

Artigo de revisão literária

Principais mutações genéticas do mieloma múltiplo associadas a agressividade da doença

Rafaella de Faria Poçam

Biomédica e aluna do curso de Pós-Graduação Lato-Sensu em Hematologia e Banco de sangue

Academia de Ciência e Tecnologia de São José do Rio Preto, SP

Resumo

O mieloma múltiplo (MM) é uma neoplasia hematológica caracterizada pela presença de células clonais na medula óssea, além de sinais sistêmicos como anemia, hipercalemia, insuficiência renal e lesões ósseas. Sua incidência é de aproximadamente 4 novos casos para 100.000 indivíduos. O MM é uma doença heterogênea com alguns pacientes falecendo poucas semanas após o diagnóstico e outros vivem por mais de 10 anos. Ele costuma ser precedido por um estágio pré maligno assintomático chamado de gamopatia monoclonal de significado indeterminado (GMSI), que progride para mieloma ou outras neoplasias. Os subtipos do mieloma múltiplo são caracterizados tendo como base características genético-moleculares que são utilizadas em diferentes esquemas de classificação, esses são baseados nas características biológicas, no valor prognóstico e na predição da resposta terapêutica. As anomalias genéticas do MM quando incorporadas aos esquemas de classificação auxiliam na discriminação de grupos homogêneos quanto ao comportamento clínico e a resposta terapêutica. O presente artigo de revisão de literatura pretende apresentar as principais alterações genéticas do MM e mostrar a importância do entendimento dos fatores que influenciam a biologia da doença para conhecer e prever o comportamento desta em cada indivíduo. E compreender que o perfil genético da doença, é importante para melhorar os resultados do tratamento

uma vez que as mutações genéticas do MM tem relação com agressividade do mesmo.

Palavras chaves: Mieloma múltiplo, alterações genéticas, agressividade

Introdução

O mieloma múltiplo é uma doença onco-hematológica responsável por 1% de todas as mortes por câncer nos países ocidentais e é o segundo mais comum no mundo (cerca de 10% dos casos), perdendo apenas para os linfomas.

É uma doença causada pela proliferação de um linfócito B clonal neoplásico, formando células produtoras de imunoglobulinas anômalas. Possui como característica o comprometimento dos ossos em diversos lugares, podendo se propagar também para os linfonodos e localizações extralinfonodais, como a pele. A MIP1 α e o ativador do receptor do ligante NF- κ B, são citocinas produzidas por plasmócitos neoplásicos, capazes de ativar os osteoclastos, induzindo então a destruição óssea. A interleucina-6 (IL-6) produzida pelas células tumorais e células estromais normais na medula influencia na proliferação e sobrevivência das células de mieloma.

As manifestações clínicas surgem em decorrência de infiltração de plasmócitos neoplásicos nos órgãos, principalmente nos ossos, produzindo imunoglobulinas em excesso e a supressão da imunidade humoral normal. Como consequência, ocorre-se anemia grave, lesão óssea, insuficiência renal e infecção recorrente. O mieloma apresenta incidência elevada em negros e adultos de meia idade. A sua prevalência é maior, em indivíduos entre 50 e 60 anos. A sobrevivência dos pacientes pode variar de alguns meses até mais de 10 anos

A determinação do cariótipo do paciente a partir da citogenética ou da citometria de fluxo mostra se um fator prognóstico relevante, porém limitado, pelo alto custo, disponibilidade restrita e ausência de padronização.

A anormalidade genética mais comum é a deleção do cromossomo 13. A citogenética molecular mostram que pacientes com hiperploídia e translocação t(11;14) (q13, q32) -positiva do gen. 13 possuem bom prognóstico, mas pacientes não-hiperplóides ou com outras translocações, bem como aqueles com ausência do cromossomo 13, têm prognóstico muito pior.

Esse artigo foi desenvolvido por revisão de literatura mediante dados coletados por meio de levantamento das fontes, sendo essas, publicações científicas, livros e textos técnicos.

Objetivo

Esse artigo tem como objetivo, abordar as principais alterações genéticas do mieloma múltiplo, suas características, e a relação dessas com a agressividade da doença.

