

Caracterização molecular das leucemias mieloides agudas pediátricas: resultados de um estudo brasileiro multicêntrico



Francianne Gomes Andrade^a (DO), Elda Pereira Noronha^a, Gisele Dallapicola Brisson^a, Filipe Vicente dos Santos Bueno^a, Ingrid Sardou Cezar^a, Eugênia Terra-Granado^a, Luiz Claudio Santos Thuler^b, Maria S. Pombo-de-Oliveira^a, Brazilian Collaborative Study Group of Childhood Acute Myeloid Leukemia (Imol-AMLBSG)

^a Programa de Hematologia-Oncologia Pediátrica, Centro de Pesquisa, Instituto Nacional de Câncer, Rio de Janeiro, Brasil.

^b Programa de Pesquisa Clínica, Centro de Pesquisa, Instituto Nacional de Câncer, Rio de Janeiro, Brasil

INTRODUÇÃO

As leucemias mieloides agudas pediátricas (LMAs) são neoplasias hematológicas que apresentam grande heterogeneidade genética e fenotípica, consequência da variedade de alterações genômicas que ocorrem nas células hematopoéticas.

Alguns subtipos da doença estão associados a alterações recorrentes representadas, principalmente, pelas translocações cromossômicas que se tornaram biomarcadores úteis na identificação de subgrupos distintos preditivos de respostas ao tratamento e sobrevida (Tabela 1).

Prognóstico	Alteração genética
Favorável	t(8;21)(q22;q22)/RUNX1-RUNX1T1
	inv(16)(p13.1;q22) ou t(16;16)(p13.1;q22)/CBFβ-MYH11
	t(15;17)(q22;q21)/PML-RARα
	LMA com mutação em NPM1
	Mutação bialélica em CEBPA
Variável	MLL-r
Adverso	-7, -5 or del(5q)
	inv(3)(q21;q26.2) or t(3;3)(q21;q26.2)
	t(6;9)(p23;q34)/DEK-NUP214
	t(7;12)(q36;p13)/ETV6(TEL)-HLXB9(MNX1)
	t(4;11)(q21;q23)/MLL-MLLT2(AF4)
	t(6;11)(q27;q23)/MLL-MLLT4(AF6)
	t(5;11)(q35;p15.5)/NUP98-NSD1
	t(10;11)(p12;q23)/MLL-MLLT10(AF10)
	Cariótipo complexo
	WT1mut/FLT3-ITD
	t(9;22)(q34;q11.2)

No Brasil, pouco se conhece sobre as frequências de subtipos das LMAs pediátricas. Com base nisso, nosso objetivo foi investigar a contribuição das alterações gênicas chamadas tipo I (*FLT3*, *c-KIT*, *NRAS*, *KRAS* e *PTPN11*) e II (*RUNX1-RUNX1T1*, *CBFβ-MYH11*, rearranjos do *MLL/KMT2A (KMT2A-r)* e *PML-RARα*) na probabilidade de sobrevida global dos casos de LMA pediátrica.

METODOLOGIA

Foram incluídos 703 casos de LMA pediátrica de novo, com idade ≤21 anos, recebidos no laboratório do Programa de Hematologia-Oncologia Pediátrica, INCA, de 2000-2015. Os casos foram encaminhados de 49 instituições médicas brasileiras referência em tratamento oncológico pediátrico, distribuídos nas regiões geográficas Nordeste, Sul, Sudeste e Centro Oeste (Figura 1), e foram diagnosticados a partir da análise morfológica e imunofenotípica de blastos da medula óssea. Foram excluídos os casos que haviam recebido tratamento quimioterápico, com síndrome mielodisplásica prévia e com síndromes genéticas. Tratamento. Os pacientes foram tratados sem inclusão em um estudo clínico específico, mas a maioria deles seguindo as diretrizes do protocolo BFM-AML2004 a partir do ano de 2008. Com base nisso, as análises foram divididas em dois períodos: de 2000 a 2007 (Primeiro Período) e de 2008 a 2015 (Segundo Período).

