



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DE
COIMBRA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

ANA RITA SILVA RIBEIRO

Fatores de prognóstico na leucemia linfoblástica aguda pediátrica

ARTIGO DE REVISÃO NARRATIVA

ÁREA CIENTÍFICA DE HEMATOLOGIA

Trabalho realizado sob a orientação de:
PROFESSORA DOUTORA EMÍLIA CORTESÃO
MESTRE JOANA AZEVEDO

FEVEREIRO/2021

Índice

ABREVIATURAS.....	5
RESUMO	9
ABSTRACT.....	10
INTRODUÇÃO	11
MÉTODOS	13
DISCUSSÃO.....	14
FATORES DE PROGNÓSTICO CLÍNICOS.....	14
Idade.....	14
Contagem inicial de leucócitos.....	15
Género.....	15
Síndrome de Down.....	16
Envolvimento extramedular.....	16
Raça e etnia.....	17
<i>Status</i> socioeconómico.....	17
Nutrição.....	18
Adesão à terapêutica.....	18
FATORES DE PROGNÓSTICO BIOLÓGICOS	19
Imunofenótipo.....	19
Alterações cromossómicas.....	20
Hiperdiploidia.....	20
Hipodiploidia.....	21
ETV6-RUNX1.....	22
ETV6-RUNX1- <i>like</i>	23
BCL11B-TLX3.....	23
BCR-ABL1- <i>like</i>	23
Rearranjos CRLF2.....	25
NUP214-ABL1.....	25
DUX4-IGH.....	26
Outros rearranjos IGH.....	26
Rearranjos KMT2A.....	27
Rearranjos ZNF384.....	28
TCF3-PBX1.....	28
BCR-ABL1.....	29
Rearranjos MEF2D.....	30
iAMP21.....	30

Rearranjos NUTM1.....	32
TCF3-HLF.....	32
NUP98-RAP1GDS1.....	33
Alterações genéticas secundárias.....	34
NOTCH1.....	34
PAX5.....	34
IKZF1.....	34
RAS.....	36
ERG.....	36
TP53.....	36
TP73.....	37
GATA3.....	37
ATM.....	37
NT5C2 e PRPS1.....	38
ATF5 e MTHFR.....	38
RB1.....	38
Outras alterações genéticas.....	39
Resposta ao tratamento.....	40
FATORES DE PROGNÓSTICO APÓS RECIDIVA.....	42
Duração da primeira remissão completa.....	42
Local da recidiva.....	42
Imunofenótipo.....	43
CONCLUSÃO.....	44
AGRADECIMENTOS.....	47
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	48

Abreviaturas

ABL1 – *Abelson Tyrosine-Protein Kinase 1*

ABL2 – *Abelson Tyrosine-Protein Kinase 2*

ACIN1 – *Apoptotic Chromatin Condensation Inducer 1*

AIEOP – *Associação Italiana de Hematologia-Oncologia Pediátrica*

ATF5 – *Activating Transcription Factor 5*

ATM – *Ataxia Telangiectasia Mutated*

AYA – *Adolescents and Young Adults*

BCL2 – *B-Cell CLL/Lymphoma 2*

BCL6 – *B-Cell CLL/Lymphoma 6*

BCL9 – *B-Cell CLL/Lymphoma 9 Protein*

BCR – *Breakpoint Cluster Region*

BFM – *Berlin Frankfurt Muenster*

BRD9 – *Bromodomain Containing 9*

CCG – *Children's Cancer Group*

CD – *Cluster of differentiation*

CDKN2A/B – *Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 2A/B*

CMA – *Análise cromossômica por microarray*

COG – *Children's Oncology Group*

CREBBP – *CREB Binding Protein*

CRLF2 – *Cytokine Receptor Like Factor 2*

CRLF2-r – *Rearranjos do gene CRLF2*

CSF1R – *Colony Stimulating Factor 1 Receptor*

CTNND1 – *Catenin Delta 1*

CUX1 – *Cut Like Homeobox 1*

DAZAP1 – *Deleted In Azoospermia-Associated Protein 1*

DNA – *Ácido desoxirribonucleico*

DRM – *Doença residual mínima*

DUX4 – *Double Homeobox 4*

EBF1 – *Early B Cell Factor 1*

EORTC-CLG – *Children Leukemia Group of the European Organisation for Research and Treatment of Cancer*

EPOR – *Recetor de eritropoietina*

ERG – *ETS-Related Gene*

ETV6 – *ETS Variant Transcription Factor 6*

EWSR1 – *Ewing Sarcoma Breakpoint Region 1*
FBXW7 – *F-Box And WD Repeat Domain Containing 7*
FCM – Citometria de fluxo multiparamétrica
FISH – Hibridização *in situ* fluorescente
FLT3 – *Fms-Like Tyrosine Kinase 3*
FOXJ2 – *Forkhead Box J2*
HLF – *Hepatic Leukemia Factor*
HNRNPUL1 – *Heterogeneous Nuclear Ribonucleoprotein U Like 1*
HOX – *Homeobox*
HOX11L2 – *Homeo Box 11-Like 2*
iAMP21 – Amplificação intracromossômica do cromossoma 21
ID4 – *Inhibitor Of Differentiation 4*
IGH – *Immunoglobulin Heavy Locus*
IKZF1 – *IKAROS Family Zinc Finger 1*
IKZF2 – *IKAROS Family Zinc Finger 2*
IL3 – *Interleukin 3*
ITK – Inibidores da tirosina quinase
JAK2 – *Janus Kinase 2*
kDA – Quilodalton
KMT2A – *Lysine Methyltransferase 2A*
KMT2A-r – Rearranjos do gene *KMT2A*
KRAS – *Kirsten Rat Sarcoma Viral Oncogene Homolog*
LCR – Líquido cefalorraquidiano
LLA – Leucemia linfoblástica aguda
LLA Ph-like, LLA BCR-ABL1-like – Leucemia linfoblástica aguda semelhante ao cromossoma Filadélfia
LLA Ph+ – Leucemia linfoblástica aguda com cromossoma Filadélfia
LLA-B – Leucemia linfoblástica aguda precursora de células B
LLA-ETP – Leucemia linfoblástica aguda de células T precursoras iniciais
LLA-T – Leucemia linfoblástica aguda precursora de células T
LMO2 – *LIM Domain Only 2*
MEF2D – *Myocyte Enhancer Factor 2D*
MGA – *MAX Gene-Associated Protein*
MLL – *Mixed-Lineage Leukemia*
MLPA – Amplificação de sonda dependente de ligação *multiplex*
MTHFR – Metilenotetrahidrofolato redutase
MYC – *V-Myc Avian Myelocytomatosis Viral Oncogene Homolog*

MYCBP2 – *MYC Binding Protein 2*
NCI – *National Cancer Institute*
NGS – Sequenciação de próxima geração
NT5C2 – *Cytosolic Purine 5'-Nucleotidase*
NUP214 – *Nucleoporin 214*
NUP98 – *Nucleoporin 98*
NUTM1 – *NUT Midline Carcinoma Family Member 1*
NUTM1-r – Rearranjos do gene *NUTM1*
OMS – Organização Mundial de Saúde
P2RY8 – *P2Y Receptor Family Member 8*
PAR1 – Região pseudoautossômica 1
PAX5 – *Paired Box 5*
PBX1 – *Pre-B-Cell Leukemia Homeobox 1*
PCR – Reação em cadeia da polimerase
PDGFRA/B – *Platelet Derived Growth Factor Receptor Alpha/Beta*
PRPS1 – *Phosphoribosyl Pyrophosphate Synthetase 1*
PTEN – *Phosphatase And Tensin Homolog*
RAP1GDS1 – *Rap1 GTPase-GDP Dissociation Stimulator 1*
RB1 – *Retinoblastoma 1*
RNA – Ácido ribonucleico
RQ-PCR – Reação em cadeia da polimerase quantitativo em tempo real
RT-PCR – Transcriptase reversa-reação em cadeia da polimerase
RUNX1 – *Runt Related Transcription Factor 1*
SEER – *Surveillance, Epidemiology, and End Results*
SG – Sobrevivência global
SH2B3 – *SH2B Adaptor Protein 3*
SLC12A6 – *Solute Carrier Family 12 Member 6*
SLE – Sobrevivência livre de eventos
SNC – Sistema nervoso central
SNP – Polimorfismos de nucleotídeo único
SS18 – *Synovial Sarcoma Translocation, Chromosome 18*
STAT5B – *Signal Transducer And Activator Of Transcription 5B*
SYNRG – *Synergin Gamma*
TAF15 – *TATA-Box Binding Protein Associated Factor 15*
TCF3 – *Transcription Factor 3*
TP53 – *Tumor Protein P53*
TP73 – *Tumor Protein P73*

ZEB2 – *Zinc Finger E-Box Binding Homeobox 2*

ZNF384 – *Zinc Finger Protein 384*

ZNF618 – *Zinc Finger Protein 618*

Resumo

A leucemia linfoblástica aguda é o cancro mais frequente na idade pediátrica. Apesar da ampla heterogeneidade clínica e biológica, a estratificação dos doentes em grupos de risco com base em fatores de prognóstico e o ajuste do tratamento a esse risco permitiu alcançar uma taxa de sobrevivência global superior a 90%.

Os principais fatores de prognóstico utilizados nesta estratificação incluem características clínicas do doente (como a idade e a contagem inicial de leucócitos), características dos blastos (imunofenótipo, alterações cromossómicas, como translocações e aneuploidias, e genéticas) e resposta precoce ao tratamento, determinada sobretudo pela quantificação da doença residual mínima. Após a recidiva, os principais fatores de prognóstico são: a duração da primeira remissão, o local de recidiva e o imunofenótipo dos blastos. Esta estratificação permite a instituição de um tratamento mais adaptado e eficaz, intensificando ou atenuando a terapêutica dos doentes de alto e baixo risco, respetivamente.

No entanto, um número significativo de doentes sofre recidiva e muitos destes acabam por falecer. Assim, torna-se evidente a necessidade de os categorizar tendo em consideração novos fatores de prognóstico, clínicos e citogenéticos, para um tratamento ainda mais personalizado e uma maior taxa de sobrevivência.

Com o avanço da ciência, foram descobertos novos biomarcadores potencialmente úteis na previsão da evolução da doença. Contudo, a relevância prognóstica de muitos deles ainda está por definir.

Palavras-chave: “Leucemia/linfoma linfoblástico de células precursoras”, “prognóstico”, “criança”, “adolescente” e “lactente”.

Abstract

Acute lymphoblastic leukemia is the most common cancer in pediatric age. Despite the wide clinical and biological heterogeneity, the stratification of patients into risk groups based on prognostic factors and the adjustment of treatment to that risk allowed an achievement of overall survival rate of over 90%.

The main prognostic factors used in this stratification include the patient's clinical characteristics (such as age and initial leukocyte count), characteristics of the blasts (immunophenotype, chromosomal changes, such as translocations and aneuploidies, and genetic) and early response to treatment, determined mainly by quantification of minimal residual disease. After recurrence, the main prognostic factors are: the duration of the first remission, the site of recurrence and the immunophenotype of blasts. This stratification allows the institution of a more adapted and effective treatment, intensifying or attenuating the therapy in high and low risk patients, respectively.

However, a significant number of patients relapse and many of these ends up dying. Thus, it becomes evident the need to categorize them taking into account new prognostic factors, clinical and cytogenetic, for an even more personalized treatment and a higher survival rate.

With the advancement of science, new biomarkers potentially useful in predicting the evolution of the disease were discovered. However, the prognostic relevance of many of them is still to be defined.

Key-words: "Precursor cell lymphoblastic leukemia/lymphoma", "prognosis", "child", "adolescent" and "infant".

Introdução

A leucemia linfoblástica aguda (LLA) é a neoplasia maligna mais frequente na idade pediátrica,¹ sendo responsável por cerca de 80% de todas as leucemias^{2,3} e por 20 a 25% de todos os cancros observados nesta faixa etária.⁴⁻⁶ O seu pico de incidência ocorre entre o primeiro e o quarto ano de idade, com uma ligeira predominância no género masculino (incidência 1,2 vezes superior)⁷ e na população caucasiana e hispânica.³

A LLA tem origem nas células precursoras da linhagem de linfócitos B (LLA-B) em 85% dos casos, ou de linfócitos T (LLA-T) em 15% dos casos.^{3,5} A aquisição de alterações genéticas por estas células resulta numa interrupção da sua maturação e consequente proliferação descontrolada na medula óssea,⁸ levando a insuficiência medular (anemia, neutropenia e/ou trombocitopenia) e infiltração dos tecidos (como baço, fígado e gânglios linfáticos).⁹ O sistema nervoso central (SNC) está envolvido em menos de 5% dos casos.⁵ Nos rapazes, o envolvimento testicular, apesar de raro, também pode ocorrer.³

Assim, as manifestações clínicas incluem fadiga, palidez, petéquias, hemorragias, infeções, dor óssea, hepatoesplenomegália e adenomegalias.^{9,10} Os sintomas constitucionais podem também estar presentes, como febre, anorexia, perda ponderal e suores noturnos.¹¹ O envolvimento do SNC manifesta-se através de sinais de hipertensão intracraniana (cefaleias, vômitos e letargia) ou de envolvimento dos nervos cranianos (ptose e paralisia facial).³

O diagnóstico de LLA é estabelecido pela identificação de blastos na medula óssea (contagem de blastos superior a 25%)⁷ ou sangue periférico, complementada pela imunofenotipagem por citometria de fluxo,¹¹ citogenética e técnicas de genética molecular que permitem detetar alterações cromossómicas e genéticas nas células neoplásicas, possibilitando a classificação da leucemia e a determinação do grupo de risco.⁵

Nas últimas décadas, a estratificação dos doentes em grupos de risco com base em fatores de prognóstico, clínicos e genéticos, e o ajuste da intensidade e duração do tratamento a esse risco¹ permitiu alcançar uma taxa de sobrevivência livre de eventos (SLE) aos 5 anos superior a 85% e uma taxa de sobrevivência global (SG) acima de 90%.⁴