Alterações genéticas com valores prognósticos

Ploidia e translocações do gene da cadeia pesada das imunoglobulinas (IgH)

No mieloma múltiplo a ocorrência de alterações cromossômicas (aneuploidia) é característica, sua presença independente do estágio da doença. Considerando a ploidia, quatro categorias podem ser distinguidas nos pacientes com Mieloma múltiplo: hipodiploidia (45 cromossomos), pseudodiploidia (46 cromossomos, mas com perdas e ganhos em relação ao cariótipo original), hiperdiploidia (47-74 cromossomos) e hipotetraploidia ou quase tetraploide (75 ou mais cromossomos). (CARRASCO, 2006.) As quatro categorias anteriormente mencionadas podem ser condensadas em dois grupos principais: hiperdiplóide e não-hiperdiplóide, no qual se incluem as outras três categorias. Esta classificação está baseada em que o quase tetraplóide parece representar genomas de 4N presentes em células que possuem cariótipos pseudodiplóides ou hipodiplóides. (FONSECA, 2009.)

O grupo composto pelos hiperdiplóides apresenta trissomias múltiplas, envolvendo principalmente os cromossomos 3, 5, 7, 9, 11, 15, 19 e 21.1-6,8,14 Por outro lado, foi identificado que o grupo não-hiperdiplóide possui um número consideravelmente superior de translocações primárias envolvendo o gene da cadeia pesada das imunoglobulinas IgH quando comparado com os

hiperdiploides (>85% e <30% dos pacientes, respectivamente). (FONSECA, 2013.)

Uma observação similar foi obtida a partir do estudo da deleção do cromossomo 13 (72% em pacientes não-hiperdiploides versus 37% em hiperdiploides). Além disso, o MM não-hiperdiploide possui uma maior prevalência de alterações cromossômicas estruturais quando comparado ao hiperdiploide (8,7 versus 4,7 quebras cromossômicas por cariótipo). (KYLE 2006)

Baseados nas observações anteriores podem-se distinguir duas vias patogênicas principais no desenvolvimento das células tumorais: a) os tumores não-hiperdiploides, nos quais as translocações do IgH representariam o evento inicial e universal relacionado com a imortalização do clone maligno; b) os tumores hiperdiploides, nos quais outro mecanismo estaria relacionado com o evento inicial, ainda desconhecido, mas provavelmente inerente à aquisição da hiperdiploidia. (DEBES- MARUN, 2003)

Translocações envolvendo os loci das imunoglobulinas

As translocações de IgH parecem ser eventos iniciais e fundamentais na patogênese das neoplasias de células plasmocitárias. Foi demonstrado que as translocações de IgH encontram-se em aproximadamente 50% dos pacientes com gamopatas monoclonais de significado indeterminado (GMSI) e MM intramedular, aumentando a sua prevalência nos estádios mais avançados da doença, estando presentes em aproximadamente 80% das leucemias primárias de células plasmocitárias(LCP) e em até 90% das linhagens celulares. Alterações envolvendo o locus IgL apresentam frequências dentre 10% e 20% em GMSI e MM intramedular, respectivamente. (BERGSAGEL, 2001)

A presença de duas ou mais translocações de IgH e/ou IgL são eventos raros no MM, mas são detectadas em número considerável nas linhagens celulares, as quais são originadas a partir de LCP ou de MM extra medulares. Ainda não está clara a relação entre o acúmulo de translocações e a progressão da doença, no entanto o aumento na prevalência de alterações nos estádios extra medulares da doença sugere que as translocações poderiam fornecer um efeito proliferativo

ou de sobrevida que facilitaria a progressão da doença a uma fase extra medular independente do estroma (FONSECA, 2002)

Diversidade de loci cromossômicos envolvidos nas translocações de imunoglobulinas

Em contraste com o observado em outras neoplasias B, no MM existe uma diversidade considerável de loci cromossômicos envolvidos nas translocações com as imunoglobulinas. Estas translocações resultam na co-localização dos loci IgH ou IgL e proto-oncogenes localizados nos cromossomos parceiros envolvidos. A maioria destes proto-oncogenes possui funções relacionadas com proliferação celular e fatores de transcrição, sendo superexpressos nos cromossomos derivados da translocação devido a sua localização próxima de regiões promotoras e enhancers dos loci Ig. Cinco regiões estão envolvidas em pelo menos 3% dos tumores: 11q13 (~15% dos casos, sítio de localização da ciclina D1), 4p16 (~15%, FGFR3 e MMSET), 16q23 (~6%, c-maf), 6p21 (~4%, ciclina D3) e 8q24 (~3%, c-myc). Também foram identificados como loci recorrentes 20q11 (maf-B) e 6p25 (IRF-4/MUM-1), mas em menor frequência. Finalmente, em 20%-30% dos tumores o cromossomo parceiro apresenta uma prevalência inferior a 1%. (BERGSAGEL, 2003).