Alterações moleculares. Foram analisadas as mutações nos hotspots dos genes *FLT3* (domínio tirosina quinase, TKD, códon 835; e duplicações internas *in tandem* no domínio justamembrana, ITD, éxons 11/12), *NRAS* e *KRAS* (éxon 1), *PTPN11* (éxon 3) e *c-KIT* (éxons 8/17). Foi avaliada a presença das fusões gênicas *RUNX1-RUNX1T1*, *CBFβ-MYH11*, *PML-RARα* e *KMT2A-r* (parceiros de fusão *MLLT3/AF9*, *MLLT10/AF10*, *MLLT1/ENL*, *MLLT4/AF6*, *AFF1/AF4*).

Análises estatísticas. Foram realizadas análises descritivas com as associações entre as variáveis contínuas e categóricas para a determinação da distribuição das frequências. Os testes de χ^2 , exato de Fisher e Mann-Whitney U foram usados para a comparação entre os grupos. A sobrevida global (OS) foi medida pela data de diagnóstico até a data do último seguimento ou data do óbito. O método de Kaplan-Meier foi usado para calcular a probabilidade de OS em 5 anos e os valores foram comparados pelo teste de log-rank. A associação de risco foi calculada pelo modelo de regressão *Cox proportional-hazard*, representada pela razão de risco (HR) e intervalo de confiança (CI) de 95%. As variáveis com $p < 0.20$ foram incluídas no modelo de análise multivariada seguindo o método *stepwise forward*. Os valores de $p < 0.05$ foram considerados estatisticamente significantes.

