

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
Escola de Ciências Médicas e da Vida
Trabalho de Conclusão de Curso (Medicina)

**ASPECTOS GENÉTICOS ENVOLVIDOS NO PROGNÓSTICO DA
LEUCEMIA NA INFÂNCIA: REVISÃO SISTEMÁTICA**

GOIÂNIA
2022

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
Escola de Ciências Médicas e da Vida
Trabalho de Conclusão de Curso (Medicina)

**ASPECTOS GENÉTICOS ENVOLVIDOS NO PROGNÓSTICO DA
LEUCEMIA NA INFÂNCIA: REVISÃO SISTEMÁTICA**

Pesquisa realizada como Trabalho de
Conclusão do Curso de Medicina da
Pontifícia Universidade Católica de Goiás.
Orientador: Prof. Dr. Antonio Márcio
Teodoro Cordeiro Silva

SAMYLA COUTINHO PANIAGO
SARA RAQUEL SOUZA SILVA

GOIÂNIA
2022

RESUMO

Introdução: A leucemia é o tipo de câncer mais comum entre crianças e adolescentes, em todo o mundo. Acredita-se não ter uma etiologia única, mas sim um acúmulo de eventos, e, dentre eles, a presença de variados genes envolvidos, como: *TP53*, via *KRAS*, *PTPN11*, *NT5C2*; genes fusionados: *ETV6/RUNX1*, *E2A/PBX1*; e genes rearranjados, como: *MLL*, *KMT2A*, *MEF2D*, entre outros. **Objetivo:** Este estudo objetivou analisar os aspectos genéticos envolvidos no prognóstico da leucemia na infância. **Metodologia:** Trata-se de uma revisão sistemática da literatura, utilizando a base de dados PubMed. A coleta de dados foi realizada entre os anos 2012 e 2022, com os descritores: (*acute lymphoblastic leucemia*) AND (*children prognostic*). **Resultados:** Após aplicação de critérios de inclusão e exclusão, 44 artigos foram selecionados e, destes, 14 apresentaram aspectos genéticos relacionados ao prognóstico na leucemia pediátrica. Assim, foi possível observar que genes em fusão, rearranjados e em mutação afetam o percurso da doença na criança. Além disso, a falta de mais estudos sobre estes genes evidenciou a necessidade de mais pesquisas. **Conclusão:** Os polimorfismos genéticos são elementos-chave para o estudo da genética médica e humana. Eles são variações genéticas que podem ocorrer em sequências codificadoras e não-codificadoras, levando a alterações qualitativas e/ou quantitativas das proteínas. No prognóstico da leucemia na infância as formas de mutação com genes fusionados e rearranjados se mostraram consideravelmente importantes.

Palavras-chave: Leucemia linfoblástica aguda; Leucemia pediátrica; Prognóstico; Genes; Mutação.

INTRODUÇÃO

A leucemia é uma doença maligna que acomete os glóbulos brancos, sem uma causa conhecida definida. Constitui no acúmulo de células doentes na medula óssea que ocupa o lugar das células sanguíneas saudáveis. Na leucemia, a célula sanguínea, considerada normal, sofre mutação genética, o que altera o seu funcionamento e capacidade de divisão celular, multiplicando-se mais rápido e tendo uma sobrevivência maior que as células saudáveis. Sendo assim, as células sanguíneas normais da medula óssea vão sendo substituídas por estes oncócitos. As leucemias mais comuns são: a leucemia mieloide aguda (LMA); a leucemia mieloide crônica (LMC) e a leucemia linfóide aguda (LLA) (1).

A leucemia é o tipo de câncer mais comum entre crianças e adolescentes, no mundo todo. Trata-se da faixa etária onde as neoplasias apresentam-se de forma mais invasiva, com curtos períodos de latência e altas taxas de proliferação, ocasionando comprometimento físico e psicológico. Em contrapartida, por causa da alta capacidade proliferativa da doença, os pacientes, geralmente, demonstram respostas positivas ao tratamento, quando diagnosticados precocemente, o que eleva a chance de cura em 80%. A identificação precoce de pacientes com a doença em fase de cura oferece oportunidades únicas para redução no tempo de tratamento, diminuindo assim a probabilidade de morbidade e mortalidade a longo prazo, bem como o risco de sequelas (2).

