

CARIÓTIPO COMPLEXO E ALTERAÇÃO NO PADRÃO DE EXPRESSÃO DE *DNMTs* EM UMA CRIANÇA COM SÍNDROME MIELODISPLÁSICA PRIMÁRIA TRATADA COM TRANSPLANTE DE CÉLULAS TRONCO HEMATOPOIÉTICAS ALOGÊNICO

Silva BF¹, Kós E¹, Tavares RC¹, Sousa A², Costa ES², Lima SCS³, Lovatel VL¹, Fernandez TS¹

¹Laboratório de Citogenética, Centro de Transplante de Medula Óssea (CEMO/INCA)

²Instituto de Pediatria e Puericultura Martagão Gesteira (IPMG/UFRJ)

³Laboratório de Carcinogênese Molecular (CPQ/INCA)

INTRODUÇÃO

A síndrome mielodisplásica (SMD) compreende um grupo heterogêneo de doenças clonais de célula tronco hematopoética, caracterizada por displasias na medula óssea e citopenias no sangue periférico. A SMD é uma doença rara em pacientes pediátricos, representando cerca de 4-9% de todas as malignidades hematológicas desta faixa. Crianças que apresentam este diagnóstico estão associadas a um pior prognóstico quando comparado com os adultos. A análise citogenética possui grande valor na estratificação prognóstica da SMD, sendo o cariótipo complexo classificado como muito desfavorável. Dentre as alterações epigenéticas encontradas na SMD, a metilação do DNA em ilhas CpG, mediada pelas DNA metiltransferases (*DNMTs*), é uma das mais comuns. Alguns estudos vêm mostrando que certos pacientes pediátricos podem se beneficiar com o uso de agentes hipometilantes. No entanto, o transplante de células tronco hematopoética (TCTH) alogênico tem sido considerado o único tratamento com potencial de cura para os pacientes com SMD. Devido a raridade da SMD pediátrica, existem poucos estudos avaliando o impacto das alterações epigenéticas e citogenéticas no TCTH alogênico nesse grupo de pacientes.

OBJETIVO

Descrever o acompanhamento pré e pós-transplante de um paciente pediátrico com SMD, apresentando cariótipo complexo e alterações epigenéticas; discutir a influência dessas alterações e a instabilidade genômica observada devido a aquisição de uma alteração cromossômica clonal na recidiva da doença.

RELATO DE CASO

Paciente do sexo masculino, com 3 anos de idade, iniciou a investigação para evolução de trombocitopenia e foi diagnosticado com síndrome mielodisplásica (SMD), anemia refratária com excesso de blastos (AREB). Durante o diagnóstico a análise citogenética foi realizada em células de medula óssea pelas técnicas de bandeamento GTG e FISH. Esta análise mostrou a presença de um cariótipo complexo 49,XY,del(3)(q21),del(6)(q21),+del(6)(q21),+8,+der(12)del(12)(p11) em 100% da células analisadas (Figura 1). Em seguida, foi feita a análise da expressão relativa dos genes das DNA metiltransferases (*DNMTs*), por PCR quantitativa em tempo real, para o paciente e para 14 doadores pediátricos de medula óssea, utilizados como controle. Foi observado um aumento da expressão das *DNMT1*, *DNMT3A*, *DNMT3B* em relação aos doadores. Três meses após o diagnóstico, o paciente foi indicado para TCTH alogênico e realizou o condicionamento mieloablativo e profilaxia para doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH) com metexano e ciclosporina. Após 180 dias, a criança apresentou recidiva citogenética pós-TCTH mostrando evolução cariotípica clonal, na qual o paciente apresentou 7,5% de células anormais com o cariótipo 50,XY,del(3)(q21),+der(3)del(q21),del(6)(q21),+der(6)del(6)(q21),+8,+der(12)del(12)(p11). (Figura2). A recidiva citogenética foi confirmada em 14,2% de células positivas para trissomia do cromossomo 8 por FISH (Figura 3). Após 8 meses em relação a data do transplante o paciente veio a óbito.