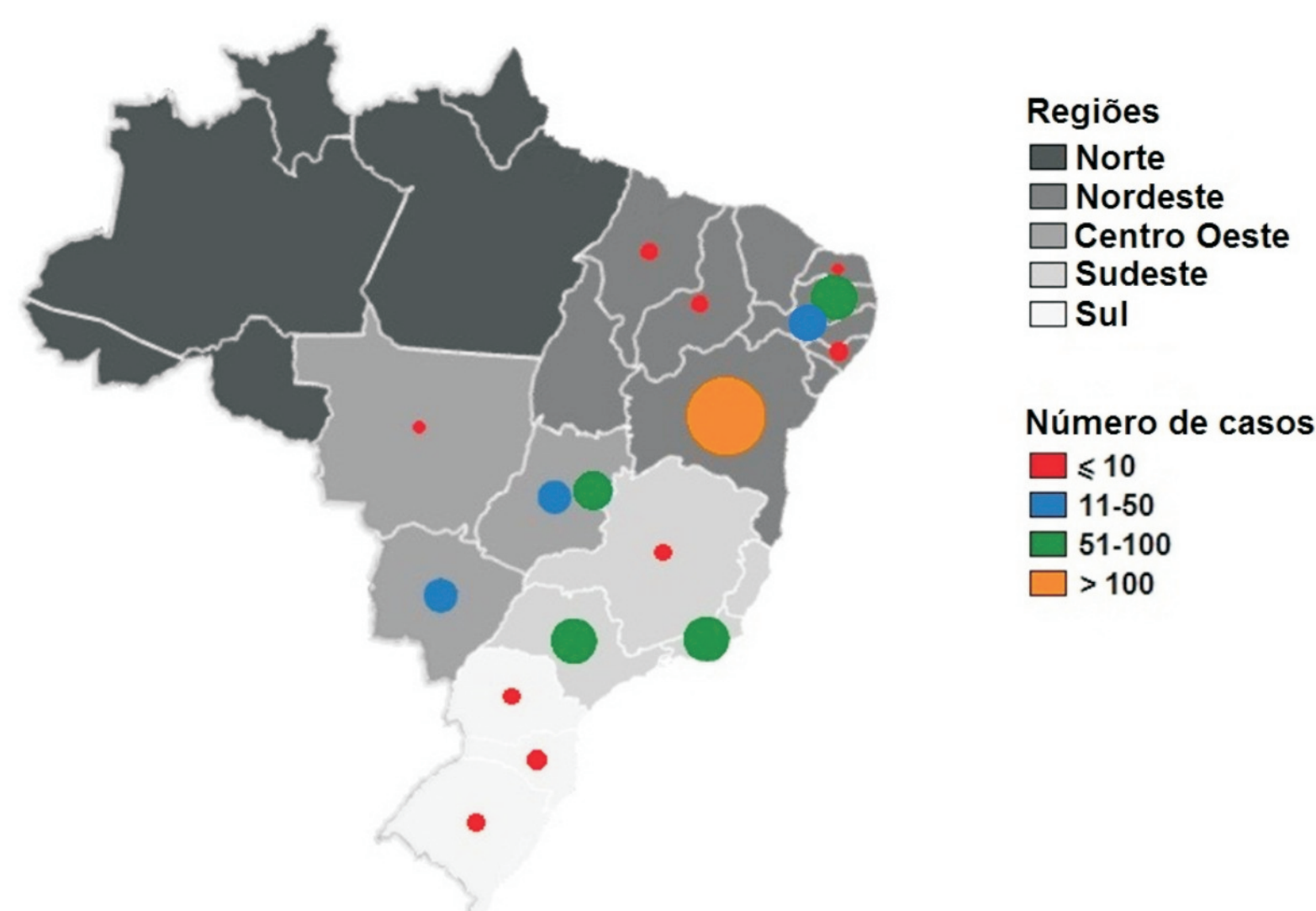


Figura 1. Mapa brasileiro dos casos de LMA pediátrica incluídos no estudo. O número de casos de cada instituição colaboradora está agrupado pelos Estados e apresentados como círculos proporcionais.

RESULTADOS

Tabela 1. Características demográficas e clínicas dos casos de LMA de acordo com o período de análise, Brasil, 2000-2015

Características das LMAs	Idade (anos)		p	Sexo		Contagem de leucócitos (x10 ⁹ /l)	
	Primeiro Período (2000-2007), n (%)	Segundo Período (2008-2015), n (%)		Masculino n (%)	Feminino n (%)	Mediana (mín-máx)	>50 n (%)
Regiões geográficas brasileiras			<0.001				
Nordeste	179 (59.1)	170 (42.5)					
Sul	14 (4.6)	15 (3.8)					
Sudeste	78 (25.7)	98 (24.5)					
Centro Oeste	32 (10.6)	117 (29.2)					
Faixa etária (anos)			0.32				
≤2	81 (26.7)	88 (22.0)					
>2-10	108 (35.6)	157 (39.2)					
≥11	114 (37.6)	155 (38.8)					
Cor da pele			0.31				
Branco	86 (26.3)	161 (40.4)					
Não Branco	153 (63.7)	238 (59.6)					
Sexo			0.01				
Masculino	183 (60.4)	203 (50.8)					
Feminino	120 (39.6)	197 (49.2)					
Seguimento*			<0.001				
Vivo	90 (35.4)	135 (42.3)					
Óbito	81 (31.9)	137 (42.9)					
Sem informação	83 (32.7)	47 (14.7)					
Total, n (%)	303 (43.1)	400 (56.9)					

* Excluindo os casos de leucemia aguda promielocítica

Tabela 2. Distribuição de frequência das alterações moleculares de acordo com a demografia e contagem leucocitária, Brasil, 2000-2015