Acredita-se ser improvável que a etiologia da leucemia seja resultado de um evento único, mas sim de um acúmulo de múltiplos processos genéticos, envolvendo interações complexas entre a susceptibilidade do hospedeiro, danos cromossômicos secundários à exposição por agentes químicos ou físicos e a

possível incorporação de informações genéticas virais, transmitidas as células progenitoras susceptíveis (3).

A avaliação genômica na leucemia pediátrica revelou-se com múltiplas alterações em relação ao diagnóstico. Foram observados que polimorfismos, fusões e rearranjos fazem parte da distribuição genômica e do prognóstico na leucemia em variados subtipos, os quais incluem: mutações, principalmente, na via RAS, NRAS, PTPN11; fusão dos genes *ETV6/RUNX1*, mutações nos genes: *CDKN2A*, *CDKN2B* e *NOTCH1*; fusão de *TCF3/PBX1*; fusão de *BCR/ABL1*; rearranjo em *KMT2A*, dentre outros (4).

Outras alterações estudadas em leucemias estão associadas a alterações epigenéticas e modificações bioquímicas da cromatina. Tais condições incluem mudanças que envolvem a metilação do DNA e a transformação de histonas, que afetam a atividade dos genes e sua expressão celular. Essas variações podem silenciar genes supressores de tumor e/ou ativar oncogenes (5-6).

A relevância deste estudo está no fato do tema ser de grande importância na saúde pública, pois as leucemias são uma das doenças com maior mortalidade infantil. O conhecimento sobre a leucemia pediátrica aumentou consideravelmente nos últimos anos, porém é necessário que se entenda mais sobre os fatores genéticos envolvidos no prognóstico desta patologia em questão (7).

Portanto, o objetivo deste estudo foi caracterizar e conhecer os principais genes relacionados ao prognóstico da leucemia linfoblástica aguda, em pacientes pediátricos, bem como analisá-los em relação à sobrevida. Essas informações, além de identificar características marcantes da doença, cooperam

para relacionar os resultados com o prognóstico da doença na faixa etária citada, contribuindo para o conhecimento e tratamento da doença.

