

Artigo Especial

Análise dos transcritos da translocação t(9;22) em Leucemia Mielóide Crônica

Luciana P. Barboza¹
Jamison M. Souza^{1,2}
Felippe V. Simões¹
Iracema C. Bragança²
Eliana Abdelhay¹

A leucemia mielóide crônica é uma doença proliferativa do sistema hematopoiético, caracterizada pela expansão clonal de uma célula tronco primitiva e pluripotente denominada "stem cell", que tem a capacidade de se diferenciar em células mielóides, monocíticas, megacariocíticas e células B e T.

Em homeostase, existe um equilíbrio entre proliferação, diferenciação e renovação das células tronco, equilíbrio este que se encontra alterado em pacientes com Leucemia mielóide crônica, devido a uma proliferação e diferenciação aumentada e anormal relacionada à atividade de tirosina quinase do produto do gene quimérico BCR/ABL resultante da translocação t(9;22), que se apresenta como marcador da doença.

Vários transcritos quiméricos têm sido descritos e acredita-se que a gravidade do quadro clínico dependa do tipo de mRNA gerado. No presente trabalho analisamos 28 amostras de 27 pacientes diagnosticados com Leucemia mielóide crônica. Todos possuíam a translocação t(9;22) e foram analisados para a presença dos transcritos resultantes das fusões b3a2 ou b2a2 por RT-PCR e Nested-PCR, técnicas que se mostraram mais sensíveis para a identificação dos transcritos. Entre os pacientes, 12% apresentaram fusão b3a2, 18% possuíam fusão b2a2 e 32% possuíam os dois tipos de transcritos. A presença de um dos tipos de transcritos, b3a2, parece estar relacionada com contagem de plaquetas acima de 1 milhão/mm³, reconhecida como característica de mau prognóstico em pacientes com Leucemia mielóide crônica.

Rev. bras. hematol. hemoter., 2000, 22(2): 89-98

Palavras-chave: Leucemia mielóide crônica, citogenética

Introdução

A leucemia mielóide crônica (LMC) é uma doença proliferativa do sistema hematopoiético, caracterizada pela expansão clonal de uma célula tronco primitiva e pluripotente denominada "stem cell" que tem a capacidade de se diferenciar em células mielóides,

monocíticas, megacariocíticas e células B e T.

Ao diagnóstico, 90% dos pacientes apresentam um "cariótipo marcador" na maioria de suas metáfases em células de medula óssea: o cromossomo Philadelphia (Ph), resultado de uma translocação envolvendo os cromossomos 9 e 22, formando um gene quimérico BCR/ABL que está

1 - Laboratório de Biologia Molecular Maury Miranda - Universidade Federal do Rio de Janeiro - Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho

2 - Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti

Correspondência para: Luciana Pizzatti Barboza
Email: lupizzatti@hotmail.com

Prêmio Michel Jamra de melhor trabalho em Hematologia do XXIV Congresso Brasileiro de Hematologia e Hemoterapia, Rio de Janeiro, Maio de 2000

relacionado à LMC. O cromossomo Ph não é restrito à LMC, sendo também encontrado em leucemia linfoblástica aguda (LLA); 5% em pacientes infantis (Russo [1] et al 1991) e 25% em adultos (Sandberg [2] 1986). Em LMC Ph positivo, a translocação é encontrada em todas as linhagens celulares hematopoiéticas, sendo menos freqüente em células B e T (Haferlach [3] et al, 1997).

Na translocação t(9:22), o gene c-Abl se associa a uma porção de um gene no cromossomo 22, denominado BCR (breakpoint cluster region).

O ponto de quebra no gene BCR do cromossomo 22 está localizado em uma região de 5.8 kb, chamada de "major breakpoint cluster region" M-bcr, que possui 5 exons (b1 a b5) correspondendo aos exons 12 a 16 do gene BCR (Groffen [4] et al.1991).

