

Identificação da fusão gênica *NUP214-ABL1* e de deleções em *PTPN2* em crianças com Leucemia Linfooblástica Aguda de células-T

Ana Luiza Tardem Maciel, Caroline Barbieri Blunck MSc, Marcela B. Mansur PhD, Mariana Emerenciano PhD

Grupo de Estudos Genômicos em Leucemias Agudas, Programa de Hematologia-Oncologia Pediátrica (PHOP), Coordenação de Pesquisa (CPq), INCA-RJ.

INTRODUÇÃO

- A Leucemia Linfooblástica Aguda de células-T (LLA-T) é uma desordem neoplásica que se inicia a partir de alterações genético-moleculares que acometem os tímócitos em estágios precoces de seu desenvolvimento.
- A LLA-T representa 15% das LLAs pediátricas, sendo prevalente em crianças mais velhas e adolescentes/adultos jovens.
- Apesar de não existirem biomarcadores consensuais para estratificação de risco dos pacientes com LLA-T, já foram identificadas algumas alterações com esse potencial, como, por exemplo, os rearranjos envolvendo o *ABL1* (*ABL1-r*) (Figura 1A).
- *ABL1-r* ocorre em 8% dos casos de LLA-T, sendo o rearranjo *NUP214-ABL1* o mais frequente deles (~6%)
- *NUP214-ABL1* foi inicialmente identificada em episomas amplificados devido a circularização extracromossomal de cerca de 500 kb de fragmentos de DNA localizados entre esses dois genes (Figura 1B).

