

Análise da Presença do Rearranjo no Gene *FOXO1* através da Hibridização “in situ” por Fluorescência em Pacientes Pediátricos com Rbdomiossarcoma

Nicolas Cabral Cunha (Iniciação Científica)¹, Fernanda Ferreira da Silva Lima², Cecília de Souza Fernandez³, Priscila Valverde Fernandes⁴, Paulo Faria⁴, Sima Esther Ferman², Teresa de Souza Fernandez¹

1- Centro de Transplante de Medula Óssea-CEMO, Laboratório de Citogenética, INCA. 2- Serviço de Oncologia Pediátrica, INCA. 3- Instituto de Matemática e Estatística, UFF. 4- Departamento de Anatomia Patológica-DIPAT, INCA.

INTRODUÇÃO

O rbdomiossarcoma (RMS) é o tumor de tecidos moles mais comum da infância. Origina-se no músculo esquelético e apresenta uma incidência de 10-15% dos tumores sólidos pediátricos e 6% de todas as malignidades em crianças. Embora a maioria dos músculos esqueléticos esteja nos membros (braços e pernas) e no tórax, os rbdomiossarcomas geralmente aparecem em outras partes do corpo. O local mais comum é na cabeça e no pescoço, onde pode crescer perto do olho, no interior da boca ou mesmo no pescoço (Figura 1). O RMS apresenta dois subtipos principais, o RMS alveolar (RMSa) e o embrionário (RMSe), que apresentam manifestações clínicas e biológicas distintas. O RMSa está associado com um pior prognóstico. Citogeneticamente, o RMSa apresenta, em cerca de 70-80% dos casos, translocações cromossômicas envolvendo o gene *FOXO-1*, sendo a t(2;13)(q35;q14) em 60% dos pacientes e a t(1;13)(p36;q14) em 20% dos casos. Essas translocações resultam na formação e aumento de expressão dos genes quiméricos *PAX3-FOXO1* e *PAX7-FOXO1*, respectivamente. A metodologia da hibridização “in situ” por fluorescência (FISH) tem sido muito utilizada para a pesquisa em rbdomiossarcoma, caracterizando o subtipo RMSa. Nessa metodologia é investigado a presença do rearranjo envolvendo o gene *FOXO1*, como um biomarcador da doença.

