

Estudo de mutações em ASXL1 em pacientes com mielofibrose

Rafaela Reis Vieira (IC)¹, Cristiana Solza², Adelmo Dumas³, Ilana Zalberg¹, Bárbara da Costa Reis Monte-Mór¹.

1- Laboratório de Biologia Molecular, Centro de Transplante de Medula Óssea (CEMO), Instituto Nacional do Câncer,
2- Hospital Universitário Pedro Ernesto, Universidade Estadual do Rio de Janeiro,
3- Hospital Universitário Antônio Pedro, Universidade Federal Fluminense.

INTRODUÇÃO

A mielofibrose primária (MF) pertence ao grupo das neoplasias mieloproliferativas BCR-ABL-negativas (NMPs), doenças que se originam a partir da expansão clonal de uma célula tronco-hematopoética mutada. As NMPs são caracterizadas pela presença de mutações "driver" nos genes *JAK2*, *CALR*, ou *MPL*, o que ocasiona o aumento da proliferação de uma ou mais linhagens mielóides. Essas mutações podem ser acompanhadas por outras mutações, não específicas das NMPs, mas relevantes para o prognóstico, como mutações em *Additional sex combslike 1 (ASXL1)*. O gene *ASXL1* está localizado na região do cromossomo 20q11 e a proteína codificada faz parte de um complexo proteico envolvido na regulação epigenética da expressão gênica (Figura 1). Diversas mutações em *ASXL1* estão descritas, principalmente afetando o éxon 12, sendo a mutação mais frequente uma duplicação de uma guanina (c.1934dupG), provocando uma mudança no quadro de leitura (p.Gly646TrpfsX12) (Figura 2). Atualmente, o prognóstico dos pacientes com MF é definido com base no sistema de pontuação de prognóstico internacional dinâmico (DIPSS-plus), que emprega variáveis clínicas e citogenéticas. Recentemente, um estudo demonstrou que as mutações em *CALR* têm sido associadas com a sobrevivência favorável e mutações em *ASXL1* com a sobrevivência desfavorável em MF, independente da categoria de risco DIPSS-plus (Figura 3). Estas descobertas indicam a importância do estudo molecular para estratificação de risco nesses pacientes, e dessa maneira, definição de um tratamento adequado.