Os principais fatores de prognóstico incorporados nos algoritmos de estratificação atuais incluem características clínicas do doente (idade e contagem inicial de glóbulos brancos), características biológicas dos blastos (como a presença de aneuploidias e translocações

específicas) e a resposta precoce ao tratamento, determinada pelo nível de doença residual mínima (DRM).^{10,12,13} Após a recidiva, os fatores de prognóstico mais importantes são o imunofenótipo dos blastos, a duração da remissão inicial e o local da recidiva.¹⁴ De salientar que, ao contrário do que ocorre na LLA-B, nenhuma das alterações genéticas observadas na LLA-T prevê o resultado de forma reprodutível e independente e, por isso, não são utilizadas na estratificação do risco destes doentes.⁴

A terapêutica adaptada ao risco tem como objetivo melhorar as taxas de cura (intensificando o tratamento nos doentes com maior risco de recidiva) e minimizar os efeitos adversos a longo prazo relacionados com o tratamento (diminuindo a sua intensidade nos doentes com baixa probabilidade de recidiva).¹⁵

No entanto, cerca de 20% dos doentes considerados de baixo risco com base em fatores de prognóstico convencionais acabam por sofrer recidiva,⁸ e dois terços deles acabam por falecer.¹⁶ A recidiva da LLA é uma das principais causas de morte por cancro na idade pediátrica.¹⁷ Por outro lado, alguns doentes do grupo de alto risco são expostos desnecessariamente a uma terapêutica intensiva.¹⁸ Torna-se, assim, necessário categorizar os doentes em grupos de risco tendo em conta novos marcadores de prognóstico preditivos do risco de recidiva individual, permitindo um ajuste da terapêutica mais adequada, com o objetivo de obter uma maior taxa de sobrevivência.¹

Com o avanço das técnicas genéticas e uma melhor compreensão da biologia das células neoplásicas, durante os últimos anos foram propostos vários candidatos a fatores de prognóstico que podem complementar a estratificação dos doentes com LLA. No entanto, ainda há incertezas relativamente à sua relevância clínica, pelo que a maioria deles não são atualmente utilizados na prática clínica.¹

Esta revisão tem como objetivo descrever os fatores de prognóstico atualmente utilizados na estratificação dos doentes pediátricos com LLA em grupos de risco, bem como os biomarcadores recentemente descobertos e potencialmente úteis para esse efeito.

Métodos

Para a elaboração deste trabalho foi efetuada uma pesquisa bibliográfica na base de dados da PubMed sobre os fatores de prognóstico na leucemia linfoblástica aguda em idade pediátrica.

Esta pesquisa utilizou os termos MeSH "Precursor Cell Lymphoblastic Leukemia-Lymphoma" e "Prognosis" na equação de pesquisa ("Precursor Cell Lymphoblastic Leukemia-Lymphoma"[Mesh]) AND "Prognosis"[Mesh], e os termos naturais "acute lymphoblastic leukemia" e "prognostic factor" na equação de pesquisa "acute lymphoblastic leukemia" AND (prognosis OR "prognostic factor*"). Ambas as pesquisas foram restringidas através dos filtros "tipo de artigo" (revisão), "ano de publicação" (últimos 10 anos), "espécie" (humanos), "idioma" (inglês) e "idade" (criança: nascimento – 18 anos).

Após a pesquisa obteve-se 170 artigos dos quais foram selecionados, com base no título e na leitura dos respetivos resumos, 92 artigos para leitura integral.

Posteriormente, foram analisados artigos originais citados nas revisões selecionadas.

Discussão

Fatores de prognóstico clínicos

Idade

A idade do doente ao diagnóstico constitui um importante fator de prognóstico,¹⁹ sobretudo na LLA-B. Os doentes pediátricos com idade inferior a 1 ano (lactentes) e os com idade igual ou superior a 10 anos (adolescentes) apresentam um prognóstico mais desfavorável comparativamente aos restantes.¹⁷ Excluindo os lactentes, onde se observam os resultados mais adversos,¹⁵ o prognóstico da LLA diminui com o aumento da idade.¹²

Apesar da intensificação do tratamento, os lactentes com LLA continuam a apresentar resultados clínicos desfavoráveis, com uma SLE aos 4 anos de 47%.¹⁷ Neste grupo de doentes, outros fatores com significado prognóstico deverão ser considerados, pois contribuem para o resultado clínico heterogéneo observado nesta faixa etária, nomeadamente os meses de idade e a presença de rearranjos do gene *Lysine Methyltransferase 2A (KMT2A-r)*.^{20,21} Os lactentes mais novos têm um prognóstico pior, verificando-se que aqueles com idade compreendida entre os 9 e 12 meses apresentam uma taxa de sobrevivência duas vezes superior à observada naqueles com menos de 3 meses.²² A presença dos *KMT2A-r*, observados em 75% dos lactentes,⁴ estão associados a um pior prognóstico, independentemente do parceiro de fusão.¹⁵ Nestes doentes, a SLE é de 37 a 49%²³ e a SG é inferior a 35%,²⁴ enquanto que os lactentes sem este rearranjo apresentam uma SLE superior (69 a 95%).²³

Vários fatores podem explicar a menor taxa de sobrevivência dos adolescentes comparativamente à dos doentes mais jovens. Com o aumento da idade há uma menor prevalência de alterações genéticas associadas a bom prognóstico (por exemplo, a translocação *ETS Variant Transcription Factor 6-Runt Related Transcription Factor 1 (ETV6-RUNX1)*¹² e hiperdiploidia²⁵) e um aumento simultâneo de alterações que conferem um prognóstico mais desfavorável (LLA com cromossoma Filadélfia (LLA Ph+),¹² LLA semelhante ao cromossoma Filadélfia (LLA Ph-like),⁷ amplificação intracromossômica do cromossoma 21 (iAMP21), rearranjos do gene *Immunoglobulin Heavy Locus (IGH)*,²⁵ hipodiploidia,¹⁹ *KMT2A-r* ou LLA-T).²⁶ Além disso, os marcadores associados a um bom prognóstico parecem ter um efeito protetor inferior neste grupo de doentes. Möricke *et al.* demonstraram diferenças nas taxas de sobrevivência entre diferentes grupos etários com LLA e hiperdiploidia, observando-

se uma SLE aos 8 anos de 83% em doentes com 6 a 9 anos, 72% em doentes com 10 a 14 anos e 57% naqueles com 15 a 18 anos.²⁷

Os adolescentes apresentam também mais efeitos adversos relacionadas com o tratamento (osteonecrose, infeções, hiperglicemia induzida por corticosteroides, tromboembolismo e pancreatite associada à asparaginase), menor eficácia de certos agentes citotóxicos,²⁵ menor adesão ao tratamento²⁸ e risco aumentado de recidiva extramedular.⁴

Contagem inicial de leucócitos

À semelhança da idade do doente, a contagem inicial de leucócitos constitui um importante e independente²² fator de prognóstico na LLA, particularmente na LLA-B. Os doentes que apresentam ao diagnóstico uma maior contagem de leucócitos, principalmente superior a 50.000/mm³, têm um risco superior de recidiva.¹⁵ O significado prognóstico na LLA-T é menos claro,¹⁵ no entanto uma leucocitose acima de 10⁶/mm³ é fator de risco independente para recidiva no SNC.⁴

A idade e o número de leucócitos ao diagnóstico são os principais fatores de prognóstico utilizados na estratificação dos doentes.⁷ De acordo com os critérios da *National Cancer Institute* (NCI), os doentes com idade compreendida entre 1 e 9 anos e com uma contagem inicial de leucócitos inferior a 50.000/mm³ são considerados de baixo risco,¹⁷ e perfazem dois terços dos casos.¹⁰ Estes doentes têm uma SG aos 5 anos superior a 90%.³ Os doentes que apresentam idade igual ou superior a 10 anos e/ou uma contagem inicial de leucócitos igual ou superior a 50.000/mm³ são classificados como de alto risco.³ Com a intensificação da terapêutica, a SG aos 5 anos destes doentes pode alcançar os 80%.³ Estes critérios não são utilizados para a estratificação dos doentes com LLA-T.⁴

Género

Os doentes do género feminino apresentam melhores resultados clínicos em comparação com os do género masculino,⁷ independentemente do risco de recidiva testicular.¹⁹ Este facto poderá ser justificado pela maior incidência de fatores de pior prognóstico, como LLA-T e hipodiploidia, nos doentes do género masculino.²² No entanto, em estudos mais recentes, esta diferença tem vindo a diminuir.⁷

Apesar da sua importância prognóstica, a maioria dos protocolos não utiliza este fator na estratificação dos doentes em grupos de risco. No entanto, alguns deles prolongam a duração do tratamento de manutenção nos doentes do género masculino.^{7,19}

Síndrome de Down

Os doentes com Síndrome de Down têm uma sobrevivência inferior comparativamente aos outros doentes, devido ao maior risco de recidiva e mortalidade relacionada com o tratamento que apresentam.^{7,29}

As taxas de recidiva mais elevadas poderão ser uma consequência da redução da dose utilizada no tratamento destes doentes na tentativa de diminuir a toxicidade.³⁰ Os resultados adversos poderão ser também explicados por uma maior prevalência de alterações associadas a um mau prognóstico, como LLA Ph-*like* (presente em 60% dos doentes), expressão aumentada do gene *Cytokine Receptor Like Factor 2 (CRLF2)* e ativação *JAK-STAT*.²⁹ Concomitantemente, estes doentes apresentam uma menor incidência de características citogenéticas com um prognóstico mais favorável, como hiperdiploidia, trissomia dos cromossomas 4 e 10, e gene de fusão *ETV6-RUNX1*.³⁰

Envolvimento extramedular

O envolvimento do SNC ao diagnóstico ocorre em cerca de 3% dos casos.³¹ Pode ser classificado como CNS2 (presença de blastos e menos de 5 leucócitos/ μ L no líquido cefalorraquidiano (LCR)) ou CNS3 (presença de blastos e mais de 5 leucócitos/ μ L no LCR ou associado a paralisia dos nervos cranianos).²² Os doentes com CNS3 apresentam uma SLE inferior.¹⁹ O significado prognóstico do CNS2 tem sido menos consistente, mas provavelmente confere também um maior risco.¹⁹

Cerca de 2% dos rapazes diagnosticados com LLA terão envolvimento testicular, traduzido por um aumento indolor do volume testicular.³¹ A sua presença impede a classificação destes doentes em grupo de baixo risco na maioria dos protocolos terapêuticos.³¹

O prognóstico desfavorável dos doentes com envolvimento do SNC e/ou testicular poderá ser justificado pela dificuldade que os agentes citotóxicos apresentam em alcançar estes locais.³¹

Raça e etnia

Os doentes negros, hispânicos¹⁹ e nativo americanos²² apresentam um prognóstico mais desfavorável em comparação com os doentes caucasianos e asiáticos.¹⁹ Um estudo baseado em dados do programa *Surveillance, Epidemiology, and End Results* (SEER), que incluiu 4.952 crianças diagnosticadas com LLA entre 1973 e 1999, demonstrou uma SG aos 5 anos de 84% nos doentes de raça caucasiana, 81% nos asiáticos, 75% nos de raça negra e de 72% nos doentes nativo americanos e hispânicos, diferenças que se continuaram a verificar após o ajuste à idade e género.³²

Estas discrepâncias podem ser explicadas pelas diferentes alterações cromossómicas e genéticas presentes nos blastos, bem como por fatores socioeconómicos e adesão ao tratamento.²⁹ Nos doentes de raça negra é frequentemente observada LLA de células T precursoras iniciais (LLA-ETP), um imunofenótipo associado a um maior risco de recidiva, bem como uma menor prevalência de hiperdiploidia.²⁹ No entanto, as diferenças na sobrevivência observada entre os negros e caucasianos tem diminuindo nos últimos anos.²² Os rearranjos do gene *CRLF2* (*CRLF2-r*) são mais frequentes nos hispânicos,¹⁰ contribuindo para um prognóstico inferior.

A raça e etnia não são utilizados na estratificação de risco dos doentes,^{19,22} e o seu impacto prognóstico tem vindo a diminuir com a instituição de regimes terapêuticos cada vez mais intensivos.²⁸

Status socioeconómico

Os doentes que vivem em países de médio e baixo rendimento apresentam uma sobrevivência inferior em comparação com os doentes de países de alto rendimento.¹⁰

Kira Bona *et al.* estudaram o impacto do *status* socioeconómico na SG e no momento da recidiva de 575 crianças americanas, com idades compreendidas entre 1 e 18 anos, com LLA recentemente diagnosticada e tratadas de acordo com o protocolo do *Dana-Farber Cancer Institute*, entre 2000 e 2010. As crianças que viviam em zonas de maior e menor pobreza apresentaram, respetivamente, uma SG aos 5 anos de 85% e 92%. As crianças que viviam nas zonas mais pobres tiveram um risco superior (92%) de recidiva precoce, em comparação

com as crianças de zonas menos pobres (48%). Tratando-se de um fator de pior prognóstico, as taxas de recidiva precoce podem explicar em parte as diferenças observadas na SG.³³

Nutrição

A malnutrição, que inclui a subnutrição e a obesidade, está associada a taxas de sobrevivência inferiores.³⁴

Anna M. B. *et al.* analisaram 5.122 doentes da base de dados do *Children's Cancer Group* (CCG), diagnosticados com LLA entre 1988 e 1995, entre os quais 343 eram obesos (índice de massa corporal \geq ao percentil 95, para idade e género). As crianças obesas e não obesas apresentaram uma SLE aos 5 anos de 72% e 77% e um risco de recidiva de 26% e 20%, respetivamente. O efeito prognóstico da obesidade foi mais proeminente nos doentes com idade igual ou superior a 10 anos.³⁵

Juan M.M.A. *et al.* avaliaram, através de um estudo caso-controlo, o efeito da subnutrição (menos de 90% do peso esperado para a altura) na taxa de mortalidade durante a fase inicial da indução, e verificaram que esta era 2,6 vezes superior nos doentes subnutridos.³⁶

Adesão à terapêutica

Cerca de 10 a 33% dos doentes demonstram má adesão ao tratamento instituído, sendo a maioria dos casos verificados em adolescentes.³²