METODOLOGIA

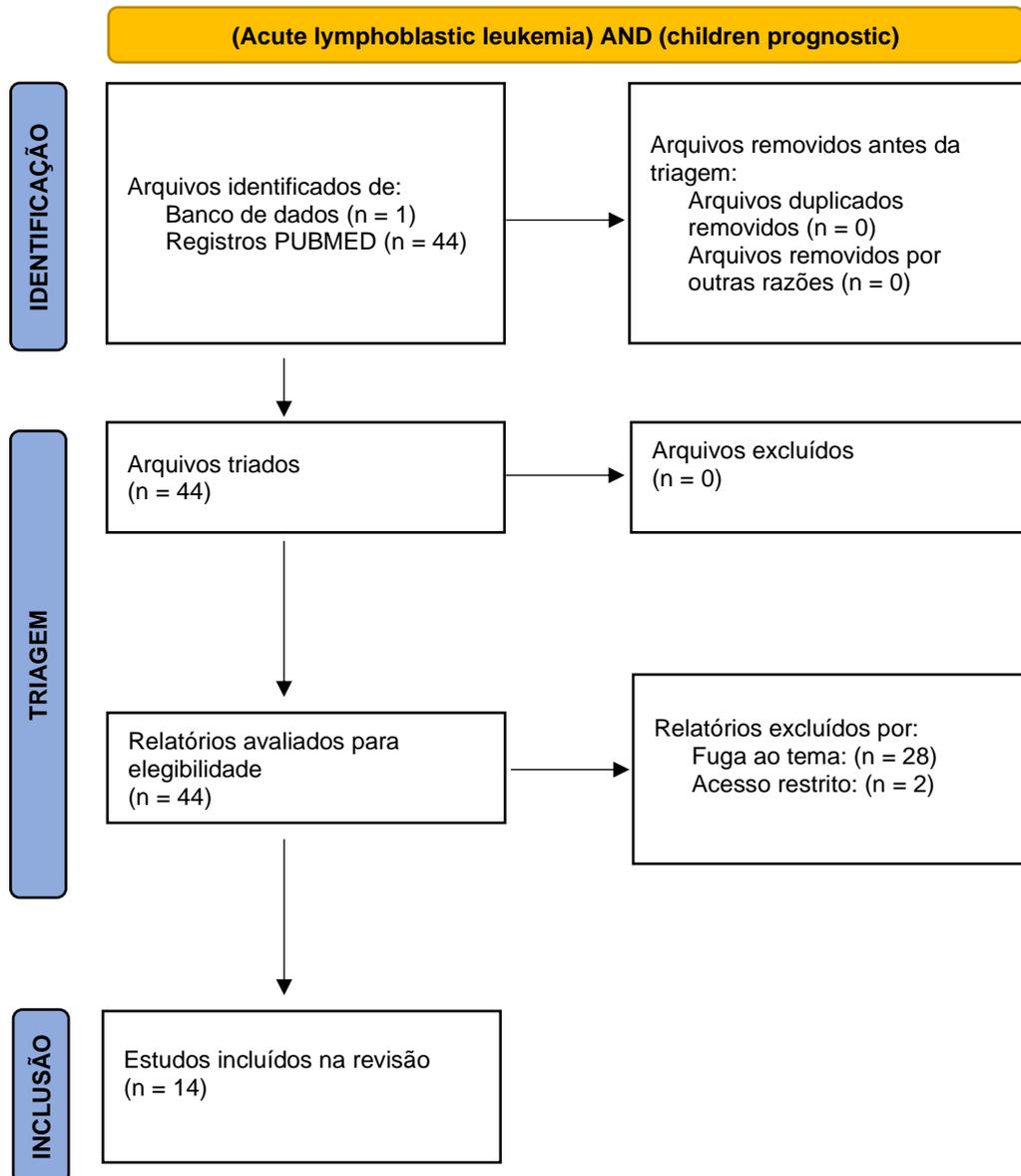
Trata-se de uma revisão sistemática da literatura, acerca do tema proposto. A revisão sistemática é um procedimento destinado a examinar, de modo simultâneo, os resultados de várias investigações sobre um mesmo tópico. Esse tipo de estudo é bastante utilizado nas áreas médicas, pois, com o uso de diversos dados, de variados trabalhos sobre um mesmo assunto, aumenta-se a credibilidade, para vários fins. A revisão sistemática se justifica porque muitos estudos sobre um determinado tema são concordantes, mas podem também apresentarem discordância, fato que aumenta a necessidade de análises conjuntas para que se possam gerar conclusões mais seguras (8).

Os artigos foram pesquisados na base de dados PubMed. A busca foi feita, utilizando os seguintes descritores: (*acute lymphoblastic leukemia*) AND (*children prognostic*). As variáveis extraídas de cada artigo foram: autor, ano de publicação e fatores genéticos associados ao prognóstico da leucemia pediátrica. O procedimento de coleta das informações foi realizado a partir do protocolo PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*) (9).

Como resultado da pesquisa, obtivemos 44 artigos, sendo selecionados 14 artigos finais que obedeceram aos critérios de inclusão. Foram utilizados como critérios de inclusão: artigos que abordaram a temática proposta, artigos com acesso gratuito, publicados entre os anos de 2012 e 2022. Como critérios

de exclusão, desconsideramos os estudos que extrapolassem o marco temporal de 10 anos (2012-2022), artigos que fugiram da temática e aqueles cujas publicações não estivessem com acesso gratuito (Figura 1).

Figura 1. Fluxograma de busca dos artigos inseridos com o protocolo PRISMA. Revisão sistemática, 2022.



Fonte: Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ* 2021;372:n71. doi: 10.1136/bmj.n71.

O estudo não realizou contato direto ou indireto com pacientes, sendo uma busca de dados em bases de dados de domínio público, não necessitando, portanto, de aprovação de Comitê de Ética em Pesquisa. A pesquisa oferece benefícios à sociedade científica especializada, uma vez que avalia os fatores genéticos de associados ao prognóstico da leucemia na infância, bem como a relevância dessas influências, melhorando a percepção dessa associação, possibilitando, assim, melhor abordagem terapêutica. Os resultados do estudo poderão ser utilizados para posteriores pesquisas e para fundamentar a prática da medicina baseada em evidências.