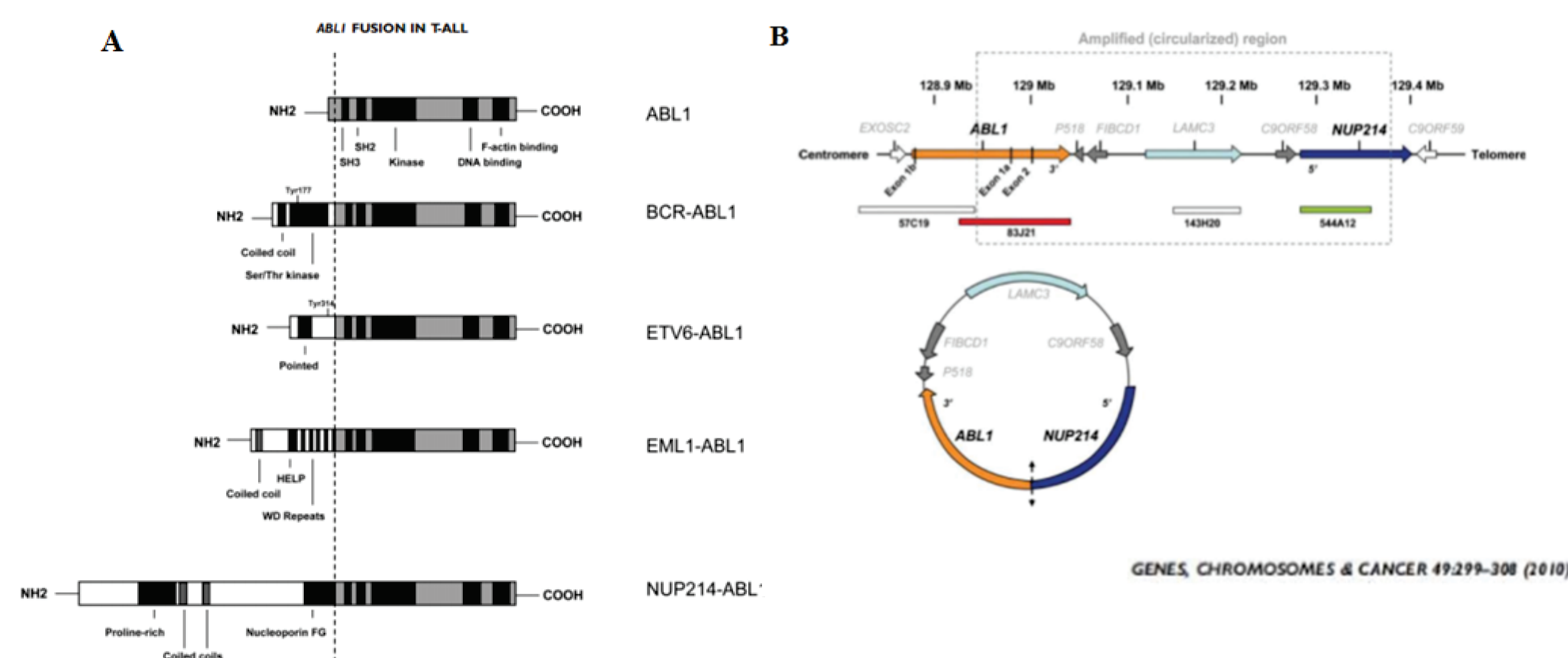


Figura 1. A. Desenho esquemático da proteína ABL1 e das proteínas BCR-ABL1 (p190), ETV6-ABL1, EML1-ABL1 e NUP214-ABL1. B. Representação da região cromossômica 9q34 envolvida na formação do episoma formado pelo rearranjo gênico *NUP214-ABL1* na LLA-T. Nesta região estão contidos os genes *ABL1*, *LAMC3* e *NUP214*.

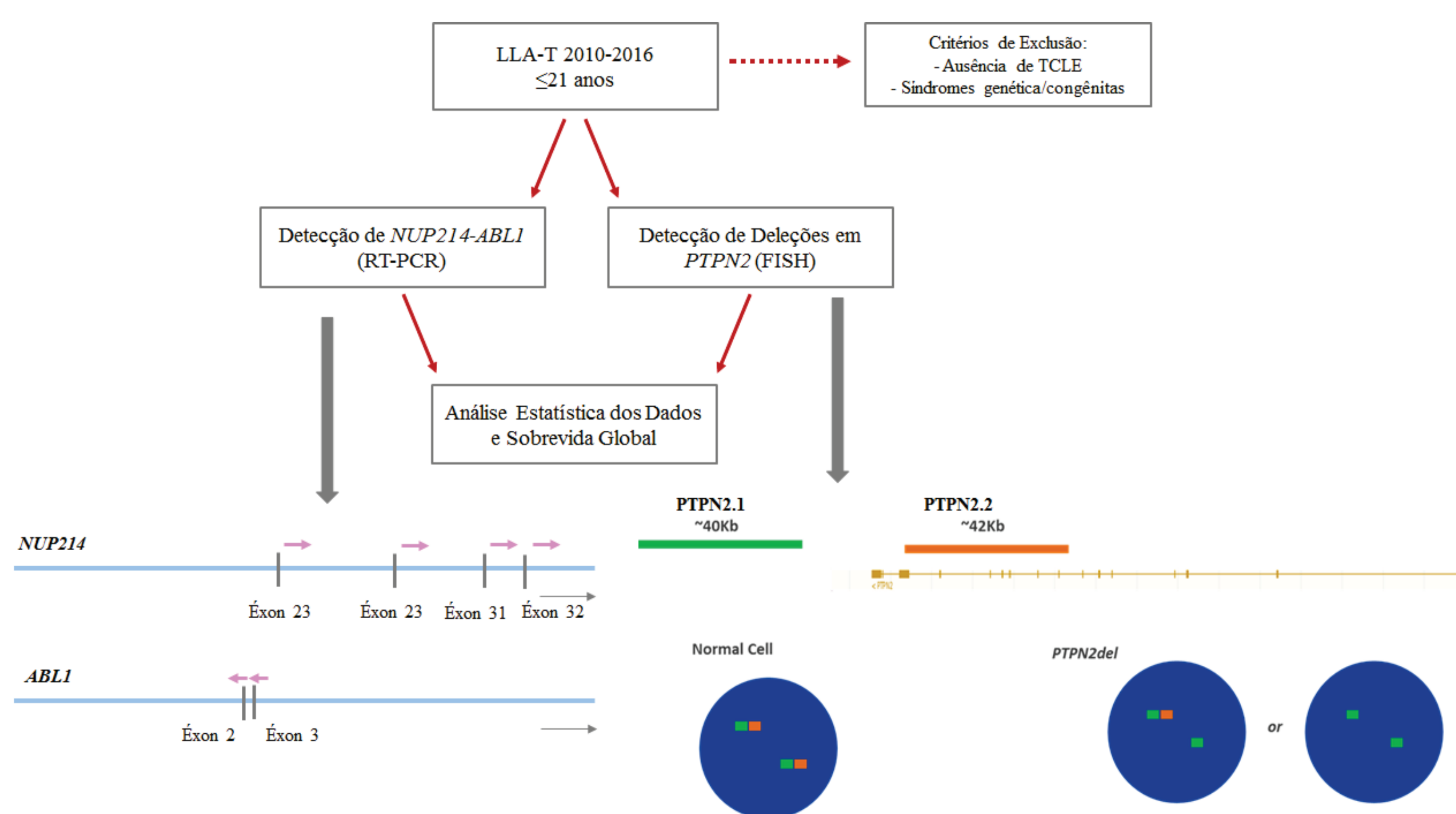
- Deleções em *PTPN2* foram descritas em 8% dos casos de LLA-T, este gene é altamente expresso em tímócitos e regula negativamente a via JAK-STAT, agindo como supressor tumoral.
- Adicionalmente, a perda do *PTPN2* está associada à presença e ativação de quinases oncogênicas, como *NUP214-ABL1* (~30%).