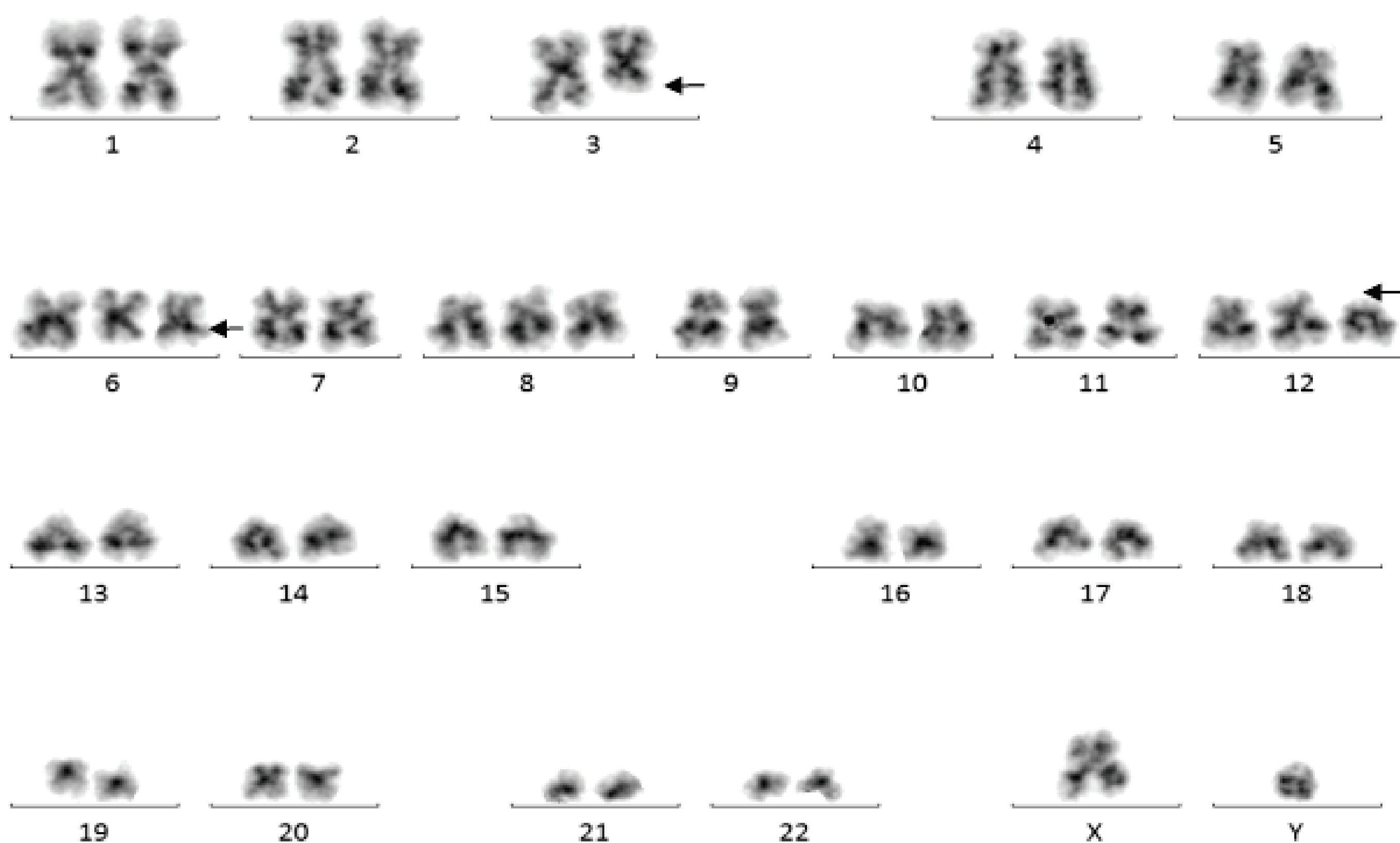


Figura 1: Análise citogenética em células de medula óssea no diagnóstico de um paciente pediátrico com SMD. Cariótipo 50,XY,del(3)(q21),+der(3)del(q21),del(6)(q21),+der(6)del(6)(q21),+8,+der(12)del(12)(p11).

