

# AVALIAÇÃO DO PERFIL DE EXPRESSÃO GÊNICA EM LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA DE CÉLULAS PRECURSORAS B (LLA-CPB) COM ANORMALIDADE NO CROMOSSOMO 21



Santoro JC<sup>1</sup>, Fuka G<sup>1</sup>, Blunck CB<sup>1</sup>, Pombo-Oliveira MS<sup>1</sup>, Emerenciano M<sup>1</sup>.  
<sup>1</sup>Programa de Hematologia-Oncologia Pediátrico (PHOP), Coordenação de Pesquisa, Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA), Rio de Janeiro, RJ

## INTRODUÇÃO

A LLA-CPB é o subtipo leucêmico mais frequente na infância. É caracterizada por translocações cromossômicas, aneuploidias e alterações no número de cópias (NC) ou genes específicos (Fig. 1). O gene *RUNX1* está envolvido em diversas alterações nas leucemias agudas. Além deste, *GART*, *IFNGR2*, *DSCR1*, *DYRK1A*, *ETS2* e *ERG* estão localizados na mesma região genômica de *RUNX1* e envolvidos na leucemogênese e/ou na resposta terapêutica (Fig. 2).

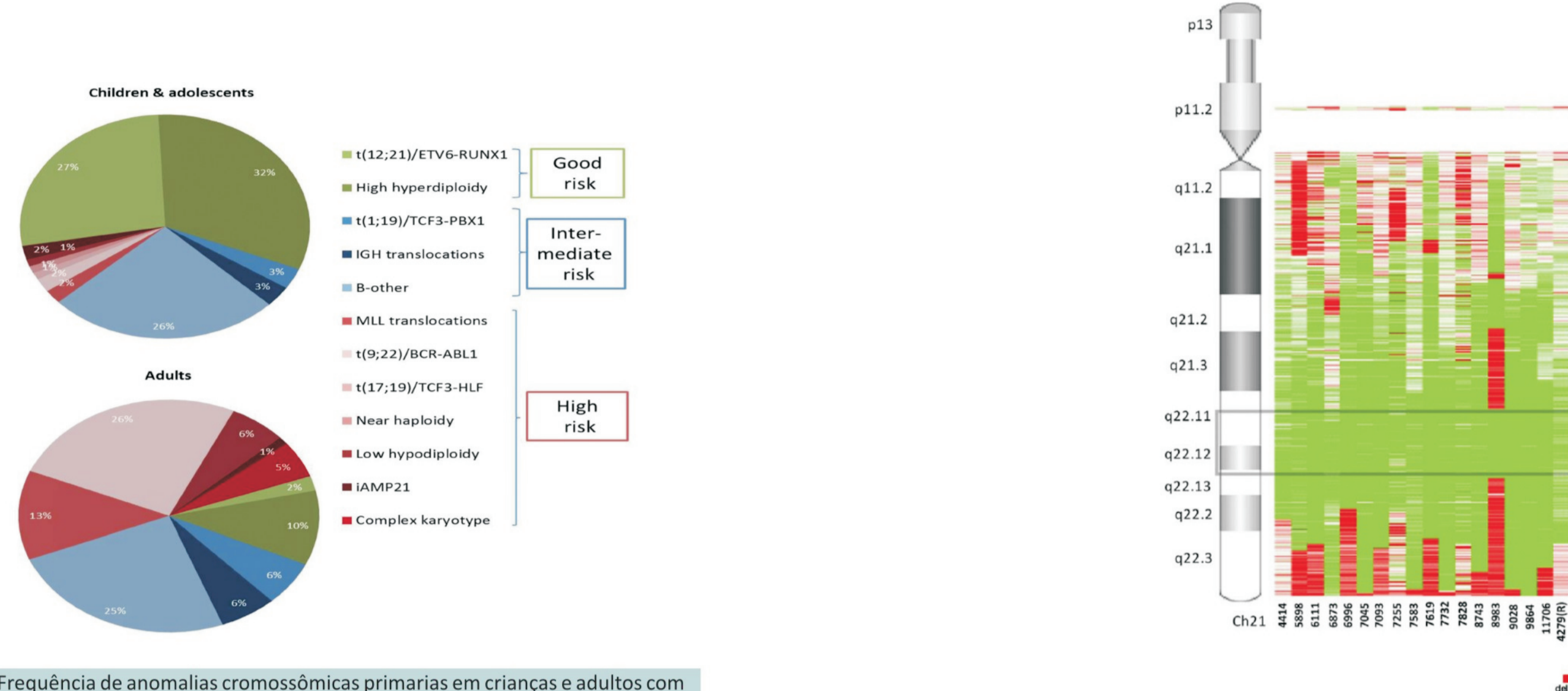


Fig. 1 Frequência de anomalias cromossômicas primárias em crianças e adultos com leucemia linfoblástica aguda de células precursoras B correlacionadas com a estratificação de risco prognóstico [Modificado de MOORMAN, 2015]. O cromossomo 21 é alvo frequente de aberrações numéricas e estruturais que estão associadas com prognóstico e/ou risco de recaídas em pacientes com leucemias.

