

# A FUSÃO *PAX5-AUTS2* ESTÁ ASSOCIADA COM DELEÇÃO COMPLETA DE *IKZF1* NA LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA DE CÉLULAS PRECURSORAS B: DESCOBERTA A PARTIR DE RELATO DE CASO

Bruno Almeida Lopes<sup>1</sup>, Atalla Mnayarji<sup>3</sup>, Thayana Conceição Barbosa<sup>1</sup>, Caroline Barbieri Blunk<sup>1</sup>, Claus Meyer<sup>2</sup>, Rolf Marschalek<sup>2</sup>, Rosania Maria Basegio<sup>3</sup>, Maria S. Pombo-de-Oliveira<sup>1</sup>, Mariana Emerenciano<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Programa de Hematologia-Oncologia Pediátrico, Centro de Pesquisa, Instituto Nacional de Câncer, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. <sup>2</sup>Diagnostic Center of Acute Leukemia/ Institute of Pharmaceutical Biology/ZAFES, Goethe-University of Frankfurt, Biocenter, Frankfurt/Main, Alemanha. <sup>3</sup>Centro de Tratamento Onco-Hematológico Infantil, CETOHI, Hospital Regional de Mato Grosso do Sul Rosa Pedrossian, Campo Grande, MS, Brasil

## INTRODUÇÃO

Diversas translocações que levam a fusões gênicas são recorrentes em LLA-CPB. Apesar de algumas serem mais frequentes, outras apresentam frequência mais rara. Até o momento a fusão *PAX5-AUTS2* foi reportada em apenas cinco casos na literatura e, portanto, compreende o grupo dessas alterações raras, que resulta da translocação não balanceada t(7;9)(q11.2;p13.2). Devido à raridade da fusão *PAX5-AUTS2*, as características clínico-laboratoriais da alteração foram pouco descritas na literatura. Portanto, nesse trabalho buscamos compreender o perfil clínico e molecular de pacientes com *PAX5-AUTS2* a partir de um relato de caso.

