Estudo cromossômico em leucemia, linfoma e câncer de pulmão.

Leukemias, Lymphomas and Lung Cancer: Chromosomic studies

AGNES CRISTINA FETT CONTE[1], ELOIZA HELENA TAJARA[2], MARILIELA VARELLA-GARCIA[3]

Unitermos: Neoplasma. Sítios frágeis. Aberrações cromossômicas constitucionais. Heterocromatina.
Key Words: Neoplasma. Fragile sites. Constitutional chromosome anomalies. Heterochromatin.

Resumo - Os autores descrevem os resultados da análise citogenética realizada em 16 pacientes portadores de leucemia, linfoma ou câncer de pulmão. Neste grupo foram observadas alterações cromossômicas constitucionais, como duplicação e translocação, quebras cromossômicas preferenciais e variantes de heterocromatina constitutiva. Embora não tenha sido possível detectar uma associação direta destas características com a condição neoplásica, tais achados em cerca de 37% da amostra sugerem que algumas tenham desempenhado um papel no desenvolvimento maligno de seus portadores.

Introdução

Os estudos desenvolvidos na área da citogenética do câncer têm fornecido resultados importantes que vêm sendo utilizados para diagnóstico, prognóstico e esclarecimento da etiologia dessa doença. Tais estudos têm revelado que certas alterações cromossômicas constitucionais estão associadas com a predisposição a tipos específicos de neoplasias como é o caso por exemplo, da síndrome 13q- e retinoblastoma, da síndrome 11p- e tumor de Wilms e da síndrome de Down e risco elevado de leucemia[5,8,9,24,18].

Nos últimos anos também tem sido observada uma grande concordância entre a localização de determinadas quebras cromossômicas preferenciais herdáveis, conhecidas como sítios frágeis, e os pontos de quebra de rearranjos estruturais em neoplasmas humanos[10,27].

Em vista disto, propôs-se o presente trabalho cujo objetivo foi o estudo citogenético de portadores de leucemia, linfoma ou câncer de pulmão, visando a detecção de alterações ou variantes cromossômicas constitucionais e de sítios frágeis que pudessem estar relacionados com o desenvolvimento do processo maligno.

Trabalho realizado com o auxílio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), no Departamento de Biologia do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas de São José do Rio Preto, UNESP. Apresentado na 39ª Reunião Anual da SBPC, Brasília (1987) e na V Jornada de Oncologia de São José do Rio Preto (1988).

1. Professor Assistente, Fundação Faculdade Regional de Medicina de São José do Rio Preto.
2. Professor Assistente, IBILCE-UNESP, São José do Rio Preto.
3. Professor Titular, IBILCE-UNESP, São José do Rio Preto.

Material e Métodos

Foram analisados, previamente à radio ou quimioterapia, 16 indivíduos, 11 homens e 5 mulheres, com idades de 2 a 74 anos (X = 24) e diagnóstico de câncer. Três pacientes apresentavam leucemia mielóide aguda (LMA), sete apresentavam leucemia linfóide aguda (LLA), três eram portadores de linfoma e os outros três eram portadores de câncer de pulmão.

A investigação citogenética foi realizada em linfócitos do sangue periférico e, sempre que possível, nas células malignas do paciente. As réplicas de cada amostra foram cultivadas em diferentes meios de cultura (RPMI 1640 e TC 199) e na presença de drogas indutoras de sítios frágeis, a saber, metotrexato (MTX, 5μg/ml de meio), Hoechst 33258 (3 μg/ml de meio) e 5-bromodesoxiuridina (5-BrdU, 10 a 15 μg/ml de meio).

O tempo de cultura para linfócitos estimulados por fitohemaglutinina (PHA) foi de 71 horas e aquele para as células malignas, na ausência de PHA, foi de 48 horas. As drogas foram adicionadas no início do cultivo (5-BrdU) ou 24 horas antes do seu término (MTX e Hoechst).

Pelo menos 50 a 100 metástases de cada réplica foram analisadas com coloração usual e após a utilização de técnicas de bandamento cromossômico G, C e Ag-NOR.