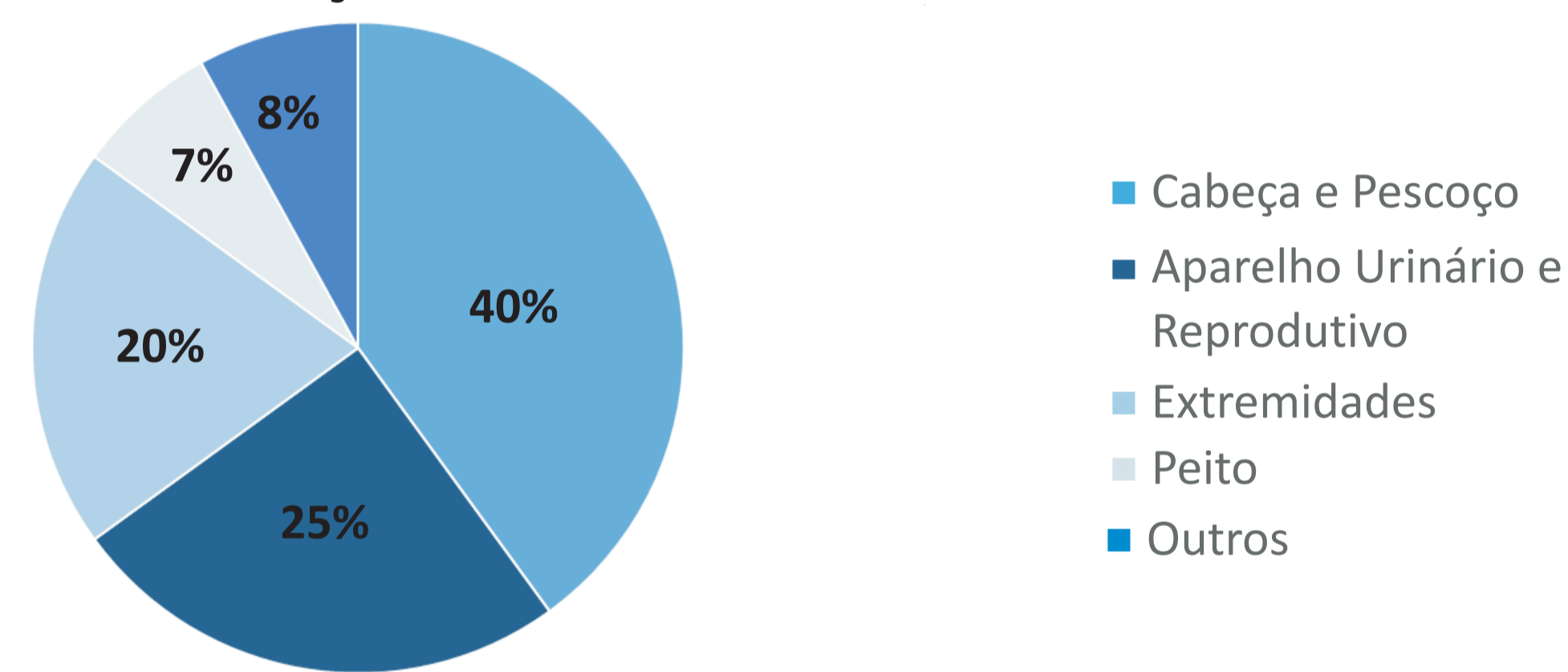


Figura 1: Padrão de distribuição do rbdomiossarcoma em pacientes pediátricos.

OBJETIVO

O objetivo principal deste estudo foi padronizar e analisar a presença do rearranjo no gene *FOXO1* através da hibridização “in situ” por fluorescência (FISH) em pacientes pediátricos com RMS, relatando a frequência desta alteração e sua associação com as características clínicas.

METODOLOGIA

Inicialmente a metodologia de FISH foi padronizada e até o momento foram analisadas 10 amostras de tumores pediátricos com o diagnóstico histopatológico de RMSa. O fluxograma da metodologia pode ser observado na Figura 2. Os pacientes apresentaram uma média de idade de 11 anos, variando de 5 a 18 anos. A técnica de FISH foi realizada a partir de blocos de parafina, utilizando a sonda LSI *FOXO1* (13q14) Dual Color, Break Apart (Vysis) (Figura 3). Este projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa.

Análise da Presença do Rearranjo no Gene *FOXO1* através da Hibridização “in situ” por Fluorescência em Pacientes Pediátricos com Rbdomiossarcoma