Geralmente a quebra no M-bcr ocorre dentro de introns localizados entre os exons b2 (e13) e b3 (e14) ou exons b3 (e14) e b4 (e15), que se juntam ao exon a2 do ABL formando o gene quimérico b2a2 ou b3a2, sendo 75 pares de bases diferentes um do outro.

Enquanto parte da extremidade 5' do BCR permanece no cromossomo Ph, formando a seqüência 5' do novo gene híbrido, a seqüência do BCR localizada a 3' do ponto de quebra vai para o cromossomo 9q+ gerando um gene híbrido ABL/BCR que é expresso na maioria dos pacientes com LMC Ph+ ou LLA Ph+ (Mackenzie et al. 1993 [5]; Melo et al., 1993 [6]). A proteína produzida quando o ponto de quebra se encontra no M-bcr, p210, é característica de LMC, mas pode ser encontrada em LLA Ph+, M-bcr+ em menor porcentagem.

Durante mais de uma década, análises citogenéticas têm sido utilizadas como método de monitoramento do tratamento quimioterápico em pacientes com LMC. Entretanto, esse procedimento necessita de aspiração da medula, o que é invasivo ao paciente e freqüentemente doloroso, além de incluir uma taxa de falhas na obtenção de metáfases analisáveis. Com o método de Reverse Polimerase Chain Reaction (RT-PCR) é observada uma correlação com resultados citogenéticos superior aos outros métodos e

uma sensibilidade de detecção do rearranjo também superior ($1:10 \times 10^6$), tornando-se um método padrão altamente sensível de detecção do rearranjo BCR/ABL em pacientes com leucemia mielóide crônica e muito útil na detecção de células leucêmicas residuais após quimioterapia ou transplante de medula óssea, bem como na confirmação de diagnósticos citogenéticos iniciais falhos.

Vários grupos se dedicam a estudar as correlações entre a expressão do gene quimérico BCR/ABL e a progressão da doença para a fase aguda, como também as modificações clínicas de cada estágio, sendo essas algumas das questões mais debatidas em LMC.

O objetivo deste trabalho foi analisar os tipos de transcritos encontrados em pacientes com leucemia mielóide crônica e correlacionar estes dados com a clínica do paciente no sentido de verificarmos se realmente esta correlação é importante para a evolução da doença. Por outro lado, este estudo nos permitiu estabelecer as condições ideais para continuarmos nossos estudos de como os diferentes transcritos quiméricos interferem na biologia da célula.

Materiais e Métodos

Foram analisados por RT-PCR, 28 amostras de medula óssea de 27 pacientes com LMC, provenientes do Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti.

Para obtenção das células, 5 a 10 mL de cada amostra foram submetidos a uma lise de hemácias. As células lisadas do aspirado de medula óssea tiveram o mRNA extraído de acordo com o "QuikPrep mRNA Purification Kit" (Pharmacia Biotech).

Para a amplificação das amostras por RT-PCR, foi utilizado o "SuperScript One -Step RT-PR System", onde 100 nanogramas de mRNA foram diluídos em 50 µL de reação final contendo 25 µL de tampão 2x Reaction mix (0,4 mM de cada dNTP, 2.4 mM MgSO₄), 100 pMoles de cada primer utilizado e 0,5 de SuperScript II RT/Taq Mix, que contém a enzima transcriptase reversa e a Taq DNA polimerase. A reação foi submetida a 1 ciclo

de 30 minutos a 50°C e 2 minutos a 94 °C, onde a síntese do cDNA e pré-denaturação eram feitas; 40 ciclos de 30 segundos a 94°C, 30 segundos a 54°C e 1 minuto a 72°C, para amplificação e para a extensão final, 1 ciclo de 30 segundos a 94°C, 30 segundos a 54°C e 10 minutos a 72°C.

Após a identificação dos fragmentos obtidos, foi realizada uma segunda amplificação, Nested PCR, com o objetivo de identificar outros possíveis fragmentos em concentrações menores e detectar os fragmentos que não foram amplificados na primeira amplificação.

