

Resumo de Artigo em Onco-hematologia

Identificação da fusão gênica MYST3-CREBBP em crianças com LMA e hemofagocitose



Bruno Marcelo Rocha Freire¹

Publicado na Rev. Bras. Hematol hemoter. 2016;38(4):291–297, com mesmo título.
Autores: Francianne Gomes Andrade, Elda Pereira Noronha, Rosania Maria Baseggio, Teresa Cristina Cardoso Fonseca, Bruno Marcelo Rocha Freire, Isis M. Quezado Magalhães, Ilana R. Zalberg, Maria S. Pombo-de-Oliveira.

RESUMO

LMA apresenta uma translocação (8;16) (p11; p13) que gera a fusão gênica MYST3-CREBBP, que é mais comumente vista em adultos. Essa translocação (8;16) (p11; p13) está associada à idade precoce, diferenciação monocítica e hemofagocitose e sendo indicativo de pior prognóstico. **Método:** série de 266 casos de LMA em pacientes pediátricos no período de 2003 a 2012. Foram incluídas crianças com menos de 2 anos de idade, com LMA e presença de hemofagocitose. Foram incluídos 48 casos de LMA sem hemofagocitose. O método de hibridização fluorescente in situ (FISH) para os rearranjos MLL foi realizado ao diagnóstico, assim como o FISH para rearranjo MYST3-CREBBP. **Resultados:** dos casos analisados, 5 estavam associados à fusão MYST3-CREBBP e tinham associação com: hepatoesplenomegalia, lesões de pele ou cloroma localizados. **Discussão:** a alta frequência de LMA MYST3-CREBBP em bebês (idade < 24 meses) e casos de LMA congênita favorecem a hipótese de que a leucemia ocorre durante a vida intrauterina e pode ser utilizada para explorar melhor o entendimento da leucemogênese da LMA.

PALAVRAS-CHAVE: MYST3-CREBBP, LMA, hemofagocitose.

INTRODUÇÃO

Subgrupos citogenéticos específicos de Leucemia Mieloide Aguda (LMA) tem sido associados com a idade do paciente.¹ LMA apresenta uma translocação (8;16) (p11;p13) que gera a fusão gênica MYST3-CREBBP, que é mais comumente vista em adultos.² Ocorre quando ambos mostram atividade de histona acetiltransferase, levando à ativação de alvos principais, envolvendo o controle de ciclo celular e regulação da transcrição.² A evidência de LMA com essa fusão gênica foi evidenciada pelo Grupo de Estudo Internacional Berlin-Frankfurt-Munster (BFM)³, em que 62 pacientes pediátricos com LMA, quando fizeram o cariótipo de medula óssea,

identificaram a translocação (8;16) (p11;p13) e estavam associados à idade precoce, diferenciação monocítica e hemofagocitose e sendo indicativo de pior prognóstico.³ Essa alteração citogenética foi associada à coagulação intravascular disseminada e a alta taxa de mortalidade em uma série de pacientes com LMA em estudo na França.⁴ Essas características clínicas, citológicas, citogenéticas e moleculares de LMA com MYST3-CREBBP levaram a Organização Mundial de Saúde a sugerir a criação de uma categoria única, em decorrência do prognóstico ruim.⁵

Uma identificação eficaz de casos com essa fusão necessita de avaliação de características morfológicas, citogenéticas e moleculares. Esse artigo, através de estudos de uma série de pacientes com LMA, visa pesquisar a fusão gênica e definir as características moleculares importantes.

METODOLOGIA

Série de 266 casos de LMA em pacientes pediátricos pertencentes ao Grupo de Estudo de Leucemia Aguda na infância, no período de 2003 a 2012. Foram incluídos crianças com menos de 2 anos de idade, com LMA e presença de hemofagocitose. Foram incluídos 48 casos de LMA sem hemofagocitose.