## METODOLOGIA

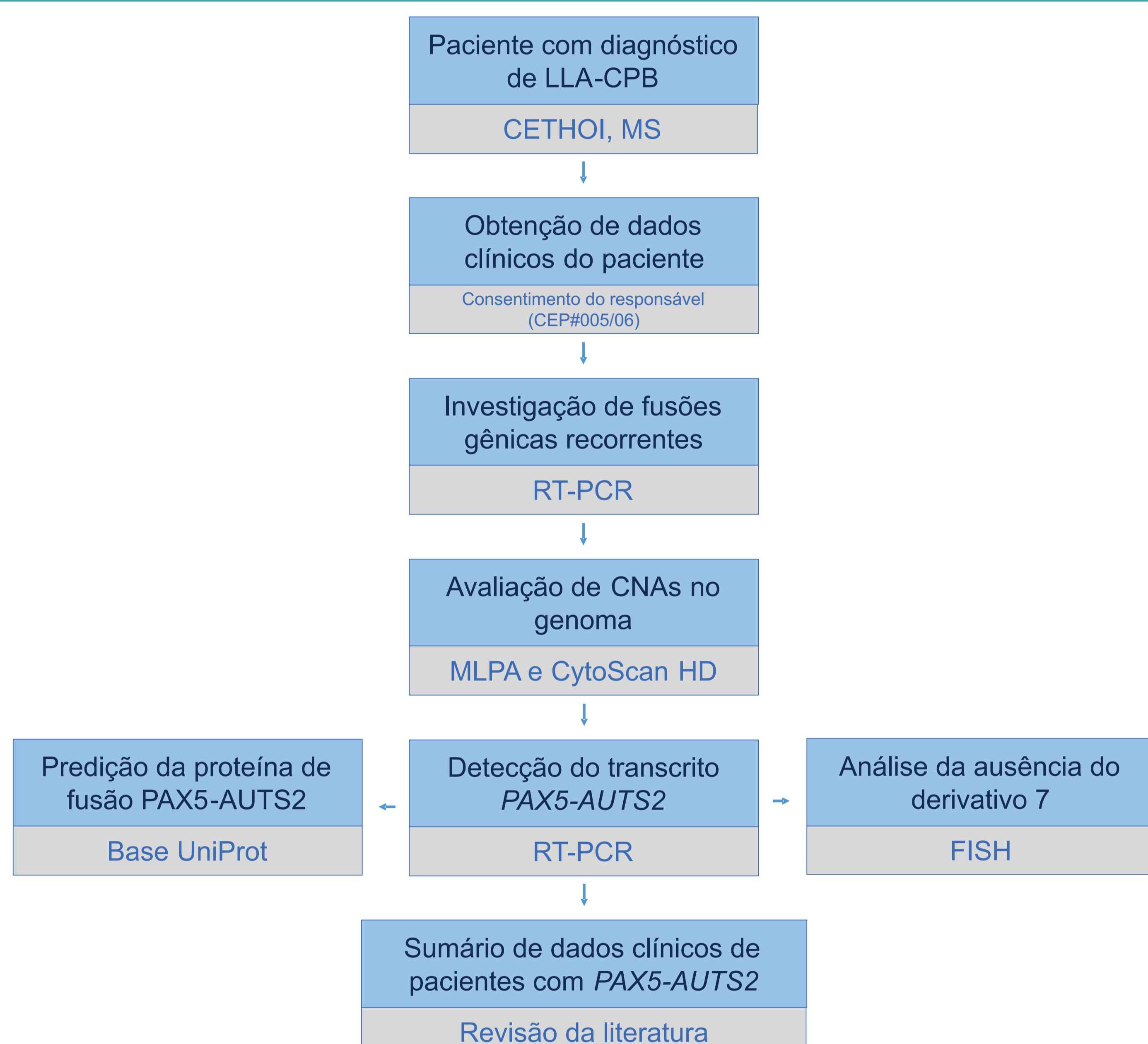


Figura 1. Desenho metodológico do estudo.

## RELATO DE CASO

O caso estudado apresenta uma história clínica iniciada com dor de garganta, tosse e febre, que persistiram mesmo após tratamento com antibiótico por três dias. Com isso, o menino foi encaminhado para o Centro de Tratamento Onco Hematológico Infantil, CETOHI, em julho de 2006. A mãe relatou que a criança apresentava alargamento abdominal. O exame físico revelou que o menino apresentava hepatoesplenomegalia, palidez severa e adenomegalia cervical e axilar. Os testes laboratoriais mostraram intensa anemia (Hb 6,2 g/dL), plaquetopenia ( $35 \times 10^9/L$ ) e alta leucometria (WBC  $336,0 \times 10^9/L$ ), com presença de 95% de blastos. Análise imunofenotípica caracterizou a leucemia como LLA pro-B. Com isso, o tratamento foi iniciado com o protocolo Interfant-99. Apesar da medula óssea hipoplásica no 14º dia de tratamento, o paciente apresentou remissão clínica no dia 28. Um ano após o diagnóstico foi observada recaída no sistema nervoso central. Dessa forma, o tratamento foi reiniciado com o protocolo St Jude's XIII. O regime de tratamento foi finalizado e o paciente continua vivo 9,3 anos após o diagnóstico inicial de LLA-CPB.

## ALTERAÇÕES MOLECULARES

O paciente foi diagnosticado com LLA pro-B sem alterações moleculares recorrentes. No entanto, a investigação de alterações adicionais por MLPA mostrou deleção completa de *IKZF1*, *CDKN2A/2B* e deleção parcial de *PAX5*. Em seguida, o perfil genômico da amostra foi avaliado por microarranjo, que sugeriu a presença de uma translocação não balanceada: t(7;9)(q11.2;p13.2) com fusão *PAX5-AUTS2*, confirmada por RT-PCR (Figura 2).