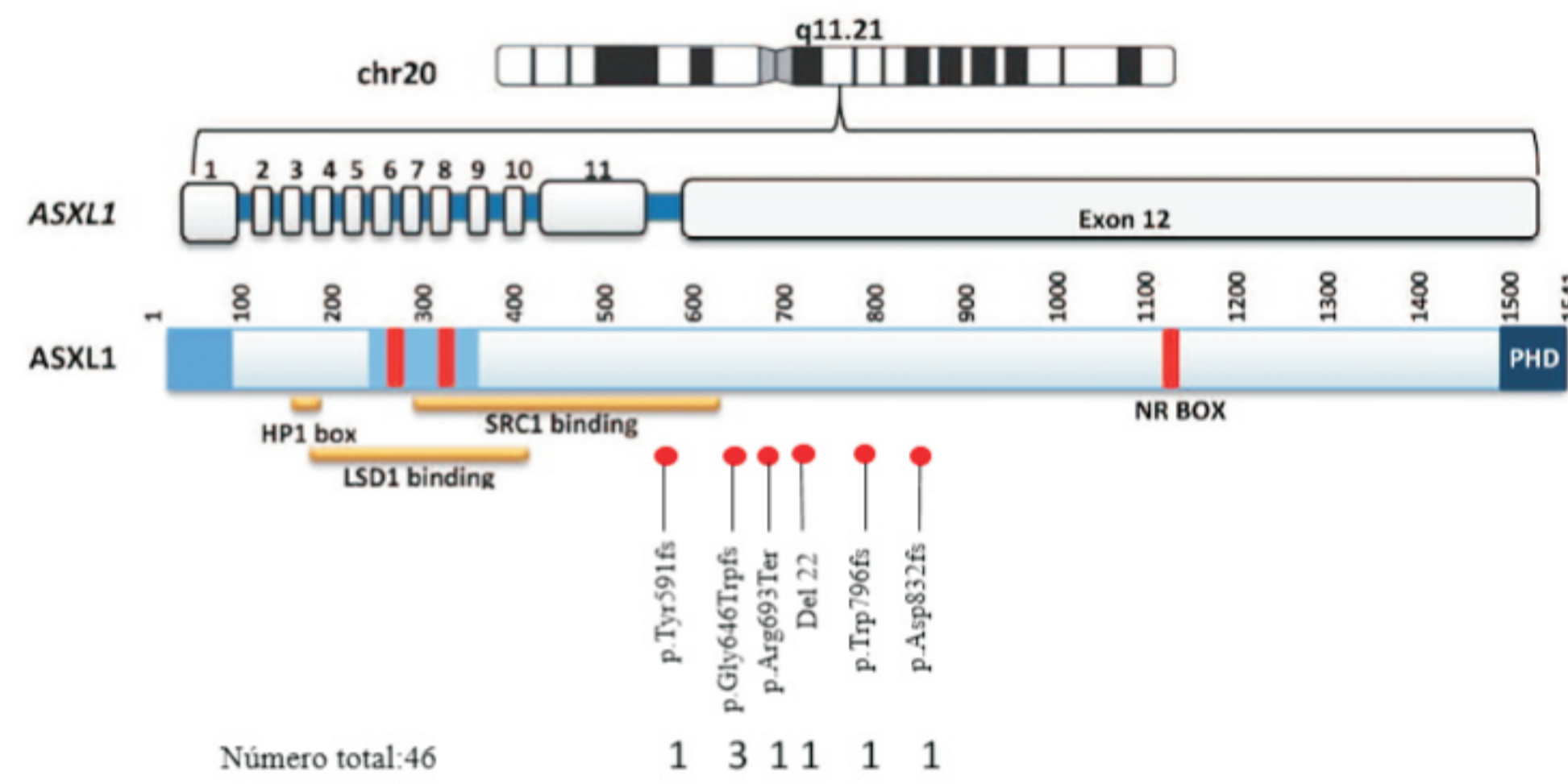


Figura 1: Representação do gene e proteína ASXL1 com domínios conhecidos e localização das mutações encontradas nesse estudo (adaptada de Vannucchi e Biamonte, Haematologia 2011).

