

FREQUÊNCIA DAS MUTAÇÕES EM MZF1 E O POSSÍVEL IMPACTO PROGNÓSTICO DESTE MARCADOR NA LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA DE CÉLULA-T

Maria Prado Ribeiro, Ana Luiza Tardem Maciel, Elda Pereira Noronha, PhD,
 Maria S. Pombo-de-Oliveira, MD, PhD, Marcela B. Mansur, PhD

Programa de Hematologia-Oncologia Pediátrico (PHOP) – Instituto Nacional de Câncer, Rio de Janeiro, RJ - Brasil.

INTRODUÇÃO

A Leucemia Linfoblástica Aguda de célula-T (LLA-T) é um subtipo agressivo de leucemia, que representa 15% das LLAs pediátricas.

Recentemente, foi descrito um subtipo mais agressivo e mais imaturo de LLA-T, que ainda possui potencial mieloide: a LLA-ETP ('Early T-cell Precursor'). A LLA-ETP está geralmente associada a um prognóstico desfavorável com altos índices de recaída e representa 15% das LLAs-T pediátricas (Figura 1a), sendo molecularmente caracterizada por alterações em genes pertencentes à via de sinalização de RAS, reguladores hematopoéticos e reguladores epigenéticos (Figura 1b).

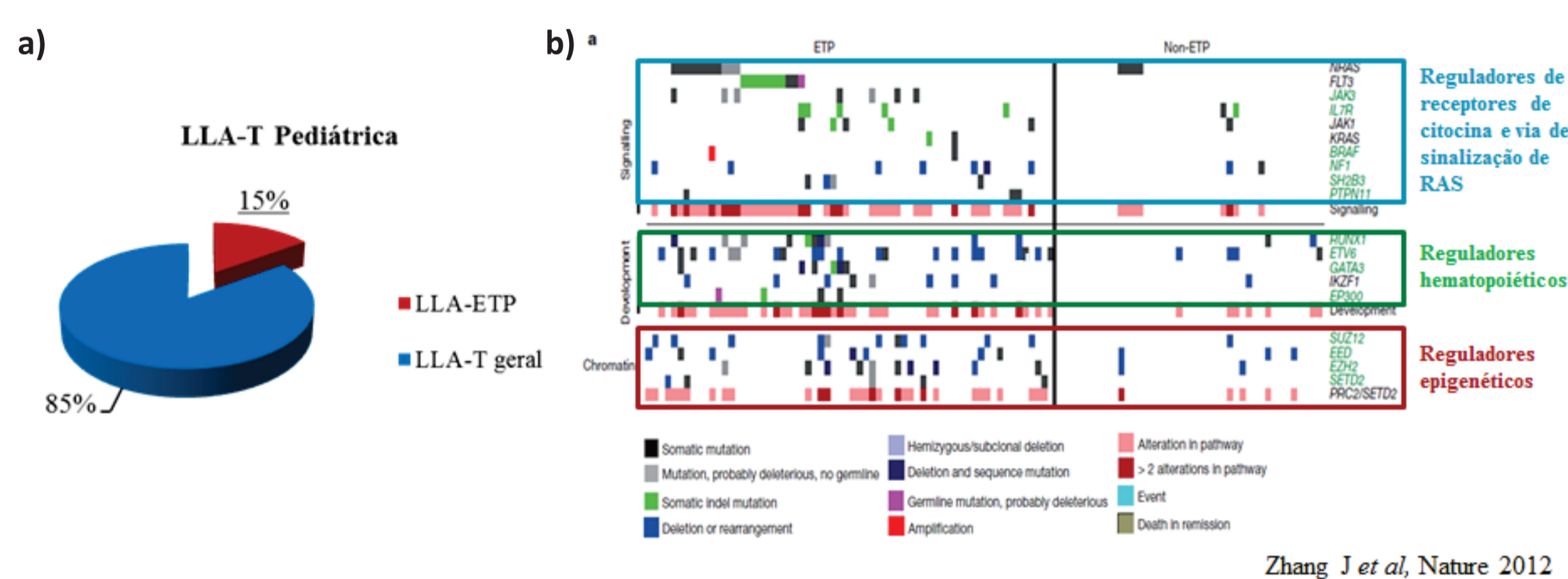