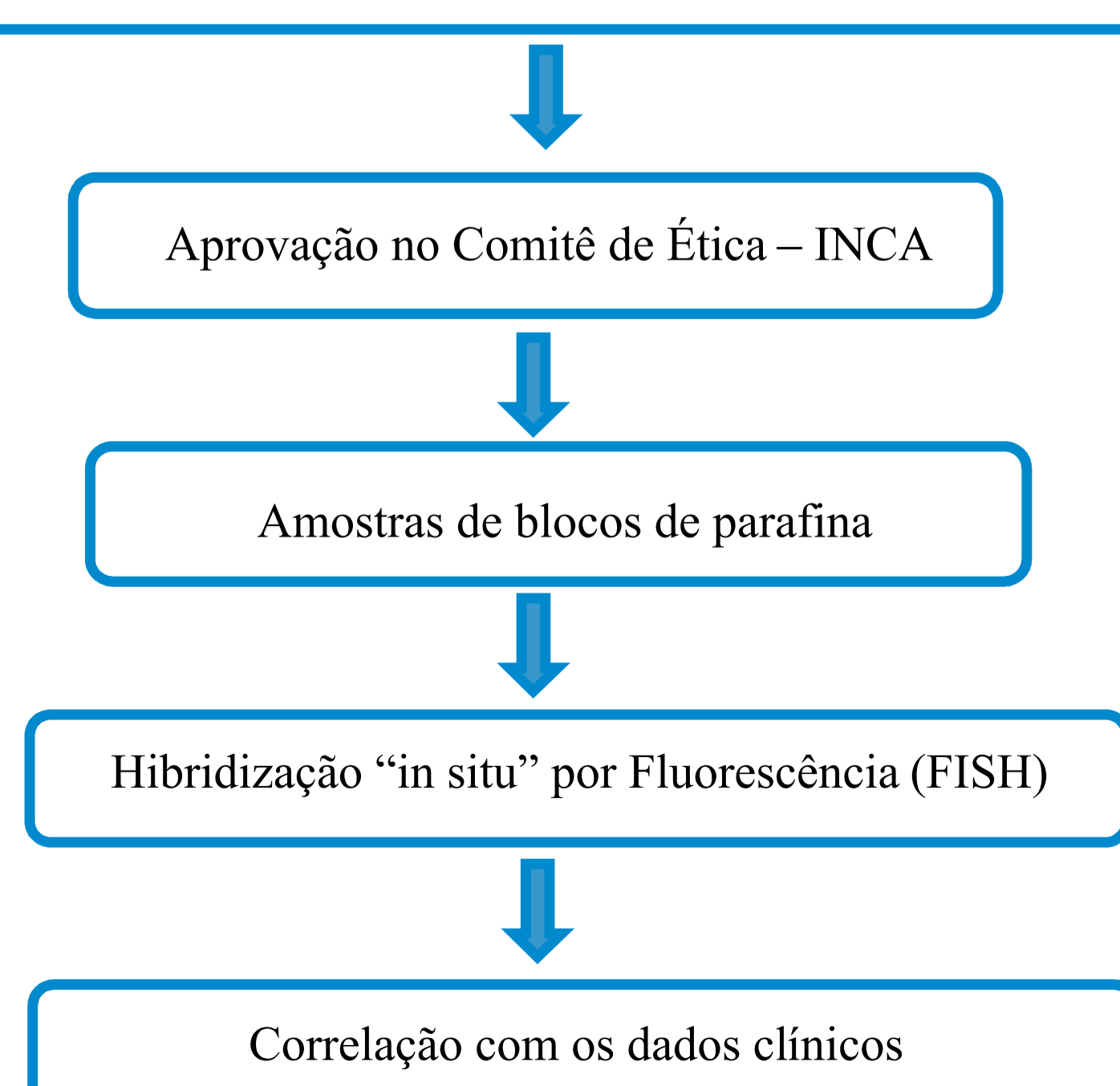


Figura 2: Fluxograma – Metodologia.

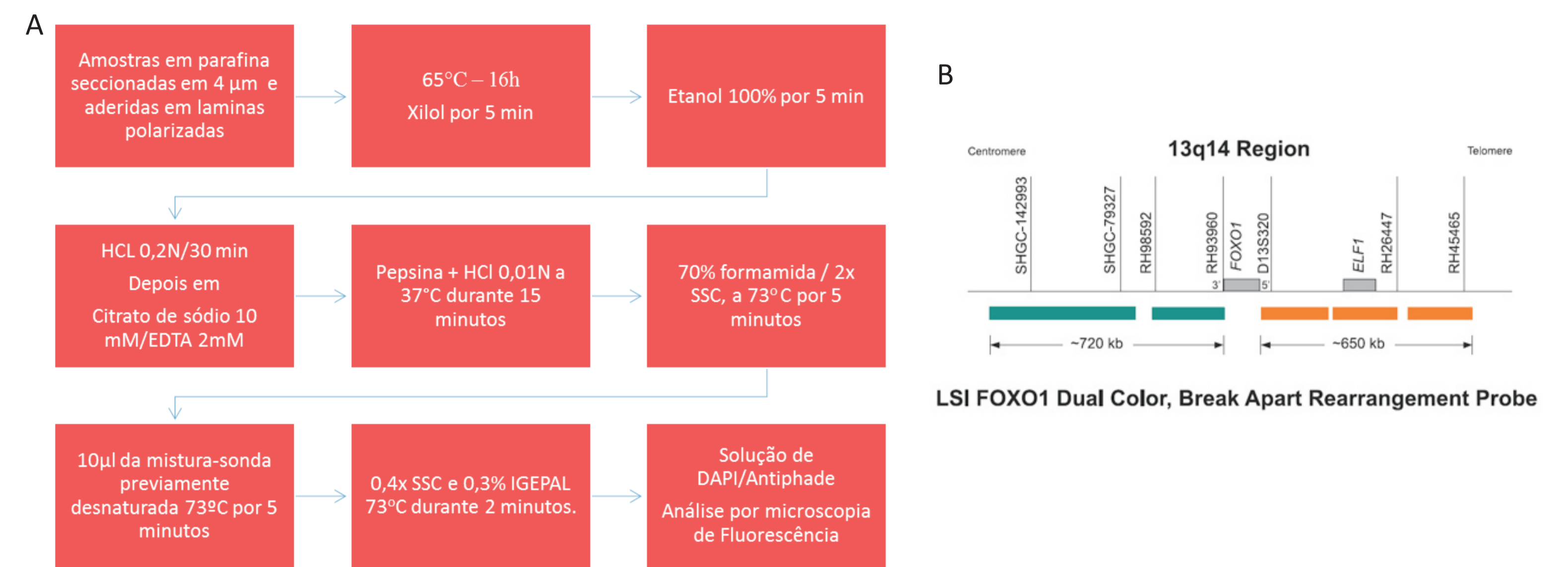


Figura 3 - (A) Principais etapas do FISH; (B) Esquema da sonda LSI *FOXO1* (13q14) Dual Color Break Apart (Vysis) mostrando em direção a região centromérica spectrum green e em direção telomérica spectrum orange.