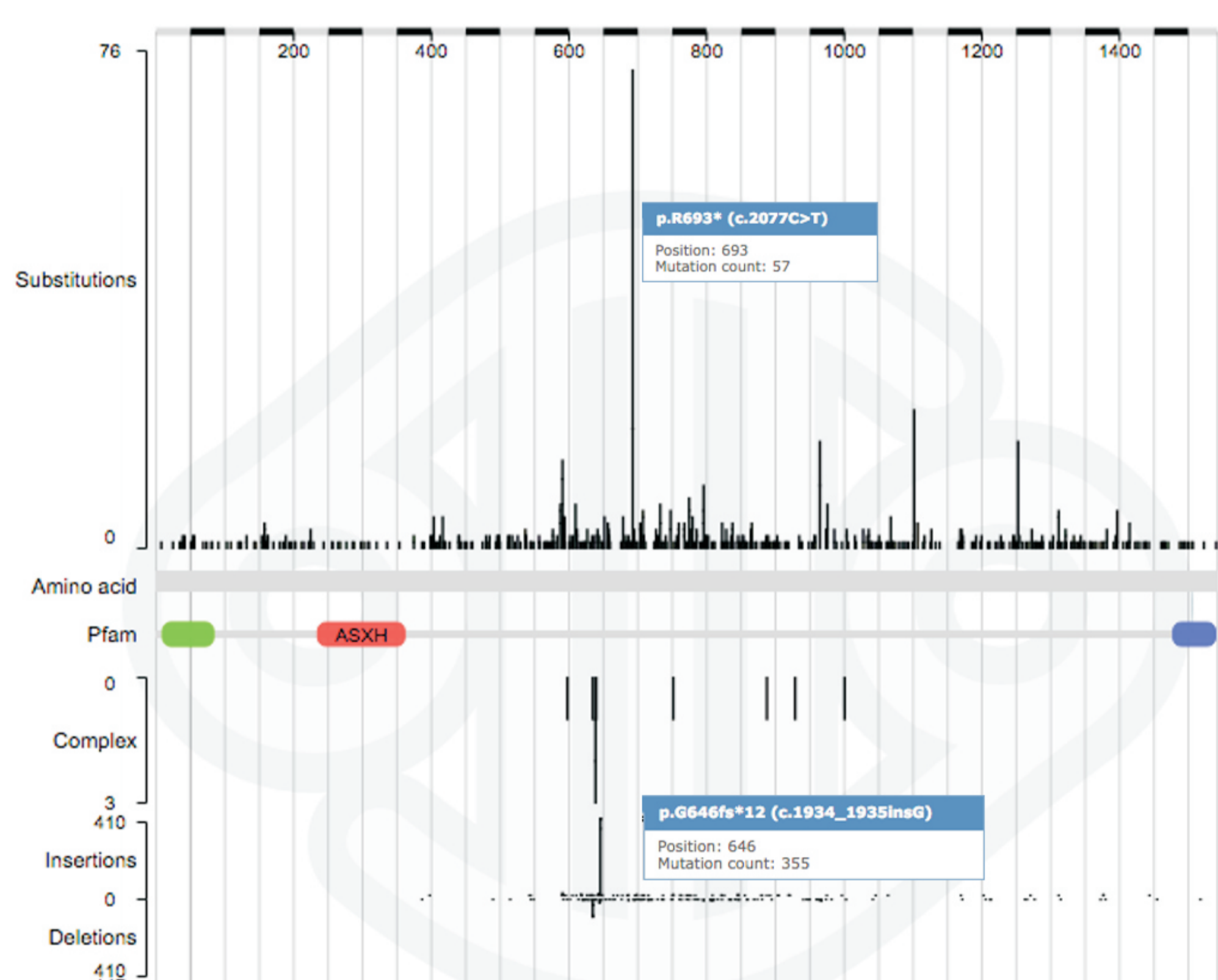


Figura 2: Representação gráfica obtida no banco de dados COSMIC, ilustrando as posições das mutações em ASXL1, em função do número de ocorrências reportadas.

