



**ESPECIALIZAÇÃO EM HEMATOLOGIA E BANCO DE SANGUE**

**ALTERAÇÕES GENÉTICAS NA LEUCEMIA  
LINFOCÍTICA CRÔNICA**

**Sabrina Vieira Barreto Sales**

**BRASÍLIA**

**2020**

## **RESUMO**

A Leucemia Linfocítica Crônica é uma doença linfoproliferativa considerada a doença mais comum nos idosos no mundo ocidental. Na maioria das vezes o paciente é assintomático, isso faz com que o diagnóstico da LLC seja feito de forma acidental. O diagnóstico inicia quando visualizamos alterações quantitativas no hemograma, a partir da linfocitose persistente e de outros sinais clínicos é que se avança para outras técnicas diagnósticas, e se completam também com técnicas prognósticas. A citogenética é uma importante ferramenta prognóstica que demonstra as principais alterações cromossômicas predizendo o curso clínico da doença, a sobrevida do paciente e auxilia na escolha do tratamento.

Palavras chave: Leucemia linfocítica crônica, citogenética, alterações cromossômicas.

## **OBJETIVO**

Demonstrar as principais alterações cromossômicas na Leucemia Linfocítica Crônica e apontar a importância do valor prognóstico que a citogenética tem na doença.

## INTRODUÇÃO

A Leucemia Linfocítica Crônica (LLC) é caracterizada pela proliferação clonal e acúmulo de células B maduras, tipicamente CD5 positivas presentes no sangue periférico, medula óssea e órgãos linfáticos. É uma leucemia que mais acomete idosos e se tornou comum no mundo ocidental, correspondendo cerca de 25% de todas as leucemias, afetando principalmente o sexo masculino com idade superior a 65 anos. A LLC é mais frequentemente diagnosticada também em indivíduos jovens, com quase 15% dos pacientes com 55 anos ou menos, sendo que nesses casos a doença se comporta de forma mais agressiva (SCARFÓ et al., 2016; AUTORE et al., 2018; STRATI et al., 2018).

O curso clínico da LLC é heterogêneo, a maioria dos pacientes tem a doença de forma indolente, e uma parte dos mesmos possui rápida progressão da doença (CRASSINI, 2019). O diagnóstico é baseado na avaliação clínica e laboratorial do paciente, os sistemas de estadiamento da LLC são resultados de dados clínicos e hematológicos, sendo que os sistemas de Rai e Binet são os clássicos nesta doença. Estes sistemas de estadiamento são utilizados para definir a fase da doença e ajudam na indicação do tratamento (HALLEK, 2018)

O diagnóstico da LLC requer a presença de pelo menos 5.000 linfócitos B/mm<sup>3</sup> no sangue periférico por mais de 3 meses, imunofenótipo detectado por citometria de fluxo com expressão de CD5, CD23, baixos níveis de CD20 e CD79b e restrição da cadeia leve kappa ou lambda. Contudo, existem marcadores muito utilizados no prognóstico da LLC, como por exemplo, CD23, expressão de Bcl-2, estado mutacional da cadeia IGHV, expressão da ZAP-70, tempo de duplicação dos linfócitos, expressão de CD38, timidina quinase, Beta-2-microglobulina e os testes citogenéticos (NAOUM, 2010; HALLEK, 2018; CRAIG, 2018; SCARFÓ et al, 2016).

As anormalidades cromossômicas podem ser por perda ou adição de material cromossômico grande, por exemplo, deleção 13q, deleção 11q, deleção do 17p e trissomia do 12, sendo que outras mutações podem ser adicionadas mais tarde e pode modificar o quadro clínico tornando a doença mais agressiva (HALLEK, 2018). A deleções no braço longo do cromossomo 13, envolvendo especificamente a banda 13q14 (del (13q14)), representam a aberração citogenética mais freqüente observada em LLC, ocorrendo em 55% de todos os casos. Uma del (13q14) isolado

é caracterizado por um curso benigno da doença (HALLEK, 2017). Na região da deleção 13q foram encontrados genes que desempenham papéis importantes na LLC, estudos com esses genes demonstraram que nessa região são codificados dois microRNAs (miR-15a e miR16-1). MicroRNAs são pequenos genes que não codificam RNA e que regulam a expressão gênica e estão envolvidos na formação do tumor (DEGHEIDY et al., 2013). Esses dois microRNAs possuem função supressora tumoral induzindo a apoptose e inibindo a proliferação e invasão (FERREIRA, 2017, SMONSKEY et al., 2012). Foi demonstrado que a expressão de miR-15a e miR-16-1 está associada inversamente com a expressão de Bcl-2 e que esses microRNAs controlam negativamente Bcl-2 em um nível pós-transcricional (DEGHEIDY et al., 2013).