O incumprimento do esquema terapêutico tem um grande impacto na sobrevivência dos doentes.²⁰ Um estudo publicado pelo *Children's Oncology Group* (COG), envolvendo 298 crianças com LLA (71 asiáticos, 68 afro-americanos e 159 brancos não hispânicos), demonstrou que uma taxa de adesão inferior a 90% à 6-mercaptopurina oral, um dos componentes do tratamento de manutenção da LLA pediátrica, estava associada a um risco de recidiva 3,1 vezes superior.^{15,20} Os doentes que apresentaram uma menor adesão ao tratamento eram mais velhos (idade \geq 12 anos), raça não caucasiana, com baixo *status* socioeconómico e uma fraca estrutura familiar.¹⁵

Fatores de prognóstico biológicos

Imunofenótipo

Os doentes com LLA-T são na sua maioria do género masculino (incidência 2 a 3 vezes superior),⁴ de raça negra, mais velhos (média de 9 anos), com hiperleucocitose (60-70 x 10⁹/L), adenopatias mediastínicas e envolvimento do SNC (em 10% dos casos),³⁷ características estas associadas a um prognóstico mais adverso.^{7,10} Ao contrário da LLA-T, alterações genéticas que conferem um baixo risco, como hiperdiploidia ou fusão *ETV6-RUNX1*, estão frequentemente presentes na LLA-B.²² Além disso, na LLA-T os blastos são geralmente mais resistentes à quimioterapia.⁴ Como consequência de todos estes fatores, a LLA-T esteve associada a um prognóstico significativamente mais desfavorável comparativamente à LLA-B.¹⁷ Porém, devido à intensificação do regime terapêutico na LLA-T, verifica-se que a sobrevivência entre os dois grupos de doentes é agora semelhante;¹⁷ a SLE aos 5 anos e SG são de, respetivamente, 80% e 90% na LLA-B e de 70% e 80% na LLA-T.³⁷

A LLA-ETP é um subgrupo de LLA-T responsável por 10 a 15% dos casos.⁴ Está associada a resistência aos corticoides e DRM elevada no final da indução.⁴ Inicialmente, este subgrupo apresentava resultados claramente inferiores em comparação com os restantes doentes com LLA-T,⁵ com uma SG aos 5 anos até 20%.⁴ No entanto, dados publicados recentemente sugerem que este subgrupo se associa a SLE e SG semelhantes à LLA-T quando instituída uma terapêutica mais intensiva com ciclofosfamida. Assim, deixou de ser considerado um fator de prognóstico independente.⁴

Relativamente à LLA-B, a expressão do antígeno *cluster of differentiation* (CD) 5, situação rara e descrita em apenas sete casos na literatura, está associada a um mau prognóstico. No entanto, são necessários estudos de grande escala para determinar se a LLA CD5+ representa, de facto, um subtipo com pior prognóstico.³⁸

Alterações cromossômicas

Hiperdiploidia

Neste contexto, a hiperdiploidia é dividida em dois grupos clinicamente distintos: hiperdiploidia alta e hiperdiploidia baixa.¹¹

A hiperdiploidia alta, definida pela presença de 51 a 68 cromossomas ou por um índice de DNA $\geq 1,16$ em cada blasto,⁴ constitui a alteração genética mais comum na LLA.³⁹ Está presente em 20 a 30% dos doentes com LLA-B,⁴ sendo rara na LLA-T.⁴⁰ A sua incidência diminui com o aumento da idade, ocorrendo em 25% dos doentes com 1 a 9 anos e em 10% dos doentes entre os 10 e 15 anos.¹¹ O ganho de cromossomas não é aleatório, verificando-se que os cromossomas X, 4, 6, 10, 14, 17, 18 e 21 são os mais frequentemente envolvidos.²² A trissomia ou tetrassomia do cromossoma 21 está presente em 98% dos casos.¹¹

A hiperdiploidia alta está associada a um prognóstico favorável⁴ e é utilizada por alguns grupos cooperativos na estratificação de risco.³⁹ No entanto, vários estudos demonstraram que o prognóstico destes doentes varia de acordo com os cromossomas ganhos. De acordo com os estudos do *Pediatric Oncology Group* e do CCG, a trissomia concomitante dos cromossomas 4, 10 e 17 (denominada “trissomia tripla”) apresentava resultados mais favoráveis. Posteriormente, associaram a trissomia simultânea do cromossoma 4 e 10 a um baixo risco de recidiva.⁷ Efetivamente, esta trissomia dupla, observada em 20 a 25% das LLA-B,⁹ está associada a um resultado particularmente favorável dentro do grupo dos doentes com hiperdiploidia alta;¹⁵ apresenta uma SLE aos 4 anos de 96%, enquanto que os doentes com apenas uma ou nenhuma destas trissomias têm uma SLE de 70%.⁹

Em 50% dos casos, além do ganho cromossômico, também podem estar presentes alterações estruturais.⁴⁰ A presença de deleções do gene *IKAROS Family Zinc Finger 1 (IKZF1)*, um marcador com impacto prognóstico, influencia negativamente o desfecho clínico destes doentes.¹¹

Vários estudos sugerem que o bom prognóstico observado nestes doentes pode dever-se a uma maior sensibilidade das células hiperdiploides aos fármacos utilizados na terapêutica, nomeadamente ao metotrexato, mercaptopurina e asparaginase.²⁰ Também poderá ser justificado pela sua maior incidência nas crianças mais novas, que constitui por si só um fator

favorável.²¹ No entanto, cerca de 20% dos doentes recidivam e 10% acabam por falecer,¹¹ pelo que será relevante identificar dentro deste grupo fatores de risco para recidiva.³⁹

A hiperdiploidia baixa, definida pela presença de 47 a 50 cromossomas por blasto,⁴⁰ é responsável por 11% das LLA²² e é observada sobretudo em crianças mais velhas.⁴⁰ Está associada a uma sobrevivência menor,⁴⁰ apresentando uma SLE aos 5 anos de 49%.¹¹

Hipodiploidia

A LLA hipodiploide, definida pela presença de < 46 cromossomas ou índice de DNA < 1 por blasto,² é observada em cerca de 6% dos doentes.²² À semelhança do que acontece na hiperdiploidia alta, a perda dos cromossomas não é aleatória.⁷ Esta pode ser dividida em quatro subgrupos distintos: LLA quase diploide (44 ou 45 cromossomas), LLA hipodiploide alta (40 a 43 cromossomas), LLA hipodiploide baixa (32 a 39 cromossomas) e LLA quase haploide (24 a 31 cromossomas).¹¹ A LLA quase haploide e hipodiploide baixa são raras na LLA-T.⁴¹

A maioria das LLA hipodiploides tem 45 cromossomas, e o seu prognóstico é semelhante ao das LLA diploides.²² Contudo, a LLA hipodiploide com menos de 44 cromossomas (ou índice de DNA < 0,81),³¹ responsável por 2 a 3% dos casos de LLA,⁴ está associada a um mau prognóstico, com uma SLE de 40%.¹⁵ Nestes doentes, a sobrevivência é progressivamente menor com a diminuição do número de cromossomas;²² a SLE aos 5 a 8 anos é de 25% a 40% na LLA quase haploide e de 30% a 50% na LLA hipodiploide baixa, apesar da estratificação e aplicação dos protocolos de alto risco.⁴¹

A LLA hipodiploide baixa é caracterizada por mutações do gene *Tumor Protein P53 (TP53)* (identificada em 90% dos casos), *IKAROS Family Zinc Finger 2 (IKZF2)* e *Retinoblastoma 1 (RB1)*.⁴ Em cerca de metade dos casos, as alterações do *TP53* também são observadas nas células não tumorais,⁴ sugerindo que a LLA com hipodiploidia baixa possa ser uma manifestação da Síndrome de Li-Fraumeni.¹⁷ Deste modo, a mutação do *TP53* deverá ser pesquisada em todos os doentes com hipodiploidia baixa, permitindo um adequado aconselhamento genético.¹⁷

Tanto na LLA quase haploide como na LLA hipodiploide baixa, pode ocorrer duplicação do conteúdo cromossómico, resultando num clone hiperdiploide (“hipodiploidia mascarada”), que pode ser confundido com uma LLA com hiperdiploidia. Como estes subgrupos têm

prognósticos opostos, é essencial uma classificação adequada para a estratificação de risco destes doentes.¹²

ETV6-RUNX1

O gene de fusão *ETV6-RUNX1*, anteriormente conhecido como *TEL-AML1*,³ resulta da translocação t(12;21)(p13;q22).⁷ É a translocação mais frequente na LLA pediátrica,⁷ sendo observada em 20 a 25% dos doentes com LLA-B.⁴ Ocorre normalmente em doentes com 1 a 10 anos, baixa contagem inicial de leucócitos e sem hiperdiploidia.²⁰

O gene *ETV6*, no cromossoma 12p13, e o gene *RUNX1*, localizado no cromossoma 21q22, são dois fatores de transcrição essenciais para a hematopoiese normal.⁴² O gene de fusão *ETV6-RUNX1* altera a expressão dos genes regulados pelo *RUNX1*, provoca um aumento da expressão do recetor de eritropoietina (*EPOR*) e ativa a sinalização *JAK-STAT*.⁴³ A translocação pode ser detetada através de transcriptase reversa-reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) ou hibridização *in situ* fluorescente (FISH) de duas sondas para *ETV6* e *RUNX1*.¹¹

Esta alteração é um fator preditivo independente de bom prognóstico, com uma SLE de 90 a 95%,⁷ pelo que vários grupos cooperativos estratificam estes doentes em baixo risco e reduzem a intensidade do tratamento.^{4,22} No entanto, este subtipo apresenta, comparativamente com os restantes, a taxa mais elevada de recidivas tardias.⁵ Apesar disso, respondem bem à terapêutica de segunda linha.²⁰

A taxa de sobrevivência destes doentes pode ser influenciada pela presença simultânea de outras alterações, como a perda do segundo alelo *ETV6* (deleção 12p13), duplicação do cromossoma 21 resultante, deleção do gene *Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 2A/B* (*CDKN2A/B*) (deleção 9p21) ou do gene *Paired Box 5* (*PAX5*) (deleção 9p13).^{11,44} Por exemplo, Jae Wook Lee *et al.* avaliaram a sobrevivência de 63 doentes (com uma média de idade de 4,7) com LLA e *ETV6-RUNX1*, diagnosticados entre 2005 e 2010, com o objetivo de identificar variáveis prognósticas relevantes. Este estudo demonstrou que a presença de translocações ou inversões adicionais do 12p afetava negativamente a evolução dos doentes. Porém, são necessários mais estudos para confirmar a relevância prognóstica destas alterações genéticas adicionais.⁴⁴

ETV6-RUNX1-like

A LLA com *ETV6-RUNX1-like* é quase exclusivamente identificada em crianças.¹² Apresenta um imunofenótipo e perfil de expressão génica semelhante à observada na LLA com *ETV6-RUNX1*, apesar de não conter este gene de fusão.¹² Outras alterações podem coexistir, nomeadamente nos genes *ETV6*, *IKZF1* ou *Transcription Factor 3 (TCF3)*.¹² Num estudo realizado, estes doentes apresentaram um risco baixo a intermédio, pois dos 10 casos estudados, apenas dois recidivaram.⁴ No entanto, o significado prognóstico desta alteração ainda não é claro.¹²

BCL11B-TLX3

A translocação t(5;14)(q35;q32) resulta num aumento da expressão do gene *Homeo Box 11-Like 2 (HOX11L2)* e é observada em cerca de 20 a 30% das crianças e adolescentes com LLA-T.⁴⁰ Esta alteração foi associada a um mau prognóstico,⁴⁰ no entanto esta conclusão não é consensual entre os estudos.³⁷ Dados recentes do grupo *Berlin Frankfurt Muenster (BFM)* sugerem que, apesar da lenta redução da DRM, estes doentes conseguem alcançar uma SLE aos 5 anos de 74% através da intensificação da terapêutica.⁴⁵

BCR-ABL1-like

Recentemente, foi identificado um novo subgrupo de LLA-B que, apesar de não possuir o gene de fusão *Breakpoint Cluster Region-Abelson Tyrosine-Protein Kinase 1 (BCR-ABL1)*, apresenta um perfil de expressão génica semelhante à LLA Ph+,⁴⁶ denominado LLA semelhante ao cromossoma Filadélfia (LLA Ph-like ou *BCR-ABL1-like*).²⁰ A classificação da Organização Mundial de Saúde (OMS) das LLA, atualizada em 2016, reconheceu a LLA Ph-like como um subgrupo provisório das LLA-B.¹²

A LLA Ph-like é responsável por 10 a 15% dos casos de LLA-B¹² e constitui o subtipo mais frequente nos adolescentes,¹⁵ onde é observado em 21% dos casos.¹¹ Esta alteração, cuja frequência aumenta com a idade,¹¹ afeta sobretudo doentes do género masculino e com ascendência hispânica.⁴⁷ Ela está presente em cerca de 10% das crianças com uma LLA-B de risco *standard* e 15% das crianças com um alto risco, de acordo com os critérios da NCI.⁴⁷

Este subtipo de LLA é caracterizado por uma grande variedade de alterações genéticas ativadoras da via de sinalização *JAK-STAT*, como *CRLF2-r* (*IGH-CRLF2* e *P2RY8-CRLF2*), *Janus Kinase 2* (*JAK2*) ou *EPOR*, e ativadoras dos recetores de tirosina quinase, como fusões que envolvem os genes da classe *ABL* (*ABL1*, *Abelson Tyrosine-Protein Kinase 2* (*ABL2*), *Colony Stimulating Factor 1 Receptor* (*CSF1R*) e *Platelet Derived Growth Factor Receptor Alpha/Beta* (*PDGFRA/B*)).^{12,17} Alterações que ativam vias de sinalização *Kirsten Rat Sarcoma Viral Oncogene Homolog* (*KRAS*) também podem estar presentes.^{12,17} Os *CRLF2-r* são os mais frequentes em idade pediátrica,¹² sendo responsáveis por cerca de 50% dos casos de LLA *Ph-like*.¹³ Adicionalmente, são observadas alterações em genes implicados no desenvolvimento dos linfócitos B, nomeadamente deleções do *IKZF1*, *TCF3* e *PAX5*.⁵ A identificação do tipo de alteração presente tem relevância terapêutica; doentes com rearranjos dos genes da classe *ABL1* parecem responder aos inibidores da tirosina quinase (ITK) e aqueles com alteração da via de sinalização *JAK-STAT* aos inibidores do *JAK*.¹⁷ São necessários ensaios clínicos que avaliem o impacto da adição destes inibidores ao regime terapêutico atual na sobrevivência dos doentes.²⁰