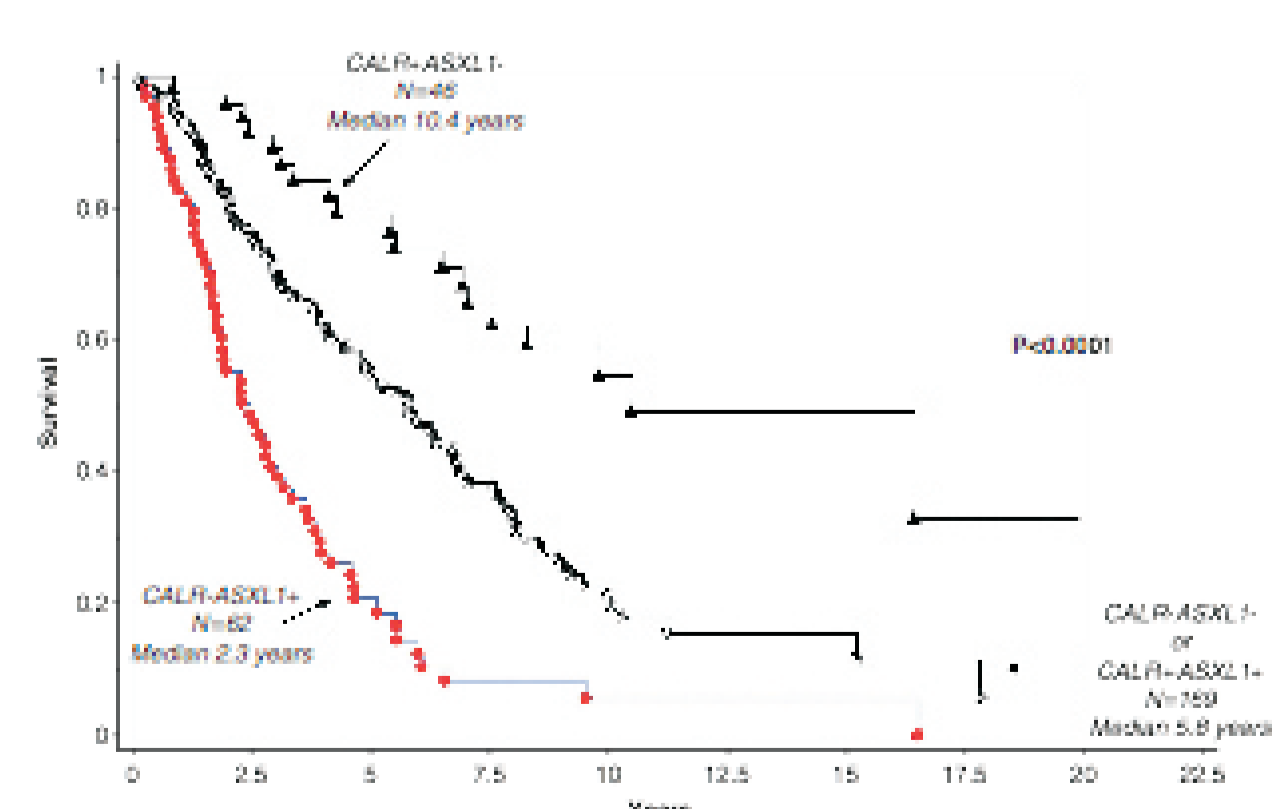


Figura 3: Gráfico de Tefferi et al. Leukemia, 2014 mostrando sobrevivência dos pacientes com mielofibrose em função do genótipo de CALR e ASXL1.

OBJETIVO

Analisar a presença de mutações no gene *ASXL1* em pacientes brasileiros com MF e estudar o impacto clínico dessas mutações.

METODOLOGIA

A metodologia utilizada está ilustrada na figura 4.

