

ALTERAÇÃO NO PADRÃO DE EXPRESSÃO DAS *DNMTs* E *TET2* CARIÓTIPO COMPLEXO EM UM PACIENTE PEDIÁTRICO COM SÍNDROME MIELODISPLÁSICA TRATADO COM TRANSPLANTE DE CÉLULAS-TRONCO HEMATOPOIÉTICAS ALOGÊNICO

Lovatel VL¹, Otero L¹, Kós E¹, Tavares RC², Sousa AM³, Lima SCS⁴, Seixas TSF¹

¹Instituto Nacional de Câncer - INCA, Centro de Transplante de Medula Óssea CEMO, Laboratório de Citogenética. ²Instituto Nacional de Câncer - INCA, Centro de Transplante de Medula Óssea CEMO. ³Instituto de Pediatria e Puericultura Martagão Gesteira - IPPMG/ UFRJ. ⁴Instituto Nacional de Câncer - INCA, Laboratório de Carcinogênese Molecular.

INTRODUÇÃO

A síndrome mielodisplásica 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 4% de todas as neoplasias hematológicas. Além disso, tem vários aspectos diferentes de pacientes adultos. A classificação da SMD primária pediátrica é subdividida em três grupos: citopenia refratária da infância (CCR), anemia refratária com excesso de blastos (AREB) e anemia refratária com excesso de blastos em transformação (AREB-t). Na infância, cariótipos anormais ocorrem em 30-55% dos pacientes. A alteração citogenética mais comum é a monossomia do cromossomo 7 (-7), seguida pela trissomia 8 (+8), deleção 11q23 e anormalidades complexas. O transplante de células tronco hematopoéticas (TCTH) alogênico tem sido considerado o único tratamento com potencial de cura para os pacientes com SMD. No entanto, alguns estudos vêm mostrando que certos pacientes pediátricos podem também se beneficiar do uso dos agentes hipometilantes em baixas doses. Devido a raridade da SMD pediátrica, existem poucos estudos mostrando 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. O hemograma inicial revelou trombocitopenia grave e leve anemia macrocítica. A análise do sangue periférico mostrou 12% de blastos mielóides e os seguintes valores: 7,8 g / dl hemoglobina, contagem de plaquetas 163.000 10⁹/l e contagem de leucócitos de 2,47 x10⁹/l. No mielograma evidenciou importante displasia do setor eritroide, displasia e hipoplasia no setor megacariocítico e 14% dos blastos mielóides. A análise da citometria de fluxo das células da medula óssea (MO) apresentou 14,6% de células anormais com blastos megacariocíticos. A análise citogenética foi realizada por bandeamento G. Esta análise revelou um cariótipo complexo [49,XY,del(3)(q21),del(6)(q21),+del(6)(q21),+8,del(12)(p11)] em 100% das células analisadas (Figura 1). O menino foi diagnosticado com síndrome mielodisplásica com excesso de blastos (AREB). Foi observado super-expressão dos genes *DNMT1*, *DNMT3A*, *DNMT3B* e diminuição de expressão do gene *TET2* em relação aos doadores (Tabela 1). O paciente evoluiu com piora das citopenias, necessidade de transfusão, febre e dor óssea. Em um mês, houve evolução da doença e o paciente se evoluiu para AREB-t. O mielograma apresentou 24,75% blastos mielóides, o setor megacariocítico e eritroide apresentaram morfologia atípico com displasias. O paciente foi indicado para TCTH alogênico no Centro de Transplante de Medula Óssea do Instituto Nacional do Câncer. A criança foi transplantada três meses após o diagnóstico e realizou o condicionamento mieloablativo e profilaxia para doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH) com metexano e ciclosporina. Durante o acompanhamento pós-transplante no D + 180, o paciente apresentou em recaída citogenética com 7,5% de células anormais como cariótipo [50,XY,del(3)(q21),der(3)(q21),del(6)(q21),der(6)(q21),+8,+der(12)(del(12)(p11)] (Figura 2). A recaída citogenética foi confirmada em 14,2% de células positivas para trissomia do cromossomo 8 por FISH (Figura 3).

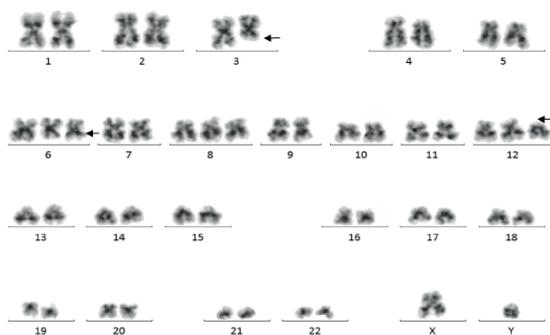


Figura1: Análise citogenética em células de medula óssea no diagnóstico de um paciente pediátrico com SMD. Cariótipo 49,XY,del(3)(q21),del(6)(q21),+der(6)del(6)(q21),+8,+der(12)(del(12)(p11)).

Tabela 1: Análise da expressão dos genes *DNMTs* e *TET2*. Para determinar superexpressão e baixa expressão gênica foi baseada no cálculo controles [média +2*(desvio padrão)] como *cut-off*.

Genes	Paciente (ΔΔCt)	Cut-off (ΔΔCt)	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
<i>TET2</i>	2,76766	6,663429	diminuída

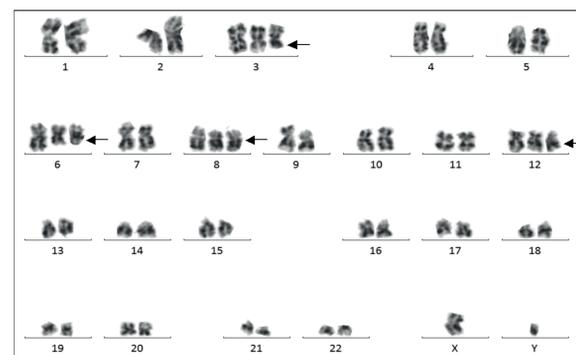


Figura 2: Análise citogenética em células de medula óssea no pós-transplante de um paciente pediátrico com SMD. Cariótipo 49,XY,del(3)(q21),del(6)(q21),+der(6)del(6)(q21),+8,+der(12)(del(12)(p11)).

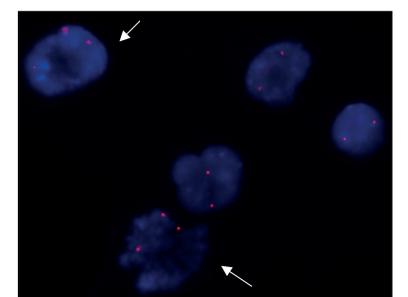


Figura 3: Análise através da hibridização *in situ* por fluorescência da trissomia do cromossomo 8. Presença de duas células anormais (seta) apresentando um sinal extra para o gene *c-Myc* (+8) e células normais com dois sinais para o gene *c-Myc*.

DISCUSSÃO

O cariótipo complexo tem sido descrito como prognóstico desfavorável e indicação para o TCTH alogênico. Poucos estudos mostram a aquisição de novas alterações cromossômicas durante o acompanhamento pós-transplante. Nesse estudo foi observada evolução cariotípica clonal durante a recidiva da doença, sugerindo a presença de instabilidade genômica. A instabilidade genômica pode estar relacionada com a presença de alterações epigenéticas, onde as enzimas *DNMTs* e *TET2* 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* e *TET2* estiveram associadas com um prognóstico desfavorável pós-TCTH alogênico.