



Avaliação do padrão de expressão de genes de imunoproteassoma em pacientes portadores de leucemia, no Distrito Federal

Mesquita, DR¹; Ferrari, I²; Martins de Sá, C³.

¹Departamento de Ensino de Graduação, Centro Federal de Educação Tecnológica do Amazonas; ²Serviço de Genética Clínica do Hospital Universitário de Brasília, Universidade de Brasília; ³Departamento de Biologia Celular do Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília

deborarabello@yahoo.com.br

Palavras-chave: imunoproteassoma, leucemia, RT-PCR

Os proteassomas são estruturas altamente conservadas, estando presentes na grande maioria das células e que têm por função a catálise da degradação proteica não lisossomal. Em vertebrados, a exposição de células ao interferon- γ (INF- γ), induz a a produção do complexo regulador PA28 e a síntese de três diferentes subunidades catalíticas β : *LMP-2* ou $\beta 1i$, *MECL-1* ou $\beta 2i$ e *LMP-7* ou $\beta 5i$, que substituem as subunidades constitutivas $\beta 1$, $\beta 2$ e $\beta 5$ no proteassoma 20S, formando o imunoproteassoma (iPS). Este novo complexo é responsável pela produção de antígenos intracelulares a serem expostos na superfície celular e então apresentados às células T citotóxicas, caracterizando um dos mecanismos efetores da resposta imune adquirida mediada por células. Acredita-se que grande parte do sucesso proliferativo das células malignas seja atribuída à capacidade que estas células apresentam de evadir ou superar os mecanismos de defesa do organismo. Considerando que diferentes fatores podem estar relacionados ao modo pelo qual a imunidade antitumor é vencida, avaliou-se o padrão de expressão de genes de imunoproteassoma em um grupo de pacientes portadores de leucemia mielóide crônica e de leucemia linfoblástica aguda de células precursoras B, no Distrito Federal.

As amostras de medula óssea foram processadas em gradiente de densidade de *Ficoll* e da camada leucoplaquetária obtida foi extraído o RNA total, de acordo com protocolo do *Trizol*. A síntese de *cDNA* foi realizada utilizando-se *Random hexamers* e a técnica de RT-PCR foi utilizada para a avaliação do padrão de expressão de genes de imunoproteassoma (*MECL-1*, *LMP-2* e *LMP-7*). Em pacientes portadores de LMC (24) foi realizada análise comparativa entre amostras de indivíduos ao diagnóstico (14) e em tratamento (10) e naqueles com LLA B (14), comparou-se o padrão entre amostras de indivíduos com (7) e sem (7) rearranjo gênico. Controles positivos e negativos foram utilizados em ambos os grupos. Todas as amostras foram submetidas à pesquisa para detecção de transcritos híbridos recorrentes, de acordo com o protocolo padronizado pela *BIOMED-1 Concerted Action*.

Não houve detecção de alteração do padrão de expressão de genes de imunoproteassoma entre pacientes de LMC ao diagnóstico e em tratamento, bem como entre aqueles portadores de LLA B, com e sem rearranjo gênico. É possível que outros fatores estejam relacionados ao processo de escape imunológico das células cancerígenas, considerando-se a possibilidade de mecanismos de regulação pós-traducionais envolvendo as subunidades proteicas do imunoproteassoma. Dentre os pacientes de LMC, ao diagnóstico todos evidenciaram transcrito *BCR/ABL*, sendo 85,71% do tipo *b3-a2* e 14,29% do tipo *b2-a2* e, em tratamento, 30% apresentaram resultado negativo e 70% evidenciaram amplificação do transcrito, sendo 50% do tipo *b3-a2* e 20%, *b2-a2*. Em nenhuma amostra foi identificado o transcrito *BCR/ABL* p190 do tipo *e1-a2* (Fig. 6). Entre os pacientes de LLA B, 7 apresentaram amplificação de transcrito híbrido: *TEL/AML1* (4), *E2A/PBX1* (2) e *BCR/ABL* p190 (1). Este trabalho permitiu a gradativa incorporação do exame molecular à rotina de exames realizados ao diagnóstico em pacientes leucêmicos atendidos no Hospital de Apoio de Brasília (HAB).

Financiamento: Pronex FAPDF/Cnpq Projeto 380/4 - Apoio: UnB / FAPEAM / CEFET-AM