Resultados e Discussão

Entre os 16 pacientes estudados, dois apresentaram aberrações cromossômicas constitucionais. Um deles, portador de LMA, mostrou uma duplicação do braço curto e região centromérica do cromossomo 22 [46,XY,dir dupl (22p) (pter q11::p13 qter) mat]

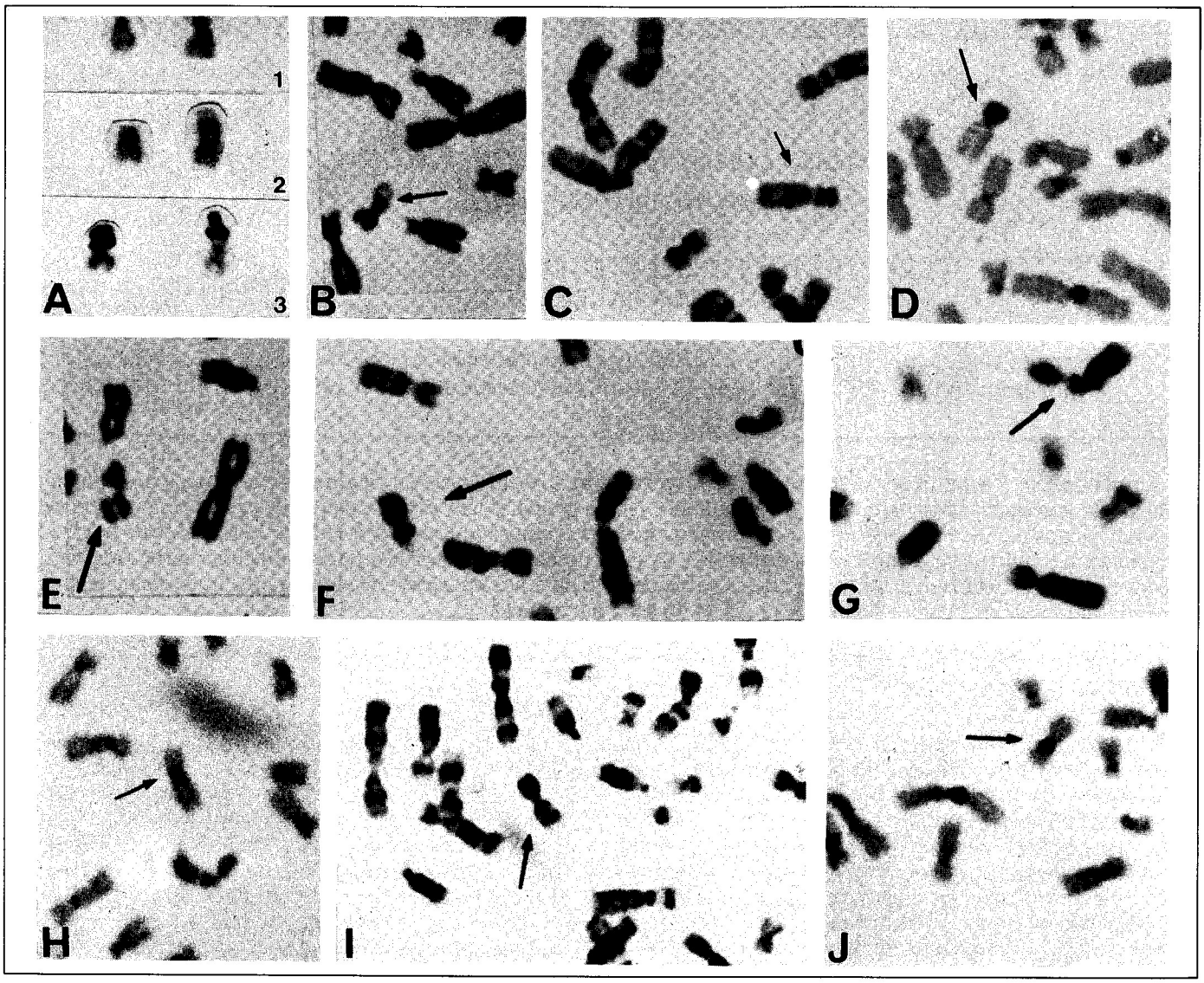

***Fig. 1** - (A) Pares de cromossomos 22 com o anômalo à direita em banda G (1), C (2) e com dois cromossomos apresentando a duplicação em Ag-NOR(3). Metáfases parciais mostrando: (B) cromossomo 22 com a duplicação em coloração usual; (C-D) cromossomo resultante da translocação 15/Y em banda G e C; (E-F) quebra e falha na região mediana do cromossomo 13, em coloração usual e banda G; (G) quebra na banda p14 do cromossomo 3, em banda G; (H) inversão parcial da heterocromatina do cromossomo 9, em banda C; (I-J) inversão total da heterocromatina do cromossomo 9 em banda G e C.*