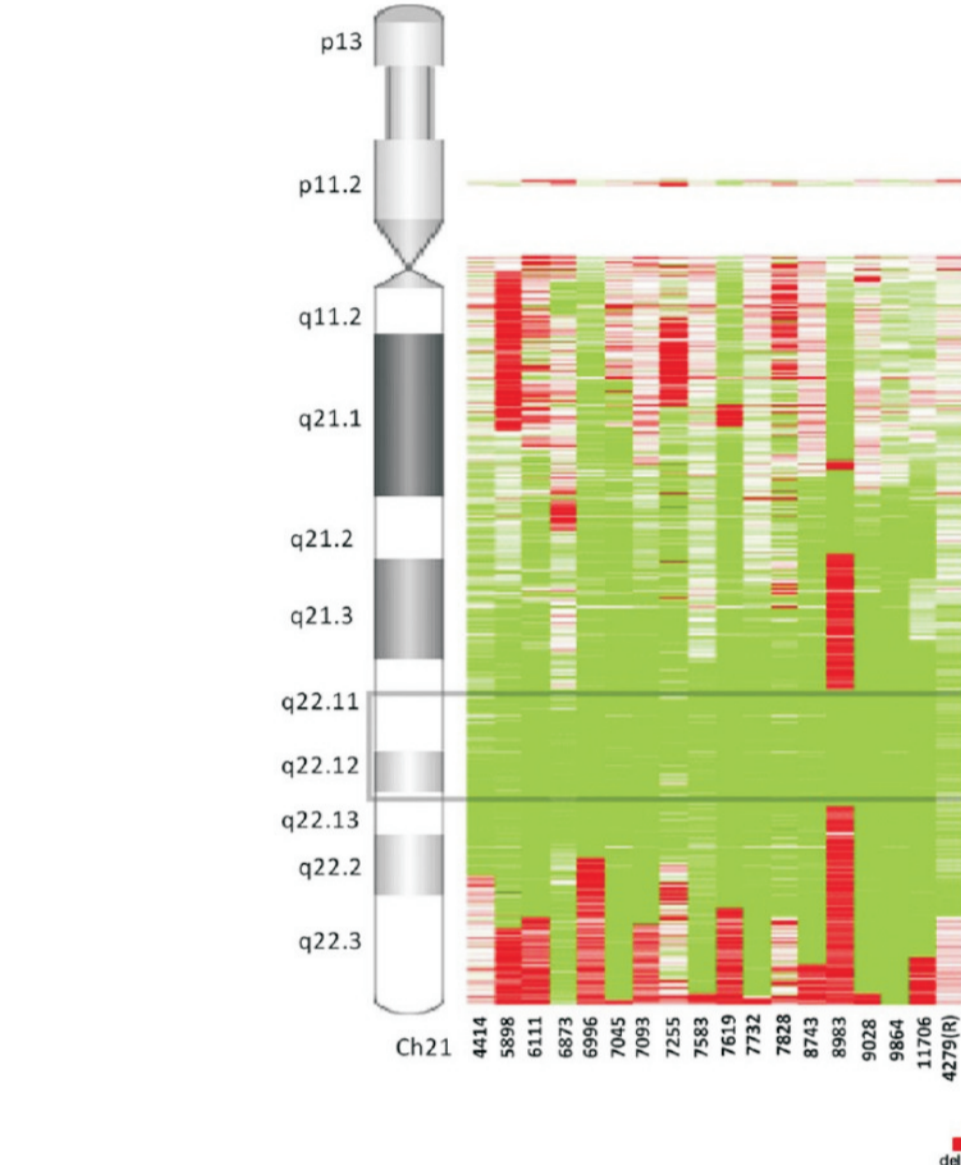


Fig. 2 Heat map das alterações no cromossomo 21 em pacientes com iAMP21. Alterações no cromossomo 21 detalhadas em região de deleção (vermelho), ganho (verde) e número de cópias normais (branco) em relação à localização genômica.

## OBJETIVOS

Avaliar a associação entre os níveis transcricionais dos genes mencionados e as características clinicopatológicas de pacientes com anormalidades no cromossomo 21.