Alteração molecular	Frequência n/total (%)	Idade (anos)			p	Sexo		p	Contagem de leucócitos (x10 ⁹ /l)		
		Mediana (mín-máx)	≤2 n (%)	>2-10 n (%)		≥11 n (%)	Masculino n (%)		Feminino n (%)	Mediana (mín-máx)	>50 n (%)
Mutações tipo II											
RUNX1-RUNX1T1	74/390 (18.9)	9.3 (0.2-18.3)	9 (12.2)	29 (36)	<0.001	44 (59.5)	30 (40.5)	0.29	20.1 (1.7-136)	58 (80.6)	14 (19.4)
CBFβ-MYH11	23/376 (6.1)	13.3 (0.3-26.1)	4 (17.4)	16 (66.7)	0.04	10 (43.5)	13 (56.5)	0.30	11.1 (0.7-268)	6 (27.3)	16 (72.7)
KMT2A-r	74/398 (18.6)	1.3 (0.0-21.1)	50 (67.6)	16 (21.6)	<0.001	36 (48.6)	38 (51.4)	0.19	54.1 (2.4-451)	96 (50.0)	96 (50.0)
PML-RARα	63/87* (72.4)	11.2 (1.3-18.0)	2 (3.2)	25 (39.7)	0.06	31 (49.2)	32 (50.8)	1.00	10.8 (0.1-800)	48 (77.4)	14 (22.6)
Mutações tipo I											
FLT3 (ITD or TKD)	110/473 (23.3)	11.0 (1.0-21.3)	5 (4.5)	41 (37.3)	<0.001	60 (54.5)	50 (45.5)	0.88	33.5 (0.8-900)	65 (59.1)	45 (40.9)
FLT3-ITD	86/473 (18.2)	10.9 (1.0-21.3)	3 (3.5)	35 (40.7)	<0.001	47 (54.7)	39 (45.3)	0.88	35.6 (0.8-540)	50 (58.1)	36 (41.9)
FLT3-TKD	24/473 (5.1)	11.9 (1.8-19.3)	2 (8.3)	6 (25.0)	0.001	13 (54.2)	11 (45.8)	0.97	25.8 (2.5-800)	15 (62.5)	9 (37.5)
NRAS	30/464 (6.5)	4.6 (0.5-18.3)	9 (30.0)	12 (40.0)	0.73	20 (66.7)	10 (33.3)	0.14	40.4 (1-700)	16 (53.3)	14 (46.7)
KRAS	44/410 (10.7)	10.2 (0.7-18.0)	8 (18.2)	13 (29.5)	0.27	24 (54.5)	20 (45.5)	0.91	48.5 (5.1-800)	23 (52.3)	21 (47.7)
c-KIT	22/210 (10.5)	5.0 (0.3-19.3)	5 (22.7)	12 (54.5)	0.29	13 (59.1)	9 (40.9)	0.32	45.2 (4.5-168)	12 (57.1)	9 (42.9)
PTPN11	27/260 (10.4)	7.5 (0.4-17.1)	5 (18.5)	13 (48.1)	0.66	18 (66.7)	3 (20.0)	0.20	40.0 (1.0-300)	17 (83.0)	3 (17.0)