(Figura 1.A-B) e o outro, portador de câncer de pulmão, apresentou uma translocação envolvendo os cromossomos 15 e Y [46,XX,-15,der(15),t(15;Y)(p11;q12)] (Figura 1.C-D). Quebras cromossômicas preferenciais também foram observadas em dois indivíduos da amostra. O primeiro deles, com LMA-M2, mostrou frequências altas de falhas e quebras na banda q14 ou q21 do cromossomo 13 (Figura 1.E-F) e o segundo, com LLA-L2, na banda p14 do cromossomo 3 (Figura 1.G). Tais quebras também foram observadas em outros membros das famílias destes pacientes. Os heteromorfismos detectados incluem uma inversão parcial da região heterocromática do cromossomo 9 em um portador de LLA-L2 [46,XY,inv(9)(p11q12.1)mat (Figura 1.H) e uma inversão total desta região em uma portadora de câncer de pulmão [46,XX,inv(9)(p11q12.2)] (Figura 1.I-J).

Em relação às aberrações cromossômicas constitucionais é digno de atenção o fato de que a banda 22q11, comprometida na alteração de um dos pacientes, é preferencialmente envolvida em rearranjos cromossômi-

cos observados em várias neoplasias humanas[6,16]. Nesta banda estão mapeados os genes para as imunoglobulinas[11] que já foram referidos como possíveis indutores de neoplasias quando alterados[19]. Desse modo, embora não existam indícios suficientes para sugerir uma relação entre a aberração cromossômica e a condição neoplásica do paciente, tal relação não pode também ser descartada.

Quanto à translocação 15/Y, convém citar que sua incidência em recém-nascidos é de aproximadamente 0,01%[22] e que pelo menos cinco portadores de translocações Y/autossomo, incluindo o presente caso, foram observados em estudos de pacientes com neoplasias não gonadais, numa freqüência aproximada de 0,05%[2,5]. Esta freqüência, embora ligeiramente maior que aquela observada em recém-nascidos, não indica uma predisposição ao câncer pelos seus portadores, mas investigações detalhadas em famílias com a translocação e em outras séries de pacientes com neoplasias poderão esclarecer o problema.

Com referência às quebras cromossômicas preferenciais, uma delas corresponde ao sítio frágil comum 3p14, que tem sido encontrado em todos os indivíduos já testados e em freqüências mais altas que qualquer outro[21]. Era esperado, portanto, que todos os indivíduos da amostra apresentassem quebras e falhas nesta região. Todavia, com a metodologia utilizada, suas freqüências destacaram-se no paciente em questão. Além disso, a banda 3p14 está envolvida em rearranjos cromossômicos de vários tipos de neoplasias[6,7,26] e já foi proposto que ela contenha importantes informações sobre o crescimento celular[23]. No outro paciente, as quebras cromossômicas podem ter comprometido a banda 13q14 onde está mapeado o gene para a susceptibilidade ao retinoblastoma[24]. Rearranjos envolvendo esta região também tem sido observados freqüentemente em doenças hematológicas malignas e pré-malígnas[12], muito embora o paciente em questão tenha apresentado no seu clone leucêmico a t(8;21) não relacionada, portanto, com a fragilidade em 13q mediano. Desse modo, apesar de não existirem evidências diretas de que os sítios frágeis desempenhem um papel na origem do câncer, não é possível excluir uma relação entre eles e o desenvolvimento neoplásico enquanto sua base biológica e sua natureza precisa ao nível molecular não forem bem conhecidas.

Os heteromorfismos cromossômicos são comuns na população[25] e existem sugestões de que possam constituir em fator de predisposição ao desenvolvimento maligno[1,3,4,15,17]. Os dados da literatura são, contudo, bastante divergentes o que leva alguns autores a discordar da associação entre heteromorfismos e câncer[13,14,20]. Nossos resultados não contribuíram para tal controvérsia que permanece em função do esclarecimento das verdadeiras funções da heterocromatina no cariótipo humano.