RESULTADOS

Alterações cito-moleculares no gene *FOXO1* foram observadas em 60% (6/10) do total de pacientes analisados (Figura 4). Na figura 5 podemos observar as alterações do tipo translocação e cópias extras do gene *FOXO1*. A localização mais frequente do RMSa foi na cabeça e pescoço, com uma incidência de 80% (8/10).

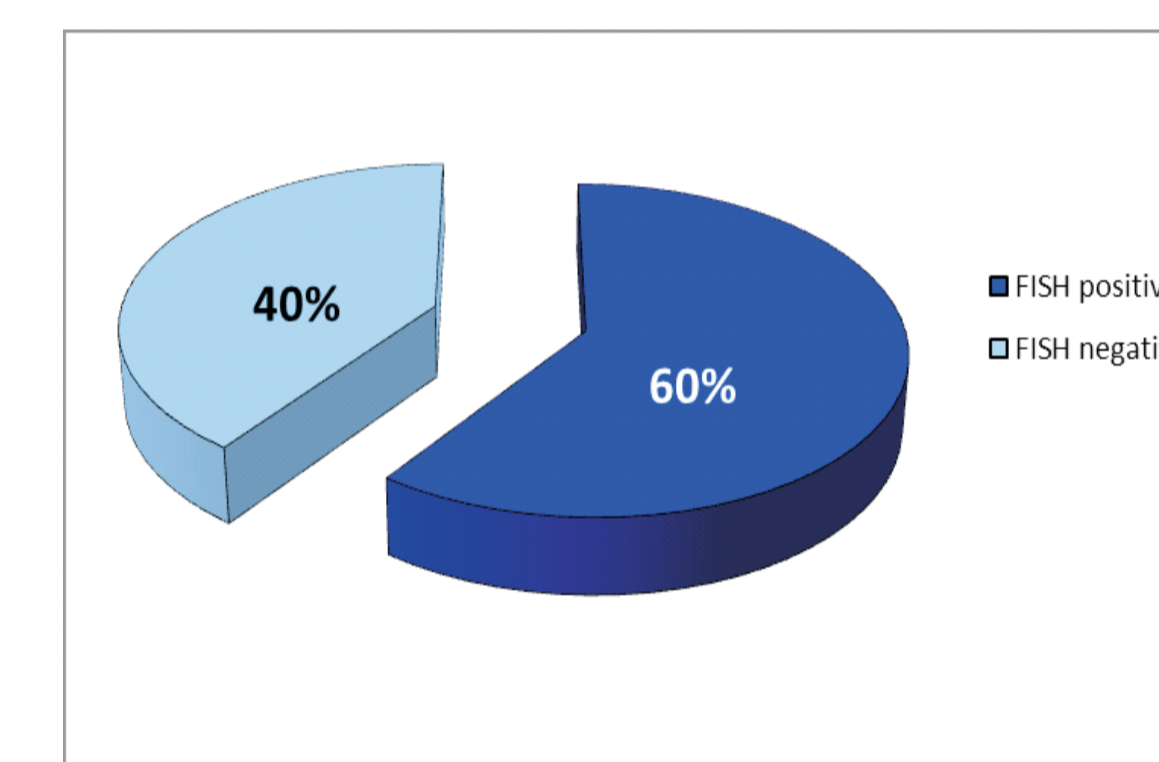


Figura 4: Frequência de alterações cito-moleculares no gene *FOXO1* através da hibridização “in situ” por fluorescência (FISH) em pacientes pediátricos com rbdomiossarcoma alveolar.

