia. **Brenner's Encyclopedia of Genetics**, v. 3, 2013.

BASSO, G et al. New Methodologic Approaches For Immunophenotyping Acute Leukemias. **Haematologica**, [s.l], v. 86, n. 1, p.675-692, jan. 2001.

BÉNÉ, M.C. Immunophenotyping of acute leukaemias. **Immunology Letters**, vol. 98, p 9– 21, Abril 2005

BENNET, J.M.; CATOVSKY, D.; DANIEL, M.T.; FLANDRIN, G., et al. Proposal for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) cooperative group. **British Journal of Haematology**, 33(4): 451-458, 1976.

BENNET, J.M.; CATOVSKY, D.; DANIEL, M.T.; FLANDRIN, G.; et al. Proposal for the recognition of minimally differentiated acute myeloid leukaemia (AML-MO). **British Journal of Haematology**, 78(3): 325-329, 1991.

BENNET, J.M.; CATOVSKY, D.; DANIEL, M.T.; FLANDRIN, G.; et al. Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia. A report of the FrenchAmerican-British Cooperative Group. **Ann Inter Med**, 103(4): 620-625, 1985.

BERTELLI, E.C.P. et all. (2005). Recentes avanços moleculares e aspectos genético-clínicos em síndrome de Down. **Revista Brasileira de Medicina**, Ed: Set 05, 62(9), pp. 401-408.

BISSOTO, Maria Luísa. Desenvolvimento cognitivo e o processo de aprendizagem do portador de síndrome de Down: revendo concepções e perspectivas educacionais. **Ciências & Cognição**, v. 4, p. 80-88, 2005.

BONOMO, Christiane Aquino et al. **Movimento Down**. Disponível em: <<http://www.movimentodown.org.br/>>. Acesso em: 10 fev. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Governo Brasileiro. **Avaliação epidemiológica das leucemias linfoblásticas em PA.**[201-?]. Disponível em: <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/inca/Avaliacao\\_epidemiologica\\_das\\_leucemias\\_linfoblasticas\\_em\\_pa.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/inca/Avaliacao_epidemiologica_das_leucemias_linfoblasticas_em_pa.pdf)>. Acesso em: 20 mar. 2017.

CABELOF, D.C.; PATEL, H.V.; CHEN, Q.; VAN REMMEN, H., et al. Mutational spectrum at GATA1 provides insights into mutagenesis and leukemogenesis in Down syndrome. **Blood**, 114: 2753-2763, 2009.

CALLIGARIS, R.; BOTTARDI, S.; COGOI, S.; APEZTEGUIA, I.; SANTORO, C. (1995). Alternative translation initiation site usage results in two functionally distinct forms of the GATA-1 transcription factor. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Vol.92, No.25, pp.11598-11602, ISSN 0027- 8424.

CAVALCANTE, L. et al. Doença periodontal em indivíduos com síndrome de Down: enfoque genético. **RGO**, Porto Alegre, v. 57, n.4, p. 449-453, out./dez. 2009

COSTA, Amanda Fernandes de Oliveira et al. **Influência de novos marcadores imunofenotípicos no prognóstico e sobrevida de leucemias mieloides agudas: uma revisão sistemática e meta-análise**. 2017.

CREUTZIG, U et al. AML patients with Down syndrome have a high cure rate with AML-BFM therapy with reduced dose intensity. **Nature**. [s.l], p. 1355-1360. maio 2005. Disponível em: <<http://www.nature.com/leu/journal/v19/n8/full/2403814a.html?foxtrotcallback=true>>. Acesso em: 16 ago. 2017.

CREUTZIG, U.; RITTER, J.; VORMOOR, J.; LUDWIG, W.D., et al. Myelodysplasia and acute myelogenous leukemia in Down's syndrome. A report of 40 children of the AMLBFM Study Group. **Leukemia**, 10: 1677-1686, 1996.

DA SILVA, Grazielle C. et al. Diagnóstico laboratorial das leucemias mielóides agudas. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 42, n. 2, p. 77-84, 2006.