Para isto, 2,5 µL do produto gênico amplificado eram diluídos em 50 µL de reação final com 5X de PCR buffer (200 mM TRIS-HCL, pH 8,4), 20 mM de dNTP, 1,5 mM de Mg Cl₂, 0,2 µL de Taq DNA pol (1U) e 50 pmoles de cada primer interno. A reação foi submetida a 1 ciclo de 2 minutos a 94°C para desnaturação, 35 ciclos de 40 segundos a 94°C, 30 segundos a 56°C e 1 minuto a 72°C para amplificação e por último para extensão final, 1 ciclo de 1 minuto a 94°C, 1 minuto a 55°C e 7 minutos a 72°C.

Os produtos gênicos contidos em 10 µL de cada amostra foram visualizados em gel de agarose a 1,5% com brometo de etídio à 36 V e como marcador de peso molecular foi utilizado φX174.

Os primers utilizados estão localizados nos *exons b2 do gen BCR* (primer 5') 5'-TTCAGAAGCTTCTCCCTG-3'e *a2 do gene ABL* (primer 3') 5'-CTCCACTGGCCACAAAAT-3' possibilitando a visualização do rearranjo molecular BCR/ABL e identificação de seu ponto de quebra: incluindo ou excluindo o exon b3. Produtos gênicos esperados: 327pb (presença do exon b3) ou 252pb (ausência do exon b3).

Para o *Nested-PCR: b2 (BCR exon 2)* 5'-GTGAAACTCCAGACTGTC-3' e *a2 (ABL exon 2)* 5'- CAACGAAAAGTTGGGGT 3'(Lion T, Gardner H, 1992⁷). Produtos gênicos esperados: 246 ou 171 pares de bases.

O controle da amplificação e dos fragmentos obtidos foi feito com a amplificação das linhagens celulares K562 e com a linhagem celular CEMO-I, que contém a translocação (1;14)(q24;q32); t(9;9)(p24;q32).

Resultados

1) Análise dos transcritos quiméricos BCR-ABL em amostras de medula óssea de pacientes com LMC

Foram analisadas 28 amostras de medula óssea, de 27 pacientes cujos dados clínicos são apresentados nas tabelas 1 e 2. Destas 28 amostras, 11 eram de homens (39%) e 17 eram de mulheres (61%). Todos os pacientes foram estudados citogeneticamente para evidenciar a presença do cromossomo Ph (Tabela 1). As amostras de mRNA foram transcritas reversamente e amplificadas utilizando primers específicos para detecção dos transcritos quiméricos b2a2 ou b3a2.

Dois tipos de transcritos foram encontrados: 12 amostras (43%) apresentavam b3a2; 5 (18%) apresentavam b2a2, 9 (32%) possuíam os dois tipos de transcritos e 2 (7%) não apresentaram transcritos (Tabela 3 e Figura 1).

Em 16 pacientes (61,5%), o transcrito quimérico foi detectado na primeira amplificação com os primers externos e nos outros 10 pacientes (38,5%) somente com o "Nested PCR". Dos 9 pacientes (31%) que possuíam os dois tipos de transcritos, apenas 2 não foram detectados após a primeira amplificação (pacientes 16 e 25), necessitando uma amplificação sob as condições do Nested PCR para sua visualização. O paciente 11 (Figura 2), que possuía os dois tipos de transcritos, apresentou b2a2 em maior intensidade do que b3a2, na primeira e na segunda amplificação. Todos os outros pacientes com os dois transcritos apresentaram b3a2 em maior intensidade. Duas amostras do paciente número 11 foram analisadas em épocas distintas: na época do diagnóstico e nove meses depois. Esse paciente apresentou na primeira análise, dois tipos de transcritos: b3a2 e b2a2. Na segunda análise, nove meses depois, somente um tipo de transcrito foi identificado, b3a2 (Tabela 3).

Não foram observados transcritos que não fossem correspondentes aos obtidos em pacientes com LMC.

