

# Associação de haplótipos do gene *TP53* no prognóstico de pacientes com leucemia linfoblástica aguda

Glenda Menezes Nogueira; Universidade Federal do Amazonas (UFAM);  
[glendamenezes1@gmail.com](mailto:glendamenezes1@gmail.com);

Luca Gabriel Marques Gonçalves; Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM);

Larissa Silva dos Santos; Universidade Federal do Amazonas (UFAM);  
Laysa de Souza Pinheiro; Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM);

Larissa Trajano Lima; Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM);

Letícia da Costa Martins; Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM);

Fabiola Silva Alves Hanna; Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM);

Allyson Guimarães da Costa; Universidade Federal do Amazonas (UFAM);

## 1. Introdução

A leucemia é um câncer hematológico caracterizado pela proliferação descontrolada de células neoplásicas que comprometem a hematopoese normal<sup>(1)</sup>. Atualmente, ela constitui a 10ª principal causa de mortalidade por câncer e ocupa a 13ª posição entre os tumores mais incidentes<sup>(2)</sup>. No Brasil, para cada ano de 2023 a 2025 são estimados 11.540 novos casos<sup>(3)</sup>.

Na região Norte, a leucemia é o 6º câncer mais frequente, mostrando-se como um desafio na saúde da população nortista<sup>(3)</sup>. Dentre seus subtipos, a leucemia linfoblástica aguda (LLA) é a mais prevalente na população infanto-juvenil, a qual ainda apresenta taxas significativas de recaída e falha terapêutica. A etiologia da LLA permanece pouco compreendida. No entanto, a sua patogênese está diretamente associada a alterações genéticas que comprometem a diferenciação celular, o reparo do DNA e a apoptose, levando ao acúmulo de linfoblastos na medula óssea<sup>(1,4)</sup>.

Nesse cenário, os genes supressores de tumor, atuam prevenindo a transformação leucêmica. O gene *TP53*, codificador da proteína tumoral p53, é responsável por regular diversas vias envolvidas no controle do ciclo celular e na apoptose<sup>(5)</sup>. Alterações nesse gene são observadas em cerca de 50% dos cânceres humanos e associadas ao pior prognóstico e resistência terapêutica<sup>(6)</sup>. Apesar disso, ainda são escassos os estudos que investigam o papel de variantes genéticas do gene *TP53* no prognóstico de neoplasias hematológicas, como a LLA.

As variantes genéticas *rs1042522* e *rs1642785* já foram descritas em outros tipos de tumor, sugerindo possível cosegregação devido à proximidade genômica<sup>(7)</sup>. Entretanto, não há estudos avaliando esses haplótipos e sua relação com a LLA. Para preencher essa lacuna, como o primeiro estudo a investigar essas variantes haplotípicas *rs1042522* e *rs1642785* do gene *TP53* em pacientes com LLA na população amazônica, nós demonstramos a influência desses haplótipos na recaída e óbito dos pacientes com LLA.

## 2. Resultados e Discussão

**Modelo de estudo:** Trata-se de um estudo observacional de coorte retrospectiva realizado com 193 pacientes diagnosticados com leucemia linfoblástica aguda atendidos na Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM)

**Critérios de elegibilidade:** Foram incluídos indivíduos com LLA de faixa etária geral, ambos os gêneros e não aparentados. Foram excluídos, os pacientes que ao decorrer do estudo passaram por transplante de medula óssea e aqueles diagnosticados com outras neoplasias hematológicas.

**Obtenção das amostras biológicas e coleta de dados:** As amostras foram obtidas através do Biorrepositório de Biomarcadores Celulares e Moleculares na Leucemia Linfoblástica Aguda (BCM-LLA). Os dados sociodemográficos (idade, gênero, raça e procedência), clínicos (protocolo de tratamento, grupo de risco, recaída após-indução e óbito) e laboratoriais (imunofenótipo) da população de estudo foram obtidos por meio de prontuários. O óbito foi analisado em um período de pelo menos 5 anos após o diagnóstico.

**Extração e quantificação de DNA:** O material genético foi extraído com a utilização de kit comercial *PureLink™ Genomic DNA Mini Kit* (Invitrogen™) seguindo as orientações do fabricante. As concentrações e pureza do DNA foram avaliadas por meio do espectrofotômetro *NanoDrop™ 2000/2000c* (Thermo Scientific™).

**Genotipagem por PCR em tempo real:** As variantes polimórficas foram selecionadas através do banco de dados *Cancer Genome Anatomy Project and SNP500 database*. No qual, foi selecionada a variante *missense rs1042522 C>G* e a variante intrônica *rs1642785 C>G* localizadas no éxon 4 e íntron 2, respectivamente. As variantes descritas foram genotipadas pela técnica de *Quantitative Real Time-PCR* (qPCR) utilizando sondas comerciais *TaqMan* conforme o protocolo descrito por Alves et al. (2021)<sup>(8)</sup>. Para a amplificação das sequências de interesse foi utilizado o termociclador *StepOnePlus™ Real-Time PCR System* e para interpretação dos resultados o *Software StepOne v2.3*.