t(11;14) (q13; q32)

A t(11;14) (q13; q32) resulta na expressão ectópica da ciclina D1. Existe uma associação entre a presença da alteração e MM de cadeia leve ou não secretor, expressão de CD20 e morfologia linfoplasmocítica. A alteração também é detectada em alta frequência em amiloidose (50%) e mieloma IgM (90%). As consequências biológicas desta alteração permanecem desconhecidas, no entanto foi associada com uma menor capacidade proliferativa das células envolvidas. (FONSECA, 2003)

Em relação ao seu valor prognóstico, a t(11;14) (q13; q32) estaria associada com um aumento na sobrevida, sobretudo em pacientes tratados com quimioterapia de altas doses. No entanto, o seu valor favorável ainda está em discussão, já

que não foi demonstrado o aumento na prevalência da translocação em sobreviventes com longo follow-up. (FONSECA, 2002)

t(4;14) (p16.3; q32)

A t(4;14) (p16.3; q32) é uma alteração citogenética críptica, que somente foi detectada após experimentos de clonagem em linhagens celulares de MM. O estudo do ponto de quebra permitiu utilizar as técnicas de FISH e RT-PCR na sua detecção de forma rotineira, sendo identificada em aproximadamente 15% dos casos com MM e 25% das linhagens celulares.^{31,33-36} O ponto de quebra na região 4p16 está localizado entre os proto-oncogenes FGFR3 e MMSET; assim, a translocação levaria à superexpressão dos dois oncogenes. Em aproximadamente 25% dos casos parece ocorrer uma translocação desbalanceada com perda do der(14), ou permanência do der(14), mas com perda de expressão de FGFR3.^{37,38} Por outro lado, a perda do der(4) não foi observada. Estas observações sugerem que a persistência da expressão de MMSET seria um evento fundamental na perpetuação da expansão clonal, embora não se conheça ainda a sua função. Em etapas mais avançadas da doença foram identificadas mutações de ponto no gene FGFR3. (CHESI, 1997)

Existe uma associação entre os pacientes com a alteração e mieloma IgA ou de cadeia leve

A presença da t(4;14) (p16.3; q32) é um fator prognóstico desfavorável independente em pacientes recebendo quimioterapia convencional ou de altas doses. A presença da alteração também foi associada com uma sobrevida total (p=0,005) e livre de eventos (p=0,0001) menor em pacientes que receberam transplante autólogo de precursores hematopoiéticos. (CHESI, 1998)

t(14;16)(q32;q23)

A t(14;16) (q32; q23) é detectada em 2%-5% dos pacientes com MM e em aproximadamente 25% das linhagens celulares.^{19,23,40} Esta alteração é difícil de se identificar por citogenética convencional e a incorporação do FISH aperfeiçoou a sua detecção.

Assim como a t(4;14), a presença da t(14;16) foi associada com um prognóstico altamente desfavorável (LOISEAU, 2009-2011)

Implicância clínica das categorias de ploidia

Duas associações têm sido identificadas considerando o nível de ploidia e o desfecho clínico. Por um lado, a presença de trissomias tem sido associada a um prognóstico mais favorável, provavelmente porque estão relacionadas à variante hiperdiplóide, a qual tem sido associada com uma maior sobrevida.⁴¹ Por outro lado, a hipodiploidia está associada com um prognóstico desfavorável, o qual possivelmente se deve à presença significativamente superior de translocações no locus IgH. (GREIPP, 1999)

Assim, a presença de hipodiploidia é um marcador prognóstico poderoso que possui implicações prognósticas independentes. No entanto, a contribuição específica e a significância na patogênese da hipodiploidia ainda não foram elucidadas. (SMADJA, 2004)