RESULTADOS

Nesse estudo 14 artigos foram selecionados, onde 9 abordaram os genes, que de alguma forma, estão envolvidos com o prognóstico da leucemia pediátrica. Os subtipos genômicos recorrentes são caracterizados por aneuploidia cromossômica, ou seja, hiperdiploidia (>50 cromossomos), hipodiploidia (<44 cromossomos) e por rearranjos cromossômicos.

A avaliação genética e da linhagem germinativa pode levar a uma compreensão da leucemogênese, predisposição ao câncer e as diferenças na resposta e metabolismo de drogas (farmacogenômica).

Alterações genéticas confirmadas no diagnóstico, evidenciaram grande potencial no prognóstico da leucemia pediátrica. Os resultados efetivos foram organizados, na Tabela 1, de forma a configurar os principais genes envolvidos, esses se apresentaram caracterizados em fusão, rearranjados ou em mutação.

Tabela 1. Genes associados ao prognóstico da leucemia pediátrica. Revisão sistemática, 2022.

Autor/Ano	Fatores genéticos relacionados ao prognóstico
Jeha et al., 2021.	DUX4-rearranjado; PAX5alt; BCR–ABL1- like; BCR–ABL1 1-like, MEF2D-rearranjado; ZNF384-rearranjado ALL
Inaba et al., 2021.	Fusão ETV6 /RUNX1; Fusão TCF3/PBX1; Fusão BCR/ABL1; Rearranjo KMT2A; DUX4 – ALL rearranjado; ZNF384 – ALL rearranjado; MEF2D – ALL rearranjado; PAX5 -alterado (PAX5alt) ALL, NUTM1 – ALL rearranjado; Fusão ETV6/ RUNX1
Zanetti et al., 2021.	CXCR5; CXCL13
Shiraz et al., 2021.	CDKN2A; CDKN2B; NOTCH1
Rivas-Alarcón et al., 2021.	YKL-40
Antić et al., 2021	TP 53; CREBBP; KRAS; NRAS; PTPN11; NT5C2; WHSC1
Qiu et al. 2021	Fusão ETV6/RUNX1; Fusão E2A/PBX1; Rearranjo genético MLL (MLL-r); Fusão BCR/ABL1
Zheng et al, 2022	IKZF1; TP53; CREBBP; KRAS; JAK1) e 123 mutações CTCF, EP300, FAT1, JAK1, JAK3, KMT2A, NR3C1, NT5C2, PDGFRB, STAT5B, TET2, WT1)
Alves et al., 2021	IL1B C/T rs19644; <i>NLRP1</i> A/T rs12150220; <i>IL1B</i> G/G rs16944; <i>NLRP1</i> A/T rs12150220

DISCUSSÃO

Nesse estudo, encontramos vários aspectos genéticos relacionados ao prognóstico de leucemia na infância, conforme descrito na Tabela 1. No entanto, resolvemos estudar de maneira mais aprofundada o *IKZF1*, os genes da via RAS – KRAS, NRAS e PTPN11, e o *ETV6/RUNX1*, pois foram os fatores que mais se repetiram após análise e avaliação dos estudos agrupados.

O IKZF1 é um fator de transcrição (IKAROS) que atua regulando a diferenciação linfóide, principalmente, por meio da regulação nucleossômica e do complexo de diacetilase HDAC1, HDAC2, CHD3 e CHD4. Este fator é, frequentemente, excluído ou mutado em leucemia linfoblástica aguda precursora de células B (10).

A presença dessas alterações genéticas, no momento diagnóstico, tem mostrado potencial relevância prognóstica (12), e os tipos de supressões do *IKZF1* têm sido, consistentemente, ligados a um desfecho clínico desfavorável do tratamento de linha de frente (11). Isso porque as supressões do *IKZF1* mediam a resistência à prednisona *in vivo* e os glicocorticoides sintéticos, como a prednisona, constituem medicamentos essenciais no tratamento de LLA (10).

Devido a isso, alguns estudos internacionais incluíram o status de exclusão do *IKZF1* (11) em suas estratégias de estratificação de tratamento de alto risco (11-12).