**Análise de dados:** As análises foram realizadas utilizando o *software R*, com o pacote “SNPassoc” foi determinado o equilíbrio de *Hardy-Weinberg* (HW) para todas as SNVs e estimada as frequências alélicas. O “haplo.stats” foi utilizado como medida do desequilíbrio de ligação (DL). O DL foi analisado a partir das métricas  $D'$  para normalização da força do DL e *pairwise*  $r^2$  para indicar o grau de correlação entre as frequências alélicas, com valores de  $r^2 > 0.8$  indicando DL forte,  $< 0.8$  para fraco e  $< 0.1$  como DL negativo). Foram considerados apenas os haplótipos com uma frequência  $> 5\%$  e considerado um  $p < 0.05$  para indicar uma diferença estatisticamente significativa. Ao final, os gráficos foram gerados no *software GraphPad Prism v.10*.

**Aspectos éticos:** Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação HEMOAM sob número de parecer 3.335.123/2019, CAAE 12615918.9.0000.0009, seguindo as orientações da Declaração de Helsinque e a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde para pesquisa envolvendo seres humanos.

### 3. Resultados e Discussão

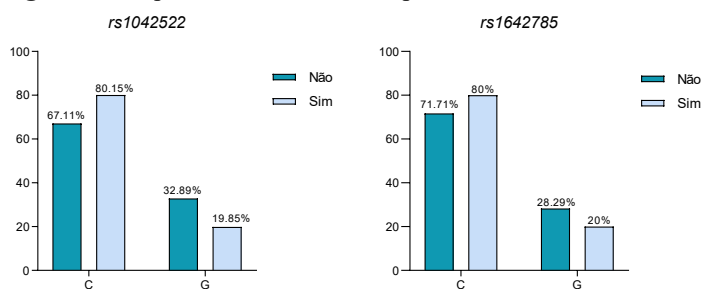
Dos 193 pacientes com leucemia linfoblástica aguda, a mediana de idade foi de 9 anos, com predominância do sexo masculino e residência na capital, Manaus. A maior parte apresentou imunofenótipo B (91%), enquanto 9% apresentaram LLA-T. Quanto à estratificação de risco, 68% dos pacientes foram classificados como alto risco. A maioria realizou o tratamento conforme os protocolos do Grupo Europeu Berlim-Frankfurt-Münster (50%) e do Grupo Brasileiro de Tratamento da Leucemia na Infância (32%). Durante o acompanhamento, 53% dos pacientes se mantiveram em remissão sem recaída após a indução, e 71% não evoluíram para óbito.

O perfil identificado na população de estudo foi semelhante ao que há descrito na literatura para a LLA. Em uma pesquisa epidemiológica realizada anteriormente por nosso grupo, observamos que embora as taxas de incidência de novos casos tenham aumentado a partir do ano de 2012, esse crescimento foi acompanhado por uma redução progressiva da mortalidade por LLA no Estado do Amazonas, evidenciando avanços no diagnóstico e no manejo terapêutico da doença na região<sup>(9)</sup>.

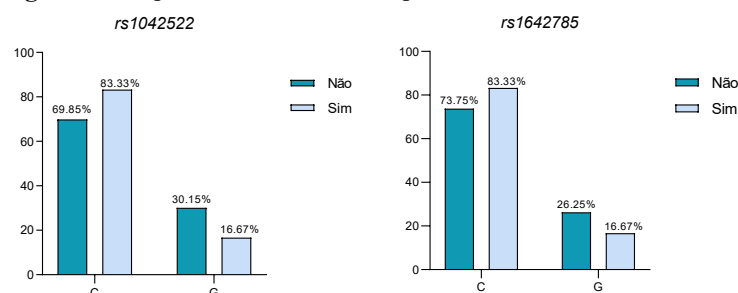
A análise das frequências alélicas revelou maior prevalência do alelo C nas variantes estudadas entre os pacientes que apresentaram recaída após a indução, enquanto o alelo G foi mais frequente nos que permaneceram em remissão (**Figura 1**). Resultados semelhantes foram

observados em relação ao desfecho de óbito, com predominância do alelo C nos pacientes que evoluíram a óbito e do alelo G naqueles que não apresentaram esse desfecho (**Figura 2**).