Tabela 1. Dados clínicos e citogenéticos de 27 pacientes com LMC

Paciente	Hemograma					Dados Clínicos		Cariótipo
	Hg g/dL	Leucócitos $\times 10^3/\text{mm}^3$	Basófilos %	Plaquetas $\times 10^3/\text{mm}^3$	Blastos %	Baço	Fígado	
1	6,2	163	9	37.9	2	12 cm	5 cm	46,XX,t(9;22) (parcial)
2	14	72	3	213	0	20 cm	-	46,XY,t(9;22)
3	10.7	278	4	481	1	20 cm	2 cm	46,XX,t(9;22)
4	13	176	4	275	0	6 cm	-	46,XX,t(9;22)
5	12	154	4	836	4	20 cm	-	46,XX,t(9;22)
6	17	114	0	152	0	-	-	46,XY,t(9;22)
7	15	143	6	250	3	3 cm	2 cm	46,XY,t(9;22)
8	17	150	1	723	0	-	-	46,XX,t(9;22)
9	12	64.3	6	672	1	-	-	46,XX,t(9;22)
10	9,0	361	0	1.165	0	12 cm	6 cm	-
11/21	10	134	2	250	0	4 cm	-	46,XX,t(9;22)
12	13	380	5	180	1	16 cm	4 cm	46,XY,t(9;22)
13	12,5	191	5	328	0	4 cm	2 cm	46,XX,t(9;22)
14	13,6	58.4	6	827	0	6 cm	-	46,XX,t(9;22)
15	7	72	2	45	0	2 cm	-	-
16	11	75	4	537	2	8 cm	-	46,XY,t(9;22)
17	10,4	48	1	752	1	-	-	46,XX,t(9;22)
18	12	63.3	2	134	1	4 cm	-	-
19	12	30.8	2	1595	0	3 cm	4 cm	-
20	8,5	230	7	1212	4	20 cm	8 cm	46,XX,t(9;22)
22	10	160	3	300	1	3 cm	3 cm	46,XX,t(9;22)
23	9.3	72.3	20	20	6	6 cm	-	-
24	10	193	4	375	3	-	2 cm	46,XX,t(9;22)
25	13	271	6	265	6	3 cm	-	46,XY,t(9;22)
26	13.5	28.3	0	512	0	-	-	-
27	6,4	69.2	4	373	1	-	-	-
28	11	90	20	751	20	20 cm	3 cm	46,XY,t(9;22)

Valores normais:

Hemoglobina: homens: 15,3 +/- 2,5;

mulheres: 13,6 +/- 2,5;

Leucócitos: $3.6 \times 10^3/\text{mm}^3$ a $11 \times 10^3/\text{mm}^3$;

Basófilos: 0 a 3%;

Plaquetas: 140 a $360 \times 10^3/\text{mm}^3$

Tabela 2. Diagnóstico e situação dos pacientes

Paciente	Sexo	Idade	Cor	Diagnóstico			Evolução	Sobrevida
				Data	Fase	Estágio		
1	F	34	B	06/07/99	Acelerada	2	N	V
2	M	26	B		Crônica	1	N	V
3	F	40	B		Crônica	1	N	V
4	F	15	B	8/12/98	Crônica	1	N	V
5	F	36	P	27/07/98	Crônica	3	C.B.Mielóide em 13 meses	O em 09/11/99
6	M	31	B		Crônica	1	N	V
7	M	53	P	21/08/98	Crônica	1	N	V
8	F	44	B	08/09/98	Crônica	1	N	V
9	F	68	B	18/09/98	Crônica	2	N	V
10	F	64	B		Crônica	3	N	V
11/21	F	1	B	20/11/98	Crônica	1	C.B. Linfóide em 9meses	V
12	M	28	B	04/01/99	Crônica	1	N	V
13	F	17	B	22/02/99	Crônica	1	N	V
14	F	16	B	01/08/99	Crônica	2	N	V
15	M	74	B	30/10/97	Crônica	1	N	O em 18/01/98
16	M		B	22/12/97	Crônica	1	N	V
17	F	70	B	18/09/98	Crônica	2	N	V
18	F							
19	M	68	P	29/12/98	Crônica	2	N	V
20	F	19	P	13/11/97	Crônica	2	N	V
22	F	32	P	19/10/99	Crônica	1	N	V
23	M	81	B	19/10/99	Crônica	3	N	O em 26/10/99
24	F	53	B		Crônica	1	N	V
25	M	20	B	16/11/99	Crônica	1	N	V
26	F	18	B	03/11/99	Crônica	1	N	V
27	M	25	P	02/06/97	Crônica	1	Fase acelerada em 14 meses	O em 25/09/98
28	M	25	P	29/09/98	Crônica	3	N	V