Em conclusão, os resultados do presente trabalho não evidenciam uma relação direta entre as alterações e heteromorfismos cromossomos constitucionais observados e o câncer apresentado pelos pacientes, entretanto, a presença de tais achados em cerca de 37% dos indivíduos estudados sugere que algumas tenham desempenhado importante papel no desenvolvimento da neoplasia. Desta forma, tais resultados reforçam os dados da literatura e ampliam a discussão sobre o papel destas características na origem da malignidade.

Agradecimentos:

Os autores agradecem a Josué Rodrigues dos Santos e Rosana Silistino pela assistência técnica e ao CNPq pelo apoio financeiro.

Summary

Cytogenetic studies were performed on 16 patients with leukemia, lymphoma or lung cancer. Six (about 37%) had constitutional chromosome alterations, preferential chromosome breaks and gaps or heteromorphisms in constitutive heterochromatin. The hight frequency of these findings suggests that at least some of them can be related to the origin of the malignant process in the patients.

Referências Bibliográficas

1. ADHVARYU, S.G.; DAVE, B.J.; TRIVEDI, A.H.; JANI, K.H. & VYAS, R.C. Heteromorfism of C-band positive chromosomal regions in CML patients. **Cancer Genet. Cytogenet.**, 27: 33-38, 1987.
2. ALIMENA, G.; BILLSTROM, R.; CASALONE, R.; GALLO, E.; MITELMAN, F. & PASQUALI, F. Citogenet pattern in leukemia cells of patients with constitutional chromosome anomalies. **Cancer Genet. Cytogenet., 16:**207-218, 1985.
3. ATKIN, N.B. & BRITO-BABAPULLE, V. Heteorochromatin polymorphism and human cancer. **Cancer Genet. Cytogenet., 3:** 261-272, 1981.
4. ATKIN, N.B. & BRITO-BABAPULLE, V. Chromosone 1 heterochromatin variants and cancer: a reassment. **Cancer Genet. Cytogenet, 18:** 325-331, 1985.
5. BENITEZ, J.; VALCARCEL, E.; RAMOS, C.; AYUSO; C. & SANCHEZ, C.A. Frequency of constitutional chromosome alterations in patients with hematologic neoplasias. **Cancer Genet. Cytogenet., 24:** 345-354, 1987.
6. BERGER, R.; BLOOMFIELD, C.D. & SUTHERLAND, G.R. Report of the commitee on chromosome rearrangements in neoplasia and on fragile sites. **Cytogenetic Cell Genet., 40:** 490-535, 1985.
7. COHEN, A.; LI, F.P.; BERG, S.; MARCHETTO, D.J.; TSAI, S.; JACOBS, S.C. & BROWN, R.S. Hereditary renal-cell carcinoma associated with a chromosomal translocation. **N. Engl. J. Med., 301:** 592-595, 1979.
8. DALLAPICCOLA, B. Cytogenetics of Mendelian mutations associated with cancer proneness. **Cancer Genet. Cytogenet., 26:** 85-94, 1987.
9. HECHT, F.; HECHT, B.K.; MORGAN, R.; SANDBERG, A.A. & LINK, M.P. Chromosome clues to acute leukemia in Down's syndrome. **Cancer Genet. Cytogenet., 21:**93-98, 1986.
10. HECHT, F. & SUTHERLAND, G.R. Fragile sites and cancer breakpoint. **Cancer Genet. Cytogenet., 12:**179-181, 1984.
11. HELSINKI CONFERENCE: Eight International Workshop on Human Gene Mapping. **Cytogenet. Cell Genet., 40:**1-824, 1985.

12. JOHNSON, D.D., DEWALD, G.W., PIERRE, R.V.; LETENDRE, L. & SILVESTEIN, M. N. Deletions of chromosome 13 in malignant hematologic disorders. **Cancer Genet. Cytogenet., 8;** 235-241, 1985.

13. KIVI, S. & MIKELSAAR, A.V. Q-and C-band polymorphisms in patients with ovarian or breast carcinoma. **Hum. Genet., 56:** 111-114, 1980.