**Figura 1.** Frequência alélica entre os pacientes de acordo com a *recaída*.



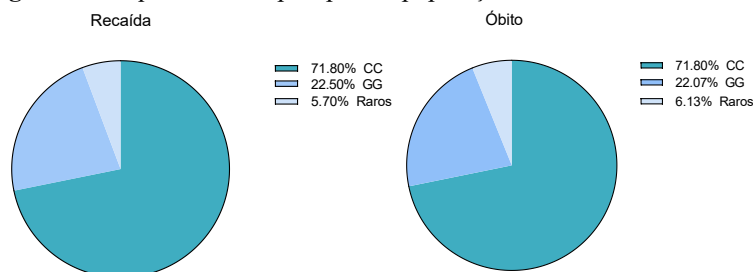
**Figura 2.** Frequência alélica entre os pacientes de acordo com o *óbito*.



O alelo C de *rs1042522* é descrito na literatura como associado a menor indução apoptótica, e frequentemente relacionado a resistência quimioterápica. Em contraste, o alelo G é mais eficaz na apoptose pela maior localização mitocondrial e ativação de genes pró-apoptóticos regulados por *TP53*<sup>(10)</sup>. Na LLA *BCR::ABL1*-positiva, a perda de heterozigossidade do alelo C foi observada em cerca de 12% das recaídas, sugerindo sua inativação e contribuição para a resistência terapêutica<sup>(11)</sup>. Ressaltamos também, que o alelo C de *rs1642785* mostrou impactar na estabilidade de mRNA levando a níveis baixos de pré-mRNA de p53 e *TP53* total<sup>(12)</sup>. A baixa transcrição de *TP53* ou sua interrupção em situações de estresse celular pode prejudicar a função de supressão tumoral, levando ao desenvolvimento e a progressão do tumor<sup>(13)</sup>.

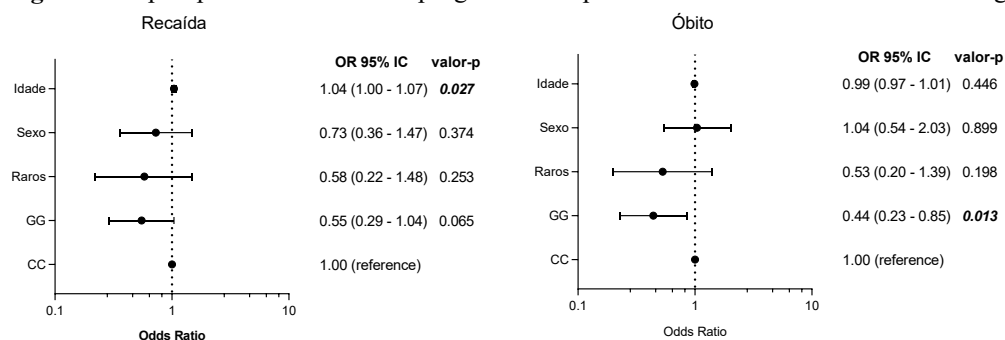
As variantes também demonstraram estar em forte desequilíbrio de ligação indicando que frequentemente são herdadas em conjunto, e mostrando a correlação entre suas frequências alélicas na análise para risco de recaída e óbito, na qual evidenciou um DL ( $D'=0.891$ ) e  $r^2=0.711$ . Foram originados quatro haplótipos, sendo dois com uma frequência >5% (**Figura 3**).

**Figura 3.** Frequência de haplótipos na população de estudo.



Os 2 haplótipos identificados demonstraram associações significativas com a LLA, onde indivíduos com o haplótipo GG possuem uma menor chance de óbito (ORadj= 0,44 [IC 95%: 0.23 – 0.85,  $p=0.0138$ ]). A idade foi uma variável significativa, na qual para a recaída (ORadj=1.04 [(1.00 – 1.07),  $p=0.0275$ ]) o risco foi aumentado em 4% a cada ano adicional (**Figura 4**). Os outros 2 haplótipos possuíam uma frequência inferior e estão representados como haplótipos raros (**Figura 3**), esses não demonstraram associações significativas (ORadj = 0,76 [IC 95%: 0.42 – 1.38,  $p=0.368$ ]) (**Figura 4**).

**Figura 4.** Haplótipos identificados no prognóstico de pacientes com leucemia linfoblástica aguda.



Apesar de não termos descrito de forma aprofundada o papel do haplótipo CC, caracterizado pela presença do alelo C em *rs1042522* no éxon 4 e *rs1642785* no íntron 2 do gene *TP53*, destacamos que esse demonstrou estar associado ao risco aumentado de óbito em pacientes com LLA, sendo utilizado como referência para as comparações nas análises. Em contrapartida, o haplótipo GG demonstrou associação com a menor chance de óbito, reforçando a relação entre essas variantes e o prognóstico da doença. Os dados na literatura são limitados quanto a esses haplótipos. Entretanto, um estudo prévio, havia sugerido a possibilidade de co-herança dessas variantes, e nossos achados confirmam esse dado ao evidenciar o desequilíbrio de ligação entre elas<sup>(7)</sup>.