A LLA *Ph-like* é um marcador independente de mau prognóstico,^{10,15} mesmo com a aplicação de esquemas de quimioterapia intensiva.⁴⁸ Num estudo desenvolvido pela COG em 2013 verificou-se que os doentes com LLA *Ph-like* apresentaram uma SLE aos 5 anos de 63%.⁴⁷ Nos adolescentes, a evolução clínica daqueles com LLA *Ph-like* é mais desfavorável em comparação com outro subtipo de LLA de alto risco, nomeadamente na LLA *KMT2A-r* e LLA *Ph+*.⁴⁷ A LLA *Ph-like* está associada a resistência à asparaginase e daunorrubicina, com consequente refratariedade ao tratamento,⁹ DRM elevada após a indução²⁹ e elevado risco de recidiva.⁹ No entanto, aqueles com DRM negativa após a indução apresentam melhor prognóstico.⁴ De facto, alguns estudos sugerem que o nível de DRM tem maior relevância prognóstica do que a presença da LLA *Ph-like*.⁴⁸ Outros estudos indicam que o alto risco conferido por esta alteração poderá ser ultrapassado com a utilização de um tratamento estratificado, baseado na DRM após indução,^{7,15} traduzindo-se num aumento da SLE e SG.⁴⁶

O prognóstico também varia de acordo com a alteração genética presente. Os rearranjos *JAK2* e *EPOR* estão associados a um resultado mais desfavorável, bem como a deleção adicional do gene *IKZF1*.⁴⁸ Os doentes com a fusão *EBF1-PDGFRB* apresentam taxas de resposta ao tratamento inferiores e uma maior taxa de recidiva.⁴⁹

Rearranjos CRLF2

Os *CRLF2-r*, localizado na região pseudoautossômica 1 (*PAR1*) dos cromossomas X e Y, podem ocorrer pela justaposição de *CRLF2* ao gene *IGH* devido à translocação t(X;14)(p22.33;q32.33) ou t(Y;14)(p11.32; q32.33), dando origem ao *CRLF2-IGH*, ou por uma deleção da região *PAR1* que provoca a fusão do *CRLF2* com o gene *P2Y Receptor Family Member 8 (P2RY8)*, formando o *CRLF2-P2RY8*.¹¹ Os rearranjos podem dever-se ainda à mutação pontual de *F232C*, observada menos frequentemente.⁴⁷ Estas alterações provocam um aumento da expressão de *CRLF2*.²⁰ Adicionalmente, podem ser observadas mutações *JAK*, sendo a mutação pontual R683G (no *JAK2*) a mais comum,⁴⁷ com consequente ativação da via *JAK-STAT*.²¹ Para a deteção destes rearranjos podem ser utilizadas as técnicas FISH, amplificação de sonda dependente de ligação *multiplex* (MLPA) ou análise cromossômica por *microarray* (CMA).¹¹

Excluindo aqueles que ocorrem na LLA Ph-*like*, os *CRLF2-r* são identificados em 5 a 15% das LLA-B.²⁰ São observados com frequência na LLA Ph-*like*, sobretudo em doentes mais velhos e da população americana ou hispânica,⁴ e em cerca de 60% dos doentes com Síndrome de Down.²⁰ A fusão *CRLF2-P2RY8* ocorre em doentes mais jovens, enquanto que a translocação *CRLF2-IGH* predomina nos adolescentes.⁴⁷

A LLA-B com *CRLF2-r* tem um prognóstico adverso, independente da DRM,²⁰ com elevado risco de recidiva.⁵ Contudo, para os doentes com Síndrome de Down estas alterações não são consideradas fatores de risco.¹¹ Gunnar Cario *et al.* estudaram o efeito prognóstico dos *CRLF2-r* em 49 doentes com menos de 18 anos tratados de acordo com o protocolo AEIOP-BFM 2000. Estes doentes apresentaram uma SLE e risco de recidiva aos 6 anos de 61% e 31%, respetivamente, enquanto que nos doentes com baixa expressão *CRLF2* foram de 83% e 11%.⁵⁰ A sobrevivência é inferior nos doentes com a translocação *CRLF2-IGH*, em comparação com a observada na fusão *CRLF2-P2RY8*.¹¹

NUP214-ABL1

Em cerca de 6% das LLA-T ocorre fusão do gene *Nucleoporin 214 (NUP214)* com o gene *ABL1 (NUP214-ABL1)*, uma alteração que confere um mau prognóstico; a SLE aos 5 anos é de 49%, de acordo com um estudo realizado.⁴⁵

DUX4-IGH

Em 2016, foi descrito um novo subtipo de LLA-B caracterizado pela fusão do gene *Double Homeobox 4 (DUX4)* com o gene *IGH (DUX4-IGH)*.¹¹ Esta translocação provoca um aumento da expressão do fator de transcrição *DUX4*,¹¹ que está localizado nos domínios de repetição D4Z4 da região subtelomérica do cromossoma 4.¹² O rearranjo do gene *DUX4* é acompanhado por uma desregulação e perda de função do fator de transcrição *ETS-Related Gene (ERG)*.^{4,12} Podem ser identificadas outras alterações secundárias adicionais, nomeadamente alterações do *IKZF1*, *PAX5*, *V-Myc Avian Myelocytomatosis Viral Oncogene Homolog (MYC)*, *MYC Binding Protein 2 (MYCBP2)*, *MAX Gene-Associated Protein (MGA)* e *Zinc Finger E-Box Binding Homeobox 2 (ZEB2)*, entre outras.¹¹

Esta fusão é observada em cerca de 5% dos doentes com LLA-B,⁴ com um ligeiro pico de incidência nos adolescentes (onde ocorre em 10%).¹¹ Está presente em 5% e 9% dos casos pediátricos classificados em baixo e alto risco, respetivamente.¹¹

Apesar da presença de alterações genéticas adicionais associadas a um resultado desfavorável noutros subtipos de LLA-B, como deleções do *IKZF1* (presentes em 40% dos casos), o *DUX4-IGH* está associado a um prognóstico favorável.¹²

Outros rearranjos IGH

As translocações que envolvem o gene *IGH*, localizado no cromossoma 14q32, constituem um subtipo de LLA-B²¹ e podem também ser encontradas na LLA-T.⁴³ Estas translocações são raras e ocorrem sobretudo em adolescentes e jovens adultos (AYA).³⁹ A sua deteção é feita principalmente por FISH.⁴²

As translocações provocam desregulação de oncogenes pela sua justaposição ao intensificador *IGH*.³⁹ Vários parceiros de fusão foram identificados, nomeadamente o *CRLF2*, *EPOR*, membros da família *CEBP*, *Inhibitor Of Differentiation 4 (ID4)* e *Interleukin 3 (IL3)*.^{12,43} Para além destes, foram também observadas translocações com os genes *B-Cell CLL/Lymphoma 2 (BCL2)*, *MYC* ou *B-Cell CLL/Lymphoma 6 (BCL6)*.¹²

Apesar de poucos estudos terem avaliado o seu impacto prognóstico,³⁹ estas alterações parecem estar associadas a um resultado adverso.¹² A LLA-B com *IGH-IL3*, uma entidade

distinta de LLA-B definida pela OMS, apresenta uma baixa taxa de resposta à terapêutica.¹¹ Os rearranjos com os genes *BCL2*, *MYC* ou *BCL6* têm um prognóstico extremamente desfavorável.¹²

Rearranjos KMT2A

As translocações que envolvem o gene *KMT2A*, localizado no cromossoma 11q23 e anteriormente conhecido por *Mixed-Lineage Leukemia (MLL)*, são responsáveis por cerca de 2 a 5% das LLA.⁴ Para além da LLA-B, também ocorrem em 5 a 10% das LLA-T.⁴ A maioria dos *KMT2A-r* são observados nos lactentes,¹¹ surgindo em 75% dos casos,⁴ e constituem a alteração mais frequente nesta faixa etária.²⁰ De referir que a sua incidência é maior nos lactentes mais novos, estando presente em 90% dos doentes com menos de 6 meses e em 30 a 50% dos doentes com 6 a 12 meses.⁴⁰ Nos AYA, são observados em apenas 4% dos casos.¹² Os *KMT2A-r* associam-se a características clínicas de alto risco,¹⁰ nomeadamente hiperleucocitose, envolvimento do SNC e pele,²³ e má resposta à pré-fase com prednisolona durante 8 dias.¹¹

O gene *KMT2A* codifica uma metiltransferase que regula a expressão do gene *Homeobox (HOX)*²³ e é importante no desenvolvimento das células pluripotenciais hematopoiéticas.⁴ Mais de 100 parceiros de fusão foram identificados,⁴ sendo que a translocação mais frequente, presente em cerca de 50% dos lactentes,³⁹ é a t(4;11)(q21;q23), da qual resulta o gene de fusão *KMT2A-AFF1* (ou *KMT2A-AF4*).²³ Podem estar presentes outras translocações, nomeadamente a t(11;19)(q23;p13.3) e a t(9;11)(p22;q23) que originam os rearranjos *KMT2A-ENL* e *KMT2A-AF9*, respetivamente.²³ Estes três rearranjos são responsáveis por mais de 70% dos casos de LLA com *KMT2A-r*.²²

Os *KMT2A-r* estão associados a um mau prognóstico,¹² independentemente do seu parceiro de fusão,¹³ e são incorporados no algoritmo de estratificação dos doentes em alguns grupos cooperativos.²³ Os lactentes com *KMT2A-r* apresentam uma taxa de SLE a longo prazo de menos de 50%.¹⁵

Ao contrário do verificado nos lactentes,²³ o prognóstico das crianças com idade igual ou superior a 1 ano varia consoante o parceiro de fusão do gene *KMT2A*.⁴ A LLA com *KMT2A-AFF1* está associada a resultados mais desfavoráveis² e maior risco de recidiva em crianças com menos de 4 anos.²² Por outro lado, a t(11;19) confere um prognóstico favorável nas LLA-

T.²² A localização do ponto de interrupção do gene *KMT2A* também parece influenciar o prognóstico, sendo que as quebras situadas no intrão 11 possuem um pior prognóstico.²²

A expressão aumentada da mutação do gene *Fms-Like Tyrosine Kinase 3 (FLT3)*, típico dos lactentes com *KMT2A-r*,²³ tanto pode conferir resistência ao tratamento e um mau prognóstico em alguns doentes, como pode estar associada ao aumento da sensibilidade à terapêutica e, conseqüentemente, a um melhor prognóstico.⁵

Rearranjos ZNF384

Os rearranjos do gene *Zinc Finger Protein 384 (ZNF384)* constituem um novo subtipo responsável por 1 a 5% das LLA-B, com um pico de incidência nos AYA,¹¹ onde ocorre até 10% dos casos.¹² No momento do diagnóstico, geralmente os doentes apresentam uma idade média de 15 anos.¹²

Foram identificados 9 parceiros de fusão para o gene *ZNF384*, que atuam como reguladores da transcrição ou modificadores da cromatina, sendo eles o *ARID1B*, *BMP2K*, *CREB Binding Protein (CREBBP)*, *EP300*, *Ewing Sarcoma Breakpoint Region 1 (EWSR1)*, *SMARCA2*, *Synergin Gamma (SYNRG)*, *TATA-Box Binding Protein Associated Factor 15 (TAF15)* e *TCF3*.¹² A detecção da maioria destes rearranjos é feita através das técnicas FISH, RT-PCR, sequenciação de RNA ou sequenciação de próxima geração (NGS).¹¹

Estas translocações foram associadas a um prognóstico intermédio em pequenas coortes pediátricas, sendo por isso essencial confirmar a sua relevância prognóstica com estudos mais representativos.¹² Os resultados clínicos podem, no entanto, variar consoante o parceiro de fusão envolvido.⁷ O *ZNF384-TCF3* apresenta uma resistência maior aos corticosteroides e um maior risco de recidiva.⁷

TCF3-PBX1

A translocação t(1;19)(q23;p13.3) dá origem ao gene de fusão *TCF3-PBX1* (anteriormente denominado *E2A-PBX1*)¹⁷ e é responsável por 4% dos casos de LLA-B.⁴ A sua incidência não parece variar significativamente com a idade.¹¹ Porém, varia com a raça, sendo observada em 3% dos casos de raça caucasiana e 12% dos de raça negra.²⁰

O gene *TCF3* (também conhecido como *E2A*), que codifica os fatores de transcrição hélice-volta-hélice E12 e E47, e o gene *Pre-B-Cell Leukemia Homeobox 1 (PBX1)*, membro da família de genes *HOX*, são necessários para o desenvolvimento normal dos linfócitos.^{9,11,43} A sua fusão resulta num fator de transcrição quimérico, que ao ligar-se às proteínas *HOX* interfere na diferenciação hematopoiética.⁴⁰ Esta translocação é frequentemente desequilibrada, com duplicação do 1q distal a *PBX1*.⁴³ A identificação desta alteração cromossômica pode ser feita por RT-PCR ou FISH.⁴⁰

Até 1990, a LLA com *TCF3-PBX1* era considerada um subgrupo de alto risco. No entanto, devido à intensificação da quimioterapia com combinação de vários agentes⁷ e estratificação com base na DRM,²² está atualmente associada a um risco baixo a intermédio.⁴ Contudo, vários grupos de tratamento deixaram de considerar esta translocação como um fator de prognóstico independente.^{7,17,22}