Os mecanismos moleculares de resistência ao tratamento foram sugeridos, mas são complexos e não são completamente compreendidos (11). Foram selecionadas dez variantes germinativas de *IKZF1*, encontradas como mais prejudiciais. São elas: M31V, R162P, H163Y, D186fs, M306*, M347V, C394*, R423C, A434G e L449F. Após isso, foram avaliados seus efeitos na sensibilidade às substâncias dasatinib e dexametas *in vitro* (drogas que induzem, potentemente, apoptose em $+Arf^{-/-}$ Células pré-B BCR-ABL1 *in vitro*). Destes, a variante N-terminal M31V e as variantes C-terminal A434G e L449F demonstraram redução mais marcante da sensibilidade ao dasatinib e dexametasona (13).

Com isso, alguns estudos afirmam que a importância do prognóstico das supressões do *IKZF1* para o tratamento é, relativamente, subexaminada em comparação com os protocolos de linha de frente e que semelhante à terapia de linha de frente, o efeito prognóstico das exclusões do *IKZF1* parece ser dependente do contexto (11).

Dentre as diversas mutações estudadas, as alterações subclonais nos genes associados à recaída: *IKZF1*, *CREBBP*, *KRAS*, *NRAS*, *PTPN11*, *TP53* e *WHSC1*, em LLA pediátrico, estão, frequentemente, presentes no diagnóstico inicial (12).

A via RAS, que aborda diversos genes, dentre os quais, têm-se: *KRAS*, *NRAS* e *PTPN11* (12), *HRAS* (14) e *FLT3* (15), é a família genética mais mutada em cânceres. Ela é ativada na membrana a jusante dos receptores do fator de crescimento. Funciona como um pequeno interruptor de sinalização GTPase que alterna entre seu estado ativo vinculado ao GTP e o estado inativo vinculado ao GDP. As mutações nessa via interrompem o ciclo de troca de guanina, tipicamente, tornando-se independente do GAP e “travando” RAS no estado ativo, ligado ao GTP, ativando, assim, vias de sinalização a jusante, resultando em crescimento de células tumorais (14) (Figura 1).