Figura 1. Frequência das LLAs-ETP e sua caracterização molecular. As LLAs-ETP representam 15% do total de LLAs-T pediátricas. O perfil molecular das ETPs é caracterizado pela presença de alterações em genes que atuam como reguladores de citocina, além de genes da via de sinalização de RAS, reguladores hematopoéticos e epigenéticos, (destacados nas caixas azul, verde e vermelha, respectivamente).

Em um trabalho recente do nosso grupo, que delineou o perfil genômico da LLA-T em lactentes, uma entidade extremamente rara, a descrição de novas mutações em genes com funções correlacionadas com os *hallmarks of cancer* (Figura 2) nos levou a planejar o rastreamento destas mutações em uma série maior de casos de LLA-T pediátrica.

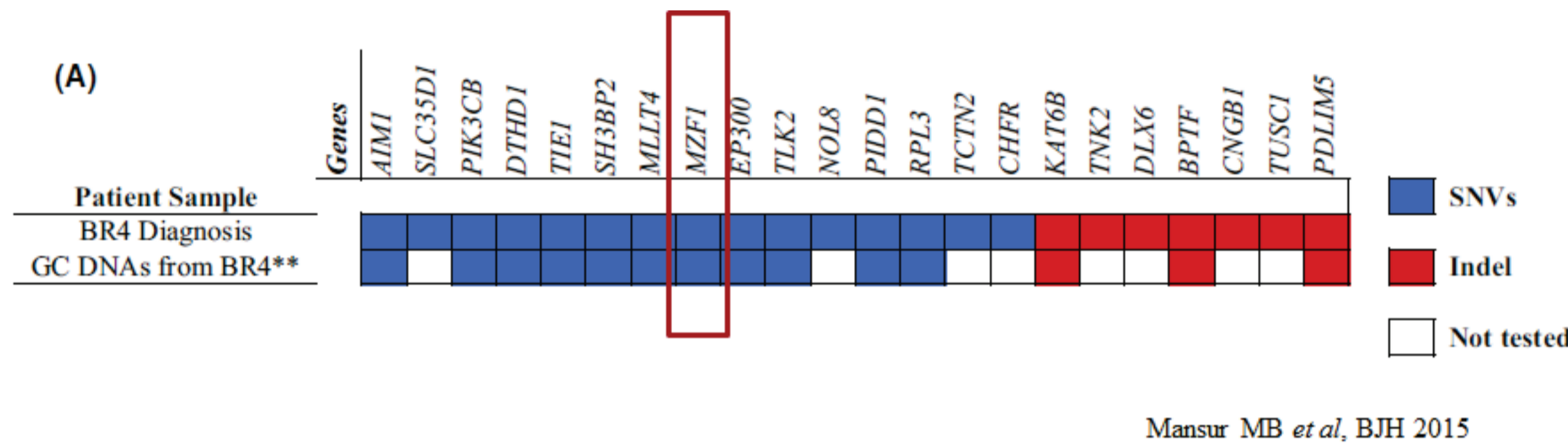


Figura 2. Principais mutações detectadas por WES no paciente BR4 da série de LLA-T em lactentes. (A) Lista de genes relevantes afetados por mutações (SNVs e indels) na amostra de diagnóstico do caso BR4. Todos os genes desta lista possuem função relacionada com os *hallmarks of cancer*.

No presente estudo, investigaremos mutações em *MZF1*, um fator transcricional que atua como regulador hematopoético, atuando no promotor de CD34 de modo tecido-específico. Adicionalmente, foram descritos domínios de ligação de *MZF1* em promotores de vários genes expressos durante a diferenciação mieloide.