* N = não evoluiu; V = vivo; O = óbito; C.B. = Crise blástica; B = branco; P = Pardo

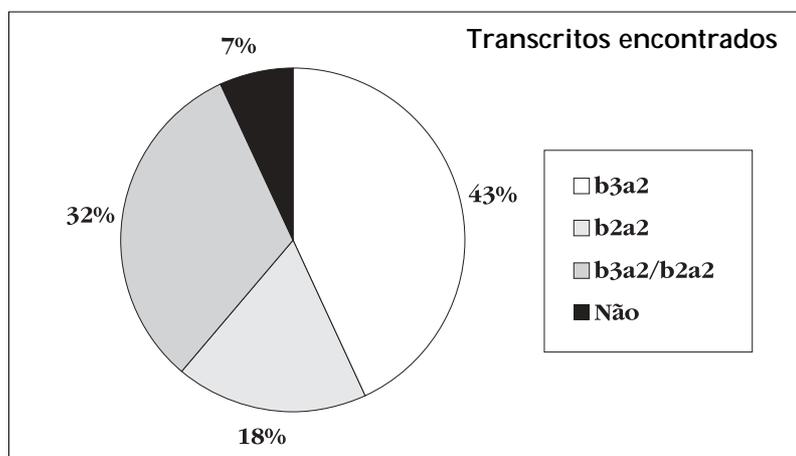


Figura 1. Porcentagem de transcritos quiméricos em pacientes com LMC

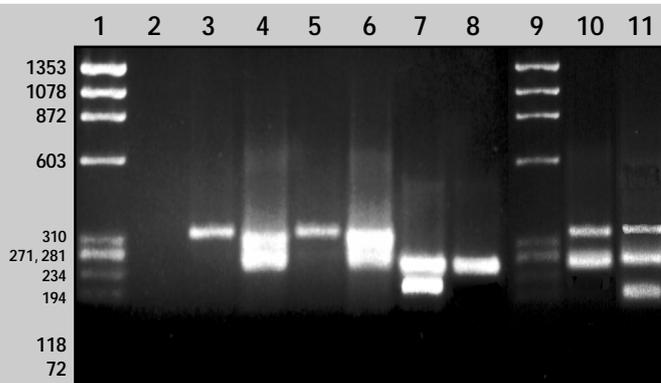


Figura 2. Eletroforese em gel de agarose 1,5% corado com brometo de etídio dos produtos gênicos amplificados. Em 1: Marcador de peso molecular Φ x174; 2: Linhagem celular CEMO-I (controle negativo); 3 e 4: Linhagem celular K562 (controle positivo), com primers externos (3) e com primers internos (4); 5: b3a2 amplificado com primers externos; 6: b3a2 amplificado com primers internos (Nested PCR); 7: b2a2 amplificado com primers internos (Nested PCR); 8: b2a2 amplificado com primers externos; 9: Marcador de peso molecular Φ x174; 10: b3a2/b2a2 amplificado com primers externos; 11: b3a2/b2a2 amplificado com, primers internos.