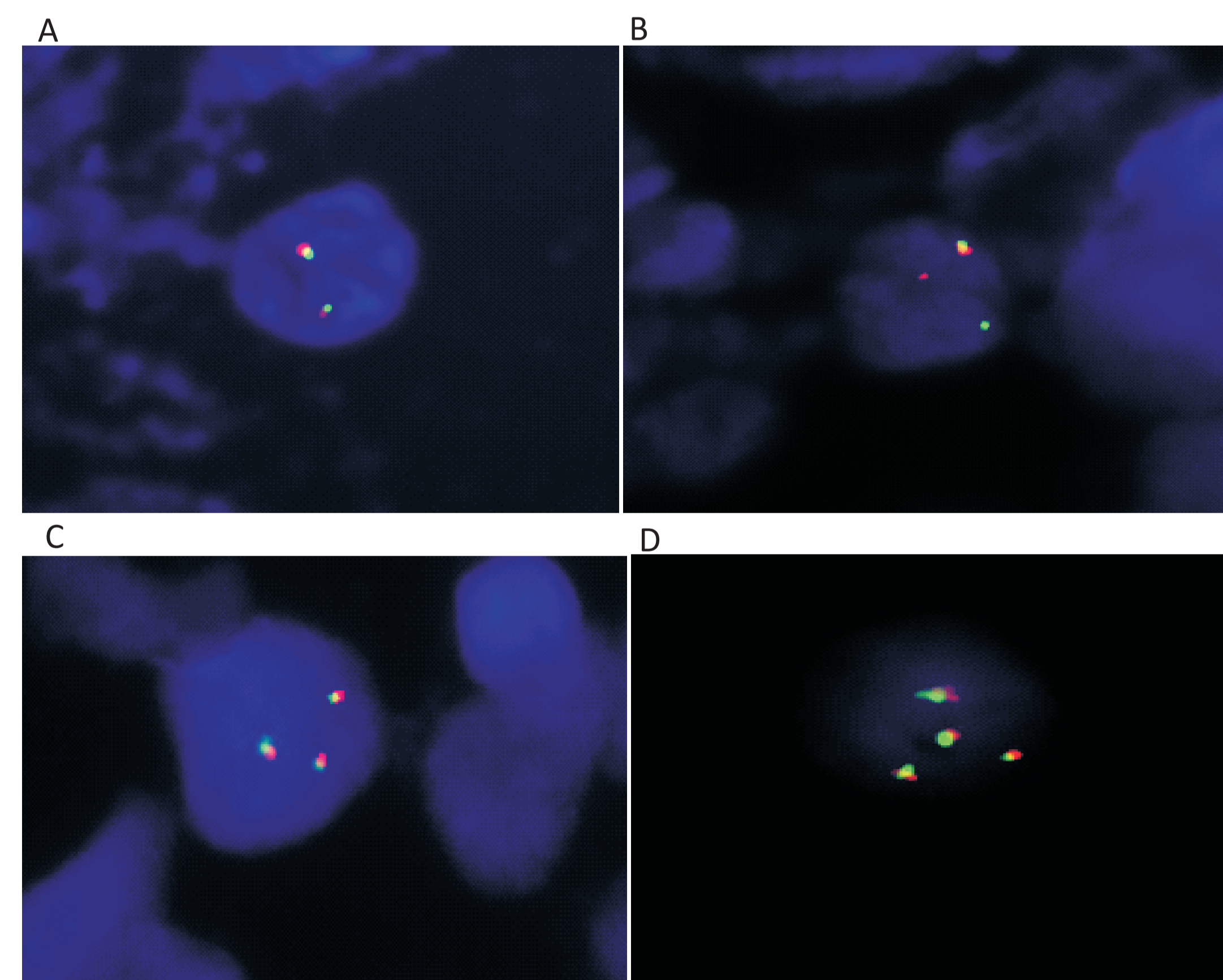


Figura 5: Análise através do FISH em pacientes pediátricos com RMSa, mostrando em (A) o gene *FOXO1* com sinais normais e em (B) mostrando o rearranjo de um dos alelos do gene *FOXO1* através dos sinais verde e vermelhos separados; em (C) temos um núcleo apresentado um sinal extra, e em (D) dois sinais extras do gene *FOXO1*.

CONCLUSÃO

A metodologia do FISH utilizando a sonda *FOXO1* é importante para o diagnóstico e prognóstico do RMSa. A classificação histopatológica, e principalmente genética do RMS, tem uma importante aplicação clínica, auxiliando a direcionar o tratamento, reduzindo a exposição a tratamentos intensivos e a seus efeitos colaterais. Pretendemos através desta pesquisa translacional dar continuidade a este estudo para contribuir na caracterização citogenética do RMSa ao diagnóstico e durante o tratamento, beneficiando as crianças com esse tipo de tumor tratadas em nossa instituição.