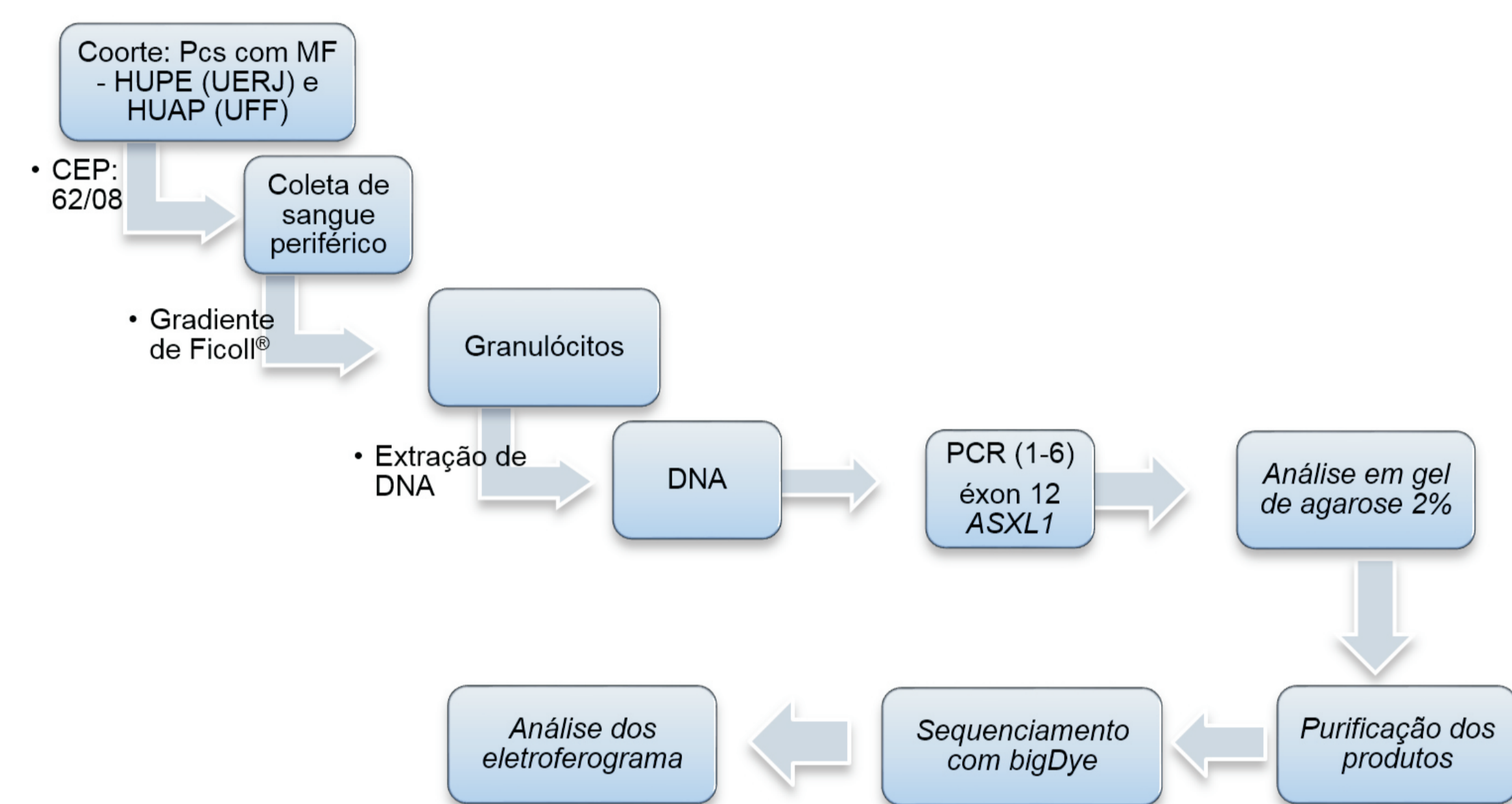


Figura 4: Esquema ilustrativo da metodologia utilizada.

RESULTADOS

Desde fevereiro de 2016 foi possível padronizar as reações de amplificação e sequenciamento direto do gene *ASXL1* nas amostras de pacientes. A coorte de estudo foi levantada no banco de dados, 50 pacientes com MF foram identificados, e foram selecionadas 51 amostras de DNA de 49 pacientes. Até o momento, foi realizado o rastreamento de p.Gly646TrpfsX12 em 46 amostras e identificamos três pacientes positivos para esta mutação. Ainda, confirmando achados prévios obtidos por Next Generation Sequencing, foram encontradas outras cinco mutações, incluindo uma deleção de 22pb (c.2134_2155 delGCCATGTCCAGAGCTAGGAGAG, p.Ala712fs), não descrita no banco de dados COSMIC (Figura 1 e Figura 5).