DE CARVALHO, Ana Clara Alves; CAMPOS, Paulo Sérgio Flores; CRUSOÉ-REBELLO, Ieda. Síndrome de Down: aspectos relacionados ao sistema estomatognático. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 9, n. 1, p. 49-52, 2010.

DE DOWN, Fundació Catalana Síndrome. Síndrome de Down. **Hacia la tercera edad: retos y esperanzas. Recopilación de las ponencias de las IX Jornadas Internacionales sobre el Síndrome de Down. Barcelona: Fundació Catalana Síndrome de Down**, 2009.

DE DOWN, Síndrome et al. Estudo da Qualidade de Vida de Portadores da Síndrome de Down. **Revista Eletrônica Acervo Saúde/Electronic Journal Collection Health ISSN**, v. 2178, p. 2091.

DE MATOS, Sócrates Bezerra. SÍNDROME DE DOWN: AVANÇOS E PERSPECTIVAS. **Saúde. com**, v. 3, n. 2, 2016.

DE VITA, S.; MULLIGAN, C.; MCELWAIN, S.; et al. (2007). Loss-of-function JAK3 mutations in TMD and AMKL of Down syndrome. **British Journal of Haematology**, Vol.137, No.4, pp.337-341, ISSN 00071048

DESANTIS, Carol E. et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2014. **Ca: A Cancer Journal for Clinicians**, [s.l.], v. 64, n. 4, p.252-271, 1 jun. 2014. American Cancer Society. <http://dx.doi.org/10.3322/caac.21235>.

DÍAZ BEVERIDGE, R.; APARICIO URTASUN, J. Leucemias agudas y síndromes mielodisplásicos secundarios al tratamiento oncológico. In: **Anales de Medicina Interna**. Arán Ediciones, SL, 2003. p. 43-54.

DOBBIN, Jane. **Leucemia Aguda**. Disponível em: <[http://www.inca.gov.br/conteudo\\_view.asp?id=344](http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=344)>. Acesso em: 02 jan. 2017.

DUMONT, Carina. **Aspectos peculiares da leucemia em crianças com Síndrome de Down**. 2007. 9 f. TCC (Graduação) - Curso de Biologia Molecular, Departamento de Bioquímica e Imunologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 2007.

FARIAS, Mariela G.; BIERMANN, Maristela B.. Análise morfológica, imunofenotípica e molecular na identificação da leucemia megacariocítica aguda (LMA-M7). **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, São José do Rio Preto , v. 29, n. 4, p. 387-393, Dez. 2007 .

FETT-CONTE, Agnes C. et al . Estudo cromossômico no sangue periférico de pacientes com diferentes tipos de leucemia do Hospital de Base, São José do Rio Preto - SP. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, São José do Rio Preto , v. 22, n. 3, p. 374-386, Dec. 2000 . Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-8484200000300004&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-8484200000300004&lng=en&nrm=iso)>. access on 14 Dec. 2016. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-8484200000300004>.

GAMIS, A.S.; HILDEN, J.M. Transient myeloproliferative disorder, a disorder with too few data and many unanswered questions: does it contain an important piece of the puzzle to understanding hematopoiesis and acute myelogenous leukemia? **J Pediatr Hematol Oncol**, 24(1): 2-5, 2002.

GE, Yubin et al. GATA1, Cytidine Deaminase, and the High Cure Rate of Down Syndrome Children With Acute Megakaryocytic Leukemia. **Journal Of The National Cancer Institute**. [s.l.], p. 226-231. fev. 2015. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jnci/article-lookup/doi/10.1093/jnci/dji026>>. Acesso em: 15 ago. 2017.

HAMERSCHLAK, Nelson. Leukemia: genetics and prognostic factors. **Jornal de Pediatria**, [s.l.], 1 set. 2008. *Jornal de Pediatria*. <http://dx.doi.org/10.2223/jped.1785>.

HASLE, H. (2001). Pattern of malignant disorders in individuals with Down's syndrome. **Lancet Oncology**, Vol.2, No.7, pp.429-436, ISSN 1470-2045.