Hemofagocitose foi definida pela presença da fagocitose de células vermelhas, linfócitos ou plaquetas pelos blastos leucêmicos. Foram excluídos os casos de LMA secundária, associados à Síndrome de Down, e síndrome hemofagocítica associada a doenças imunes e febre inexplicada.

Foram analisadas amostras de aspirado de medula óssea, sangue periférico, sendo realizados estudos de citogenética e molecular.

A classificação de LMA seguiu os critérios da Organização Mundial de Saúde (OMS), sendo a LMAS-M7 classificada na presença de CD41/CD61 e CD 42 nos blastos leucêmicos.

Realizada a reação de cadeia de polimerase re-

versa (PCR). Foram investigados em todos os casos a presença da fusão gênica: RUNX1-RUNX1T, CBF β -MYH11, BCR-ABL1, MLL-AFF1 and MLL-MLLT3. A detecção da fusão transcrita do MYST3-CREBBP e CREBBP-MMYST3 reversa foi realizada utilizando primers específicos. A técnica de RT-PCR é amplamente utilizada para verificar a expressão gênica, uma vez que analisa o RNA responsável pela síntese de proteínas. Se há uma proteína específica, é porque há DNA sendo expresso e originando mRNA para tal proteína.⁶

O método de hibridização fluorescente in situ (FISH) para os rearranjos MLL foi realizado ao diagnóstico, assim como o FISH para rearranjo MYST3-CREBBP. FISH é um método que utiliza recursos moleculares para analisar os cromossomos, ou seja, é o mapeamento de um gene por hibridização molecular de uma sequência de DNA clonada (sonda), marcada por fluorescência.

Pode-se identificar pelo FISH o número de cópias de um determinado cromossomo, o que lhe confere uma grande aplicabilidade e rapidez de diagnóstico para aneuploidias, pois dispensa a necessidade de crescimento em culturas de células para a obtenção de núcleos em metáfase, como na citogenética clássica.⁶

Todos os pacientes consentiram em uso de suas amostras através de termo de consentimento, aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Instituto Nacional do Câncer.

RESULTADOS

Apenas 11 pacientes preencheram os critérios de inclusão. Os mesmos tinham como características clínicas: hepatoesplenomegalia, 3 tiveram relato de cloroma (tumor sólido por blastos leucêmicos) e 1 paciente com doença em Sistema Nervoso Central (SNC). A maioria dos pacientes era do sexo masculino (72,7%), com média de idade de 12 meses (0-23 meses). A contagem de glóbulos brancos variaram de 5.700 a 111.100 leucócitos com mediana de 35.900. 6 casos foram de LMA-M2 (mielomonocítica), 3 casos de LMA-M7 (megacariocítica) e 2 casos de LMA-M2 (mieloblástica). Foram realizados testes sorológicos para infecção viral (Epstein Baar, Parvovírus B19 e Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV)) e coagulograma, que foram normais.

O método de FISH demonstrou 3 modelos de fluorescência, classificados como normal, cosinal localizado (modelo de fusão única) e sinal duplo consistente com os pontos de quebra MYST3-CREBBP.

RT-PCR foi realizado em 55 amostras, sendo 7 de pacientes com LMA com fagocitose e 48 amostras sem hemofagocitose (Controles). Em 4 casos, o RT-PCR não foi realizado em decorrência da perda de

material biológico. Em todos os casos de LMA sem hemofagocitose, o RT-PCR foi negativo. O diagnóstico da fusão gênica MYST3-CREBBP foi baseado no resultado de FISH isolado ou combinado com RT-PCR. Dos casos analisados, 5 estavam associados à fusão MYST3-CREBBP e tinham associação com: hepatoesplenomegalia, lesões de pele ou cloroma localizados. Todos os pacientes foram tratados segundo protocolo BFM-2004. Dos 5 pacientes com positividade para a fusão, apenas 1 está vivo.