Deleção e monossomado 13

A deleção do cromossomo 13 é observada em aproximadamente 50% dos casos de MM recém – diagnosticados. A prevalência similar em casos de GMSI e MM é indicativa de que essa alteração seja um evento inicial na patogênese da doença. Apresenta valor prognóstico adverso quando detectada pela citogenética. Entretanto, quando detectada por FISH esse valor não é suficiente para classificar o paciente no alto risco, mas no risco intermediário. Dessa forma, o valor adverso da deleção do 13 só pode ser considerado se a detecção for pela citogenética convencional. Pela alta associação da del. 13 a t(4;14), e a deleção do Cr17 não é possível definir se de fato o prognóstico adverso pode ser atribuído a essa alteração ou a sua co-ocorrência com alterações de alto valor adverso. (AVET-LOISEAU, 2000)

As recomendações do grupo internacional de estudo do mieloma (IMWG) quanto a estratificação de risco de pacientes com MM, visando a individualização terapêutica se baseia na identificação por FISH de 3 marcadores associados ao

alto risco, que são, ganho na região 1 q 21, perda de 17 p 13, e detecção da fusão IGH/ FGFR3 resultante da t (4;14). (CHIECCHIO, 2006)

As deleção em 12p, 6q, 8p 14q, 16q e 22q e em X são também aberrações comuns no MM.

Deleções do braço curto do cromossomo 12 são identificadas em aproximadamente 12% dos pacientes com MM e são associadas a uma menor sobrevida livre de evento e global. (GUTIERRES, 2007)

Alterações genéticas secundárias

Mutações nos genes Ras

Mutações de ponto têm sido identificadas nos códons 12, 13 e 61 de K-ras ou N-ras. As mutações são eventos muito raros nas GMSI, mas estão presentes em 35%-50% dos pacientes com MM, podendo aumentar a prevalência nos estágios mais avançados da doença. Estes dados sugerem que alterações em Ras podem ser um marcador molecular da progressão de GMSI para MM. A presença de mutações em K-ras ou N-ras esteve associada com uma menor sobrevida. (WOREL, 2001)

Em linhagens com a t(4;14) foram observadas mutações ativadoras em Ras e FGFR3 como sendo eventos mutuamente excludentes, o que sugere que as alterações nessas duas vias produziriam um efeito similar na patogênese (LIU, 1996)

Inativação de p53

A inativação de p53 por mutação ou por deleção da região 17p13 parece ser um evento raro nas GMSI e no MM ao diagnóstico, sendo restrito aos últimos estádios da doença.62-64 As alterações estão presentes em 5% dos pacientes ao diagnóstico, 20%-40% em MM avançado ou LCP e em 60% de linhagens celulares. (DEWALD, 1985)

A -17q13 é um fator prognóstico desfavorável independente de sobrevida livre de eventos e sobrevida total em pacientes tratados com quimioterapia convencional, de altas doses ou transplante autólogo de células precursoras hematopoiéticas. Além disso, a deleção está associada com outras características clínicas de prognóstico desfavorável como hipercalcemia, altos níveis de creatinina sérica e plasmocitomas extra medulares. (CORRADINI, 1994)

Anormalidades no cromossomo 1

Alterações no cromossomo 1 são eventos muito comuns em neoplasias hematológicas e constituem a principal alteração estrutural no MM, sendo observadas em 48% dos pacientes. Foi sugerido que as alterações estruturais estariam associadas com uma taxa de divisão celular elevada e com uma menor sobrevida.⁸ Por outro lado, a amplificação ou a deleção do braço 1q estariam associadas com um fenótipo mais agressivo da doença. (SHAUGHNESSY, 2007)

Classificação molecular

Várias classificações têm sido propostas baseadas na presença de alterações genéticas e citogenéticas. As duas principais encontram-se abaixo relacionadas.

Classificação baseada nas alterações citogenéticas com valor

Segundo estudo realizado em 351 pacientes tratados com quimioterapia convencional (ESTEBAN BRAGGIO; ILANA Z. RENAULT, 2007), permitiu identificar três categorias de risco baseando-se na presença de alterações cromossômicas identificadas pela técnica de FISH. (FONSECA, 2003)

a) *Grupo de pior prognóstico*: a presença da t(4;14) (p16; q32), t(14;16) (q32; q23) ou -17p13 foi associada com uma sobrevida menor ($p < 0,001$, $p = 0,003$ e

p=0,005, respectivamente). A mediana de sobrevida dos pacientes possuindo pelo menos uma destas alterações foi de 25 meses.

b) *Grupo de prognóstico intermediário*: este grupo esteve composto por pacientes que apresentaram a -13q14. A presença desta alteração também esteve associada com uma menor sobrevida (p=0,028), mas apresentou uma mediana de sobrevida consideravelmente maior (42 meses).

c) *Grupo de bom prognóstico*: este grupo incluiu os pacientes restantes, incluso aqueles que apresentaram a t(11;14) (q13; q32). A mediana de sobrevida foi de 51 meses.