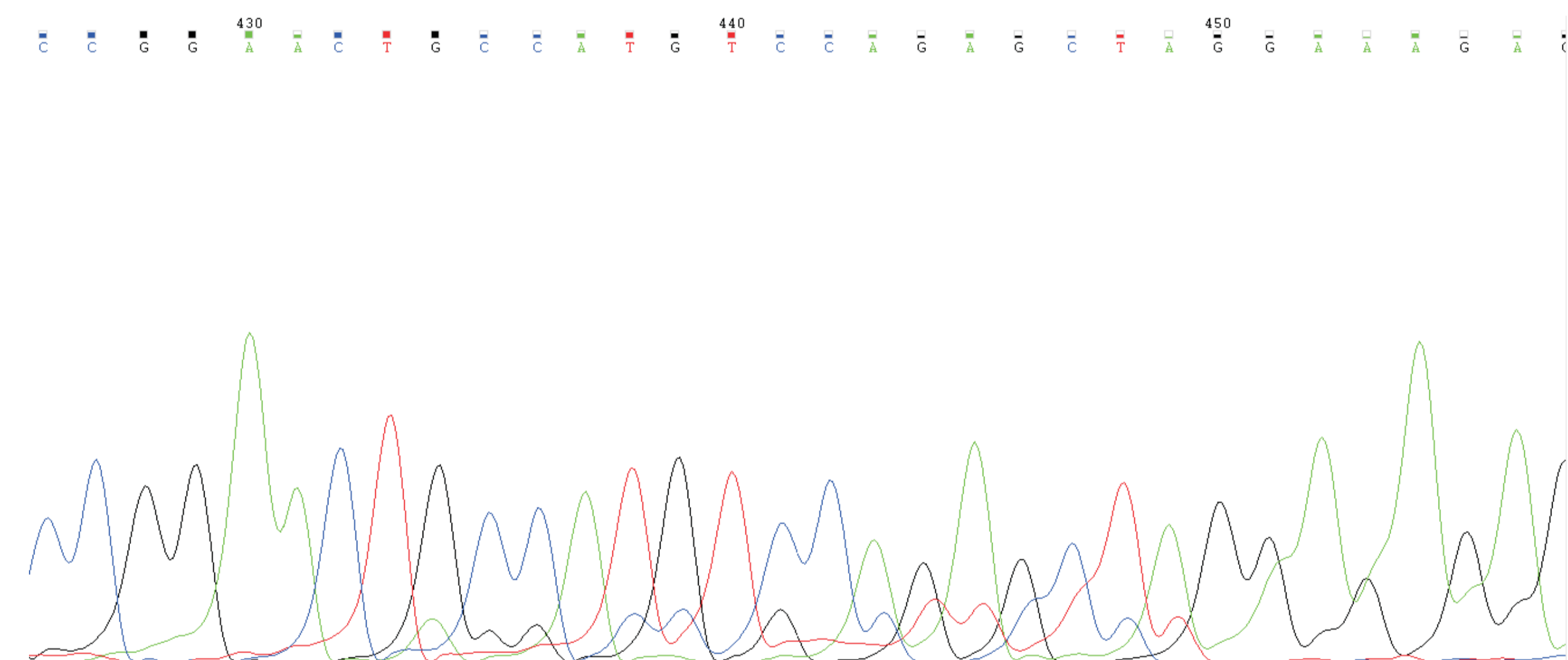


Figura 5: Eletroferograma visualizado no programa Chromas, referente a sequenciamento direto do éxon 12 de ASXL1 em amostra de DNA de granulócito de paciente com mielofibrose, onde se observa a sequência referência e a sequência secundária correspondente à deleção: c.2134_2155 delGCCATGTCCAGAGCTAGGAGAG, p.Ala712fs.

PERSPECTIVAS

Finalizar o estudo das amostras por sequenciamento direto. Analisar amostra não-tumoral do paciente portador da deleção de 22pb, afim de verificar se é uma mutação somática. Analisar os dados clínicos e hematológicos disponíveis no banco de dados e correlacioná-los ao genótipo dos pacientes. Futuramente pretende-se estudar alterações no padrão de expressão de genes possivelmente regulados por *ASXL1* em amostras de pacientes portadores e não portadores de mutação.