BCR-ABL1

A translocação t(9;22)(q34;q11.2) provoca a fusão dos genes *BCR* (localizado no cromossoma 22) e *ABL1* (no cromossoma 9), com formação do cromossoma Filadélfia. Esta alteração é observada em cerca de 3% dos casos.⁴ A presença de LLA Ph+ está associada a idade superior a 10 anos (a sua incidência aumenta com a idade),⁵¹ maior contagem inicial de leucócitos e envolvimento do SNC ao diagnóstico.⁴⁰

O gene de fusão *BCR-ABL1* codifica, na maioria dos casos, uma proteína de 190 kDa⁷ com atividade tirosina quinase.²² Este provoca ativação de várias vias de sinalização, aumento da proliferação celular e desregulação da diferenciação das células.⁴³ Pode ser detetado através de testes citogenéticos convencionais, FISH, RT-PCR ou reação em cadeia da polimerase quantitativo em tempo real (RQ-PCR).^{11,40}

A presença da translocação *BCR-ABL1* esteve associada a um prognóstico desfavorável⁷ com uma SLE aos 5 anos até 34%³ e uma SG inferior a 50%.⁴ No entanto, com o desenvolvimento e utilização terapêutica dos ITK, como o imatinib ou dasatinib, a SLE aos 5 anos e a SG aumentaram para 70% e 75%, respetivamente.^{3,4} A maioria das crianças com LLA Ph+ são tratadas com sucesso através de ITK e quimioterapia intensiva, sem necessidade de transplante de células hematopoiéticas pluripotenciais.¹³ No entanto, a presença de mutações no gene *ABL1* pode provocar resistência aos ITK.¹¹ Apesar da grande melhoria das taxas de sobrevivência, a LLA Ph+ continua a ser considerada um fator de mau

prognóstico,³¹ com elevada probabilidade de recidiva independentemente da consolidação com o transplante alogênico.¹⁷

Na LLA Ph+ podem ser observadas alterações genéticas adicionais, nomeadamente deleções ou mutações do gene *IKZF1*,¹⁰ presente em 80% dos casos.⁴ A alteração deste gene provoca uma resistência à terapêutica, maior risco de recidiva e, conseqüentemente, resultados mais desfavoráveis,^{4,12} pelo que a sua identificação permite o ajuste terapêutico.²²

Rearranjos MEF2D

Os rearranjos do gene *Myocyte Enhancer Factor 2D (MEF2D)* estão presentes em cerca de 3% dos casos de LLA-B,⁴ sendo observados em 4% das crianças e 7% dos AYA.¹² A idade média ao diagnóstico é de 14 anos.¹²

Foram identificados vários parceiros de fusão, nomeadamente o *B-Cell CLL/Lymphoma 9 Protein (BCL9)*, *CSF1R*, *Deleted In Azoospermia-Associated Protein 1 (DAZAP1)*, *Forkhead Box J2 (FOXJ2)*, *Heterogeneous Nuclear Ribonucleoprotein U Like 1 (HNRNPUL1)* e *Synovial Sarcoma Translocation, Chromosome 18 (SS18)*. Todos os genes de fusão resultantes provocam um aumento da atividade do fator de transcrição *MEF2D* e desregulação dos seus alvos, com exceção do *MEF2D-CFS1R*, que apresenta um perfil de expressão semelhante ao do gene *Ph-like*.¹²

Os rearranjos *MEF2D* estão associados a um prognóstico desfavorável.⁴ No entanto, os doentes com o gene de fusão *MEF2D-BCL9*, apesar de apresentarem elevada resistência à terapêutica, mostram ser muito sensíveis aos inibidores da histona deacetilase, o que poderá melhorar o seu prognóstico.^{5,12}

iAMP21

A *iAMP21* foi descrita pela primeira vez em 2003, após a deteção de várias cópias de *RUNX1* durante a técnica de FISH que tinha como objetivo identificar a fusão *ETV6-RUNX1*.⁴ Segundo a atual classificação das LLA, esta entidade constitui um subgrupo provisório de LLA-B.¹¹

Estes doentes apresentam uma grande complexidade e variabilidade entre si⁵² devido à estrutura complexa do cromossoma com *iAMP21*, caracterizada por múltiplas regiões de inversão, deleção, duplicação e amplificação.³⁹ A região cromossômica entre 21q22.11 e 21q22.12, na qual está localizado o gene *RUNX1*, é tipicamente amplificada.³⁹ A deleção subtelomérica do 21q também é frequente.¹¹ Assim, para o diagnóstico deste subgrupo de LLA-B é necessária a presença de pelo menos três cópias extra do gene *RUNX1* num cromossoma 21,¹³ isto é, evidência de cinco ou mais sinais por blasto na FISH com sondas dirigidas ao gene *RUNX1*.¹⁷ Podem estar presentes alterações genéticas adicionais, como por exemplo: ganho de cromossomas (X, 10, 14), perda de cromossomas (7, 11q), deleção do *IKZF1*, *CDKN2A*, *PAX5* ou ainda genes de fusão, como *P2RY8-CRLF2*.¹¹

A *iAMP21* é observada em 2% das LLA-B.⁴ A sua incidência é semelhante nos doentes do género masculino e feminino, pelo que a proporção de doentes do género feminino afetadas é superior à verificada noutros subtipos de LLA.⁵² Está frequentemente associada a idade avançada (idade média de 10 anos) e a uma baixa contagem de leucócitos (< 50.000/mm³) ao diagnóstico.¹⁵ É rara em doentes com menos de 5 anos ou com mais de 20 anos.³⁹

Este subgrupo está associado a um mau prognóstico,⁴ com elevadas taxas de recidiva, sobretudo quando os doentes são estratificados e tratados como grupo de baixo risco.⁷ Nyla Heerema *et al.* estudaram 158 crianças e AYA com LLA e *iAMP21*, entre 2003 e 2011, e tratados segundo o protocolo do COG. Verificaram que a SLE aos 4 anos e a SG foram mais baixas naqueles doentes estratificados como baixo risco, de acordo com os critérios do NCI. No entanto, para os doentes classificados como alto risco e tratados com terapêutica mais intensiva, o *iAMP21* não foi associado a diferenças estatisticamente significativas na SLE e SG.⁵³ Anthony V. Moorman *et al.* compararam a SLE, o risco de recidiva e a SG de crianças e adolescentes tratados no *Medical Research Council ALL97/99*, onde o tratamento não foi influenciado pela presença da *iAMP21*, e no *United Kingdom ALL2003*, onde trataram os doentes com *iAMP21* com um regime intensivo. Observaram que com um tratamento mais intensivo houve melhorias da SLE (29% para 78%) e SG (67% para 89%), e redução do risco de recidiva (de 70% para 16%).⁵⁴ Estes dois estudos concluíram que os doentes com *iAMP21* beneficiam de uma estratificação e tratamento de alto risco, com melhoria significativa do seu prognóstico.⁴

A presença concomitante da deleção do gene *SH2B Adaptor Protein 3 (SH2B3)* confere resultados mais desfavoráveis, com maior risco de recidiva e morte.¹¹

Rearranjos NUTM1

Os rearranjos do gene *NUT Midline Carcinoma Family Member 1* (NUTM1-r), expresso exclusivamente nos testículos, são responsáveis por 1% das LLA-B e ocorrem sobretudo em crianças com idade média de 3 anos.¹² A fusão das suas regiões codificantes pode ocorrer com seis parceiros de fusão, sendo eles *Apoptotic Chromatin Condensation Inducer 1* (ACIN1), *Bromodomain Containing 9* (BRD9), *Cut Like Homeobox 1* (CUX1), *IKZF1*, *Solute Carrier Family 12 Member 6* (SLC12A6) e *Zinc Finger Protein 618* (ZNF618). Os NUTM1-r estão associados a um bom prognóstico.¹²

TCF3-HLF

A fusão do gene *TCF3* com o gene *Hepatic Leukemia Factor* (HLF) resulta da translocação t(17;19)(q22;p13), e constitui um subtipo de LLA-B em idade pediátrica raro, responsável por menos de 1% dos casos.⁴ O *TCF3-HLF* altera a expressão de genes que regulam a morte celular dos progenitores das células linfoides, como o *LIM Domain Only 2* (LMO2) e *BCL2*.⁴³ Esta translocação pode ser detetada através de estudos cromossómicos convencionais ou FISH.¹¹

Está associado a uma sobrevivência muito baixa,⁴ tipicamente relacionado com recidiva e morte dois anos após o diagnóstico,¹² mesmo com a utilização de quimioterapia intensiva.¹¹ Num estudo desenvolvido pela *Leukemia Research Cytogenetics Group*, foram identificados nove doentes, entre os 5 e os 18 anos (idade média 13 anos), com LLA e *TCF3-HLF*. Destes, sete foram posteriormente seguidos, e todos eles recidivaram e acabaram por falecer.³⁹ Assim, a identificação precisa do parceiro de fusão do gene *TCF3* (*PBX1* ou *HLF*) é essencial para uma correta estratificação de risco e instituição de um regime terapêutico adequado.²¹

Em estudos recentes, os blastos mostraram alta sensibilidade ao inibidor específico de *BCL2* (*venetoclax*), que poderá ser uma nova e promissora opção terapêutica para estes doentes.^{11,12}

NUP98-RAP1GDS1

O gene de fusão *Nucleoporin 98-Rap1 GTPase-GDP Dissociation Stimulator 1* (*NUP98-RAP1GDS1*), resultante da translocação t(4;11)(q21;p15.5) e associada frequentemente à deleção 12p, é raramente observada na LLA-ETP.⁴⁰ Esta alteração está associada a um prognóstico desfavorável.⁴⁰

Alterações genéticas secundárias

NOTCH1

A via de sinalização *NOTCH1* é essencial na ativação e proliferação dos linfócitos T, e a sua desregulação, causada por mutações ativadoras deste gene ou perda de função do seu regulador negativo *F-Box And WD Repeat Domain Containing 7 (FBXW7)*, é observada em 70 a 80% dos doentes com LLA-T.⁴ O significado prognóstico da ativação da via *NOTCH1* ainda não está claro,²⁰ pois foi associada a um resultado favorável em alguns estudos,^{4,55} embora sem impacto clínico noutros.^{22,37}

PAX5

O gene *PAX5* está localizado no cromossoma 9p13 e codifica um fator de transcrição específico de linfócitos B,⁴² essencial para o desenvolvimento destas células e a supressão tumoral.^{12,55} As alterações deste gene, observadas em 30% dos doentes com LLA-B,⁵⁵ podem ser divididas em dois subgrupos distintos: LLA com *PAX5* alterado, que inclui translocações (mais frequentemente com *ETV6* ou *NOL4L*), mutações, deleções e ampliações intragénicas, e LLA com mutação *PAX5 P80R*.^{12,55}

A relevância prognóstica das alterações do gene *PAX5* não é consensual entre as diferentes publicações. Num dos artigos, os doentes com a fusão *PAX5-ETV6*, resultante da translocação (9;12)(p13;p13), apresentam um prognóstico favorável com remissão completa após quimioterapia convencional.¹¹ A translocação (9;20)(p13;q11), apesar de estar associada a características clínicas desfavoráveis (hiperleucocitose e envolvimento do SNC), apresenta um bom resultado com a aplicação de esquemas terapêuticos de alta intensidade.¹¹ Noutro artigo, as alterações *PAX5* parecem conferir um prognóstico intermédio.⁴ Por fim, é negado o seu efeito na resposta ao tratamento e resultado clínico em alguns estudos.^{39,43,51}

IKZF1

O gene *IKZF1* é composto por 8 exões que albergam 6 dedos de zinco e está localizado na banda cromossómica 7p12.2.¹ Codifica o fator de transcrição IKAROS, um supressor tumoral

que possui um papel importante na regulação da linfopoiese.¹ As alterações do gene *IKZF1* incluem deleções (15%), que podem envolver todo o gene (33%) ou apenas partes dele, mutações (<1%) e fusões de genes (<1%). Como consequência, ocorre haploinsuficiência ou efeito negativo dominante do gene *IKZF1*, comprometendo a sua função.¹ Estas alterações podem ser detetadas por MLPA, CMA, PCR, FISH ou NGS, no entanto as duas primeiras só conseguem detetar as deleções se estas estiverem presentes em pelo menos 25% dos blastos.^{1,11}

As alterações *IKZF1* estão presentes em 15% dos casos de LLA.¹⁹ A sua distribuição pelos diferentes subtipos de LLA não é homogénea; as deleções são observadas em cerca de 67% das LLA Ph+, 20% das LLA Ph-*like*, 15% das LLA com hiperdiploidia elevada e em menos de 5% das LLA com *ETV6-RUNX1*, rearranjos *TCF3* e *KMT2A-r*. Também podem ser identificadas na LLA-T.¹ As deleções do *IKZF1* estão associadas a idade mais avançada ao diagnóstico, maior contagem inicial de leucócitos e níveis mais elevados de DRM após o tratamento.¹

A presença das alterações do gene *IKZF1* confere um prognóstico mais adverso, com exceção dos doentes com deleção concomitante do gene *ERG*, nos quais estas alterações não afetam o resultado clínico.¹ Na maioria dos casos, há resistência à corticoterapia e um maior risco de recidiva.^{12,55} Contudo, perante DRM negativa após a indução, os doentes com deleções do *IKZF1* apresentam resultados excelentes, mesmo com quimioterapia de baixa intensidade.⁵⁵

E. Clappier *et al.* avaliaram o impacto prognóstico das deleções do *IKZF1* em 1223 doentes, com idades entre 1 e 18 anos, diagnosticadas com LLA-B (excluindo LLA Ph+) e tratadas segundo o protocolo do *Children Leukemia Group of the European Organisation for Research and Treatment of Cancer* (EORTC-CLG) 58951. Os doentes com deleções *IKZF1* apresentaram uma SLE aos 8 anos e SG de 67,7% e 86,7%, respetivamente, enquanto que os doentes sem esta alteração apresentaram taxas mais favoráveis (86,5% e 92,4%, respetivamente). Estas diferenças deveram-se a maiores taxas de recidiva verificadas no primeiro grupo (25,7%), em comparação com os restantes doentes (10,8%).⁵⁶