Tabela 3. Tipos de transcritos em 28 pacientes com LMC

Paciente	Data da coleta do material	Tipo de transcrito
1	19/07/99	b3a2
2	19/07/99	b2a2
3	11/02/98	Os dois tipos
4	11/02/98	b3a2
5	29/10/98	Os dois tipos
6	04/06/98	b3a2
7	27/08/98	b3a2
8	16/09/98	b3a2
9	01/10/98	Os dois tipos
10	08/12/98	b3a2
11	08/12/98	Os dois tipos
12	04/02/99	Os dois tipos
13	11/02/99	b3a2
14	03/09/99	Os dois tipos
15	05/11/97	b3a2
16	13/01/99	Os dois tipos
17	11/02/99	Os dois tipos
18	23/10/98	b3a2
19	29/01/99	b3a2
20	27/08/98	b3a2
21	15/09/99	b3a2
22	22/10/99	b2a2
23	22/10/99	b2a2
24	04/11/99	b2a2
25	27/11/99	Os dois tipos
26	01/12/99	b2a2
27	05/05/98	-
28	02/10/98	-

* (11 e 21), mesmo paciente, com análise em momentos distintos

2) Correlação entre o tipo de transcrito quimérico encontrado e a clínica do paciente

Dos 27 pacientes analisados, 26 estavam na fase crônica da doença ao diagnóstico. Somente um estava na fase acelerada (paciente 1), permanecendo nela sem apresentar evolução; seu cariótipo apresentava outras alterações além do cromossomo Ph.

O paciente número 5 estava, ao diagnóstico, na fase crônica, porém em um período de 13 meses evoluiu para uma crise blástica mielóide levando ao óbito cerca de três meses depois. Já o paciente número 11, também em fase crônica ao diagnóstico, em 9 meses evoluiu para uma crise blástica linfóide.

No caso número 5, o paciente apresentava os dois tipos de transcritos e no caso número 11, na primeira análise, quando a fase crônica foi diagnosticada, os dois transcritos estavam presentes, porém, após uma segunda análise, meses depois, somente um tipo de transcrito foi identificado, b3a2.

O paciente número 27 evoluiu para fase acelerada em 14 meses, mas a análise de sua amostra não foi possível.

Nas figuras 3 a 8 está representada a dispersão dos valores do hemograma de cada paciente analisado e os dados de tamanho de baço e o sexo *versus* o tipo de transcrito

encontrado. Os resultados das análises estatísticas não foram significativos devido ao baixo número amostral.

Foi observada uma aparente predominância de pacientes com transcrito b3a2, quando correlacionados com contagem de plaquetas maior que um $10^3 \times 10^3/\text{mm}^3$.

Não foi observada a predominância de nenhum tipo de transcrito em relação aos dados clínicos restantes.

Discussão

Nos últimos anos, vários estudos em LMC tentam associar o ponto de quebra dentro da região M-bcr com características da doença e seu curso de evolução. Esses estudos não têm sido conclusivos e a necessidade de se rever esse aspecto da LMC ainda se faz presente.

A dificuldade em se determinar tal relação provavelmente está na determinação aleatória de pontos de quebra a 5' e a 3' do sítio central de HindIII do M-bcr, que se tornou uma convenção, porém, não está relacionada com nenhuma seqüência ou estrutura específica, sendo a presença ou ausência do exon b3 ou (e14), a única característica que distingue essas regiões.

Com os resultados do *Nested-PCR* foi possível a verificação da presença do transcrito quimérico em 38,5% dos pacientes, demonstrando a concentração diminuída em relação aos outros 61,5% nos quais o transcrito foi identificado na primeira amplificação.

Os pacientes que apresentaram dois tipos de transcritos possuem duas populações de células com clones diferentes provenientes de um "splicing" alternativo que, em um dos clones, deletou o exon b3 durante seu processamento.

Dos 31% dos pacientes em que b3a2/b2a2 foram encontrados, a grande maioria apresentava, em maior intensidade, o transcrito b3a2, com exceção do paciente número 11, em que o transcrito b2a2 estava em maior intensidade.