14. KRISTOFFERSSON, U.; BERGER, R.; BERNHEIM, A.; AKERMAN, M.; OLSSON, H. & MITELMAN, F. C-band polymorphism in non-Hodgkin lymphoma. **Hereditas, 103:** 77-84, 1985.

15. LABAL DE VINUESA, M.; LARRIPA, I.; MUDRY DE PARGAMENT, M. & BRIEUX DE SALUM, S. Heterochromatic variants and their association with neoplasias. **Cancer Genet. Cytogenet., 14:** 31-35, 1985.

16. LE BEAU, M.M. & ROWLEY, J.D. Chromosomal abnormalities in leukemia and lymphoma: clinical and biological significance. **Advances in Human Genetic, 16:** 1-54, 1986.

17. MURTY, V.V.V.S.; MITRA, A.B.; SINGH I.P. & LUTHRA, U.K. Heteromorphisms of C-band in patients with precancerous and cancerous lesions of the cervix uteri. **Oncology, 44:** 164-168, 1987.

18. NAKAGONE, Y.; ISE, T.; SAKURAI, M.; NAKAJO, T.; OKAMOTO, E.; TAKANO, T.; NAKAHORI, Y.; YSUCHIDA, Y.; NAGAHARA, N.; TAKADA, Y.; OHSAWA, Y.; SAWAGUCHI, S.; TOYOSAKA, A.; KOBAYASHI, N.; MATSUNAGA, E. & SAITO, S. High-resolution studies in patients with aniridia-Wilms tumor association, Wilms tumor or related congenital abnormalities. **Hum. Genet., 67**(3): 245-248, 1984.

19. PIMENTEL, E. Oncogenes and human cancer. **Cancer Genet. Cytogenet., 14:** 347-368, 1985.

20. SCHULZE, B.; GOLINSKI, C. & FONATSCH, C. Heterochromatin and nucleolus organizer regions in cells of patients with malignant and premalignant lymphatic disease. **Hum. Genet., 67:** 391-395, 1984.

21. SMEETS, D.F.C.M.; SCHERES, J.M.J.C. & HUSTINX, T.W.J. The most common fragile site in man is 3p14. **Hum. Genet., 72:** 215-220, 1986.

22. SMITH, A.; FRASER, I.S. & ELLIOT, G. An infetile male with balanced Y; 19 translocation. **Ann. Génét. 22:** 189-193, 1979.

23. TAJARA, E.H.; HECHT, B.K.; LOCKWOOD, D.; BIXENMAN, H.; BERGER, C.S.; SANDBERG, A.A.; HECHT, F. Fragile sites and genitourinary tumors. **Cancer Genet. Cytogenet., 31:** 63-68, 1988.

24. TURLEAU, C.; DE GROUGHY; J.; CHAVIN-COLIN, F.;

25. VARELLA-GARCIA, M. **Heteromorfismos cromossômicos em oligofrênicos com anomalias congênitas e cariótipo normal.** Tese de Livre Docência, IBILCE-UNESP, S.J. do Rio Preto, 1982.

26. WURSTER-HILL, D.H.; CANNIZZARO, L.A.; PETTENGILL, O.S.; SORENSEN, G.D.; CATE, C.C. & MAURER, L.H. Cytogenetic of small cell carcinoma of the lung. **Cancer Genet. Cytogenet, 13:** 303-330, 1984.

27. YUNIS, J.J. The chromosomal basis of human neoplasia. **Scienci, 221:** 227-236, 1983.

Dia Nacional de Combate ao Câncer

Foi instituído o Dia Nacional de Combate ao Câncer, a ser comemorado no dia 27 de novembro, com a finalidade — segundo a portaria que o criou — "de evocar o importante significado histórico das entidades de combate ao câncer e de consagração aos inumeráveis e valiosos serviços prestados ao país e proporcionar importante mobilização popular quanto aos aspectos educativos e sociais da luta contra o câncer".

Segundo ainda a portaria, baixada pelo então ministro Borges da Silveira, da Saúde, o Ministério da Saúde, através da Divisão Nacional de Doenças Crônico-Degenerativas/Campanha Nacional de Combate ao Câncer, ficará encarregado de organizar as comemorações respectivas, que incluirão, dentre outras iniciativas, as ações de educação e informação no combate ao câncer.