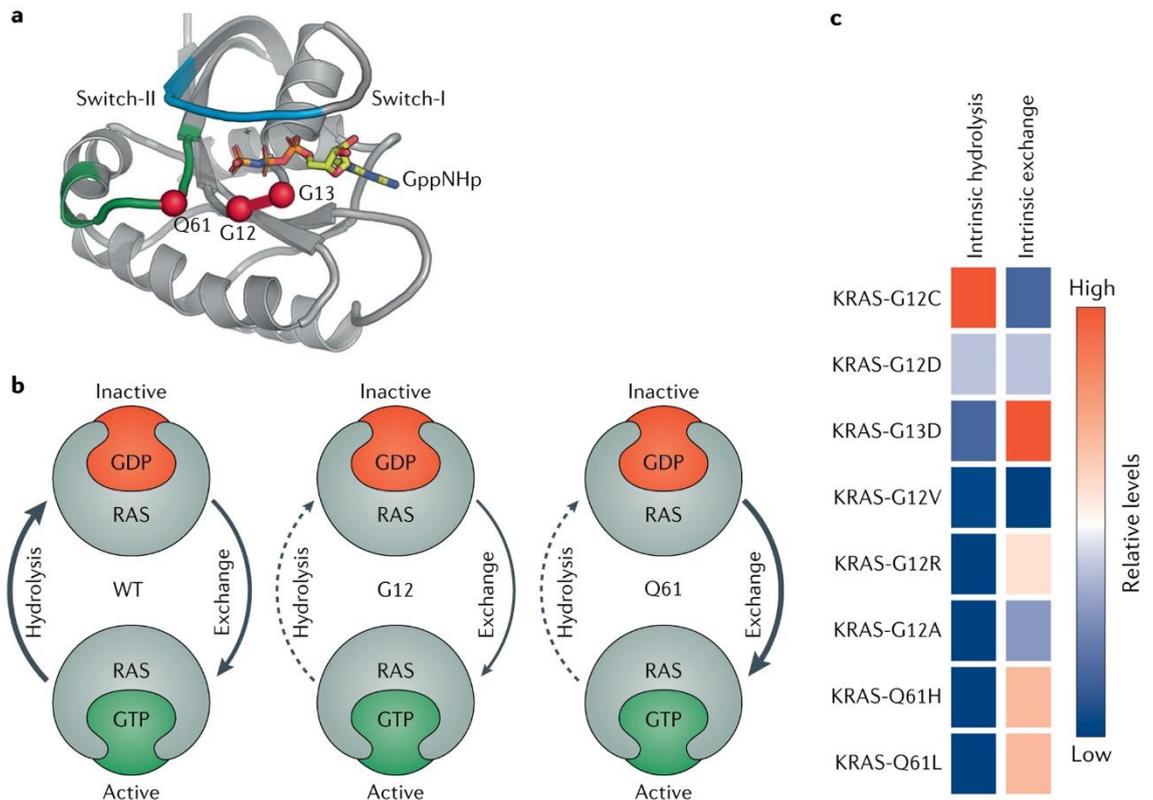


Figura 1. Característica bioquímicas da ativação da proteína RAS (14).

Segundo estudo, realizado em 2015, as mutações KRAS também são prevalentes em muitos tumores de tecido sólido, e estão associadas a prognósticos particularmente ruins (16).

Mutações de *hotspot* KRAS apresentaram uma frequência de alelo, significativamente, maior em comparação com as mutações NRAS e PTPN11 (Wilcoxon, $p < 0,01$) (12).

Outros genes analisados, retrospectivamente, a partir dos dados clínicos de 141 crianças com LLA, relevaram que os genes KRAS, FLT3 e as mutações em PTPN11, PAX5 e TP53 foram detectadas apenas em crianças com LLA-B (24,1%; 9,6%; 9,6%; 3,6%; e 6,0%, respectivamente), nas quais também foram detectadas as mutações NRAS (15,7%) (15).

Entre os 160 *loci* de mutações gênicas encontradas, prevaleceram as mutações *KRAS*, representando 12,5%, sendo a mutação gênica mais comum, seguida por: *NOTCH1*, com 11,9%; *NRAS*, com 10,6%; *CREBBP* e *FLT3*, com 5,6% cada; e *PTPN11*, com 5,6% (15).

A avaliação quantitativa do Ras na neoplasia hematopoiética pode fornecer uma base para entendermos o papel da via Ras em várias vias de transdução de sinais, o que forneceria novas rotas para estratégias de tratamento direcionadas (17).

Outro gene que influencia no prognóstico da leucemia linfoblástica aguda é o *ETV6/RUNX1*. Esse é um gene fusionado, resultante da translocação cromossômica t(12;21)(p13;q22). Essa translocação origina a fusão de dois reguladores da hematopoiese: porção 5' do gene *ETV6* (*TEL*), no cromossomo 12p13, e quase todo o gene *RUNX1* (*AML1*), no cromossomo 21q22 (18). Além disso, essa é a translocação mais comum na leucemia linfoblástica aguda infantil (LLA), correspondendo, aproximadamente, 20 a 25% de LLA-B (19).

As células *ETV6/RUNX1* leucêmicas são consideradas malignas de precursores normais de células B. Um total de 1 a 3% das células pré-leucêmicas que carregam essa translocação é encontrado no sangue do cordão umbilical. Estudos revelaram que a fusão por si só confere baixo risco de desenvolver LLA-B e que poucas fusões desenvolvem a leucemia ($1/10^5$), sendo sua origem um objeto de discussão, uma vez que a doença é diagnosticada em estágios finais, não havendo ainda a observação da evolução da doença a partir da primeira célula mutada. Entretanto, esses estudos mostraram que o estágio final, e irreversível, leucêmico pode ser dependente de aberrações genéticas

secundárias, associadas a fatores ambientais, o que possibilitaria formas de se prevenir a doença (18) (Figura 2).