Este mesmo paciente foi analisado nove meses depois, com os mesmos primers e condições de amplificação e apresentou um único tipo de transcrito, b3a2. A situação clínica

do paciente na época da segunda análise foi de evolução para uma crise blástica linfóide, o que nos leva a sugerir, em um primeiro momento, que somente uma população de células clonais evoluiu e se tornou a maioria das células identificáveis no paciente na segunda análise, ou seja, somente o clone que possuía o transcrito quimérico b3a2 evoluiu e foi amplificado com o método de RT-PCR.

Em um segundo momento, esses resultados nos levam a sugerir que a evolução do clone com o transcrito b3a2, presença do exon b3 no ponto de quebra M-bcr, pudesse ser determinante nesse caso para a evolução clínica do paciente.

Um dado interessante nesse caso é a idade do paciente, 1 ano, característica atípica em pacientes com LMC, assim como também é atípico o tempo de duração da fase crônica neste paciente, cerca de 9 meses aproximadamente de acordo com a data do diagnóstico.

Segundo esse resultado podemos sugerir que o surgimento do transcrito quimérico possivelmente ocorreu ainda na vida intrauterina do paciente. Isso questiona Vickers (8) que, baseado em estudos epidemiológicos, sugere que aproximadamente três mutações somáticas estejam envolvidas no desenvolvimento da fase crônica da LMC e apenas uma para fase aguda, o que, segundo ele, explica o aumento exponencial da incidência da LMC com a idade e a observação que a evolução para a fase aguda parece ser ao acaso, não dependendo da duração da fase crônica.

A comparação dos resultados clínicos ao diagnóstico com o tipo de transcrito encontrado mostrou uma aparente predominância de pacientes com transcrito b3a2 e contagem de plaquetas maior do que $10^3 \times 10^3/\text{mm}^3$.

A correlação de contagem de plaquetas com o aparecimento do transcrito b3a2 tem sido discutida por diversos grupos em estudos epidemiológicos e ainda se mantém como uma questão controversa, com resultados corroborando (Shepherd et al, 1987 [9]; Inokuchi et al, 1991 [10]) e outros não obtendo relação alguma (Opalka et al 1993

[11] e Zaccaria et al, 1993 [12] e 1995 [13]). Nos estudos que sugerem uma correlação, a média de plaquetas encontradas nos indivíduos analisados seria maior em pacientes com o transcrito b3a2.

Em 1995, o grupo de Verschraegen [14], estudando um grupo de 362 pacientes com LMC, obteve uma associação, comprovada estatisticamente, de contagem de plaquetas com a predominância do transcrito b3a2. Isto sugere que alguma característica inerente a esses pacientes levaria a esse resultado, não necessariamente a presença do transcrito por si só.

Outro parâmetro observado em nossa amostra foi a maior proporção de mulheres, maior do que a de homens (Figura 8); um dado controverso já que é comprovada uma maior incidência de LMC em pacientes do sexo masculino. Este fato poderia ser explicado por uma metodologia inadequada na obtenção das amostras, assim como pelo pequeno número de pacientes estudados. A distribuição dos transcritos teve proporções similares, não demonstrando nenhuma predominância em relação ao sexo.

Conclusão

Das amostras analisadas, em todas foi encontrada a presença do rearranjo molecular BCR/ABL, com exceção de duas, onde a amplificação não foi possível devido às falhas na manipulação da amostra durante sua extração.

Os tipos de transcritos encontrados foram b3a2 em 43% das amostras, b2a2 em 18% e os dois tipos de transcritos em 32% do total de amostras analisadas.

A importância e sensibilidade do *Nested-PCR* foi observada nos 38,5% das amostras onde o rearranjo quimérico somente foi identificado após a realização dessa metodologia, levando-nos a assegurar resultados positivos e negativos para a presença do rearranjo.

Na análise dos dados clínicos, a presença dos dois tipos de transcritos foi verificada em pacientes que evoluíram para crises blásticas, linfóide e mielóide, sendo que em um desses pacientes foi verificada a presença de somente um transcrito, b3a2, após sua evolução, demonstrando a evolução de um dos transcritos apenas.