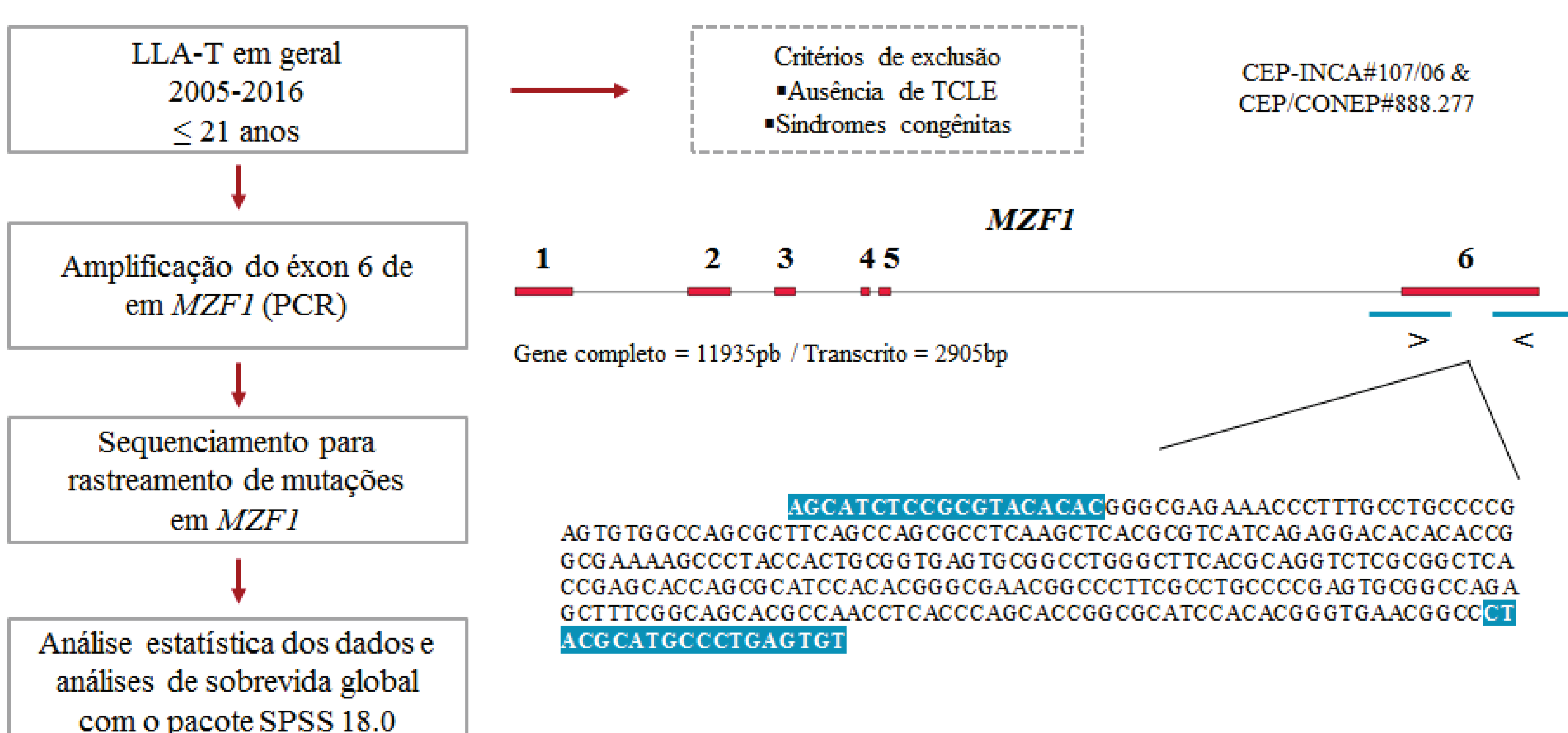
OBJETIVOS

Investigaremos a frequência de mutações em *MZF1* em uma série maior de casos de LLA-T, incluindo LLAs-ETP, e subsequentemente;

Avaliaremos o possível impacto destas mutações e de outras variáveis clínico-demográficas e laboratoriais (idade, sexo, WBC, presença de massa mediastinal, subtipos EGIL, subtipo ETP e protocolo de tratamento) no prognóstico (sobrevida global – SG) destes pacientes com LLA-T.