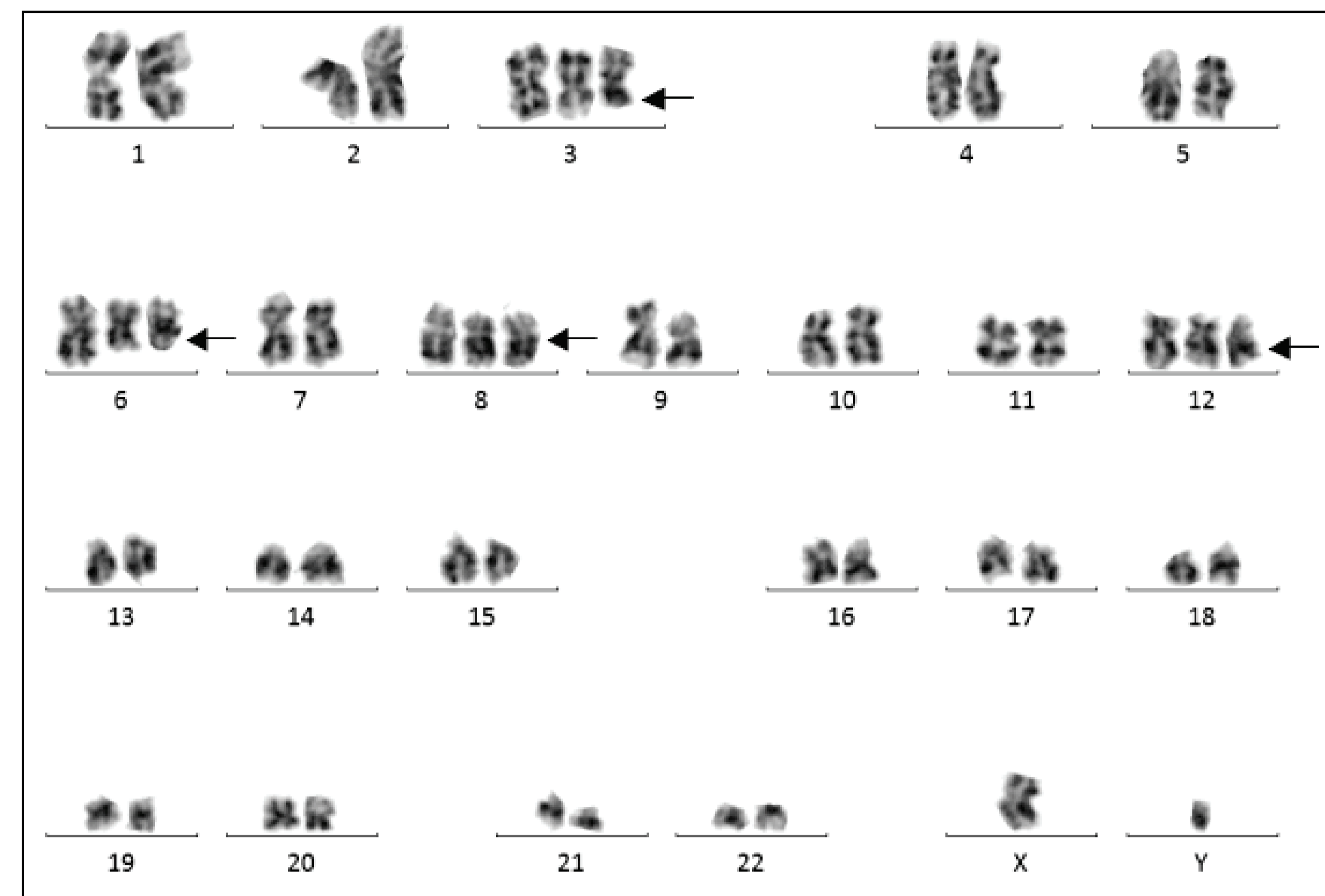


Figura 2: Análise citogenética em células de medula óssea no pós-transplante de um paciente pediátrico com SMD. Cariótipo 50,XY,del(3)(q21),+der(3)del(q21),del(6)(q21),+der(6)del(6)(q21),+8,+der(12)del(12)(p11).

Tabela 1: Análise da expressão dos genes *DNMTs*. Para determinar superexpressão gênica foi baseada no cálculo controles [média + 2*(desvio padrão)] como *cut-off*.

Genes	Paciente ($\Delta\Delta Ct$)	<i>Cut-off</i> ($\Delta\Delta Ct$)	Expressão
<i>DNMT1</i>	10,21828	2,44418	aumentada
<i>DNMT3A</i>	5,909668	4,0053	aumentada
<i>DNMT3B</i>	78,39719	2,462486	aumentada