HELMAN, Ricardo et al . Leucemia mieloide aguda: atualidade brasileira de diagnóstico e tratamento. **Einstein (São Paulo)**, São Paulo , v. 9, n. 2, p. 179-183, Junho 2011 . Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1679-45082011000200179&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-45082011000200179&lng=en&nrm=iso)>. access on 14 Oct. 2017. <http://dx.doi.org/10.1590/s1679-45082011ao1853>.

***Hematologia e Oncologia de Harrison*** - 2.ed. Front Cover. Dan L. Longo. AMGH Editora, Jan 1, **2015**- Business & Economics - 656 paginas.

HENN, Camila Guedes; PICCININI, Cesar Augusto; GARCIAS, Gilberto de Lima. A família no contexto da síndrome de Down: revisando a literatura. **Psicologia em estudo. Maringá. Vol. 13, n. 3 (jul./set. 2008), p. 485-493.**, 2008.

HITZLER, J.K.; CHEUNG, J.; LI, Y.; SCHERER, S.W.; ZIPURSKY, A. GATA1 mutations in transient leukemia and acute megakaryoblastic leukemia of Down syndrome. **Blood**, 101: 4301-4304, 2003.

HITZLER, J.; ZIPURSKY, A. GATA 1 mutations as clonal markers of minimal residual disease in acute megakaryoblastic leukemia of Down syndrome--a new tool with significant potential applications. **Leuk Res**, 29: 1239-40, 2005.

HOLT, S.E.; BROWN, E.J.; ZIPURSKY, A. (2002). Telomerase and the benign and malignant megakaryoblastic leukemias of Down syndrome. **Journal of Pediatric Hematology/Oncology**, Vol.24, No.1, pp.14-17, ISSN 0192-8562.

HUANG, X. et al. A robust recognition error recovery for micro-flow cytometer by machine-learning enhanced single-frame super-resolution processing. **Integration, the VLSI Journal**, p. 1–11, 2014.

HUSSEIN, K.; BOCK, O.; THEOPHILE, K.; SCHULZ-BISCHOF, K., et al. MPLW515L mutation in acute megakaryoblastic leukaemia. **Leukemia**, 23: 852-855, 2009.

ILYAS, A. et al. Next Generation Sequencing of Acute Myeloid Leukemia: Influencing Prognosis. **BMC Genomics**, v. 16, n. Suppl 1, p. S5, 2015.

KHAN, S.; BOLTON, W. K. Balancing cancer risk and efficacy of using cyclophosphamide to treat idiopathic membranous nephropathy. **Clinical journal of the American Society of Nephrology: CJASN**, v. 9, n. 6, p. 1001–4, 2014.

IKOMA, Maura RV et al. First proposed panels on acute leukemia for four - color immunophenotyping by flow cytometry from the Brazilian group of flow cytometry - GBCFLUX. **Cytometry Part B: Clinical Cytometry**, v. 88, n. 3, p. 194-203, 2015.

KANEZAKI, Rika et al. Down syndrome and GATA1 mutations in transient abnormal myeloproliferative disorder: mutation classes correlate with progression to myeloid leukemia. **Blood**, p. blood-2010-05-282426, 2010.

KLUSMANN, J.H.; CREUTZIG, U.; ZIMMERMANN, M.; et al. (2008). Treatment and prognostic impact of transient leukemia in neonates with Down syndrome. **Blood**, Vol.111, No.6, pp.2991-2998, ISSN 0006-4971

KLUSMANN, J.H.; LI, Z.; BOHMER, K.; MAROZ, A.; KOCH, M.L.; EMMRICH, S.; GODINHO, F.J.; ORKIN, S.H.; REINHARDT, D. (2010). miR-125b-2 is a potential oncomiR on human chromosome 21 in megakaryoblastic leukemia. **Genes & Development**, Vol.24, No.5, pp.478-490, ISSN 0890-9369

KOJIMA, Seiji et al. FAVORABLE TREATMENT OUTCOME IN CHILDREN WITH ACUTE MYELOID LEUKEMIA AND DOWN SYNDROME. **Blood**. [s.l], p. 3164-3165. jun. 1993. Disponível em: <<http://www.bloodjournal.org/content/81/11/3164>>. Acesso em: 16 ago. 2017.