Em vários estudos as alterações *IKZF1* demonstraram ter um impacto prognóstico forte e independente, e por isso certos grupos estratificam estes doentes em alto risco. Contudo, noutros estudos este impacto não foi verificado, pelo que alguns grupos não o consideram um marcador que justifique a exposição a uma terapêutica intensiva.¹

A presença concomitante de deleções *IKZF1* com deleções *CDKN2A/B*, *PAX5* ou *PAR1*, e na ausência de deleções *ERG*, definiu recentemente o *IKZF1^{plus}*.¹ Este ocorre em 6% dos casos de LLA-B⁵ e está associado a resultados adversos, piores do que aqueles verificados nos doentes que contêm apenas deleção *IKZF1*.^{1,12} No entanto, parece ter um forte impacto prognóstico apenas na presença de DRM superior a 10⁻⁴ após o tratamento de indução.¹

RAS

As mutações da via *RAS*, presentes em 15% das LLA-B⁹ e observadas frequentemente na LLA *KMT2A-r* e LLA com hiperdiploidia elevada, estão associadas a refratariedade terapêutica e a recidivas precoces, conferindo por isso um pior prognóstico.^{14,23}

ERG

As deleções intragénicas do *ERG* são identificadas em 3 a 5% das LLA-B²⁰ e ocorrem quase exclusivamente naquelas com rearranjo do gene *DUX4*.¹ As deleções *ERG* conferem um resultado muito favorável, com SLE aos 5 anos superior a 85%, apesar de estarem frequentemente associadas a idades mais avançadas e deleções *IKZF1*, características com mau prognóstico.²⁰ Foi verificado que, entre os doentes com deleções do *IKZF1*, aqueles com deleção do gene *ERG* apresentaram melhores resultados.²⁰

TP53

O gene supressor tumoral *TP53*, localizado no cromossoma 17p13, codifica o fator de transcrição p53.⁵⁷ Este gene está alterado em 91,2% das LLA-B com baixa hipodiploidia e em menos de 5% nos restantes subtipos.¹⁵ Embora raras, as deleções também ocorrem em cerca de 1% das LLA-T.⁵⁷ As mutações são mais comuns do que as deleções, e ocorrem mais frequentemente na recidiva do que ao diagnóstico.⁵⁷

A presença de mutações e deleções do gene *TP53* confere aos doentes um prognóstico mais desfavorável.¹⁹ Raffaele Addeo *et al.* avaliaram o impacto prognóstico das mutações do gene *TP53* em 62 doentes, com idades entre os 0 e 16 anos (idade mediana de 4 anos), diagnosticados com LLA entre 1992 e 2000. Estas mutações, observadas em apenas 9

doentes (incidência de 14,5%), foram associadas a uma SLE e SG inferiores e a uma maior resistência à prednisolona administrada durante a indução. No entanto, não foram consideradas preditores fortes e independentes do resultado clínico.⁵⁸

TP73

A inativação do gene *Tumor Protein P73 (TP73)*, provocada sobretudo pela hipermetilação das ilhas CpG, foi detetada em doentes com LLA-T.⁵⁷ Embora poucos estudos tenham avaliado a sua relevância prognóstica, esta alteração parece estar associada a uma redução da SLE e SG.⁵⁷

GATA3

Os polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) do gene *GATA3* estão associados a um maior risco de recidiva e pior prognóstico.²⁹ Perez-Andreu *et al.* analisaram a relação entre o SNP rs3824662 do *GATA3* e o risco de recidiva em 75 crianças do COG com LLA Ph-like. Verificaram que esta variação genética estava associada a DRM mais elevada após a indução e a um maior risco de recidiva.⁵⁹ Migliorini *et al.* verificaram igualmente que este SNP estava relacionado com um risco acrescido de recidiva e uma SLE inferior.⁶⁰

ATM

As alterações do gene *Ataxia Telangiectasia Mutated (ATM)*, localizado no cromossoma 11q22, estão associadas a um resultado desfavorável na LLA-T.⁵⁷ No entanto, os resultados dos diferentes estudos realizados não são consensuais. Takeuchi *et al.* analisaram a relevância clínica da perda de heterozigotia do cromossoma 11q, entre outros, em 244 crianças do ensaio ALL-BFM90 (16% com LLA-T e 84% com LLA-B). Os doentes com esta alteração apresentaram melhores taxas de resposta à quimioterapia e menor envolvimento do SNC. No entanto verificou-se que não havia uma associação estatisticamente significativa entre esta alteração e a SLE aos 8 anos.⁶¹

NT5C2 e PRPS1

As mutações do gene *Cytosolic Purine 5'-Nucleotidase (NT5C2)*, um gene que codifica uma enzima 5'-nucleotidase essencial no metabolismo dos nucleotídeos, provocam um aumento da sua atividade enzimática e, conseqüentemente, resistência às tiopurinas, um dos principais componentes da terapêutica de manutenção na LLA.^{12,14} Os doentes portadores destas mutações apresentam um maior risco de recidiva, principalmente de recidivas precoces, e um prognóstico inferior.^{14,20}

O mesmo é observado nos doentes com mutações do gene *Phosphoribosyl Pyrophosphate Synthetase 1 (PRPS1)*, um gene que está também envolvido no metabolismo das purinas.^{10,14}

ATF5 e MTHFR

A substituição 1562C>T do gene *Activating Transcription Factor 5 (ATF5)* confere uma maior atividade da enzima asparaginase sintetase, que é normalmente expressa em baixos níveis pelos blastos. Esta ativação leva a uma menor depleção da asparagina pela asparaginase, um dos fármacos utilizados no tratamento destes doentes, com conseqüente aumento do risco de recidiva.²⁰

A presença do polimorfismo 677C>T do gene que codifica a enzima metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR) leva à redução da sua atividade, com conseqüente inibição da ação do metotrexato, aumentando o risco de recidiva e de mortalidade.^{20,62}

RB1

As mutações, deleções e alterações epigenéticas do gene supressor tumoral *RB1*, que codifica uma proteína reguladora do fator de transcrição *E2F*, são raramente observadas nas LLA-T.⁵⁷ Apesar do pequeno número de estudos realizados, as alterações do gene *RB1* parecem conferir um prognóstico desfavorável tanto no momento do diagnóstico como na recidiva, com redução da SLE e SG.⁵⁷

Outras alterações genéticas

O gene *Catenin Delta 1 (CTNND1)* codifica a P120-catenina e está associado à resistência ao tratamento em modelos murinos com LLA-B e deleção *IKZF1*.⁵

O gene *CREBBP* codifica uma proteína que se liga ao CREB, um co-ativador da transcrição que medeia a resposta à terapêutica com corticoides e que desempenha também um papel na acetilação das histonas.⁶³ As mutações deste gene conferem resistência aos corticoides,⁵⁵ com consequente refratariedade terapêutica.

As mutações do gene *Signal Transducer And Activator Of Transcription 5B (STAT5B)* foram associadas a um maior risco de recidiva.⁴⁹

As alterações do gene *Phosphatase And Tensin Homolog (PTEN)* condicionam um resultado desfavorável segundo alguns artigos,^{4,55} enquanto outros não apresenta impacto prognóstico.^{37,49}

Foram identificadas recentemente fusões do gene *Spi-1 Proto-Oncogene (SPI1)*, presentes em 3,9% dos doentes com LLA-T e associados a uma SG inferior.⁷

Um estudo correlacionou a hipometilação das ilhas CpG na LLA-T a uma SLE e SG inferiores. No entanto, são necessários mais estudos para averiguar sobre a sua relevância prognóstica.³⁷

A ausência das deleções bialélicas do recetor das células T está associada a refratariedade terapêutica, maior risco de recidiva da LLA-T e, portanto, a um prognóstico inferior. No entanto, os dados são limitados e não existe consenso entre os estudos.^{2,22,37}

Na LLA-T, a hipermetilação das regiões promotoras do gene *CDKN1A* provoca uma diminuição dos níveis da proteína *p21/CIP1/WAF1*. Os estudos publicados sugerem a sua ligação a um prognóstico mais adverso.⁵⁷

Resposta ao tratamento

Na LLA, a avaliação da resposta terapêutica é feita através da monitorização periódica e precoce da redução dos blastos após o tratamento instituído, que é, por sua vez, determinada atualmente pela quantificação da DRM.⁶⁴ A DRM consiste na quantificação dos blastos que persistem durante ou após o tratamento, indetetáveis pelos métodos morfológicos convencionais.⁵ A resposta precoce ao tratamento também pode ser determinada através da avaliação morfológica do número de blastos no sangue periférico após oito dias de tratamento com prednisolona.¹⁷

A DRM da medula óssea é geralmente avaliada no final da indução (4^a/5^a semana) e no final da consolidação (10^a/12^a semana).¹⁵ No entanto, estes tempos podem variar entre os diferentes estudos.⁶⁵ A sua determinação no sangue periférico após oito dias de tratamento também se mostrou útil.³¹

Esta pode ser quantificada por citometria de fluxo multiparamétrica (FCM), PCR, RT-PCR (para genes de fusão, rearranjos do gene da imunoglobulina ou do recetor de células T específicos do doente) ou NGS.^{4,5,17} A RT-PCR consegue detetar entre 10^{-4} e 10^{-5} blastos residuais³⁷ e a PCR até 0,001%, enquanto que o limite de deteção da FCM é de 0,01%.⁷ De acordo com os níveis de DRM, os doentes são divididos em três grupos clinicamente distintos: grupo de baixo risco ($<10^{-4}\%$), risco intermédio (entre 10^{-4} e $10^{-2}\%$) e alto risco ($>10^{-2}\%$).⁶⁵ A DRM também pode ser classificada como positiva ($\geq 0,01\%$) ou negativa ($< 0,01\%$).⁸

A DRM é considerada o marcador prognóstico independente mais importante na LLA,⁴ conferindo um mau prognóstico e elevado risco de recidiva quando positiva.⁵ DRM negativa no final da indução está associada a uma SLE aos 5 anos de 87 a 89%, enquanto que valores positivos conferem uma SLE mais baixa, entre 30 e 64%, dependendo do nível de DRM.¹⁵ Estudos mais recentes verificaram que os doentes com LLA-B de alto risco com DRM positiva no final da indução, mas negativa no final da consolidação, ainda apresentavam bons resultados clínicos com uma SLE aos 5 anos de 74 a 84%, enquanto que aqueles que permaneceram positivos tiveram uma SLE aos 5 anos entre 36 e 50%.¹⁵ A grande maioria dos doentes com LLA-T tende a apresentar DRM positiva no final da indução, mas negativa após a fase de consolidação, mantendo bons resultados com uma SLE aos 7 anos de 80,6%.¹⁵ Assim, embora a avaliação da DRM no final de indução seja o melhor preditor prognóstico na LLA-B, na LLA-T esta parece ter maior importância no final da consolidação.²²

A DRM é amplamente utilizada na estratificação dos doentes em grupos de risco e no ajuste do esquema terapêutico.¹⁵ Os doentes com subtipos de LLA-B favoráveis com DRM negativa numa fase precoce beneficiam com a redução da intensidade da quimioterapia,⁴ observando-se uma diminuição dos efeitos secundários,⁶⁵ sem comprometimento da sobrevivência.⁸ Por outro lado, aqueles com DRM positiva após a terapia de indução ou consolidação podem obter melhores resultados clínicos através de quimioterapia mais intensiva ou transplante alogénico de células pluripotenciais hematopoiéticas.⁴ A avaliação da DRM também tem relevância prognóstica na LLA recidivada (após tratamento de re-indução) e antes e após o transplante.²²

A avaliação morfológica da diminuição dos blastos após uma semana de tratamento com prednisolona apresenta também um valor prognóstico independente.²⁰ Aqueles com uma boa resposta, isto é, contagem de blastos no sangue periférico $<1.000/\text{mm}^3$, apresentam maior taxa de sobrevivência.¹⁷ Uma má resposta à prednisolona ($\geq 1.000/\text{mm}^3$), observada em cerca de 10% dos doentes, confere um risco de recidiva elevado.²⁰ No entanto, este marcador prognóstico poderá vir a ser substituído pela avaliação isolada da DRM para a estratificação de risco.¹⁰

Fatores de prognóstico após recidiva

A recidiva, definida pelo reaparecimento de blastos em qualquer local após a obtenção de remissão completa,¹⁸ ocorre em aproximadamente 20% dos doentes com LLA¹² e constitui uma das principais causas de morte por cancro na idade pediátrica.¹⁷ A recidiva deve-se à persistência de DRM e resistência ao esquema terapêutico utilizado,¹⁸ e apresenta uma SG de 25 a 40%.¹⁴ Os fatores de prognóstico mais importantes na LLA recidivada são a duração da primeira remissão, o local da recidiva e o imunofenótipo dos blastos.¹⁰ Existem outros marcadores com impacto no resultado destes doentes, incluindo fatores clínicos (contagem inicial de leucócitos e idade), presença de certas alterações citogenéticas (*ETV6-RUNX1*, *BCR-ABL1*, mutações *TP53* e deleções *IKZF1*) e a DRM após a terapêutica de re-indução.^{16,18,31,63}

Duração da primeira remissão completa

Consoante o intervalo de tempo entre o diagnóstico e a recidiva, o COG dividiu-a em recidiva precoce, que inclui a muito precoce (até 18 meses após o diagnóstico inicial) e recidiva intermédia (entre 18 e 36 meses após o diagnóstico inicial), e recidiva tardia (após 36 meses do diagnóstico inicial).¹⁶ No entanto, esta classificação difere entre os grupos de estudo. O BFM, por exemplo, divide a recidiva em muito precoce (até 18 meses após o diagnóstico inicial), precoce (depois de 18 meses após o diagnóstico inicial até 6 meses após a conclusão da terapêutica inicial) e tardia (depois de 6 meses após a conclusão do tratamento).¹⁶ As recidivas mais precoces estão, provavelmente, associadas à proliferação de um clone resistente ao tratamento, enquanto que as tardias podem dever-se ao desenvolvimento de novo de uma segunda leucemia com origem num clone pré-maligno comum.²⁰

Quanto mais cedo ocorrer a recidiva, pior é o prognóstico.³¹ Os doentes com recidiva medular precoce e tardia têm, respetivamente, 68% e 96% de probabilidade de alcançar uma segunda remissão completa e uma sobrevivência a longo prazo de 15% e 40-50%.^{8,14}