OBJETIVO

- Avaliar a relevância das alterações moleculares em *ABL1* e *PTPN2* no prognóstico dos pacientes com LLA-T.

METODOLOGIA

Esquema 1. Desenho de estudo para o rastreamento da fusão *NUP214-ABL1* e de deleções em *PTPN2* por FISH. Estão esquematizados os genes *NUP214* e *ABL1* com a localização dos primers utilizados para detecção da fusão pelo RT-PCR. As sondas desenvolvidas *in house* para o FISH estão representadas no esquema, assim como os possíveis padrões visualizados nos núcleos interfásicos.



RESULTADOS

- Foram avaliados, até o momento, 34 casos de LLA-T por RT-PCR para amplificação da fusão *NUP214-ABL1*, destes apenas 2 (~6%) foram positivos para a fusão. As características clínico-laboratoriais dos pacientes analisados estão descritas na tabela 1. Ambos os pacientes *NUP214-ABL1+* são do sexo masculino, ao diagnóstico tinham 4 anos e 11 anos e $WBC \geq 50 \times 10^9$ células/L.

Tabela 1. Características demográficas e laboratoriais dos pacientes investigados

	n (%)
Leucometria ($\times 10^9$ céls/L)	
<50	8 (23,5)
≥ 50	26(76,5)
Idade (anos)	
<10	18 (52,9)
≥ 10	16 (47,1)
Sexo	
Masculino	22 (64,7)
Feminino	12 (35,3)
Classificação EGIL	
T-I	3 (8,8)
T-II	8 (23,6)
T-III	13 (38,2)
T-IV	10 (29,4)
Total	34 (100,0)

- As sondas para avaliação de deleções no *PTPN2* já foram preparadas, purificadas e hibridizadas em metáfases de um controle saudável, para a confirmação da localização das mesmas e para determinação do *cut-off*. Foram analisadas 10 metáfases, nas quais confirmamos a localização de ambas as sondas na região 18p11, o *cut-off* de 5,5% foi estabelecido através da contagem de 300 núcleos interfásicos deste controle (Figura 2).