Classificação TC (translocações de *IgH* e ciclinas)

A partir de estudos do perfil de expressão gênica tem sido sugerido que o nível de expressão de pelo menos um gene da família das ciclinas D seria superior aos observados em plasmócitos normais em virtualmente todos os pacientes com MM, incluindo aqueles sem translocações envolvendo o *IgH*. (SPECHT, 2004)

Assim, como uma consequência direta das translocações de imunoglobulinas, a ciclina D1 seria superexpressa em associação com a t(11;14) (q13; q32) e a D3 associada com a t(6;14) (p21; q32). Por outro lado, a D2 seria superexpressa como consequência indireta das t(4;14) (p16; q32) e t(14;16) (q32;23). (ZHAN, 2002)

Dos pacientes que não possuem translocações, mais da metade apresenta expressão ectópica da D1. O mecanismo de expressão é desconhecido, mas foi sugerido que alterações numéricas no cromossomo 11 seriam as responsáveis da elevação dos níveis de RNAm. A maioria dos pacientes restantes expressaria altos níveis de D2 e somente uma pequena proporção apresentaria níveis de expressão normais das três ciclinas. Assim, a desregulação dos genes das ciclinas D seria um evento unificador e precoce dentro da neoplasia, deixando as células mais susceptíveis ao estímulo proliferativo, resultando na expansão seletiva do clone maligno. (BERGSAGEL, 2004)

A partir dos achados anteriores, foi proposta a classificação molecular TC dos MM baseada na presença das translocações IgH e a expressão das ciclinas D (tabela 1). (BERGSAGEL, 2005)

Tabela 1. Subgrupos moleculares de pacientes baseados na classificação TC (translocações de *IgH* e ciclinas D)^{1,73}

Grupo TC	Translocação primária	Ciclina D desregulada	Ploidia	Frequência (%)	Prognóstico
6p21	6p21	D3	NH	3	Bom?
11q13	11q13	D1	D = NH	16	Bom
D1	Ausente	D1	H	34	Bom
D1+D2	Ausente	D1+D2	H	6	Ruim?
D2	Ausente	D2	H = NH	17	?
Nenhum	Ausente	Nenhuma	NH	2	Bom?
4p16	4p16	D2	NH > H	15	Ruim
<i>Maf</i>	16q23/20q11	D2	NH	7	Ruim

NH: não-hiperdiplóide; D: diplóide; H: hiperdiplóide.

Conclusão

Os Resultados do tratamento no Mieloma múltiplo é muito variável e um melhor entendimento dos fatores que influenciam a biologia da doença é essencial para conhecer e prever o comportamento desta em cada indivíduo.

Está ficando cada vez mais evidente que o mieloma múltiplo não é uma patologia única, mas ao invés disto, o compreende múltiplas doenças com diferenças em seus desfechos que são definidos de acordo com o perfil genético. A identificação dos fatores responsáveis por essas diferenças na biologia da doença tem grande importância no melhoramento dos resultados no tratamento de mieloma múltiplo.

Referências bibliográficas

Dewald G, Kyle R, Hicks G, et al. **O significado clínico de estudos citogenéticos em 100 pacientes com mieloma múltiplo, leucemia celular ou amiloidose.** Blood 1985

Corradini P, Inghirami G, Astolfi M, et al. **Inativação do tumor genes supressores, p53 e Rb1, em discrasias de células plasmáticas.** Leucemia 1994; 8: 758-67.

Liu P, Leong T, Quam L, et al. **Ativando mutações de N- e Kras em mieloma múltiplo mostram diferentes associações clínicas: Análise do Grupo Cooperativo de Oncologia Oriental Fase III Tentativas.** Blood 1996; 88: 2,699-706.