METODOLOGIA

Esquema 1. Desenho do estudo e metodologias utilizadas



RESULTADOS

Foram analisados 78 casos, dos quais 50% tinham idade ≥ 10 anos ao diagnóstico, 67,9% apresentaram WBC $\geq 50 \times 10^9/L$, 39,7% com alargamento de mediastino, e a proporção entre os sexos foi de 1:2,1 (menina:menino). Quanto ao protocolo de tratamento utilizado, 43,6% dos pacientes foram tratados com o protocolo GBTLI e 39,7% com o BFM (Tabela 1).

Em relação aos subtipos maturativo de acordo com a classificação EGIL, 7 (9,0%) casos foram classificados como T-I, 24 (30,8%) como T-II, 31 (39,7%) como T-III e 16 (20,5%) como T-IV. Dos 78 casos, 13 casos (16,7%) foram classificados como LLA-ETP (Tabela 1).

Para as análises do status mutacional do gene *MZF1*, até o momento, apenas 1 caso (BR4) dos 78 apresentou mutação (Figura 3). O caso mutado era uma menina de 7 meses de idade, diagnosticada com LLA-ETP, WBC $\geq 50 \times 10^9/L$ e sem nenhuma outra alteração molecular clássica de LLA-T.

Tabela 1. Características clínico-demográficas e laboratoriais da série de casos estudada

Variáveis	n (%)
Idade (anos)	
<10	39 (50,0)
10-21	39 (50,0)
Sexo	
Masculino	53 (67,9)
Feminino	25 (32,1)
WBC ($\times 10^9/L$)	
<50	25 (32,1)
≥ 50	53 (67,9)
Massa Mediastinal	
Sim	31 (39,7)
Não	47 (60,3)
Protocolo de Tratamento	
GBTLI (93, 99)	34 (43,6)
BFM (95, 02, 04)	31 (39,7)
ND**	13 (16,7)
Subtipos EGIL	
T-I	7 (9,0)
T-II	24 (30,8)
T-III	31 (39,7)
T-IV	16 (20,5)
LLA-ETP	
ETP*	13 (16,7)
Não-ETP	65 (83,3)
Total	78 (100,0)

*Os casos classificados como ETP possuem sobreposição com casos que na classificação EGIL foram T-I (n = 6) ou T-II (n = 7); **ND = informação não-disponível.