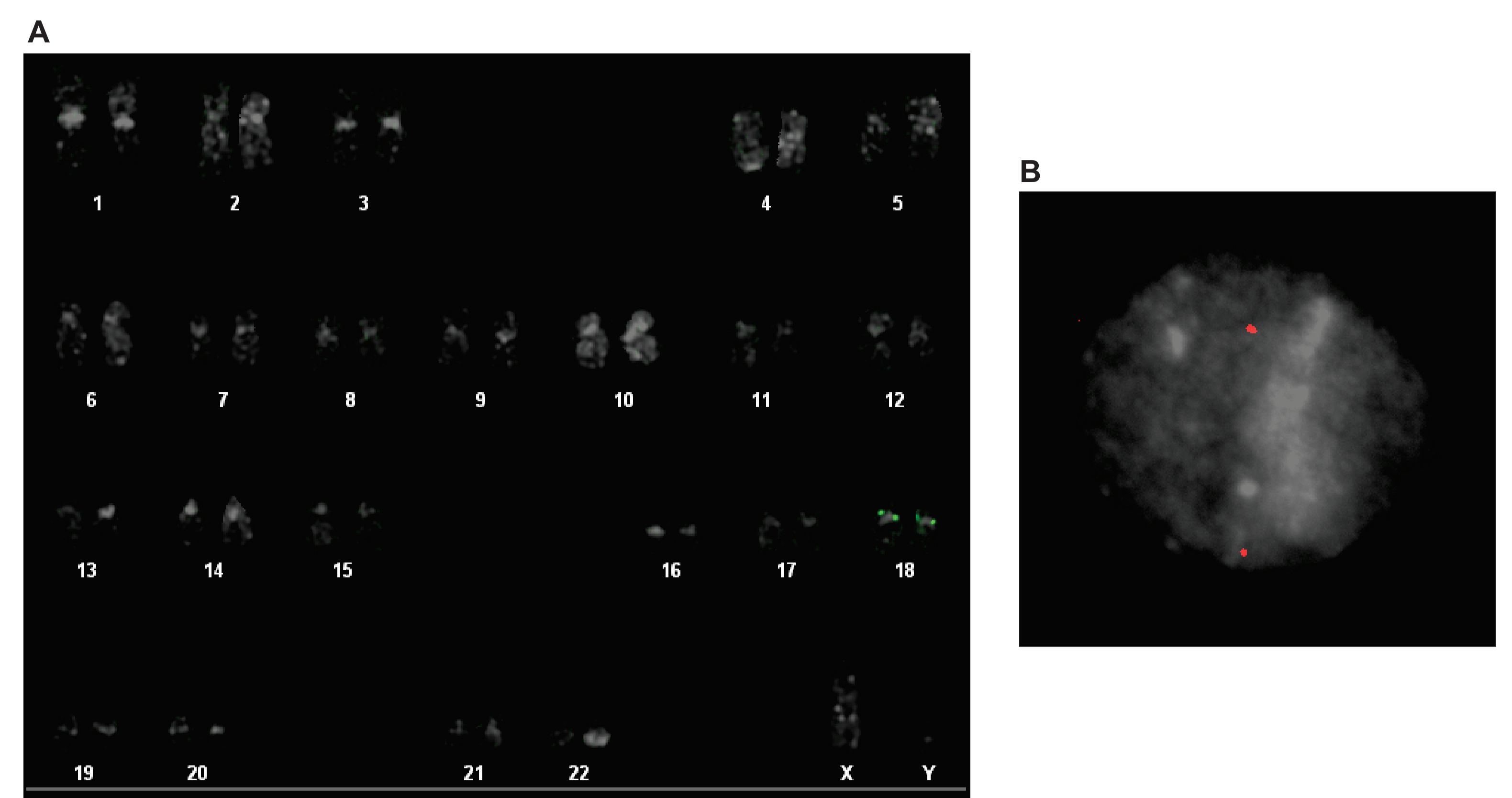


Figura 2. A. Cariótipo da amostra de controle saudável mostrando a hibridização da sonda denominada PTPN2.1 (sonda controle, localizada fora da área de deleção) marcada com Green-dUTP (Abbott Molecular) no cromossomo 18, visualizada nos espectros DAPI e FITC. B. Núcleo interfásico da amostra de controle saudável hibridizado com a sonda denominada PTPN2.2 (sonda localizada na área de deleção) marcada com Cy TM 3-dUTP (Amersham, GE Healthcare) visualizada nos espectros DAPI e TEXAS RED. A visualização de ambas foi realizada em um microscópio Olympus BX41 TR/URA/DP2 equipado com lâmpada de HBO 100W.

CONCLUSÃO

- A frequência de *NUP214-ABL1* observada até o momento está de acordo com o descrito na literatura. Ainda será necessária a completude do rastreamento das alterações *NUP214-ABL1* e das deleções em *PTPN2* nos demais casos para a posterior avaliação da relevância prognóstica destes marcadores nos casos de LLA-T.