KOZMA, C. (2007). O que é síndrome de Down. Em Stray-Gundersen, K. (Org.). Crianças com síndrome de Down: guia para pais e educadores. **Artmed**, Porto Alegre, pp. 14-42.

LANGE, Beverly J. et al. Distinctive Demography, Biology, and Outcome of Acute Myeloid Leukemia and Myelodysplastic Syndrome in Children With Down Syndrome: Children's Cancer Group Studies 2861 and 2891. **Blood**. [s.l], p. 608-615. jan. 1995. Disponível em: <<http://www.bloodjournal.org/content/91/2/608>>. Acesso em: 15 ago. 2017.

LANGEBRAKE, C.; CREUTZIG, U.; REINHARDT, D. Immunophenotype of Down syndrome acute myeloid leukemia and transient myeloproliferative disease differs 66 significantly from other diseases with morphologically identical or similar blasts. **Klin Padiatr**, 217:126-134, 2005.

LARSEN, H. et al. Expression of the hMICL in acute myeloid leukemia—a highly reliable disease marker at diagnosis and during follow-up. **Cytometry Part B: Clinical Cytometry**, v. 82, n. 1, p. 3-8, 2011.

LEE, Maria Lúcia de Martino. Leucemias agudas na infância. **Pediatria Moderna**, [s.l], v. 35, n. 8, p.616-623, ago. 1999. Disponível em:

<[http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?id\\_materia=728&fase=imprime](http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?id_materia=728&fase=imprime)>. Acesso em: 07 dez. 2016.

Leonardo Leite (Ed.). **Doenças Genéticas: Síndrome De Down**. Disponível em: <<http://www.ghente.org/ciencia/genetica/down.htm>>. Acesso em: 07 abr. 2017.

LONGO, Dan L. **Hematologia e oncologia de Harrison**. 2. Porto Alegre AMGH 2015 1 recurso online ISBN 9788580554564

LONGO, Dan L. (Org.). **Hematologia e Oncologia de Harrison**. 2. ed. Porto Alegre: Amgh Editora Ltda., 2015. 642 p.

MAGALHÃES, I.Q.; SPLENDORE, A.; EMERENCIANO, M.; CÓRDOBA, M. S., et al. Transient neonatal myeloproliferative disorder without Down syndrome and detection of GATA1 mutation. **J Pediatr Hematol Oncol**, 27: 50-52, 2005.

MAHMOOD, H. et al. A review of AML classification: a single institution experience in a developing country. **Journal of Hematopathology**, v. 7, n. 1, p. 3-8, 2014.

MALINGE, S.; IZRAELI, S.; CRISPINO, J.D. (2009). Insights into the manifestations, outcomes, and mechanisms of leukemogenesis in Down syndrome. **Blood**, Vol.113, No.12, pp.2619–2628, ISSN 0006-4971

MARTINS, S. L. R.; FALCÃO, R. P. A importância da imunofenotipagem na leucemia mielóide aguda. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 46, n. 1, p. 57-62, 2000.

MASSEY, Gita V. et al. A prospective study of the natural history of transient leukemia (TL) in neonates with Down syndrome (DS): Childrens Oncology Group (COG) study POG-9481. **Blood**, v. 107, n. 12, p. 4606-4613, 2006.

MATOS, Sócrates Bezerra de et al. SÍNDROME DE DOWN: AVANÇOS E PERSPECTIVAS. **Saúde, Ilhéus**, v. 3, n. 2, p.77-86, jan. 2007.

MILLER, K.; PILICHOWSKA, M. Acute Myeloid Leukemia. **Reference Module in Biomedical Sciences**, 3ªed, 2014.