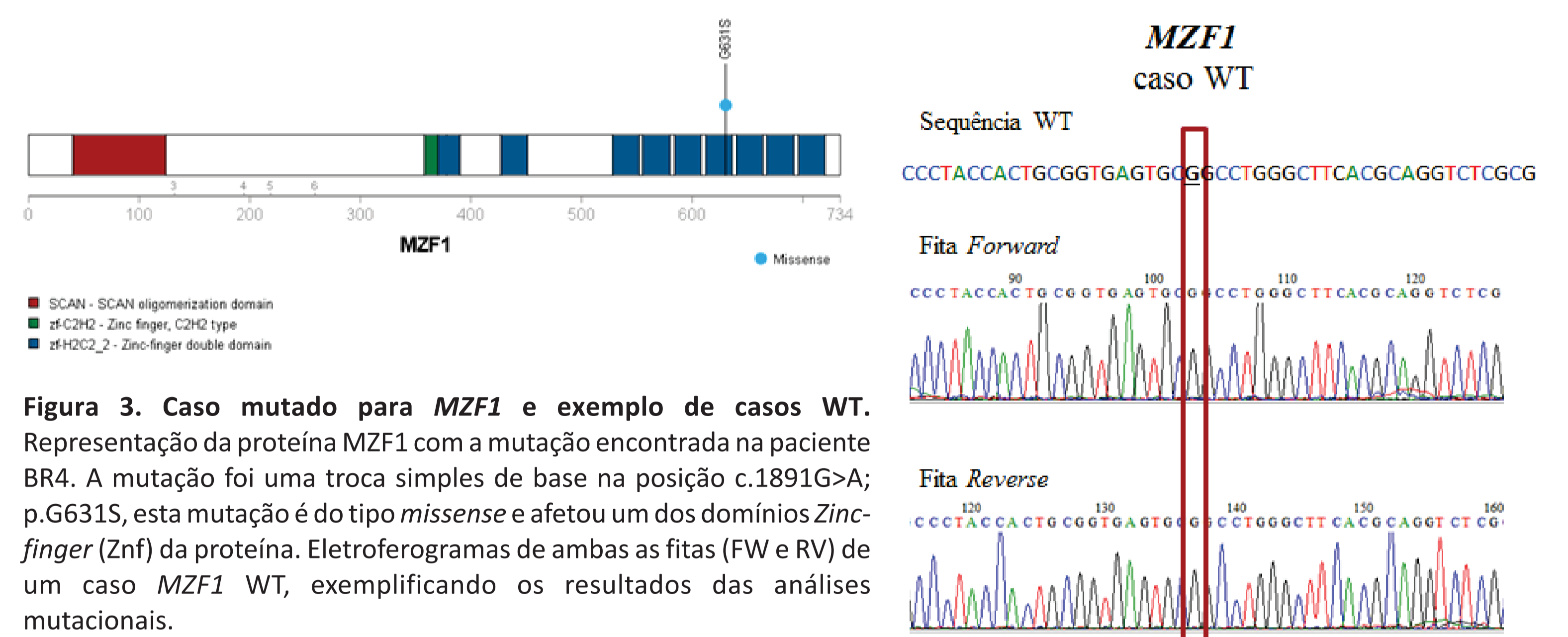


Figura 3. Caso mutado para *MZF1* e exemplo de casos WT. Representação da proteína *MZF1* com a mutação encontrada na paciente BR4. A mutação foi uma troca simples de base na posição c.1891G>A; p.G631S, esta mutação é do tipo missense e afetou um dos domínios Zinc-finger (Znf) da proteína. Eletroferogramas de ambas as fitas (FW e RV) de um caso *MZF1* WT, exemplificando os resultados das análises mutacionais.

Para as análises de SG, verificamos que para 69/78 casos a probabilidade de sobrevivida foi de 73,9% (Figura 4). Como até o momento só identificamos um único caso com *MZF1* mutado, não pudemos avaliar o impacto destas mutações no prognóstico das LLAs-T, contudo analisamos o possível papel das variáveis clínico-demográficas e laboratoriais avaliadas. Nenhuma das variáveis apresentou impacto na SG destes pacientes.