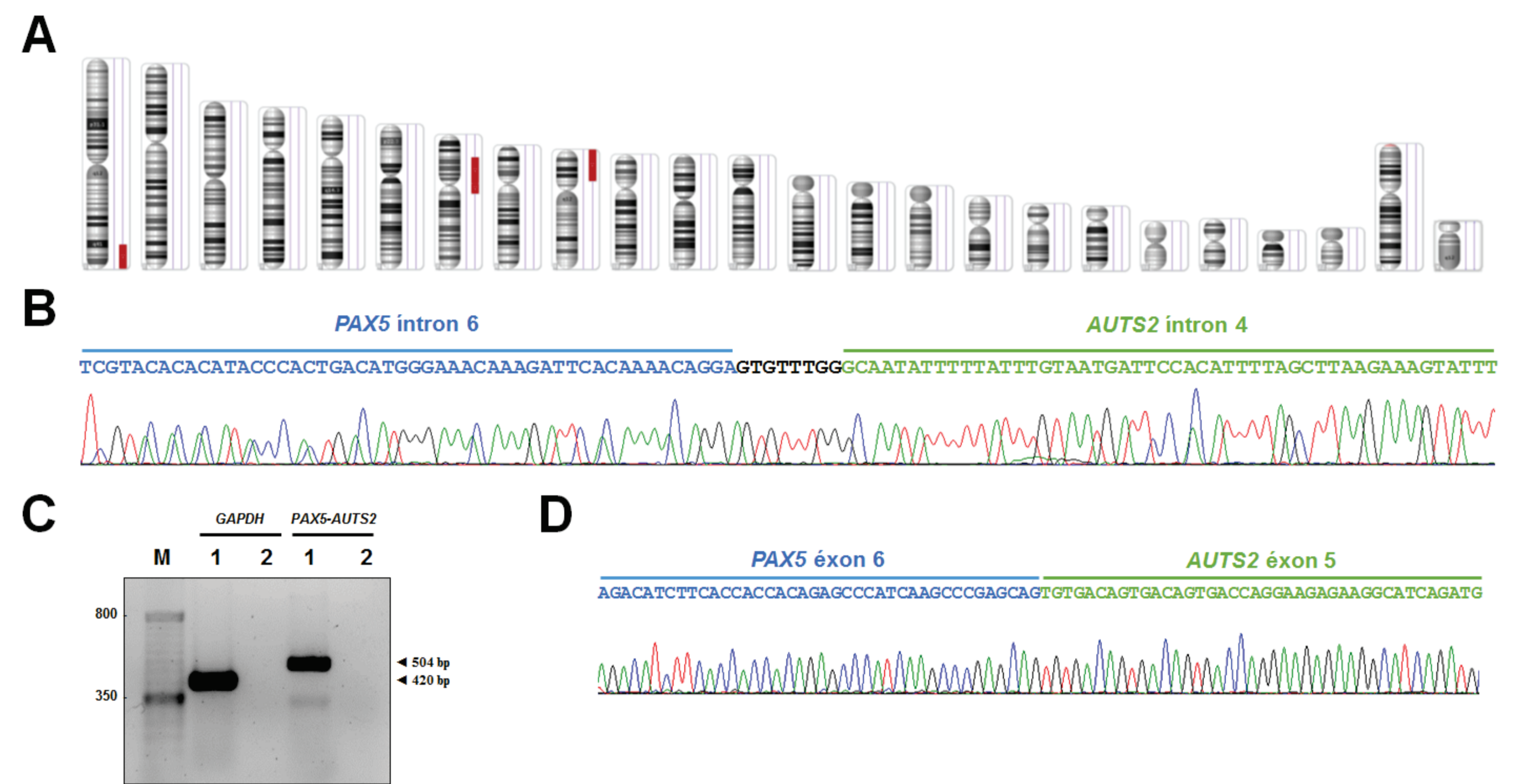


Figura 2. Paciente apresentou translocação não-balanceada t(7;9)(q11.2;p13). (A) SNP-array mostrou grandes deleções em 1q41~1qter, 7p15.2~7p11.2 e 9pter~p13.2; (B) Sequenciamento da região identificou uma fusão *in-frame* *PAX5-AUTS2*. (C) A expressão do transcrito quimérico confirmada por RT-PCR e (D) o sequenciamento mostrou uma fusão entre o éxon 6 de *PAX5* e o éxon 5 de *AUTS2* no transcrito quimérico.