MORATO, P. P. Avaliação do desenvolvimento motor em crianças com Síndrome de Down. **Revista Ludens**, Lisboa, v. 1, n. 11, p. 28-30, 1986.

MOREIRA, Lília Maria de Azevedo; EL-HANI, Charbel Niño; GUSMÃO, Fábio Alexandre Ferreira. **A síndrome de Down e sua patogênese: considerações sobre o determinismo genético**. 2000.

MUNDSCHAU, G.; GURBUXANI, S.; GAMIS, A.S.; GREENE, M.E., et al. Mutagenesis of GATA1 is an initiating event in Down syndrome leukemogenesis. **Blood**, 101: 4298- 4300, 2003.

NASCIMENTO, M. L. C. **Síndrome de Down**. 2006.

NISIHARA, Renato Mitsunori; MASSUDA, Pietro Henrique; LUPIAÑES, Paloma Matiazza Peña. Aspectos imunológicos da Síndrome de Down. **Sociedade Brasileira de Clínica Médica**, Curitiba, v. 12, n. 3, p.246-251, jul. 2014. Trimestral.

OLIVEIRA, R.A.G.; NETO, A.P. **Anemias e Leucemias: conceitos básicos e diagnóstico por técnicas laboratoriais**. São Paulo: Roca, 2004.

OTTO, Paulo Alberto; NETTO, Regina Célia Mingroni; OTTO, Priscila Guimarães. **Genética Médica**. Rio de Janeiro: Gen, 2013. 440 p.

PAVARINO-BERTELLI, E. C. et al. Recentes avanços moleculares e aspectos genético-clínicos em síndrome de Down. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 62, n. 9, p. 401-8, 2005.

PAIVA, Camila Foss et al. **SÍNDROME DE DOWN: ETIOLOGIA, CARACTERÍSTICAS E IMPACTOS NA FAMÍLIA**. Faculdade de São Paulo. Disponível em: <[http://facsapaulo.edu.br/media/files/2/2\\_387.pdf](http://facsapaulo.edu.br/media/files/2/2_387.pdf)>. Acesso em: 03 mar. 2017.

PELLOSO, L.A.F.; CHAUFFAILLE, M.L.L.F.; GHANAME, F.S.; YAMAMOTO, M., et al. Cariótipo em leucemia mieloide aguda: importância e tipo de alteração em 30 pacientes ao diagnóstico. **Rev. Assoc. Med. Bras**, 49(2): 150-155, 2003.

PETERS, J. M.; ANSARI, M. Q. Multiparameter flow cytometry in the diagnosis and management of acute leukemia. **Archives of pathology & laboratory medicine**, v. 135, n. 1, p. 44–54, 2011.

PINE, S.R.; GUO, Q.; YIN, C.; JAYABOSE, S.; et al. GATA1 as a new target to detect minimal residual disease in both transient leukemia and megakaryoblastic leukemia of Down syndrome. **Leuk Res**, 29(11): 1353-1356, 2005.

PINE, S.R.; GUO, Q.; YIN, C.; JAYABOSE, S., et al. Incidence and clinical implications of GATA1 mutations in newborns with Down syndrome. **Blood**, 110: 2128-2131, 2007.

QUEIROZ, Lílian Barros. **ABORDAGEM MOLECULAR DA LEUCEMIA TRANSITÓRIA E DA LEUCEMIA MIELOIDE, ASSOCIADAS À SÍNDROME DE DOWN**. 2012. 116 f. Tese (Pós-Graduação) - Curso de Ciências Biomédicas, Universidade de Brasília, Brasília, 2012. Disponível em: <<http://repositorio.unb.br/handle/10482/12101>>. Acesso em: 25 nov. 2016.

QUIXABEIRA, Valéria Bernadete Leite; SADDI, Vera Aparecida. A importância da imunofenotipagem e da citogenética no diagnóstico das leucemias: uma revisão da literatura. **RBAC**, v. 40, n. 3, p. 199-202, 2008.