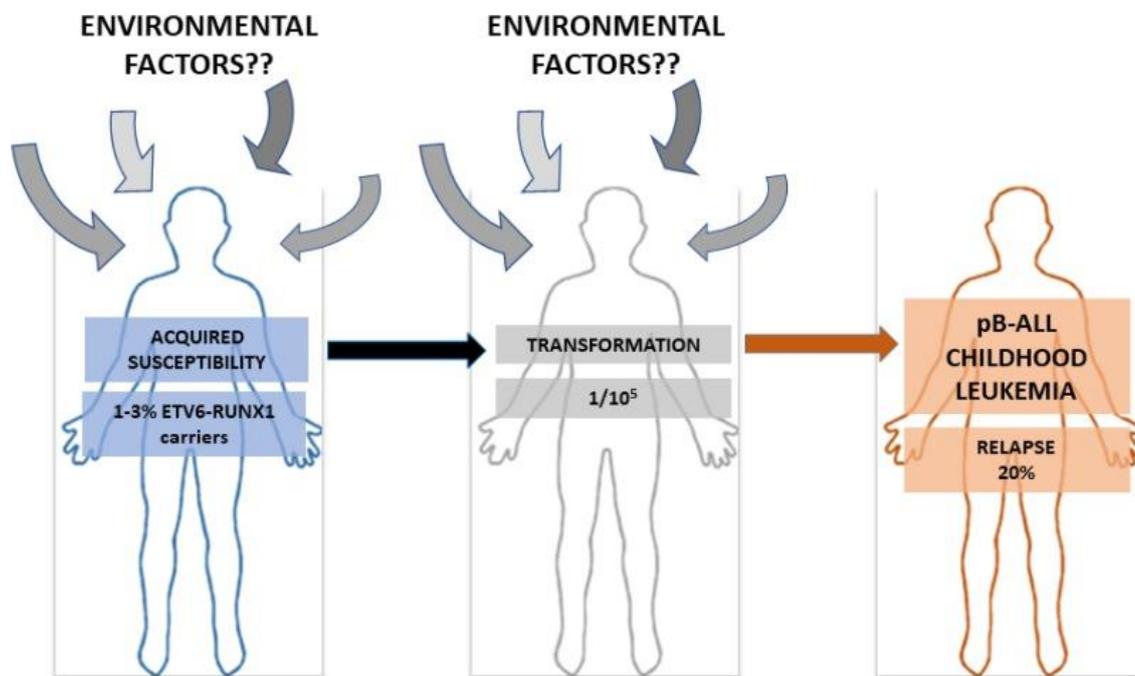


Figura 2. História natural da doença (18).

Mesmo com base nos achados anteriores, sabe-se que crianças LLA-B positivas têm menos fatores de risco no diagnóstico, melhor resposta precoce, menor taxa de recidiva, bom prognóstico e maiores taxas de sobrevivência sem eventos, quando comparadas com crianças *ETV6/RUNX1* negativas (19-20).

Observou-se, no entanto, que o prognóstico da LLA-B era, significativamente, afetado pela: idade, resposta à prednisona, pelo protocolo de quimioterapia e pelo D15 DRM (doença residual mínima no 15º dia de tratamento (19), sendo uma das abordagens de tratamento a redução da abordagem terapêutica para os pacientes LLA-B *ETV6/RUNX1* (20).

Observa-se, portanto, que, o diagnóstico de LLA, os tratamentos a avaliação da resposta ao tratamento passaram por uma melhora notável (21),

com taxas de sobrevivência que aproximam de 90% (12). No entanto, a avaliação da genética germinal pode levar à compreensão da leucemogênese, predisposição do câncer e das diferenças na resposta e metabolismo de medicamentos (farmacogenômica) (21), assim como os pacientes mais velhos *ETV6/RUNX1* positivos, que apresentam resposta lenta à terapia e que, por isso, devem ser submetidos a um tratamento mais intensivo (19).

CONCLUSÃO

A leucemia é um problema de saúde pública. O índice de pessoas acometidas por esta doença cresce a cada ano, o que exige maior conhecimento acerca de sua etiologia, prognóstico e tratamento. Portanto, a presente revisão evidenciou a relação genômica direta com o prognóstico da doença em crianças, como a fusão de genes *ETV6/RUNX1*, *IFZF1*, *BCR/ABL1*, rearranjos *DUX4*, *ZNF384* e evidentes alterações nas vias *KRAS* e *NRAS*. É importante que novos estudos sejam realizados no intuito de ampliar o conhecimento desses genes, suas mutações, fusões e rearranjos.