## METODOLOGIA

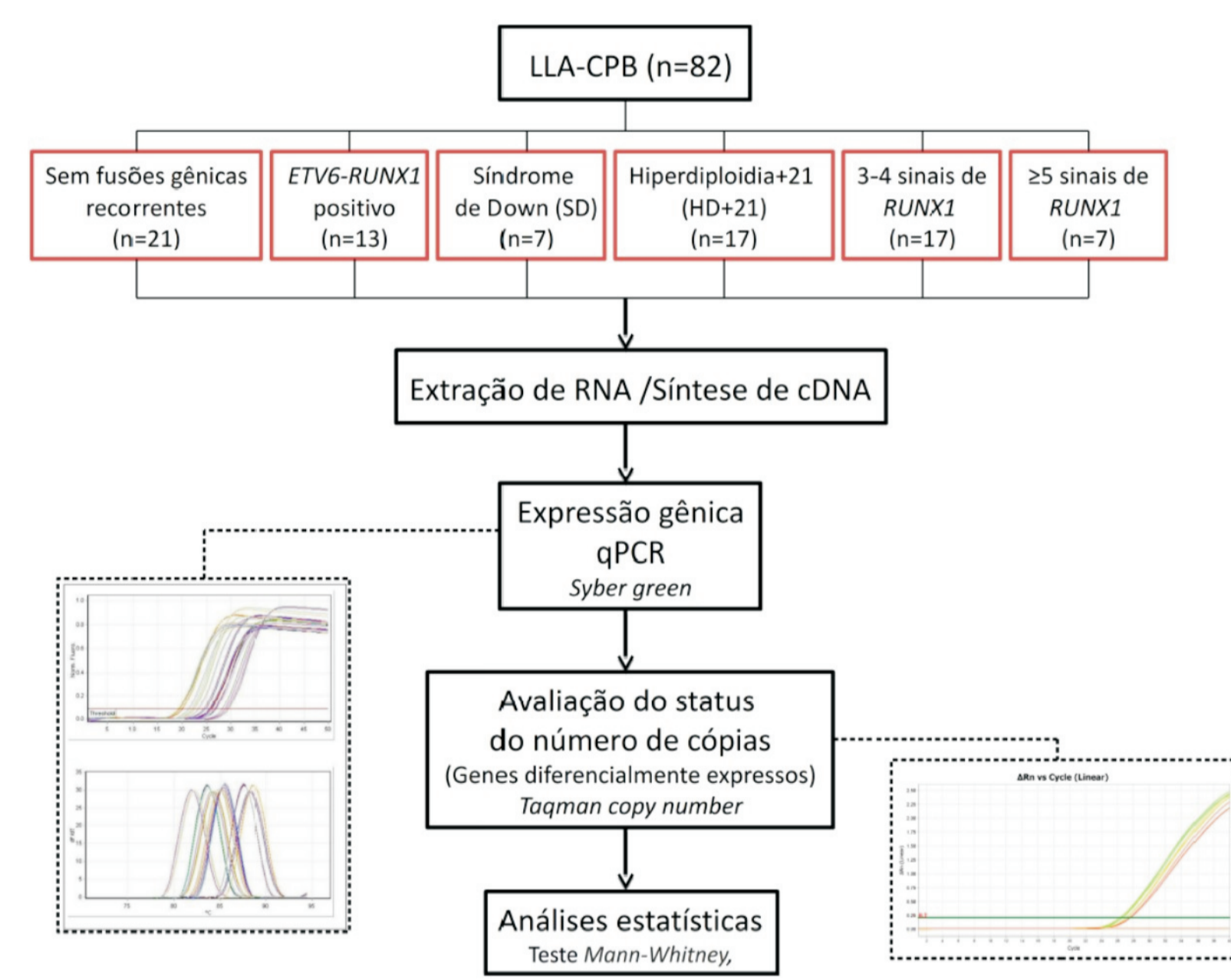


Fig. 3 Desenho experimental do estudo.