RAINIS, L.; BERCOVICH, D.; STREHL, S.; et al. (2003). Mutations in exon 2 of GATA1 are early events in megakaryocytic malignancies associated with trisomy 21. **Blood**, Vol.102, No.3, pp.981-986, ISSN 0006-4971

RAINIS, L.; TOKI, T.; PIMANDA, J.E.; et al. (2005). The protooncogene ERG in megakaryoblastic leukemias. **Cancer Research**, Vol.65, No.17, pp.7596-7602, ISSN 0008-5472

RIERA, L.; LASORSA, E.; BONELLO, L.; SISMONDI, F., et al. Description of a novel Janus kinase 3 P132A mutation in acute megakaryoblastic leukemia and demonstration of previously reported Janus kinase 3 mutations in normal subjects. **Leuk Lymphoma**, 52: 1742-1750, 2011

ROSE-INMAN, H.; KUEHL, D. Acute leukemia. **Emergency Medicine Clinics of North America**, v. 32, n. 3, p. 579–596, 2014.

ROTHE G, SCHIMIRTZ G. For the working group on flow cytometry and image analysis. Members of the editorial committee Adorf D. Berlage S. Gramatzki. Consensus protocol for the flow cytometric immunophenotyping of haematopoietic malignancies. **Leukemia** 1996; 10:877-95

ROY, A.; ROBERTS, I.; et al. (2009). Acute megakaryoblastic leukaemia (AMKL) and transient myeloproliferative disorder (TMD) in Down Syndrome: a multi-step model of myeloid leukaemogenesis. **British Journal of Haematology**. 147: 3–12.

SAIDA, Satoshi. Evolution of myeloid leukemia in children with Down syndrome. **International Journal Of Hematology**. [s.l.], p. 365-372. abr. 2016.

Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s12185-016-1959-5#Bib1>>. Acesso em: 06 abr. 2017.

SAVASAN, S.B.S.; RAVINDRANATH, Y. CD36 expression is associated with superior in vitro Ara-C sensitivity in acute megakaryocytic leukemia with and without down syndrome. **Med pediatr oncol**, 41; 274-275, 2003.

SCHAEFER, G. B.; THOMPSON, J. N. **Genética médica: uma abordagem integrada**. Porto Alegre: AMGH, 2015. 384 p.

SCHEINBERG, Phillip; ALENCAR, Alvaro. **Moc-Hemato - Manual De Oncologia Clínica Do Brasil - Hematologia E Transplante**. 4. ed. [s.l.]: Zagodoni, 2016.

SCHWARTZMAN, José Salomão et al. **Síndrome de Down**. São Paulo: Mackenzie, 1999. 324 p.

SHIMIZU, R.; ENGEL, JD, YAMAMOTO, M. (2008). GATA1-related leukaemias. **Nature Reviews Cancer**, Vol.8, No.4, pp.279-287, ISSN 1474-175X

SHIMIZU, R.; KUROHA, T.; OHNEDA, O.; et al. (2004). Leukemogenesis caused by incapacitated GATA-1 function. **Molecular and Cellular Biology**, Vol.24, No.24, pp.10814-10825, ISSN 1098-5549

SHIMIZU, R.; TAKAHASHI, S.; OHNEDA, K.; ENGEL, J. D.; YAMAMOTO, M. (2001). In vivo requirements for GATA-1 functional domains during primitive and definitive erythropoiesis. **Embo Journal**, Vol.20, No.18, pp.5250-5260.

SILVA, G. C. et al. Laboratory diagnosis of acute myeloid leukemias. **J. Bras. Patol. Med. Lab**, 2006. Vol.42, n.2. Disponível em: Acesso em: 07 dez. 2016.

SILVA, Nara Liana Pereira; DESSEN, Maria Auxiliadora. Síndrome de Down: etiologia, caracterização e impacto na família. **Interação em psicologia**, v. 6, n. 2, 2002.

SILVA, Roberta Nascimento Antunes. A educação especial da criança com Síndrome de Down. **Pedagogia em Foco. Rio de Janeiro**, 2002.