Local da recidiva

A recidiva pode ocorrer isoladamente na medula óssea (50 a 60%) ou em locais extramedulares, como o SNC (20%) ou o testículo (5%).³¹ Nos restantes casos, há um

envolvimento medular e extramedular concomitante.³¹ Apesar de raro, a recidiva também pode ocorrer nos ovários, globo ocular, músculo, pele ou órgãos parenquimatosos.²⁰

A recidiva isolada da medula óssea, definida pela presença de $\geq 25\%$ de blastos,²⁰ está associada ao pior prognóstico.³¹ A recidiva combinada, diagnosticada através da presença de $\geq 5\%$ de blastos na medula óssea com envolvimento de um ou mais locais extramedulares,²⁰ tem um prognóstico intermédio.³¹ As recidivas extramedulares isoladas apresentam os melhores resultados³¹ com uma sobrevivência a longo prazo entre 50 e 80%, dependendo do momento em que ocorre a recidiva.⁶⁶

Assim, e tendo em conta o momento e local de recidiva, os doentes com recidiva extramedular isolada e tardia têm os melhores resultados, com taxas de sobrevivência de cerca de 80%, enquanto aqueles com recidiva medular isolada e precoce apresentam um desfecho mais adverso.¹⁴

Imunofenótipo

A recidiva de LLA-T tem um pior prognóstico do que a recidiva de LLA-B,³ com uma SLE aos 5 e 10 anos de apenas 15 a 20%.¹⁴ As recidivas da LLA-T tendem a surgir precocemente, durante ou logo após o fim do tratamento,²⁰ o que poderá explicar, em parte, estes resultados.⁶³

Conclusão

A LLA constitui a neoplasia maligna mais frequente em idade pediátrica,¹ e a sobrevivência destes doentes é influenciada por vários fatores clínicos e citogenéticos. A sua utilização na estratificação dos doentes em grupos de risco e o ajuste do tratamento a esse risco permitiu alcançar uma SG superior a 90%.⁴ No entanto, nos últimos anos foram propostos novos fatores de prognóstico que poderão complementar a estratificação destes doentes e contribuir, conseqüentemente, para uma maior taxa de sobrevivência.

Os fatores de prognóstico clínicos associados a um bom prognóstico incluem idade igual ou superior a 1 ano e inferior a 10 anos,¹⁷ contagem de leucócitos ao diagnóstico inferior a 50.000/mm³,¹⁵ género feminino,⁷ caucasianos ou asiáticos,¹⁹ residentes em países de alto rendimento,¹⁰ boa nutrição³⁴ e adesão terapêutica.^{15,20} No entanto, os doentes com idade inferior a 1 ano ou igual ou superior a 10 anos,¹⁷ contagem de leucócitos superior ou igual a 50.000/mm³,¹⁵ do género masculino,⁷ negros, hispânicos¹⁹ ou nativo americanos,²² com Síndrome de Down,^{7,29} envolvimento do SNC¹⁹ e/ou testicular³¹ ao diagnóstico, residentes em países com médio e baixo rendimento,¹⁰ malnutridos³⁴ e com má adesão ao protocolo terapêutico^{15,20} apresentam um prognóstico mais desfavorável.

As características biológicas associadas a um bom prognóstico incluem a LLA-B,¹⁷ hiperdiploidia,⁴ *ETV6-RUNX1*,^{4,22} *DUX4-IGH*,¹² *TCF3-PBX1*⁴ e os *NUTM1-r*.¹² Pelo contrário, a LLA-T,¹⁷ LLA-ETP,⁵ hipodiploidia,¹⁵ *BCR-ABL1-like*,^{10,15} *CRLF2-r*,²⁰ *NUP214-ABL1*,⁴⁵ rearranjos *IGH*, *KMT2A-r*,¹² *BCR-ABL1*,⁷ rearranjos *MEF2D*, *iAMP21*, *TCF3-HLF*⁴ e *NUP98-RAP1GDS1*⁴⁰ estão associados a um mau prognóstico. Os rearranjos do gene *ZNF384* tem um prognóstico intermédio.¹² O significado prognóstico do *ETV6-RUNX1-like*¹² e do *BCL11B-TLX3* é ainda incerto.³⁷

Para além destas alterações cromossómicas, podem estar presentes outras alterações genéticas que influenciam de igual modo o prognóstico dos doentes. Por exemplo, as alterações do gene *IKZF1* (sem deleção concomitante do gene *ERG*),¹ *RAS*,^{14,23} *TP53*,¹⁹ *TP73*,⁵⁷ *GATA3*,²⁹ *NT5C2*,^{14,20} *PRPS1*^{10,14} e *RB1*⁵⁷ conferem um pior prognóstico. Os doentes com deleções do gene *ERG*²⁰ apresentam um prognóstico mais favorável. O efeito prognóstico dos genes *NOTCH1*,²⁰ *PAX5* e *ATM* não é consensual entre os estudos.

A quantificação da DRM, que permite avaliar a resposta ao tratamento,⁶⁴ é atualmente considerada o marcador prognóstico independente mais importante na LLA.⁴ Valores de DRM

iguais ou superiores a 0,01%,⁸ medidos no final da indução e consolidação, conferem um pior prognóstico.⁵ A avaliação morfológica dos blastos após uma semana de tratamento com prednisolona apresenta também um valor prognóstico independente, observando-se que uma má resposta à prednisolona ($\geq 1.000/\text{mm}^3$) confere um risco de recidiva elevado.²⁰

Na LLA recidivada, os principais fatores de prognóstico são a duração da primeira remissão, o local da recidiva e o imunofenótipo dos blastos.¹⁰ Os doentes que apresentam recidiva precoce, com envolvimento isolado da medula óssea³¹ e com blastos da linhagem T³ têm um prognóstico mais desfavorável comparativamente com aqueles que apresentam uma recidiva tardia, envolvimento extramedular isolado³¹ e blastos da linhagem B.³

A maioria destes fatores de prognóstico não são utilizados atualmente na prática clínica (Tabela 1). Tendo em conta que atualmente um quinto dos doentes considerados de baixo risco acabam por sofrer recidiva⁸ e que alguns doentes do grupo de alto risco são expostos desnecessariamente a uma terapêutica intensiva,¹⁸ é necessário avaliar a utilidade destes novos biomarcadores com impacto prognóstico na estratificação dos doentes, para um tratamento mais personalizado e uma maior taxa de sobrevivência.

Tabela 1. Quadro-resumo dos fatores de prognóstico na LLA pediátrica.

	Bom prognóstico	Mau prognóstico	Prática clínica*
Fatores clínicos			
Idade	≥ 1 e < 10 anos	< 1 ano ou ≥ 10 anos	Sim
Contagem inicial de leucócitos	< 50.000/mm ³	≥ 50.000/mm ³	Sim
Género	Feminino	Masculino	Não
Síndrome de Down	Ausente	Presente	Sim
Envolvimento SNC e/ou testicular	Ausente	Presente	Sim
Raça e etnia	Caucasianos, asiáticos	Negros, hispânicos, nativo americanos	Não
Status socioeconómico	Países de alto rendimento	Países de médio e baixo rendimento	Não
Nutrição	Adequada	Malnutrição	Não
Adesão à terapêutica	Boa adesão	Má adesão	Não
Fatores biológicos			
Imunofenótipo	LLA-B	LLA-T, LLA-ETP	Sim
Alterações cromossómicas	Hiperdiploidia, ETV6-RUNX1, DUX4-IGH, TCF3-PBX1, NUTM1-r	Hipodiploidia, BCR-ABL1-like, CRLF2-r, NUP214-ABL1, rearranjos IGH, KMT2A-r, BCR-ABL1, rearranjos MEF2D, iAMP21, TCF3-HLF, NUP98-RAP1GDS1	Sim
Alterações genéticas secundárias	Deleções <i>ERG</i>	Alterações IKZF1, RAS, TP53, TP73, GATA3, RB1, NT5C2, PRPS1, ATF5, MTHFR	Sim (inclui as alterações PAX5)
Resposta ao tratamento	DRM < 0,01%, boa resposta à prednisolona (< 1.000/mm ³)	DRM ≥ 0,01%, má resposta à prednisolona (≥ 1.000/mm ³)	Sim
Fatores após recidiva			
Duração da primeira remissão	Recidiva tardia	Recidiva precoce	Sim
Local da recidiva	Medula óssea	Extramedular	Sim
Imunofenótipo	LLA-B	LLA-T	Sim

*De acordo com a abordagem terapêutica da LLA recentemente diagnosticada (protocolo *ALLTogether*)⁶⁷ e LLA recidivada (*guidelines* do *National Comprehensive Cancer Network*),⁶⁸ atualmente utilizada em Portugal.

Os termos a negrito salientam os biomarcadores utilizados no protocolo *ALLTogether*.

Agradecimentos

Agradeço às minhas orientadoras, Professora Doutora Emília Cortesão e Mestre Joana Azevedo, pela ajuda e disponibilidade na realização deste trabalho.

Aos meus pais e irmão por todo o amor e apoio, e por acreditarem sempre em mim.

À Viegas e Diliaana pelo carinho e incentivo.

Referências bibliográficas

1. Stanulla M, Cavé H, Moorman A V. IKZF1 deletions in pediatric acute lymphoblastic leukemia: still a poor prognostic marker? *Blood* [Internet]. 2020 Jan 23;135(4):252–60. Available from: <https://ashpublications.org/blood/article/135/4/252/429640/IKZF1-deletions-in-pediatric-acute-lymphoblastic>
2. Margolin JF. Molecular diagnosis and risk-adjusted therapy in pediatric hematologic malignancies: a primer for pediatricians. *Eur J Pediatr* [Internet]. 2011 Apr 25;170(4):419–25. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00431-011-1424-7>
3. Madhusoodhan PP, Carroll WL, Bhatla T. Progress and Prospects in Pediatric Leukemia. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care* [Internet]. 2016 Jul;46(7):229–41. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cppeds.2016.04.003>
4. Teachey DT, Pui C-H. Comparative features and outcomes between paediatric T-cell and B-cell acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet Oncol* [Internet]. 2019 Mar;20(3):e142–54. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045\(19\)30031-2](http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045(19)30031-2)
5. Jeremias I, Schewe DM. Characteristics and Therapeutic Targeting of Minimal Residual Disease in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. In: *Advances in Experimental Medicine and Biology* [Internet]. 2018. p. 127–39. Available from: http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-97746-1_8
6. de Oliveira JC, Brassesco MS, Scrideli CA, Tone LG, Narendran A. MicroRNA expression and activity in pediatric acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Pediatr Blood Cancer* [Internet]. 2012 Oct;59(4):599–604. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/pbc.23078>
7. Kato M, Manabe A. Treatment and biology of pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Int* [Internet]. 2018 Jan;60(1):4–12. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/ped.13457>
8. Ontario HQ. Minimal Residual Disease Evaluation in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia: A Clinical Evidence Review. *Ont Health Technol Assess Ser* [Internet]. 2016;16(7):1–52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4808717/>
9. Malouf C, Ottersbach K. Molecular processes involved in B cell acute lymphoblastic leukaemia. *Cell Mol Life Sci* [Internet]. 2018 Feb 17;75(3):417–46. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00018-017-2620-z>
10. Hunger SP, Mullighan CG. Acute Lymphoblastic Leukemia in Children. Longo DL, editor. *N Engl J Med* [Internet]. 2015 Oct 15;373(16):1541–52. Available from: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMra1400972>
11. Akkari YMN, Bruyere H, Hagelstrom RT, Kanagal-Shamanna R, Liu J, Luo M, et al. Evidence-

- based review of genomic aberrations in B-lymphoblastic leukemia/lymphoma: Report from the cancer genomics consortium working group for lymphoblastic leukemia. *Cancer Genet* [Internet]. 2020 May;243:52–72. Available from:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2210776220301496>
12. Roberts KG. Genetics and prognosis of ALL in children vs adults. *Hematology* [Internet]. 2018 Nov 30;2018(1):137–45. Available from:
<https://ashpublications.org/hematology/article/2018/1/137/277617/Genetics-and-prognosis-of-ALL-in-children-vs>
 13. Maloney KW, Gore L. Agents in Development for Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *Pediatr Drugs* [Internet]. 2018 Apr 15;20(2):111–20. Available from:
<http://link.springer.com/10.1007/s40272-017-0268-7>
 14. Pierro J, Hogan LE, Bhatla T, Carroll WL. New targeted therapies for relapsed pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Expert Rev Anticancer Ther* [Internet]. 2017 Aug 3;17(8):725–36. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/14737140.2017.1347507>
 15. Vrooman LM, Silverman LB. Treatment of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia: Prognostic Factors and Clinical Advances. *Curr Hematol Malig Rep* [Internet]. 2016 Oct 8;11(5):385–94. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s11899-016-0337-y>
 16. Raetz EA, Bhatla T. Where do we stand in the treatment of relapsed acute lymphoblastic leukemia? *Hematology* [Internet]. 2012 Dec 8;2012(1):129–36. Available from:
<https://ashpublications.org/hematology/article/2012/1/129/83834/Where-do-we-stand-in-the-treatment-of-relapsed>
 17. Lee JW, Cho B. Prognostic factors and treatment of pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Korean J Pediatr* [Internet]. 2017;60(5):129. Available from:
<http://kjp.or.kr/journal/view.php?doi=10.3345/kjp.2017.60.5.129>
 18. Szczepanek J, Styczyński J, Haus O, Tretyn A, Wysocki M. Relapse of Acute Lymphoblastic Leukemia in Children in the Context of Microarray Analyses. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* [Internet]. 2011 Feb 19;59(1):61–8. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00005-010-0110-1>
 19. Alexander S. Clinically defining and managing high-risk pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia. *Hematology* [Internet]. 2014 Dec 5;2014(1):181–9. Available from:
<https://ashpublications.org/hematology/article/2014/1/181/306120/Clinically-defining-and-managing-highrisk>
 20. Ceppi F, Cazzaniga G, Colombini A, Biondi A, Conter V. Risk factors for relapse in childhood acute lymphoblastic leukemia: prediction and prevention. *Expert Rev Hematol* [Internet]. 2015 Jan 2;8(1):57–70. Available from:

- <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1586/17474086.2015.978281>
21. Harrison CJ. Acute Lymphoblastic Leukemia. *Clin Lab Med* [Internet]. 2011 Dec;31(4):631–47. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cll.2011.08.016>
 22. Teachey DT, Hunger SP. Predicting relapse risk in childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol* [Internet]. 2013 Sep;162(5):606–20. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/bjh.12442>
 23. Guest EM, Stam RW. Updates in the biology and therapy for infant acute lymphoblastic leukemia. *Curr Opin Pediatr* [Internet]. 2017 Feb;29(1):20–6. Available from: <http://journals.lww.com/00008480-201702000-00005>
 24. Sanjuan-Pla A, Bueno C, Prieto C, Acha P, Stam RW, Marschalek R, et al. Revisiting the biology of infant t(4;11)/MLL-AF4+ B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Blood* [Internet]. 2015 Dec 17;126(25):2676–85. Available from: <https://ashpublications.org/blood/article/126/25/2676/34924/Revisiting-the-biology-of-infant-t411MLLAF4-Bcell>
 25. Friend BD, Schiller GJ. Closing the gap: Novel therapies in treating acute lymphoblastic leukemia in adolescents and young adults. *Blood Rev* [Internet]. 2018 Mar;32(2):122–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.blre.2017.09.005>
 26. Rytting ME, Jabbour EJ, O'Brien SM, Kantarjian HM. Acute lymphoblastic leukemia in adolescents and young adults. *Cancer* [Internet]. 2017 Jul 1;123(13):2398–403. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/cncr.30624>
 27. Schafer ES, Hunger SP. Optimal therapy for acute lymphoblastic leukemia in adolescents and young adults. *Nat Rev Clin Oncol* [Internet]. 2011 Jul 31;8(7):417–24. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrclinonc.2011.77>
 28. Inaba H, Greaves M, Mullighan CG. Acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet* [Internet]. 2013 Jun;381(9881):1943–55. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673612621874>
 29. Pui C-H, Yang JJ, Hunger SP, Pieters R, Schrappe M, Biondi A, et al. Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia: Progress Through Collaboration. *J Clin Oncol* [Internet]. 2015 Sep 20;33(27):2938–48. Available from: <https://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2014.59.1636>
 30. Lee P, Bhansali R, Izraeli S, Hijjiya N, Crispino JD. The biology, pathogenesis and clinical aspects of acute lymphoblastic leukemia in children with Down syndrome. *Leukemia* [Internet]. 2016 Sep 10;30(9):1816–23. Available from: <http://www.nature.com/articles/leu2016164>
 31. Cooper SL, Brown PA. Treatment of Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia. *Pediatr Clin North Am* [Internet]. 2015 Feb;62(1):61–73. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031395514001850>

32. Bhatia S. Disparities in cancer outcomes: Lessons learned from children with cancer. *Pediatr Blood Cancer* [Internet]. 2011 Jun;56(6):994–1002. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/pbc.23078>
33. Bona K, Blonquist TM, Neuberg DS, Silverman LB, Wolfe J. Impact of Socioeconomic Status on Timing of Relapse and Overall Survival for Children Treated on Dana-Farber Cancer Institute ALL Consortium Protocols (2000-2010). *Pediatr Blood Cancer* [Internet]. 2016 Jun;63(6):1012–8. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/pbc.25928>
34. Barr RD, Gomez-Almaguer D, Jaime-Perez JC, Ruiz-Argüelles GJ. Importance of Nutrition in the Treatment of Leukemia in Children and Adolescents. *Arch Med Res* [Internet]. 2016 Nov;47(8):585–92. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0188440916302120>
35. Butturini AM, Dorey FJ, Lange BJ, Henry DW, Gaynon PS, Fu C, et al. Obesity and Outcome in Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Clin Oncol* [Internet]. 2007 May 20;25(15):2063–9. Available from: <http://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2006.07.7792>
36. Mejía-Arangurú JM, Fajardo-Gutiérrez A, Reyes-Ruiz NI, Bernáldez-Ríos R, Mejía-Domínguez AM, Navarrete-Navarro S, et al. Malnutrition in Childhood Lymphoblastic Leukemia. *Arch Med Res* [Internet]. 1999 Mar;30(2):150–3. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0188012898000268>
37. Karrman K, Johansson B. Pediatric T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Genes, Chromosom Cancer* [Internet]. 2017 Feb;56(2):89–116. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/gcc.22416>
38. Staley EM, Feldman AZ, Koenig RG, Hill B. CD5 positive B-ALL, a uniquely aggressive subcategory of B-ALL? A case report and brief review of the literature. *Pediatr Blood Cancer* [Internet]. 2019 Jan;66(1):e27484. Available from: <https://doi.org/10.1002/pbc.27484>
39. Moorman A V. The clinical relevance of chromosomal and genomic abnormalities in B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia. *Blood Rev* [Internet]. 2012 May;26(3):123–35. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.blre.2012.01.001>
40. Braoudaki M, Tzortzatos-Stathopoulou F. Clinical Cytogenetics in Pediatric Acute Leukemia: An Update. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* [Internet]. 2012 Aug;12(4):230–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clml.2012.04.004>
41. Safavi S, Paulsson K. Near-haploid and low-hypodiploid acute lymphoblastic leukemia: two distinct subtypes with consistently poor prognosis. *Blood* [Internet]. 2017 Jan 26;129(4):420–3. Available from: <https://ashpublications.org/blood/article/129/4/420/36194/Nearhaploid-and-lowhypodiploid-acute-lymphoblastic>
42. Zhou Y, You MJ, Young KH, Lin P, Lu G, Medeiros LJ, et al. Advances in the molecular

- pathobiology of B-lymphoblastic leukemia. *Hum Pathol* [Internet]. 2012 Sep;43(9):1347–62. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.humpath.2012.02.004>
43. Mullighan CG. Molecular genetics of B-precursor acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Invest* [Internet]. 2012 Oct 1;122(10):3407–15. Available from: <https://doi.org/10.1172/JCI61203>
 44. Lee JW, Kim S, Jang P-S, Chung N-G, Jeong D-C, Kim M, et al. Outcome and Prognostic Factors for ETV6/RUNX1 Positive Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia Treated at a Single Institution in Korea. *Cancer Res Treat* [Internet]. 2017 Apr 15;49(2):446–53. Available from: <http://www.e-crt.org/journal/view.php?doi=10.4143/crt.2016.211>
 45. Patrick K, Vora A. Update on biology and treatment of T-cell acute lymphoblastic leukaemia. *Curr Opin Pediatr* [Internet]. 2015 Feb;27(1):44–9. Available from: <http://journals.lww.com/00008480-201502000-00008>
 46. Pui C-H. Genomic and pharmacogenetic studies of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Front Med* [Internet]. 2015 Mar 15;9(1):1–9. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s11684-015-0381-3>
 47. Tran TH, Loh ML. Ph-like acute lymphoblastic leukemia. *Hematology* [Internet]. 2016 Dec 2;2016(1):561–6. Available from: <https://ashpublications.org/hematology/article/2016/1/561/20981/Phlike-acute-lymphoblastic-leukemia>
 48. Khan M, Siddiqi R, Tran TH. Philadelphia chromosome-like acute lymphoblastic leukemia: A review of the genetic basis, clinical features, and therapeutic options. *Semin Hematol* [Internet]. 2018 Oct;55(4):235–41. Available from: <https://doi.org/10.1053/j.seminhematol.2018.05.001>
 49. Chiaretti S, Gianfelici V, O'Brien SM, Mullighan CG. Advances in the Genetics and Therapy of Acute Lymphoblastic Leukemia. *Am Soc Clin Oncol Educ B* [Internet]. 2016;36:e314–22. Available from: <http://meetinglibrary.asco.org/content/156628-176>
 50. Cario G, Zimmermann M, Romey R, Gesk S, Vater I, Harbott J, et al. Presence of the P2RY8-CRLF2 rearrangement is associated with a poor prognosis in non-high-risk precursor B-cell acute lymphoblastic leukemia in children treated according to the ALL-BFM 2000 protocol. *Blood* [Internet]. 2010 Jul 1;115(26):5393–7. Available from: <https://ashpublications.org/blood/article/115/26/5393/130856/Presence-of-the-P2RY8CRLF2-rearrangement-is>
 51. Hunger SP, Raetz EA, Loh ML, Mullighan CG. Improving outcomes for high-risk ALL: Translating new discoveries into clinical care. *Pediatr Blood Cancer* [Internet]. 2011 Jun;56(6):984–93. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/pbc.22996>
 52. Harrison CJ. Blood Spotlight on iAMP21 acute lymphoblastic leukemia (ALL), a high-risk

- pediatric disease. *Blood* [Internet]. 2015 Feb 26;125(9):1383–6. Available from: <https://ashpublications.org/blood/article/125/9/1383/34197/Blood-Spotlight-on-iAMP21-acute-lymphoblastic>
53. Heerema NA, Carroll AJ, Devidas M, Loh ML, Borowitz MJ, Gastier-Foster JM, et al. Intrachromosomal Amplification of Chromosome 21 Is Associated With Inferior Outcomes in Children With Acute Lymphoblastic Leukemia Treated in Contemporary Standard-Risk Children’s Oncology Group Studies: A Report From the Children’s Oncology Group. *J Clin Oncol* [Internet]. 2013 Sep 20;31(27):3397–402. Available from: <http://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2013.49.1308>
54. Moorman A V., Robinson H, Schwab C, Richards SM, Hancock J, Mitchell CD, et al. Risk-Directed Treatment Intensification Significantly Reduces the Risk of Relapse Among Children and Adolescents With Acute Lymphoblastic Leukemia and Intrachromosomal Amplification of Chromosome 21: A Comparison of the MRC ALL97/99 and UKALL2003 Trials. *J Clin Oncol* [Internet]. 2013 Sep 20;31(27):3389–96. Available from: <http://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2013.48.9377>
55. Pui C-H, Nichols KE, Yang JJ. Somatic and germline genomics in paediatric acute lymphoblastic leukaemia. *Nat Rev Clin Oncol* [Internet]. 2019 Apr 13;16(4):227–40. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41571-018-0136-6>
56. Clappier E, Gardel N, Bakkus M, Rapion J, De Moerloose B, Kastner P, et al. IKZF1 deletion is an independent prognostic marker in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia, and distinguishes patients benefiting from pulses during maintenance therapy: results of the EORTC Children’s Leukemia Group study 58951. *Leukemia* [Internet]. 2015 Nov 8;29(11):2154–61. Available from: <http://www.nature.com/articles/leu2015134>
57. Bonn BR, Krieger D, Burkhardt B. Cell cycle regulatory molecular profiles of pediatric T-cell lymphoblastic leukemia and lymphoma. *Leuk Lymphoma* [Internet]. 2012 Apr 27;53(4):557–68. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/10428194.2011.616614>
58. Addeo R, Caraglia M, Baldi A, D’Angelo V, Casale F, Crisci S, et al. Prognostic role of bcl-xL and p53 in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Biol Ther* [Internet]. 2005 Jan 27;4(1):39–45. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.4161/cbt.4.1.1371>
59. Perez-Andreu V, Roberts KG, Harvey RC, Yang W, Cheng C, Pei D, et al. Inherited GATA3 variants are associated with Ph-like childhood acute lymphoblastic leukemia and risk of relapse. *Nat Genet* [Internet]. 2013 Dec 20;45(12):1494–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/ng.2803>
60. Migliorini G, Fiege B, Hosking FJ, Ma Y, Kumar R, Sherborne AL, et al. Variation at 10p12.2 and 10p14 influences risk of childhood B-cell acute lymphoblastic leukemia and phenotype. *Blood*

- [Internet]. 2013 Nov 7;122(19):3298–307. Available from:
<https://ashpublications.org/blood/article/122/19/3298/31997/Variation-at-10p122-and-10p14-influences-risk-of>
61. Takeuchi S, Tsukasaki K, Bartram CR, Seriu T, Zimmermann M, Schrappe M, et al. Long-term study of the clinical significance of loss of heterozygosity in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* [Internet]. 2003 Jan 3;17(1):149–54. Available from:
<http://www.nature.com/articles/2402727>
 62. Niedzielska E, Weclawek-Tompol J, Matkowska-Kocjan A, Chybicka A. The Influence of Genetic RFC1, MS and MTRR Polymorphisms on the Risk of Acute Lymphoblastic Leukemia Relapse in Children and the Adverse Effects of Methotrexate. *Adv Clin Exp Med*. 2013;22(4):579–84.
 63. Bhojwani D, Pui C-H. Relapsed childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet Oncol* [Internet]. 2013 May;14(6):e205–17. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045\(12\)70580-6](http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045(12)70580-6)
 64. Gaipa G, Basso G, Biondi A, Campana D. Detection of minimal residual disease in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Cytom Part B Clin Cytom* [Internet]. 2013 Nov;84(6):359–69. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/cyto.b.21101>
 65. Qin X, Zhang MY, Liu WJ. Application of minimal residual disease monitoring in pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2018;22(20):6885–95.
 66. Martin A, Morgan E, Hijiya N. Relapsed or Refractory Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia. *Pediatr Drugs* [Internet]. 2012 Dec 1;14(6):377–87. Available from:
<http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00148581-201214060-00004>
 67. Heyman M, Bacon L, Baruchel A, Bierings M, Brito M, Buchner J, et al. ALLTogether1 – A Treatment study protocol of the ALLTogether Consortium for children and young adults (1-45 years of age) with newly diagnosed acute lymphoblastic leukaemia (ALL). Solna; 2020. (Version 1.3). Report No.: 2018-001795–38.
 68. Brown P, Inaba H, Annesley C, Beck J, Colace S, Dallas M, et al. Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia, Version 2.2020, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Cancer Netw* [Internet]. 2020 Jan;18(1):81–112. Available from:
<https://jnccn.org/view/journals/jnccn/18/1/article-p81.xml>