As deleções do cromossomo 17 (del(17p)) são detectadas em cerca de 10% dos indivíduos com LLC. Essas deleções na maior parte dos casos apresentam a banda 17p13, onde está localizado o gene supressor TP53 (ROSENQUIST et al., 2013). Pacientes com essa deleção são incluídos em um grupo de risco de prognóstico desfavorável, devido a uma rápida progressão da doença e má resposta à terapêutica. O TP53 é um gene supressor tumoral que codifica a proteína p53, quando ativada por radiações ionizantes, lesões do DNA, presença de óxido nítrico, ou estímulo oncogênico, esta proteína conduz a paragem do ciclo celular, reparação do DNA, apoptose e indução da senescência. A deleção 17p13 associa-se a fenótipos atípicos como, expressão elevada de CD20, FMC7, CD79b e slg. Além de que, o aumento da expressão de CD38, ZAP-70 e IGHV não mutado foi encontrado e estão correlacionadas com mau prognóstico (FERREIRA, 2017).

A Trissomia 12 é observada em 10 a 20% dos pacientes com LLC (HALLEK, 2017). Essa alteração foi recentemente associada a mutações no gene NOTCH1, especialmente nos pacientes com pior prognóstico (com o IGVH não mutado). A trissomia 12 é considerada uma alteração clonal que ocorre nos estágios iniciais da doença, facilitando o aparecimento de alterações citogenéticas secundárias como por exemplo, a deleção 13q, deleção 11q, deleção 17p, trissomia do 18, encontra-se associações com t (14;19) e trissomia 19. A trissomia do 18, trissomia do 19 e a t (14;19) são alterações encontradas recentemente e com isso os estudos envolvendo os mesmos são escassos. (FERREIRA, 2017; AUTORE et al., 2018). A trissomia 12 pode facilitar mutações em NOTCH1 e FBXW7, com isso ocorre a parada da

proliferação celular e a evasão da apoptose. A presença dessas anormalidades implica na patogênese da doença e seleciona clones resistentes ao tratamento (AUTORE et al., 2018).

As deleções do braço longo do cromossomo 11 (del (11q)), são observados em 5 a 20% dos pacientes com LLC. A deleção do braço longo do cromossomo 11 é geralmente uma deleção monoalélica que abrange o gene supressor de tumor ATM (ataxia telangiectasiãmutada) que codifica para o ATM da quinase proximal de resposta de dano. (GHAMLOUCH, 2017). Esse gene intervém na fosforilação de proteínas chave, envolvidas na ativação da reparação ao dano no DNA e protegendo a integridade do genoma pela regulação do ciclo celular. Na deleção 11q há outro gene envolvido na fisiopatologia da LLC, que é o gene BIRC, um regulado negativo de um fator de transcrição que, quando ativo, promove a proliferação celular. A deleção 11q é detectada freqüentemente em doentes jovens e está associada linfadenopatia marcada, rápida progressão da doença, menor sobrevida e ausência de mutações no gene IGVH (FERREIRA, 2017).

A avaliação dessas alterações cromossômicas exige testes mais específicas, como as técnicas citogenéticas. Entre essas técnicas possuímos a hibridização in situ por fluorescência (FISH). FISH é uma técnica que usa painéis de sondas com genes específicos para detectar deleções, adições e translocações de material genético com o objetivo de detectar tumores. Inicialmente é necessário preparar sequências curtas de DNA fita simples devendo esse DNA corresponder ao gene de interesse, que chamamos de sonda. As sondas são marcadas com nucleotídeos contendo um fluoróforo, a sonda marcada e o DNA alvo são misturados e desnaturados. Em seguida, possuímos a etapa de anelamento de sequências de DNA complementar devido à combinação da sonda e do DNA alvo. Com isso, no local da hibridização sinais coloridos são emitidos e a detecção é feita através desses sinais que são avaliados por microscopia de fluorescência (RATAN et al., 2017; SHAKOORI, 2017; KOUTSI, 2018).