Chesi M, Nardini E, Brents L, et al. **Translocação frequente t (4; 14) (p16.3; q32.3) no mieloma múltiplo está associado a aumento da expressão e ativação de mutações do crescimento de fibroblastos receptor de fatores 3.** Nature Genetics 1997; 16: 260-4.

Chesi M, Nardini E, Lim R, et al. **A translocação t (4; 14) no mieloma desregulam ambos FGFR3 e um novo gene, MMSET, resultando em IgH / Transcritos híbridos MMSET.** Blood 1998; 92: 3.025-34

Greipp P, Trendle M, Leong T, et al. **É o DNA de citometria de fluxo conteúdo hipodiploídico prognóstico no mieloma múltiplo?** Leuk Linfoma 1999; 35: 83-9.

Avet-Loiseau H, Daviet A, Saunier S, Bataille R. **As alterações do cromossomo 13 no mieloma múltiplo são principalmente monossomia 13.** Br J Haematol 2000; 111: 1116-1117.

Bergsagel P, Kuehl W. **translocações cromossômicas em mieloma múltiplo.** Oncogene 2001; 20: 5,611-22.

Worel N, Greinix H, Ackermann J, et al. **Deletion of chromosome 13q14 detected by fluorescence in situ hybridization has prognostic**

Impact on survival after high-dose therapy in patients with multiple Myeloma. Ann Hematol 2001;80:345-8.

Fonseca R, Bailey R, Ahmann G, et al. **Anormalidades genômicas em gammopatia monoclonal de significância indeterminada.** Blood 2002; 100: 1,417-24.

Bergsagel P, Kuehl M. **Funções críticas para translocações de imunoglobulinas e a desregulação da ciclina D no mieloma múltiplo.** Immunol Rev 2003; 194: 96-104.

Fonseca R, Blood E, Rue M, et al. **Implicações clínicas e biológicas de aberrações genômicas recorrentes no mieloma.** Blood 2003; 101: 4,569-75.

Debes-Marun C, Dewald G, Bryant S, et al. **Cromossoma aglomeração de anormalidades e suas implicações para a patogênese e prognóstico no mieloma.** Leucemia 2003; 17: 427-36.

Smadja N, Leroux D, Soulier J, et al. **Caracterização citogenética adicional de mieloma múltiplo confirma que as translocações de 14q32 são eventos raro em casos hiperdiploides.** Genes, Câncer Cromossomos 2004; 38: 234-9.

Bergsagel PL, Kuehl M. **Patogênese Molecular e um Consequente Classificação do Mieloma Múltiplo.** Journal of Clinical Oncology 2004; 23: 6.333-8.

Specht K, Haralambieva E, Bink K, et ai. **Diferentes mecanismos de ciclina D1 sobre-expressão no mieloma múltiplo revelada por hibridação fluorescente in situ e análise quantitativa de níveis de mRNA.** Sangue 2004; 104: 1.120-6.

Bergsagel P, Kuehl M. **Funções críticas para translocações de imunoglobulinas e a desregulação da ciclina D no mieloma múltiplo.** Immunol Rev 2005; 194: 96-104.

Chiecchio L, et al. **Deletion of chromosome 13 detected bay conventional cytogenetic is a critical prognostic factor in myeloma.** Leukemia 2006; 20: 1610-1617

Kyle RA, et al. **Prevalência da gamopatia monoclonal de significância indeterminada.** N. Engl. J. Med 2006; 354 (13), 1362-1369

Carrasco DR, et al. **Os perfis genômicos de alta resolução definem subgrupos clinico-patogênicos distintos de pacientes com mieloma múltiplo.** Cancer Cell 2006; 9: 313-325

Shaugnessy JD Jr, Zhan F, Burington BE, Huang Y, Colla S, Hanamura I. **Um modelo de expressão de gene validado de mieloma múltiplo de alto risco é definido por expressão desregulada de mapeamento de genes ao cromossomo 1.** Blood 2007; 109: 2276-2284

Gutierrez NC, et al. **Prognostic and biological implications of genetic abnormalities in multiple mieloma undergoing autologous stem cell transplantation: t (4;14) is the most relevant adverse prognostic factor, whereas RB deletion as a unique abnormality is not associated with adverse prognosis.** Leukemia 2007; 21:143-150