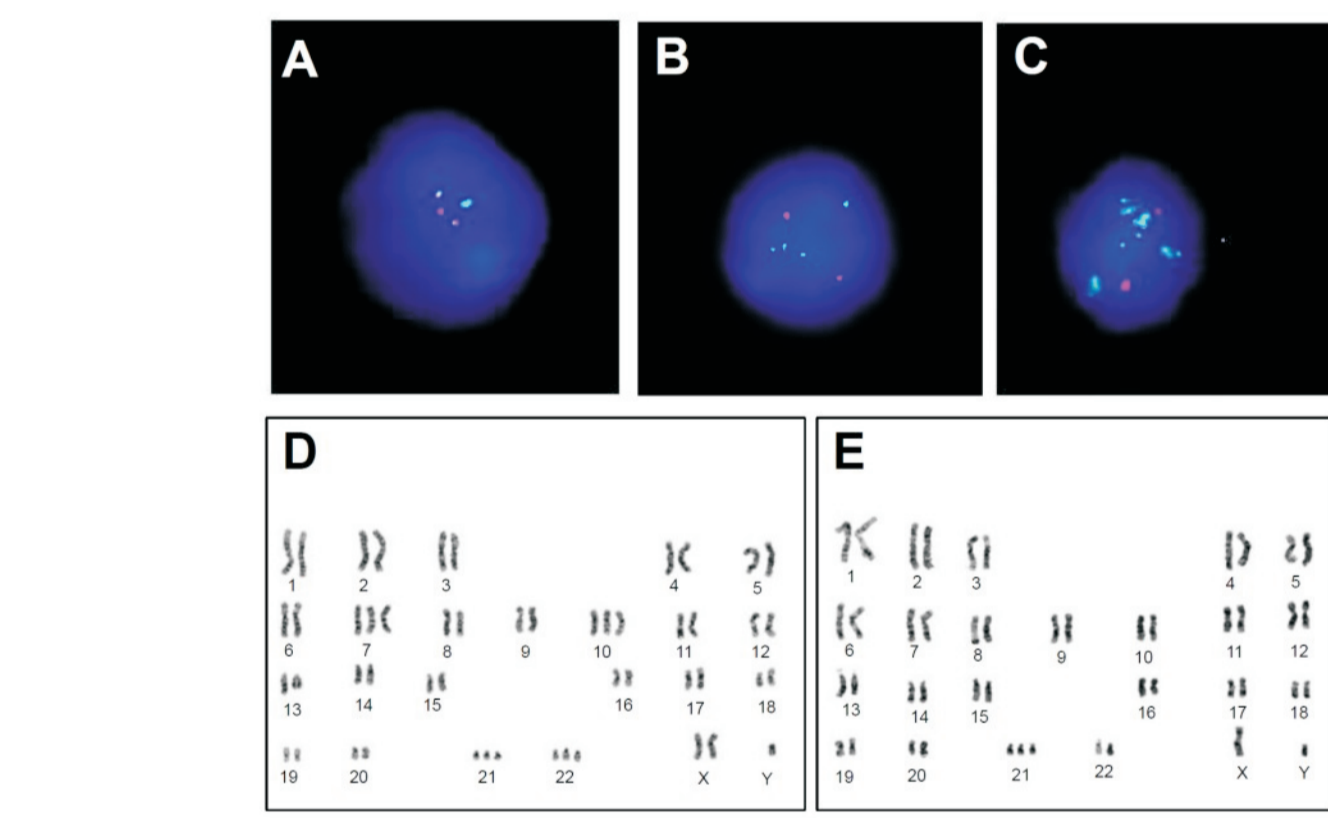


Fig. 4 Núcleos interfásicos hibridizados e cariótipo de rotina de LLA-B. (A) Padrão da fusão do gene *ETV6-RUNX1*, com dois sinais amarelos (*ETV6-RUNX1*), um sinal verde (*RUNX1*) e um sinal vermelho (*ETV6*). (B) Núcleos interfásicos com quatro sinais *RUNX1* (verde) e dois sinais *ETV6* (vermelho). (C) Núcleos interfásicos apresenta  $\geq 5$  *RUNX1* sinais (verde) e dois sinais de *ETV6* (vermelho). (D) Análise cariotípica revelando um cariótipo masculino 47, XY com o ganho do cromossomo 7, 10, 21 e 22. (E) Análise cariotípica mostrando um cariótipo masculino 47, XY com síndrome de Down, com trissomia 21.

## RESULTADOS

Tabela 1. Variáveis demográficas e laboratoriais de 82 pacientes com LLA-CPB infantil

Características	Sem fusões gênicas recorrentes (n=21)	<i>ETV6-RUNX1</i> (n=13)	SD (n=7)	HD+21 (n=17)	Ganho de sinais de <i>RUNX1</i> por FISH <sup>a</sup>	
					3-4 sinais (n=17)	$\geq 5$ sinais (n=7)
<b>Gênero</b>						
Feminino	10/21 (52,4)	5/13 (38,5)	4/7 (57,1)	6/17 (64,7)	6/17 (35,3)	3/7 (42,9)
Masculino	11/21 (47,6)	8/13 (61,5)	3/7 (42,9)	11/17 (35,3)	11/17 (64,7)	4/7 (57,1)
<b>Faixa etária (anos)</b>						
Média	9,5 (0,5-10)	4,9 (0,5-10)	6,9 (0,5-10)	4,3 (0,5-10)	7,4 (0,5-10)	3,2 (0,5-10)
<1	0/21 (0,0)	0/13 (0,0)	1/7 (14,3)	0/17 (0,0)	0/17 (0,0)	1/7 (14,3)
1-10	11/21 (47,6)	13/13 (100,0)	4/7 (57,1)	7/17 (100,0)	11/17 (64,7)	6/7 (85,7)
>10	10/21 (52,4)	0/13 (0,0)	2/7 (28,6)	0/17 (0,0)	6/17 (35,3)	0/7 (0,0)
<b>WBC (x10<sup>9</sup>/l)</b>						
Mediana <sup>d</sup>	93,2 (10-100)	29,7 (10-100)	154,4 (10-200)	35,2 (10-100)	48,9 (10-100)	31,2 (10-100)
<50	15/21 (71,4)	10/13 (76,9)	4/7 (57,1)	12/17 (70,6)	12/17 (70,6)	5/7 (71,4)
$\geq 50$	6/21 (28,6)	3/13 (23,1)	3/7 (42,9)	5/17 (29,4)	5/17 (29,4)	2/7 (28,6)
<b>Marc. fenotípicos aberrantes</b>						
cCD3+	1/21 (4,8)	0/11 (0,0)	0/5 (0,0)	1/15 (6,7)	4/15 (26,7)	1/7 (14,3)
CD3+	1/10 (10,0)	0/2 (0,0)	0/2 (0,0)	2/12 (16,7)	0/15 (0,0)	0/3 (0,0)
CD7+	1/17 (11,8)	1/6 (16,7)	1/4 (25,0)	1/13 (7,7)	0/11 (0,0)	1/6 (16,7)
CD13/CD33+	6/16 (37,5)	6/12 (50,0)	0/6 (0,0)	6/16 (37,5)	6/15 (40,0)	1/7 (14,3)
<b>Subtipo LLA-CPB</b>						
LLA-comum	19/21 (90,5)	11/13 (84,6)	6/7 (85,7)	15/17 (88,2)	14/17 (82,3)	7/7 (100,0)
LLA-Pré B	2/21 (9,5)	2/13 (15,4)	1/7 (14,3)	2/17 (11,8)	3/17 (17,7)	0/7 (0,0)