## CONCLUSÃO

A LLC é uma doença linfoproliferativa que afeta os linfócitos B e faz com que essas células se multipliquem de forma descontrolada. As suspeitas da LLC se baseiam principalmente nas alterações na contagem de linfócitos no hemograma, que a partir desses achados a investigação para a confirmação da doença podem partir para outros exames, além de que o sistema de estadiamento de Rai e Binet que é muito utilizado para avaliação do quadro do paciente ajuda na detecção da fase clínica da doença. Além do hemograma, a imunofenotipagem por citometria de fluxo é um dos exames mais solicitados para a confirmação da doença.

As anormalidades cromossômicas são muito estudadas também na LLC e podem mudar o curso clínica da doença tornando-as mais agressivas, pois essas mutações genéticas estão associadas com a superexpressão ou supressão de genes, os mesmos afetados influenciam na patogênese da doença. As aberrações cromossômicas mais comuns são a deleção no braço longo do cromossomo 13, Trissomia do cromossomo 12, deleção do braço longo do cromossomo 11 e a deleção do braço curto do cromossomo 17, respectivamente.

A realização de testes citogenéticos são importantes para completar o diagnóstico, a classificação da doença, o prognóstico, melhor definição do tratamento, além de predizer o curso clínico da doença.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AUTORE et al. Morphological, immunophenotypic, and genetic features of chronic lymphocytic leukemia with trisomy 12: a comprehensive review., v. 103. n.6. p.931-938, 2018.

CRAIG, F. E. The utility of peripheral blood smear review for identifying specimens for flow cytometric immunophenotyping. **International Journal of Laboratory Hematology.**, v. 46. n.1. p. 41-46, 2017.

CRASSINI et al. Molecular pathogenesis of chronic lymphocytic leukaemia. **British Journal of Haematology.**, v. 186. p. 668-684, 2019.

DEGHEIDY et al. Bcl-2 level as a biomarker for 13q14 deletion in CLL. **Cytometry B Clin Cytom.**, v. 4, p. 237-247, 2013.

FERREIRA, R. X. O. O impacto das alterações citogenéticas na sobrevivência e nos achados clínico-laboratoriais em LLC. Coimbra. 2017. 107f. Dissertação (Mestrado em Análises Clínicas e Saúde Pública), Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Coimbra, Coimbra, 2017.

GHAMLOUCH, H.; KHAC-NGUYEN, F.; BERNARD, O. A. Chronic lymphocytic leukemia genomics and the precision medicine era. **British Journal of Hematology.**, v.178, p.852–870, 2017.

HALLEK, M. Chronic lymphocytic leukemia: 2017 update on diagnosis, risk stratification, and treatment. **American Journal of Hematology.**, v.92, p.946–965, 2017.

HALLEK, M.; SHANAFELT, T. D.; EICHHARST, B. Chronic lymphocytic leukemia. **Lancet.**, v. 391, p.1524-1537, 2018.

HALLEK, M. et al. iwCLL guideline for diagnosis, indications for treatment, response assessment and supportive management of chronic lymphocytic leukemia. **Blood.**, v. 131. n. 25. p. 2745-2760, 2018.

KOUTSI, A.; VERVESOU, E. C. Diagnostic molecular techniques in haematology: recent advances. **Ann Transl Med.**, v. 6. n. 12, 2018.

NAOUM, F. A. **Doenças que alteram os exames hematológicos.** São Paulo: Editora Atheneu, 2010.



RATAN et al. Application of fluorescence in situ hybridization (FISH) technique for the detection of genetic aberration in medical science. **Cureus.**, v.9, n.5, 2017.

ROSENQUIST et al. Prognostic markers and their clinical applicability in chronic lymphocytic leukemia: where do we stand?. **Leukemia & Lymphoma.**, v.54, n.11, p.2351-2364, 2013.

SCARFÓ, L.; FERRERI, A. J. M.; GHIA, P. Chronic lymphocytic leukaemia. **Critical reviews in oncology/hematology.**, v.104, p.169-182, 2016.

STRATI, P.; JAIN, N.; O'BRIEN, S. Chronic lymphocytic leukemia: diagnosis and treatment. **Mayo Clinic Proceedings.**, v. 93. n.5. p. 651-664, 2018.

SMONSKEY et al. Monoallelic and biallelic deletions of 13q14.3 in Chronic Lymphocytic Leukemia: FISH vs miRNA RT-qPCR detection. **American Journal of Clinical Pathology.**, v. 137, p. 641-646, 2012.

SHAKOORI, A. R. Fluorescence in situ hybridization (FISH) and its applications. **Chromosome Structure and Aberrations. Springer, New Delhi.**, 2017.