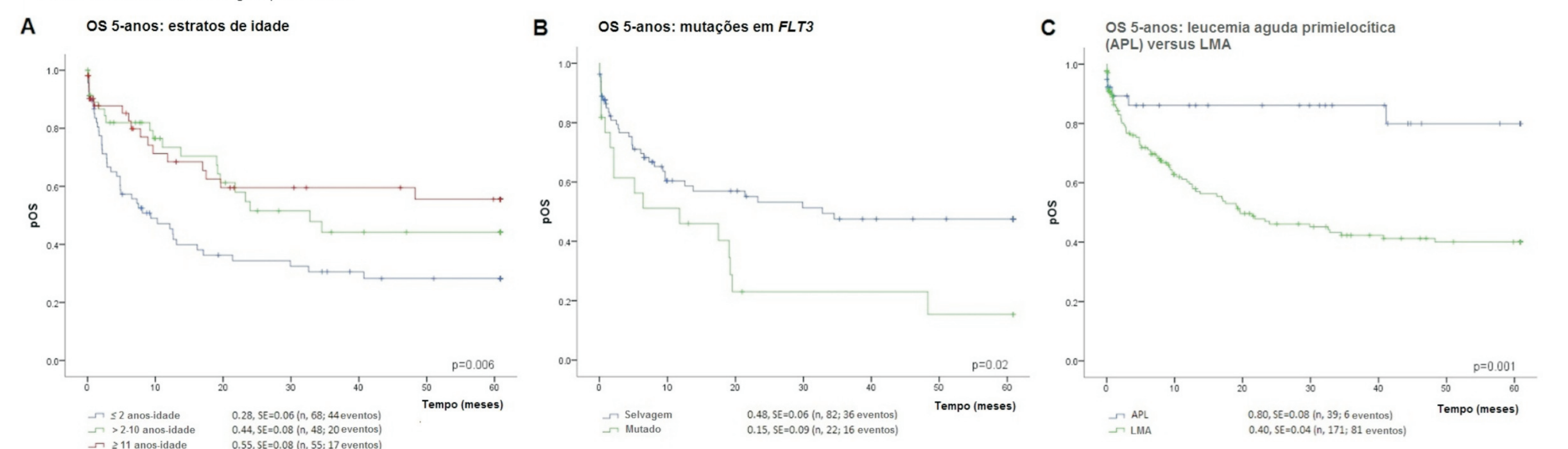


Figura 2. Análise de sobrevida global (OS) para os casos de LMA pediátrica do Primeiro Período (2000-2007). Curvas de Kaplan-Meier para a probabilidade de sobrevida global (pOS) para as faixas etárias (A), mutações em *FLT3* (excluindo os casos de leucemia aguda promielocítica, APL) (B), e APL (C). Valores de p calculados através do teste log-rank. SE, erro padrão