<sup>a</sup> Definido por FISH; <sup>b</sup> *ETV6-RUNX1*, *BCR-ABL1*, *TCF3-PBX1*, *KMT2A-1*; <sup>c</sup> (10.000-100.000); <sup>d</sup> (10.000-200.000); SD, Síndrome de Down; HD+21, Hiperdiploidia com cópias adicionais do cromossomo 21.

Casos LLA-CPB com ganhos no cromossomo 21 possuíam expressão diferencial de *IFNGR2* (\* $p=0,0287$ ), *ERG* (\*\* $p=0,0026$ ) e *ETS2* (\*\* $p=0,0025$ ) quando comparados aos casos sem ganhos no cromossomo 21 (Fig. 5). O grupo com 3-4 sinais *RUNX1* tinham uma expressão diferencial de *RUNX1*, *ERG*, *ETS2* e *DSCR1* em relação aos outros subtipos LLA-CPB. Foi verificada expressão diferencial de *IFNGR2* nos casos com SD em relação ao subgrupo *ETV6-RUNX1* (Fig 6).

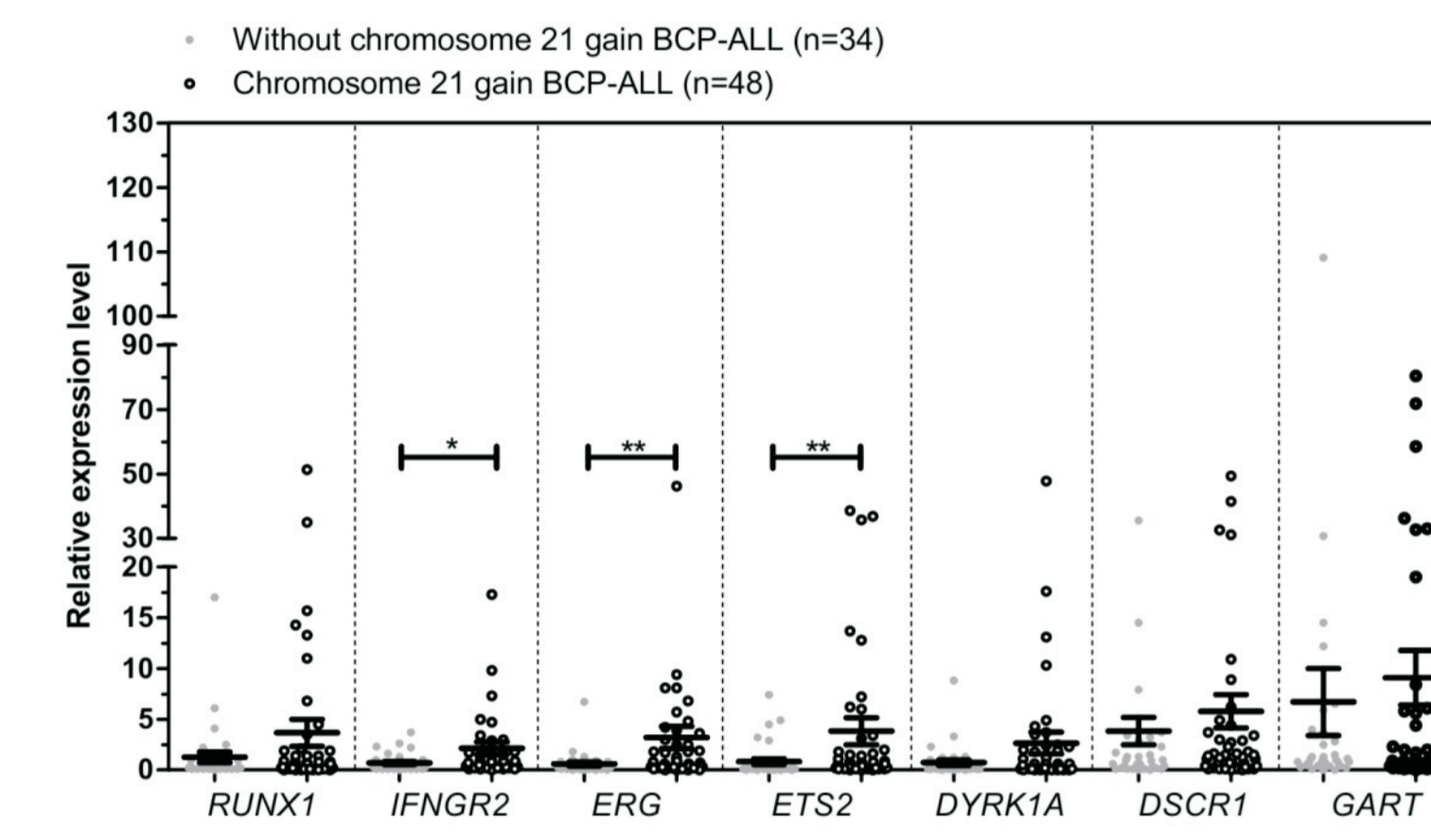


Fig. 5 RT-qPCR revela níveis diferenciais de expressão em genes do cromossomo 21 na comparação entre os pacientes LLA-CPB sem ganhos e com ganhos no cromossomo 21. Os Box plots representam os valores de *Fold-change* dos genes de pacientes LLA-CPB com ganhos no cromossomo 21, independente do subgrupo molecular, e indivíduos sem ganhos no cromossomo 21.