DISCUSSÃO

Anormalidades cromossômicas em LMA na faixa etária pediátrica são frequentes, contudo o rearranjo MYST3-CREBBP é incomum e mais frequente em adultos.⁷ Foi relatado nesse estudo pela primeira vez a presença desse rearranjo em 5 casos de um total de 11(36.4%) de LMA com hemofagocitose.

Clinicamente, esses casos aparentam ter uma apresentação distinta de manifestações com nódulos cutâneos, envolvimento de SNC e cloroma. Há associação de outras alterações cromossômicas com hemofagocitose, tais como t (16;21) (p11;q22) e t (8;19) (p11;q32), o que justificaria a presença de hemofagocitose pelas células blásticas na ausência da fusão MYST#-CREBBP.⁸ Há uma associação maior entre a morfologia mielomonocítica (LMA-M2), expressão de CD56 e hemofagocitose.⁸ Recentemente, Panagopoulos e colaboradores descreveram LMA com hemofagocitose com pontos de quebra que sugerem outros genes diferentes do MYST3 e CREBBP.⁹

Casos de crianças com LMA e hemofagocitose, menores que 2 anos de idade, deveriam ser investigados para a presença da fusão MYST3-CREBBP. No estudo I BFM houve associação de LMA congênita e a presença de fusão do gene MYST3-CREBBP.³

Alguns autores acreditam que casos de LMA MYST3-CREBBP podem ser uma doença transitória, alcançando remissão hematológica espontânea.¹⁰ Contudo, nesse estudo, a fusão estava associada a doença agressiva e prognóstico reservado.

A alta frequência de LMA MYST3-CREBBP em bebês (idade < 24 meses) e casos de LMA congênita favorecem a hipótese de que a leucemia ocorre durante a vida intrauterina e pode ser utilizada para explorar melhor o entendimento da leucemogênese da LMA.

REFERÊNCIAS

1. Bacher et al. Population-based age-specific incidences of cytogenetic subgroups of acute myeloid leukemia. *Haematologica*.2005;90(11):1502-10.

2. Haferlach et al. AML with translocation t(8;16)(p11;p13) demonstrates unique cytomorphological, cytogenetic, molecular and prognostic features. *Leukemia*.2009;23(5):934-43.

3. Coenen et al. Pediatric acute myeloid leukemia with t(8;16)(p11;p13), a distinct clinical and biological entity: collaborative study by the International-Berlin-Frankfurt-Munster AML- studyGroup. *Blood*. 2013; 122(15): 2704-13.

4. Gervais et al. Acute myeloid leukemia with 8p11 (MYST3) rearrangement: an integrated cytologic, cytogenetic and molecular study by the group francophone de cytogenetique hematologique. *Leukemia*. 2008; 22(8): 1567-75.

5. Vardiman et al. The 2008 revision of the World Health Organization(WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia :rationale and important changes. *Blood*.2009;114(5):937-51.

6. Schmidt HH et al. RT-PCR and FISH analysis of acute Myeloid leukemia with t(8;16)(p11;p13) and Chimeric MOZ and CBP transcripts: Breakpoints cluster region and clinical implications. *Leukemia* 2004;18(6):1115-21.

7. Rubnitz et al. Childhood acute myeloid leukemia. *Br J Haematol*. 2012;159(3):259-76.

8. Hatano et al. Leukemia cells directly phagocytose blood cells in AML-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis: a case report and review of the literature. *Acta HAematol*.2015;133(1):98-100.

9. Panagopoulos et al. Comparison between karyotyping -FISH-reverse transcription PCR and RNA-sequencing-fusion gene identification programs in the detection of KAT6A-CREBBP in acute myeloid leukemia. *PLoS ONE*.2014;9(5):245-53.

10. Wong et al . t(8;16)(p11;p13) predisposes to a transient but potentially recurring neonatal leukemia. *Hum. Pathol*. 2008;39(11):1702-7.

1- Serviço de Oncologia Pediátrica do HSI.
Endereço para correspondência:
brunomfreire@msn.com