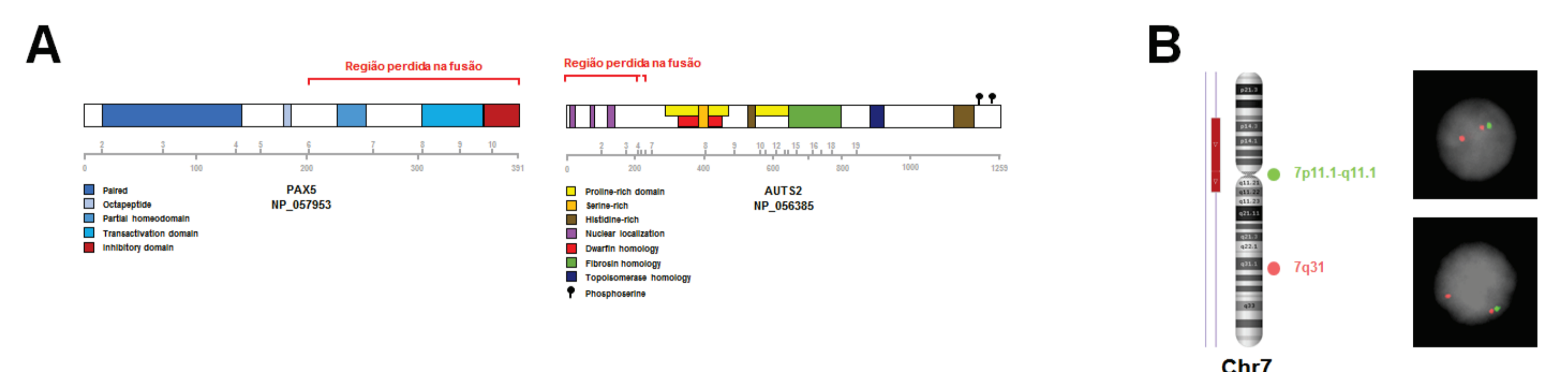


Figura 3. (A) Representação esquemática das proteínas *PAX5* e *AUTS2* selvagens com seus domínios funcionais. A ilustração destaca as regiões proteicas que são perdidas na proteína de fusão. *PAX5* conserva os domínios de ligação ao DNA denominado paired-box, enquanto *AUTS2* perde seus domínios de localização nuclear. (B) Análise por hibridização in situ por fluorescência (FISH) demonstra a perda do derivativo 7, levando à deleção completa de *IKZF1* (7p12), conforme visto pela ausência de uma sonda centromérica (verde).

## CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE *PAX5-AUTS2*

Tabela 1. Dados clínicos e laboratoriais de pacientes com *PAX5-AUTS2*.

Dados/Id. paciente	P1	P2	P3	P4	P5	P6
Idade (anos)	3,1	2,8	0,6	1	3	1,2
Sexo	M	F	M	F	M	M
WBC ( $\times 10^9/L$ )	171,5	5,6	158,0	370,0	1,2	336,0
Imunofenótipo	Pre-B	Pre-B	Pre-B	c-ALL	Pre-B	Pre-B
Protocolo de tratamento	ALL-BFM 2000	ALL-BFM 2000	ALL-BFM 90	ND	ND	Interfant-96/ St Jude XIII
Acometimento do CNS	Sim	Não	Não	ND	ND	No
DRM no dia 33	$10^{-4}$	Negativo	ND	ND	ND	Negativo
DRM no dia 78	Negativo	Negativo	ND	ND	ND	Negativo
Resposta à prednisona	Boa	Boa	Ruim	ND	ND	Ruim
RC no dia 33	Sim	Sim	Sim	ND	ND	Sim
Grupo de risco	Intermediário	Padrão	Alto	ND	ND	Alto
Recaída	1ª MO/2ª MO	/	CNS	ND	ND	CNS
Tempo até a recaída (anos) <sup>a</sup>	1,4/1,6	/	2,1	ND	ND	1,0
Desfecho	Óbito	1ª RC	Óbito	ND	ND	Vivo
Seguimento (anos) <sup>b</sup>	1,7	2,2+	3,4	ND	ND	9,3+
Transcrito <i>PAX5-AUTS2</i>	<i>PAX5.E6-AUTS2.E4</i>	<i>PAX5.E6-AUTS2.E6</i>	<i>PAX5.E6-AUTS2.E5</i>	ND	ND	<i>PAX5.E6-AUTS2.E5</i>
Transcrito <i>AUTS2-PAX5</i>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Referência	Kawamata et al, 2008	Coyaud et al, 2010	Denk et al, 2012	Fazio et al, 2015	Fazio et al, 2015	Esse trabalho

<sup>a</sup>Recaída a partir do diagnóstico inicial. <sup>b</sup>Acompanhamento da data de diagnóstico até a data de óbito ou última consulta. <sup>c</sup>No protocolo ALL-BFM90, a DRM não era um critério para estratificação de risco. <sup>d</sup>ALL, leucemia linfoblástica aguda; subtipo comum; DRM, doença residual mínima; F, sexo feminino; Id., identificação do paciente (P1-6); M, sexo masculino; MO, medula óssea; ND, não determinado; RC, remissão morfológica completa; SNC, sistema nervoso central; WBC, leucometria.

## CONCLUSÃO

O paciente é o sexto caso na literatura com a fusão *PAX5-AUTS2*. Os casos descritos apresentam idade  $\leq 3$  anos e alta frequência de recaída. Como observado, a translocação não balanceada promove a perda do derivativo 7 e, conseqüentemente, a deleção completa de *IKZF1*. Este evento poderia justificar a alta taxa de recaída em pacientes com *PAX5-AUTS2*.