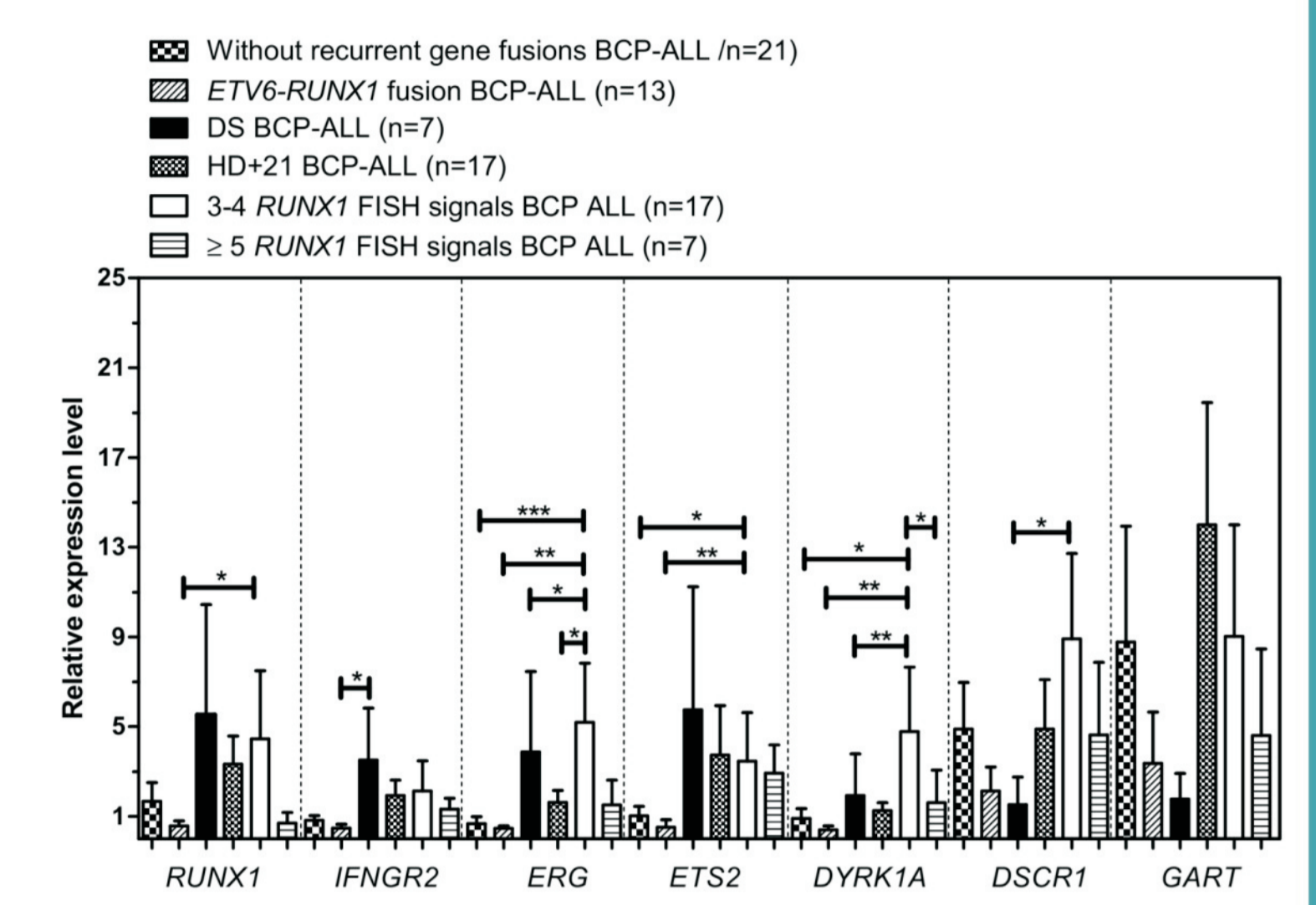


Fig. 6 RT-qPCR revela níveis diferenciais de expressão em genes do cromossomo 21 na comparação entre os subgrupos de LLA-CPB com base em alterações moleculares. Os Box plots representam os valores de *Fold-change* dos genes entre os diferentes subgrupos moleculares de LLA-CPB (sem fusões gênicas recorrentes; fusão *ETV6-RUNX1*, SD, HD+21; 3-4 sinais de *RUNX1* e  $\geq 5$  sinais *RUNX1* por FISH) foram avaliados, comparados e ilustrados aqui.

Uma forte correlação positiva foi observada entre expressão gênica e leucometria nos pacientes com SD para *IFNGR2*, *ETS2* e *ERG*, e uma forte correlação negativa entre expressão