Foram observadas correlações clínicas entre o tipo de transcrito, b3a2, e a contagem de plaquetas maior que um $10^3 \times 10^3/\text{mm}^3$, dado que necessita de uma confirmação estatística.

An analysis of transcriptions of the translocations t(9,22) in chronic myeloid leukemia

Luciana P. Barboza, Jamison M. Souza, Felipe V. Simões, Iracema C. Bragança, Eliana Abdelhay

Abstract

Chronic myelogenous leukemia is a proliferative disease of the hematopoietic system. It is characterized by clonal expansion of a primitive pluripotent stem cell that has the capacity to differentiate into the myeloid, monocyte, megakaryocyte and erythrocyte lineage, B and T cells.

Under normal physiological hematopoietic conditions there is a balance between proliferation and differentiation. On the other hand, the population of hematopoietic stem cells must also undergo a self renewal process. In chronic myelogenous leukemia stem cells, unregulated proliferation is associated with the 210kDa tyrosine kinase, which is the product of the BCR/ABL fusion gene, in the translocation involving chromosomes 9 and 22, a karyotype marker of chronic myelogenous leukemia.

Several chimeric transcripts have been described and it has been observed that the seriousness of the clinical picture depend on the generated mRNA.

In the present work we analyzed 28 samples of bone marrow cells from 27 patients diagnosed with chronic myelogenous leukemia. In all samples the translocation t(9;22) was present and they were analyzed for the presence of the fusion transcripts (b3a2 or b2a2) using RT-PCR and Nested-PCR, techniques that were shown to be more sensitive for the identification of these transcripts. Among the patients, 12% presented fusion b3a2, 18% showed b2a2 fusion transcript and 32% both types, b3a2 and b2a2.

The presence of the transcript, b3a2, seems to be related with a platelet above $10^3 \times 10^3/\text{mm}^3$, recognized as a worse prognostic characteristic in patients with chronic myelogenous leukemia.

Rev. bras. hematol. hemoter., 2000, 22(2): 89-98

Key-words: Chronic myeloid leukemia, cytogenetics

Referências Bibliográficas

1. Russo C, Carol A, 1991. **Blood**. 77: 1050-1056.
2. Sandberg AA, 1986. **Semin Hematol** 23: 201-217.
3. Haaferlach T, 1997. **Br J Haematol**. 97: 99
4. Groffen J, Morris C, Heisterkamp N, 1991. Deisseroth AB, Arlinghaus RB (eds) *Chronic myelogenous leukemia*. Dekker, New York, pp 181-209.
5. MacKenzie E, Stewart E, Birnie GD, 1993. **Leukemia**. 7(5): 702-705.
6. Melo JV, Gordon DE, Cross NCP, Goldman JM, 1993. **Blood** 81: 158-165.
7. Lion T, Prischl F, Haas OA, Pont J, Schwarzmeier J, 1991. **Leukemia** 5 (2): 156-1590.
8. Vickers M, 1996. **Br. J. Haematol**. 94: 1-4
9. Shepherd PCA, Ganesan TS, Galton DAG, 1987. **Ballieres Clin. Haematol**. 1: 887- 895.
10. Inokuchi K, Inoue T, Tojo A, Futaki M, 1991. **Blood** 78 (12): 3125-3127.
11. Opalka B, Wandl UB, 1993. **Blood** 80: 1854-1855.
12. Zaccaria A, Martinelli G, 1993. **Br. J. Haematol**. 84: 265-268.
13. Zaccaria A, Martinelli G, 1995. **Leukemia & Lymphoma** 16: 231-26.
14. Verschraegen CF, Katarjian HM, Hirsch-Ginsberg C, Lee MS, O'Brien S, Rios MB, Stass AS, Keating M, Talpaz M, 1995. **Cancer**. 76(6): 992-997.