REFERÊNCIAS

- 1 Lacobucci I, et al. Implicações biológicas e terapêuticas das alterações genômicas na leucemia linfoblástica aguda. *J. Clin. Med.* 2021 , 10 (17), 3792; <https://doi.org/10.3390/jcm10173792>
- 2 Valente, R. G., da Silva, A. C. S. S., Knupp, V. M. de A. O., da Silva, B. Q., Barcia, L. L. do C., & Neto, J. A. de S. (2021). Mapping of the main types of neoplasms among children and adolescents across the regional health agencies from the Rio de Janeiro state, Brazil / Mapeamento das principais neoplasias infanto-juvenis nas regionais de saúde do Rio de Janeiro. *Revista de Pesquisa Cuidado é Fundamental Online*, 12, 1081–1086. <https://doi.org/10.9789/2175-5361.rpcfo.v12.7913>
- 3 Zanrosso CW, Hatagima A, Emerenciano M, Figueiredo FRA, Félix TM, Segal SL, Guigliani R, Muniz MTC, Oliveira MS. The role of methylenetetrahydrofolate reductase in acute lymphoblastic leukemia in a Brazilian mixed population. *Leuk Res.* 2005; 30: 477-81.
- 4 Inaba H, Pui CH. Advances in the Diagnosis and Treatment of Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia. *J. Clin. Med.* 2021, 10 (9), 1926; <https://doi.org/10.3390/jcm10091926>
- 5 Zanetti C et al., The age of the bone marrow microenvironment influences B-cell acute lymphoblastic leukemia progression via CXCR5-CXCL13. *Blood*, 138 (19): 1870-1884.2021. <https://doi.org/10.1182/blood.2021011557>
- 6- Shiraz P et al., T-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia-Current Concepts in Molecular Biology and Management. *Biomedicines* 2021 Nov 4;9(11):162. doi: 10.3390/biomedicines9111621
- 7 DE CAMARGO, B. et al. Socioeconomic status and the incidence of non-central nervous system childhood embryonic tumors in Brazil. *BMC Cancer*, v. 11, n. 160, 2011.
- 8 Sampaio RF, Mancini MC. Estudos de revisão sistemática: um guia para síntese criteriosa da evidência científica. *Brazilian Journal of Physical Therapy*. 2007 Mar 23.
- 9 Moher David, et al. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Systematic reviews*. 2015.
- 10 Marke René, et al. The many faces of IKZF1 in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*. 2018:565-574.
- 11 Stanulla Martin, et al. IKZF1 deletions in pediatric acute lymphoblastic leukemia: still a poor prognostic marker? *Frontiers in pediatrics*. 2020 Jan 23:252-260.
- 12 Antić Željko, et al. Multiclonal complexity of pediatric acute lymphoblastic leukemia and the prognostic relevance of subclonal mutations. *Haematologica*. 2021 Dec 01:3046-3055.
- 13 Churchman Michelle L, et al. Germline Genetic IKZF1 Variation and Predisposition to Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *Cancer Cell*. 2018 Apr 19

14 Moore Amanda R, et al. The maRAS-targeted therapies: is the undruggable drugged?ny faces of IKZF1 in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Nature reviews. Drug discovery*. 2020:533-552.

15 Zheng Y Z, et al. [Mutational spectrum and its prognostic significance in childhood acute lymphoblastic leukemia based on next-generation sequencing technology]. *Chinese journal of hematology Zhonghua xueyexue zazhi*. 2022 Jan 14:19-25.

16 Nikolaev Sergey I, et al. Frequent cases of RAS-mutated Down syndrome acute lymphoblastic leukaemia lack JAK2 mutations. *Annals of hematology*. 2014 Aug 08.

17 Raeppele D, et al. Determination of Ras-GTP and Ras-GDP in patients with acute myelogenous leukemia (AML), myeloproliferative syndrome (MPS), juvenile myelomonocytic leukemia (JMML), acute lymphocytic leukemia (ALL), and malignant lymphoma: assessment of mutational and indirect activation. *Annals of hematology*. 2008 Sep 11:319-24.

18 Rodríguez HG et al. Modeling the process of childhood ETV6-RUNX1 B-cell leukemias. *Oncotarget*. 2017 Sep 27:102674-102680.

19 Qiu Kun-Yin, et al. Prognostic Value and Outcome for ETV6/RUNX1-Positive Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia: A Report From the South China Children's Leukemia Group. *Frontiers in Oncology*. 2021 Dec 20.

20 Jeha S, et al., Clinical significance of novel subtypes of acute lymphoblastic leukemia in the context of minimal residual disease-directed therapy. *Blood Cancer Discov*. 2021 Jul;2(4):326-337. doi: 10.1158/2643-3230.BCD-20-0229