gênica e expressão aberrante do marcador CD33/CD13 nos casos sem fusões gênicas para *ERG* e *ETS2*, assim como *ERG* em *ETV6-RUNX1* (Fig. 7).

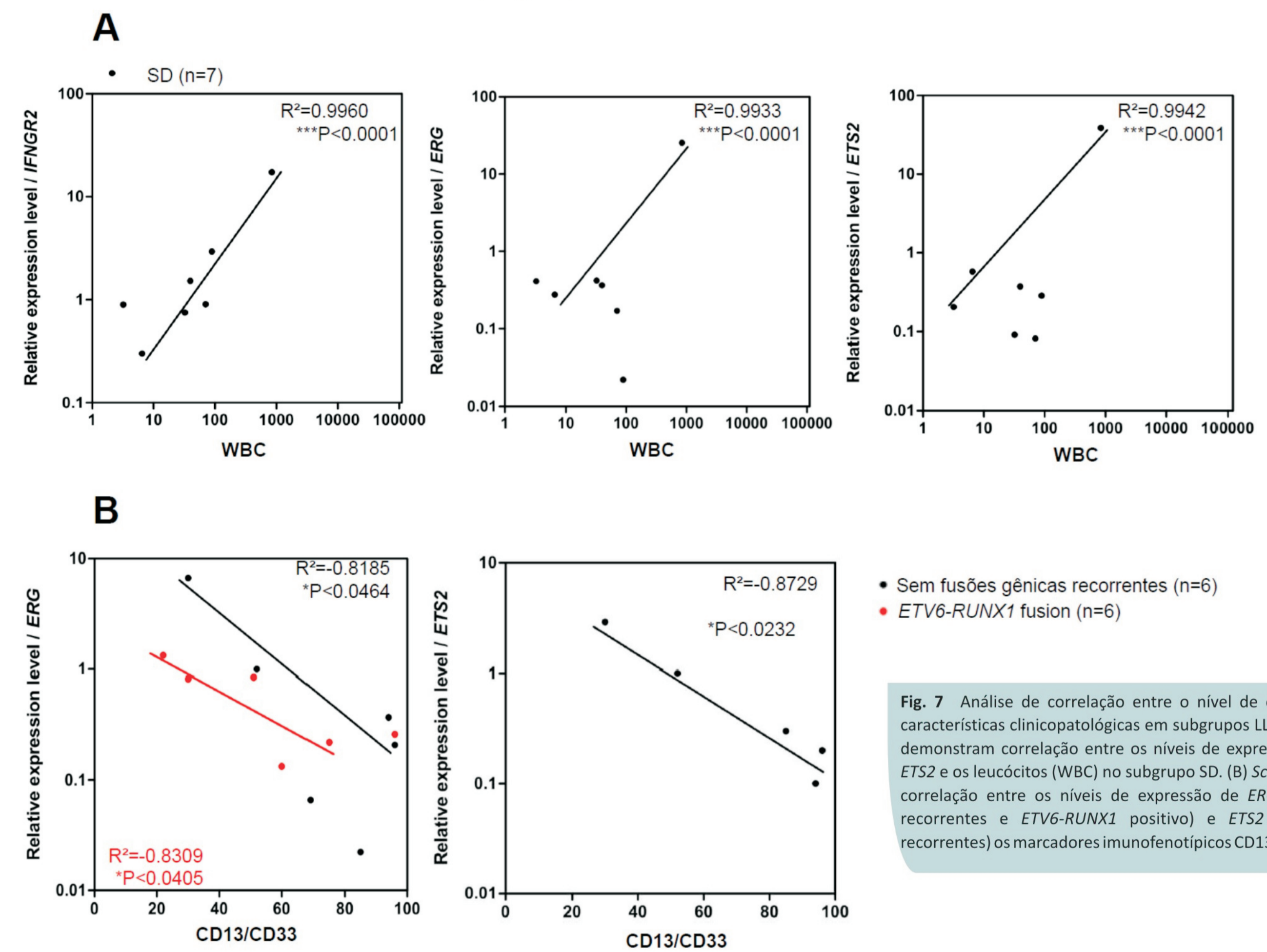


Fig. 7 Análise de correlação entre o nível de expressão relativa e as características clinicopatológicas em subgrupos LLA-CPB. (A) Scatter plots demonstram correlação entre os níveis de expressão de *IFNGR2*, *ERG* e *ETS2* e os leucócitos (WBC) no subgrupo SD. (B) Scatter plots demonstram correlação entre os níveis de expressão de *ERG* (sem fusões gênicas recorrentes e *ETV6-RUNX1* positivo) e *ETS2* (sem fusões gênicas recorrentes) os marcadores imunofenotípicos CD13/CD33.