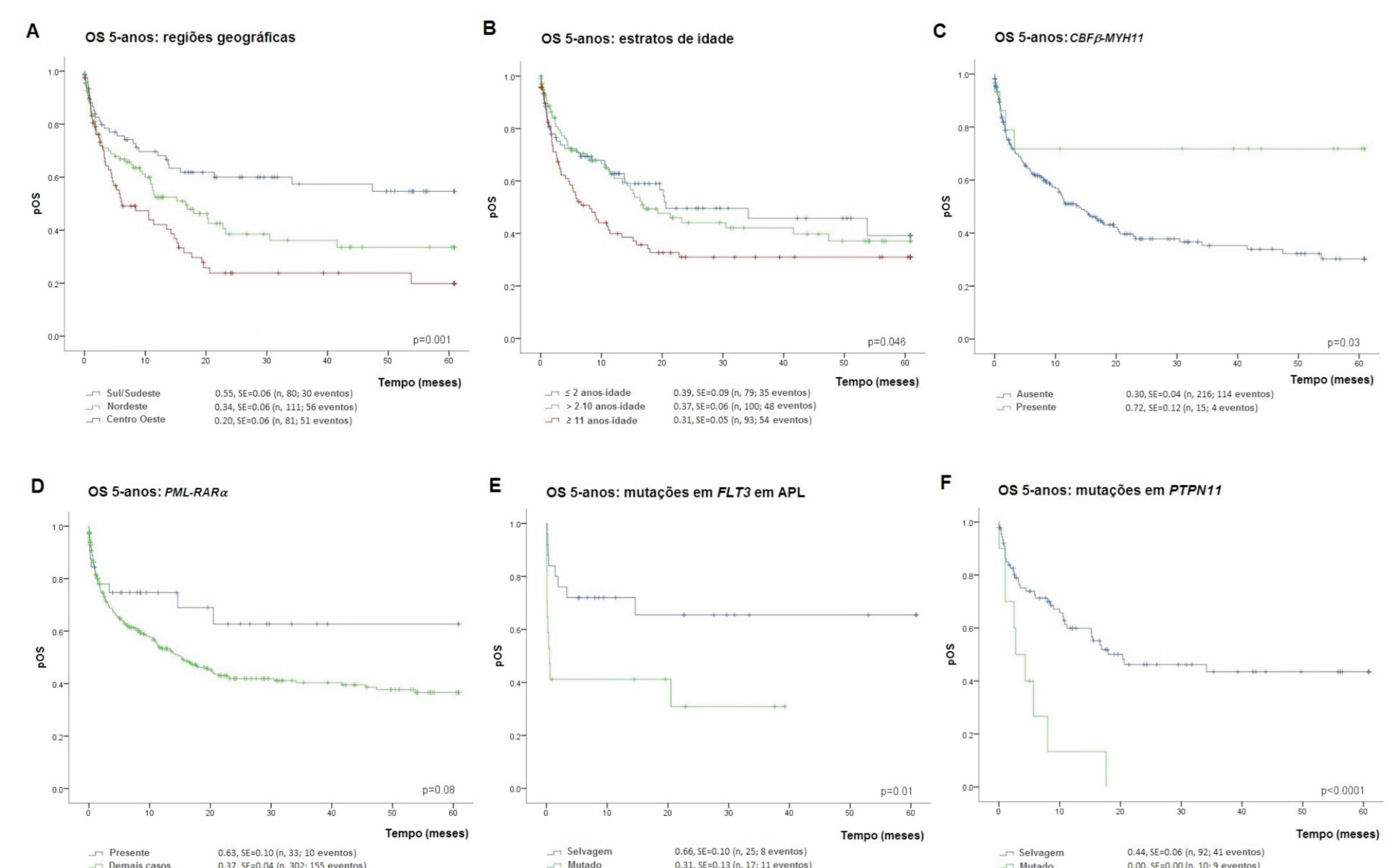


Figura 3. Análise de sobrevida global (OS) para os casos de LMA pediátrica do Segundo Período (2008-2015). Curvas de Kaplan-Meier para a probabilidade de sobrevida global (pOS) para as regiões geográficas (A), faixas etárias (B), presença de *CBFβ-MYH11* (C), presença de *PML-RARα* versus demais casos (D), mutações em *FLT3* entre os casos de leucemia aguda promielocítica (APL) (E), e mutações em *PTPN11* (F). Valores de p calculados através do teste log-rank. SE, erro padrão.

CONCLUSÕES

A identificação de subgrupos genéticos pode contribuir para o conhecimento da epidemiologia molecular e da biologia das LMAs pediátricas, refletindo o panorama atual da sobrevida dos casos brasileiros. Alterações gênicas precisam ser avaliadas como biomarcadores de diagnóstico e prognóstico, especialmente mutações em *PTPN11*, com o desenvolvimento de estudos posteriores para confirmação de seu papel na sobrevida.

Coautores do Brazilian Collaborative Study Group of Childhood Acute Myeloid Leukemia (Imol-AMLBSG): Alejandro Mauricio Arancibia^a, Rosania Maria Basegio^b, Patricia Carneiro de Brito^c, Eny Guimarães Carvalho^d, José Carlos Martins Cordoba^e, Imarui Costa^f, Virginia Maria Cósier^g, Adriana Vanessa Santini Deyl^h, Anna Carolina Silva Diasⁱ, Eloisa Cartaxo Fialho^j, Bruno Marcelo Rocha Freire^k, Renata Silva de Carvalho Gurgel^l, Maura Rosane Valério Ikoma^m, Ingrid Kosterⁿ, Isis Maria Quezadas Magalhães^o, Ana Maria Marinho^p, Renato Melaragno^q, Suellem Valadares Moura^r, Gustavo Ribeiro Neves^s, Claudia Teresa Oliveira^t, Terezinha de Jesus Marques Salles^u, Denise Brownsfield Silva^v, Marcelo Santos Souza^w, Tállita Meciany Farias Vieira^x, Fernando de Almeida Werneck^y, Ana Freund Winn^z, Gustavo Zamperlini^{aa}. Instituições: ^aHospital Amaral Carvalho, Jau, São Paulo; ^bHospital Regional de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Mato Grosso do Sul; ^cHospital Araújo Jorge, Goiânia, Goiás; ^dHospital Martagão Gesteira, Salvador, Bahia; ^eHospital da Criança, Brasília, Distrito Federal; ^fHospital Infantil Joana de Gusmão, Florianópolis, Santa Catarina; ^gHospital Universitário de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul; ^hHospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Rio Grande do Sul; ⁱHospital Napoleão Laureano, João Pessoa, Paraíba; ^jHospital Santa Isabel, Salvador, Bahia; ^kHospital Universitário Alcides Carneiro, Campina Grande, Paraíba; ^lPHOP, Instituto Nacional de Câncer, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro; ^mHospital Santa Marcelina, São Paulo, São Paulo; ⁿHospital Sarina Rolin Caracante, Sorocaba, São Paulo; ^oHospital Universitário Oswaldo Cruz, Recife, Pernambuco; ^pHospital dos Servidores do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro; ^qHospital Infantil Darcy Vargas, São Paulo, São Paulo.

Projeto Gráfico: Serviço de Edição e Informação Técnico-Científica / INCA