#### 4. Conclusões

Nosso estudo é pioneiro ao descrever a frequência dos alelos e haplótipos *rs1042522* e *rs1642785* do gene *TP53* na LLA e associá-los a desfechos clínicos em pacientes da população amazônica. Os achados destacam a importância dessa região genômica no prognóstico da doença e reforçam a necessidade de estudos mais amplos. Além disso, fornecem subsídios para a estratificação prognóstica precisa e o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas personalizadas.

**Palavras-Chave:** Leucemia linfoblástica aguda; Haplótipos; Proteína Supressora de Tumor p53.

#### Divulgação

O (s) autor (es) e revisores não relataram qualquer conflito de interesse durante a sua avaliação. Logo, o Congresso Pan-Amazônico de Oncologia detém os direitos autorais, tem a aprovação e a permissão dos autores para divulgação deste resumo, por meio eletrônico.

#### 5. Referências

- Whiteley AE, Price TT, Cantelli G, Sipkins DA. Leukaemia: a model metastatic disease. *Nat Rev Cancer*. 2021 Jul 5;21(7):461–75. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41568-021-00355-z>
- Ferlay J, Ervik M, Lam F, Laversanne M, Colombet M, Mery L, Piñeros M, Znaor A, Soerjomataram I BF. Global Cancer Observatory: Cancer Today. International Agency for Research on Cancer. 2024. Available from: <https://gco.iarc.who.int/today>
- Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA). Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil. 2022. 162 p. Available from: <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files/media/document/estimativa-2023.pdf>

4. Fujita TC, Sousa-Pereira N, Amarante MK, Watanabe MAE. Acute lymphoid leukemia etiopathogenesis. *Mol Biol Rep*. 2021 Jan 13;48(1):817–22. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11033-020-06073-3>
5. Boutelle AM, Attardi LD. p53 and Tumor Suppression: It Takes a Network. *Trends Cell Biol*. 2021;31(4):298–310. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2020.12.011>
6. Donehower LA, Soussi T, Korkut A, Liu Y, Schultz A, Cardenas M, et al. Integrated Analysis of TP53 Gene and Pathway Alterations in The Cancer Genome Atlas. *Cell Rep*. 2019 Jul 30;28(5):1370-1384.e5. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S221112471930885X>
7. Hamadou WS, Besbes S, Bourdon V, Youssef Y Ben, Laatiri MA, Noguchi T, et al. Mutational analysis of TP53 gene in Tunisian familial hematological malignancies and sporadic acute leukemia cases. *Fam Cancer*. 2017;16(1):153–7.
8. Alves FS, Xabregas LA, Kerr MWA, Souza GL, Pereira DS, Magalhães-Gama F, et al. Genetic polymorphisms of inflammasome genes associated with pediatric acute lymphoblastic leukemia and clinical prognosis in the Brazilian Amazon. *Sci Reports* 2021 111. 2021 May 10;11(1):1–9. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41598-021-89310-4>
9. Silva-Junior AL, Alves FS, Kerr MWA, Xabregas LA, Gama FM, Rodrigues MGA, et al. Acute lymphoid and myeloid leukemia in a Brazilian Amazon population: Epidemiology and predictors of comorbidity and deaths. Jabbour E, editor. *PLoS One*. 2019 Aug 22;14(8):e0221518. Available from: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0221518>
10. Floris M, Pira G, Castiglia P, Idda ML, Steri M, de Miglio MR, et al. Impact on breast cancer susceptibility and clinicopathological traits of common genetic polymorphisms in TP53, MDM2 and ATM genes in Sardinian women. *Oncol Lett*. 2022 Oct 1;24(4):331. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9404703/>
11. Iacobucci I, Ferrari A, Kohlmann A, Papayannidis C, Venturi C, Perricone M, et al. Loss of Heterozygosity At the C Wild-Type Allele of rs1042522 in the TP53 Gene Frequently Occurs During Progression of Adult BCR-ABL1 Positive Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL). *Blood*. 2012 Nov 16;120(21):2497–2497. Available from: <https://dx.doi.org/10.1182/blood.V120.21.2497.2497>
12. Perriaud L, Marcel V, Sagne C, Favaudon V, Guedin A, De Rache A, et al. Impact of G-quadruplex structures and intronic polymorphisms rs17878362 and rs1642785 on basal and ionizing radiation-induced expression of alternative p53 transcripts. *Carcinogenesis*. 2014 Dec 1;35(12):2706–15. Available from: <https://academic.oup.com/carcin/article-lookup/doi/10.1093/carcin/bgu206>
13. Hernández Borrero LJ, El-Deiry WS. Tumor suppressor p53: Biology, signaling pathways, and therapeutic targeting. *Biochim Biophys Acta - Rev Cancer*. 2021 Aug 1;1876(1):188556.