Cópias adicionais de *IFNGR2*, *ERG* e *ETS2* foram observadas nos casos com HD+21, 3-4 sinais *RUNX1* e 5 sinais *RUNX1* (Fig. 8).

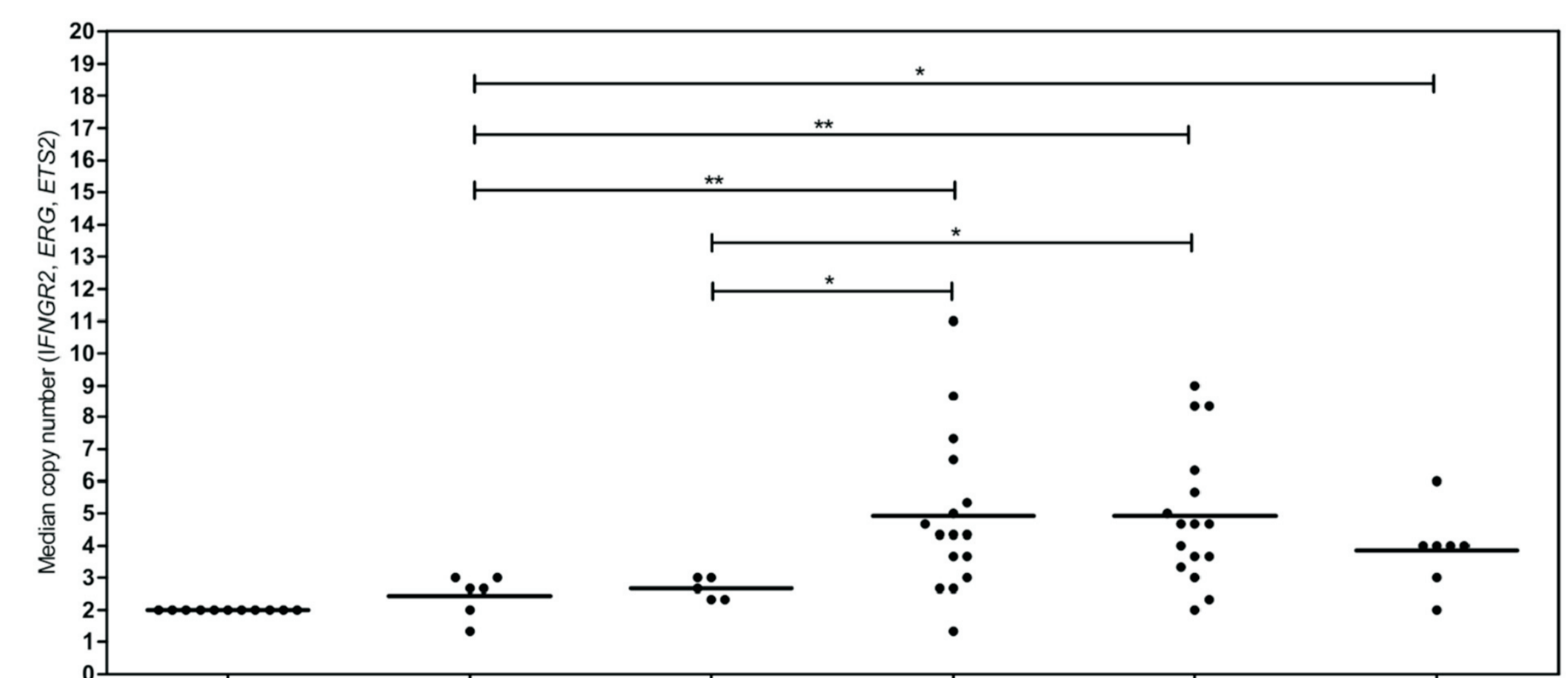


Fig. 8 Quantificação do número de cópias de *IFNGR2*, *ERG* e *ETS2* demonstra padrões heterogêneos entre subgrupos específicos de LLA-CPB. Círculos fechados em preto marca a mediana do número de cópias de todos os genes avaliados.

## CONCLUSÃO

Os resultados sugerem que a expressão diferencial de *IFNGR2*, *ERG* e *ETS2* pode desempenhar papel importante nos subtipos LLA-CPB com ganhos no cromossomo 21.

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

Apoio