SILVEIRA NA; ARRAES, SMAA. A imunofenotipagem no diagnóstico diferencial das leucemias agudas: uma revisão. **Arq Mudi**. 2008;12(1):5-14.

SOMMER, C. A.; HENRIQUE-SILVA, F. Trisomy 21 and Down syndrome: a short review. **Brazilian journal of biology**, v. 68, n. 2, p. 447-452, 2008.

SUEHIRO, A.C.B; PACANARO, S.V; SANTOS, A.A.A. Avaliação das habilidades cognitiva e Viso-motora em pessoas com síndrome de Down. **Rev. Bras. Ed. Esp.**, Marília, v.14, n.2, p.293-310, 2008.

TAUB, J.W.; HUANG, X.; GE, Y.; et al. (2000). Cystathionine-beta-synthase cDNA transfection alters the sensitivity and metabolism of 1-beta-D-arabinofuranosylcytosine in CCRF-CEM leukemia cells in vitro and in vivo: a model of leukemia in Down syndrome. **Cancer Research**, Vol.60, No.22, pp.6421– 6426, ISSN 0008-5472

TAUB, J.W.; MATHERLY, L.H.; STOUT, M.L.; BUCK, S.A.; GURNEY, J.G.; RAVINDRANATH, Y. (1996). Enhanced metabolism of 1-beta-D-arabinofuranosylcytosine in Down syndrome cells: a contributing factor to the superior event free survival of Down syndrome children with acute myeloid leukemia. **Blood**, Vol.87, No.8, pp.3395-3403, ISSN 0006-4971.

TAUB, J.W.; MUNDSCHAU, G.; GE, Y.; et al. (2004). Prenatal origin of GATA1 mutations may be an initiating step in the development of megakaryocytic leukemia in Down syndrome. **Blood**, Vol.104, No.5, pp.1588- 1589, ISSN 0006-4971.

TRINDADE, André Soares; NASCIMENTO, Marcos Antonio do. Avaliação do Desenvolvimento Motor em Crianças com Síndrome de Down. **Rev. bras. educ. espec**, v. 22, n. 4, p. 577-588, 2016.

VARDIMAN, J.W.; HARRIS, N.L.; BRUNNING, R.D. The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms. **Blood**, 100(7): 2292-2302, 2002.

WALTERS, D.K.; MERCHER, T.; GU, T.L.; et al. (2006). Activating alleles of JAK3 in acute megakaryoblastic leukemia. **Cancer Cell**, Vol.10, No.1, pp.65-75, ISSN 1535-6108.

WECHSLER, Joshua et al. Acquired mutations in GATA1 in the megakaryoblastic leukemia of Down syndrome. **Nature Genetics**, [s.l.], v. 32, n. 1, p.148-152, 12 ago. 2002. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/ng955>.

WOOD BL, ARROZ M, BARNETT D, DIGIUSSEPE J, GREIG B, KUSSICK SJ, OLDAKER T, SHENKIN M, STONE E, WALLCE P. **2006 Bethesda International Consensus Recommendations on the Immunophenotypic Analysis of**

**Hematolymphoid Neoplasia by Flow Cytometry: Optimal Reagents and Reporting for the Flow Cytometric Diagnosis of Hematopoietic Neoplasia. Cytometry Part B (Clinical Cytometry). 2007.**

XAVIER, Ana C.; TAUB, Jeffrey W.. Acute leukemia in children with Down syndrome. **Haematologica**. [s.l], p. 1043-1045. jul. 2010. Disponível em: <<http://www.haematologica.org/content/95/7/1043>>. Acesso em: 20 ago. 2017.

YU, C.; NIAKAN, K.K.; MATSUSHITA, M.; STAMATOYANNOPOULOS, G., et al. Xlinked thrombocytopenia with thalassemia from a mutation in the amino finger of GATA-1 affecting DNAbinding rather than FOG-1 interaction. **Blood**, 100: 2040-2045, 2002.

ZIPURSKY A. Transient leukaemia-a benign form of leukaemia in newborn infants with trisomy 21. **Br J Haematol**, 120(6): 930-938, 2003.