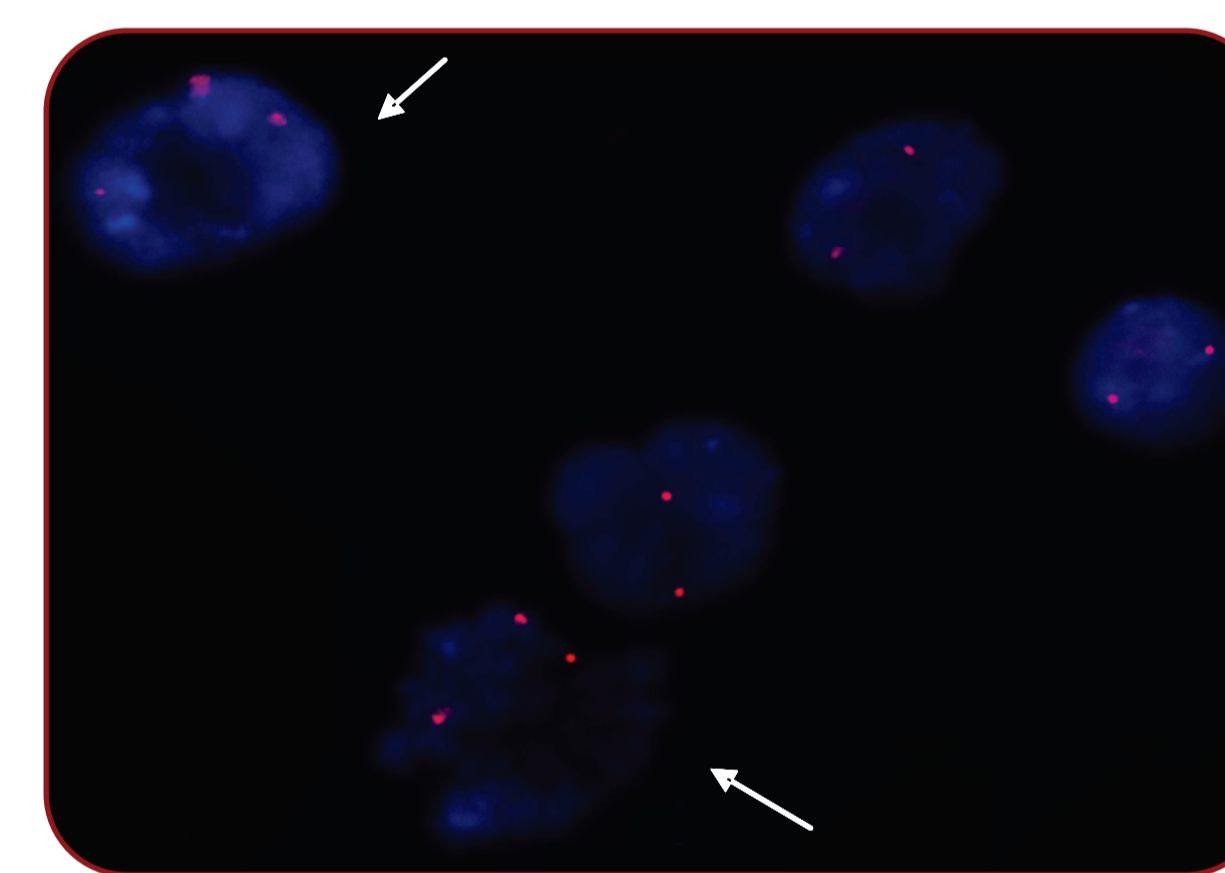


Figura 3: Análise através da hibridização *in situ* por fluorescência da trissomia do cromossomo 8. Presença de duas células anormais (seta) apresentando um sinal extra para o gene *c-Myc* (+8) e células normais com dois sinais para o gene *c-Myc*.

DISCUSSÃO

Cariótipos complexos na SMD, assim como observado neste caso, têm sido descritos como prognóstico desfavorável e indicação para o TCTH alogênico, uma vez que, este é considerado como o único tratamento com potencial de cura. Poucos estudos mostram a aquisição de novas alterações cromossômicas durante o acompanhamento pós-transplante. Porém, neste estudo, foi observada evolução cariotípica clonal com a aquisição de um cromossomo derivativo da del(3)(q21) durante a recidiva. Além disso, o paciente apresentou super-expressão dos genes *DNMT1*, *DNMT3A*, *DNMT3B*. A instabilidade genômica pode estar relacionada com a presença de alterações epigenéticas, onde alterações no padrão de expressão das *DNMTs* possuem um papel relevante.

CONCLUSÃO

A aquisição de uma alteração cromossômica clonal na recidiva da doença mostra a importância da análise citogenética no pós-transplante e sugere a presença de instabilidade genômica. A presença de cariótipo complexo e alterações no padrão de expressão dos genes das *DNMTs* estiveram associadas com um prognóstico desfavorável pós-TCTH alogênico.

APOIO FINANCEIRO: Ministério da Saúde - INCA, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).