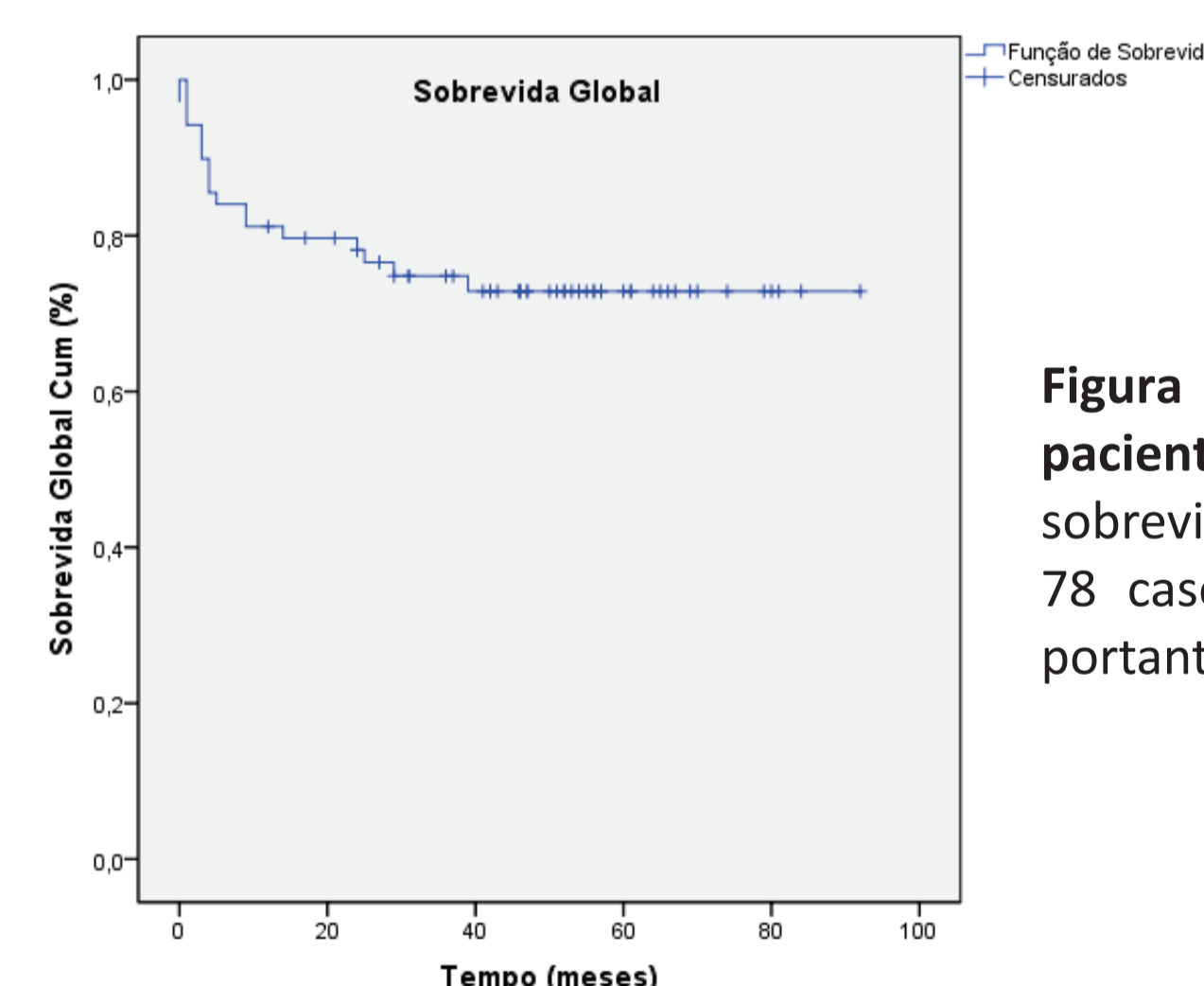


Figura 4. Curva de Kaplan-Meier para a Sobrevida Global (SG) dos pacientes com LLA-T avaliados. Pela curva podemos observar uma sobrevivida em torno de 73% para os 69 casos com seguimento. Nove dos 78 casos não possuíam informação de seguimento e não foram, portanto, incluídos nas análises de SG.

CONCLUSÃO

Este é o primeiro estudo que avalia mutações de *MZF1* em uma série representativa de LLA-T. Como este estudo ainda está em andamento e até o momento somente um caso mutado foi identificado, não pudemos inferir o valor prognóstico destas alterações. Nenhuma das variáveis clínico-demográficas e laboratoriais demonstrou papel prognóstico na SG dos pacientes.

Inicialmente, pensamos que as mutações de *MZF1* pudessem ser características de LLA-ETP, mas ao avaliar um número maior de casos, observamos que estas alterações parecem ser exclusivamente encontradas em lactentes com LLA-T.

Uma vez que não existem biomarcadores moleculares definitivos para estratificação de risco e/ou predição prognóstica nas LLAs-T, a realização de estudos que visam identificar novas alterações com potencial preditivo é de suma importância.

Agências Fomento: INCA, MS, FAPERJ CNPq

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