

CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO
Curso de Biomedicina

Giselle Ellen Lee
Jully Wachtler de Lima

TA-33

**MEDICINA PERSONALIZADA E GENÔMICA: PERSPECTIVAS EM NEOPLASIAS
MIELOPROLIFERATIVAS BCR-ABL NEGATIVAS**

São Paulo
2024

**Giselle Ellen Lee
Jully Wachtler de Lima**

**MEDICINA PERSONALIZADA E GENÔMICA: PERSPECTIVAS EM NEOPLASIAS
MIELOPROLIFERATIVAS BCR-ABL NEGATIVAS**

**Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao curso de Biomedicina do
Centro Universitário São Camilo, orientado
pela Profa. Msc Patrícia Aparecida Ferreira de
Oliveira, como requisito parcial para
obtenção do título de Biomédico.**

**São Paulo
2024**

“MEDICINA PERSONALIZADA E GENÔMICA: PERSPECTIVAS EM NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVAS BCR-ABL NEGATIVAS”

“PERSONALIZED MEDICINE AND GENOMICS: PERSPECTIVES IN BCR-ABL NEGATIVE MYELOPROLIFERATIVE NEOPLASMS”

Giselle Ellen Lee¹

Jully Wachtler de Lima²

Patrícia Aparecida Ferreira de Oliveira³

¹ Graduanda de Biomedicina, Centro Universitário São Camilo – Campus Ipiranga. São Paulo, SP, Brasil

² Graduanda de Biomedicina, Centro Universitário São Camilo – Campus Ipiranga. São Paulo, SP, Brasil

³ Mestre em Ciências da Saúde, Professora de Hematologia, Centro Universitário São Camilo – Campus Ipiranga. São Paulo, SP, Brasil

TA-33

RESUMO

A incorporação da genômica na medicina personalizada, no contexto oncológico, representou uma revolução na compreensão das neoplasias. A introdução do sequenciamento de nova geração (NGS) promoveu uma transformação significativa no cenário diagnóstico, possibilitando a análise de variantes em múltiplos genes simultaneamente por meio de painéis genéticos, ampliando a capacidade de avaliar os potenciais riscos associados ao desenvolvimento de neoplasias hematológicas mieloproliferativas (NMP). Ao compreender os impactos clínicos dessas variantes, torna-se viável investigar as vias envolvidas na regulação e nas alterações epigenéticas e carcinogênicas. Além da integração da genômica na área diagnóstica, que abrange os testes de citogenética convencional, observa-se uma crescente adoção em terapias inovadoras para tratamento. Diante dessa perspectiva, torna-se relevante realizar uma análise abrangente dos avanços recentes da genômica na medicina personalizada, e seu impacto no diagnóstico, prognóstico e manejo de pacientes, focando-se nas NMP crônicas BCR-ABL negativas. Assim, o objetivo deste artigo foi proporcionar uma análise crítica dos avanços atuais da genômica na medicina personalizada para neoplasias hematológicas, buscando fornecer perspectivas que orientem futuras aplicações. Para alcançar esse propósito, foi conduzida uma revisão não sistemática da literatura recente por meio de bancos de dados, visando compreender de maneira crítica os avanços e perspectivas da genômica nesse contexto. Conclui-se, ao analisar os ensaios clínicos e as terapias de precisão em desenvolvimento, a importância de ponderar sobre os desafios éticos e socioeconômicos envolvidos na implementação da medicina personalizada, para assegurar que seus benefícios sejam acessíveis para todos.

Palavras-chave: Neoplasias Mieloproliferativas, Medicina Personalizada, Genômica.

ABSTRACT

The incorporation of genomics into personalized medicine, particularly in oncology, has revolutionized our understanding of neoplasms. The introduction of next-generation sequencing (NGS) has significantly transformed the diagnostic landscape, allowing for the simultaneous analysis of variants in multiple genes through genetic panels, enhancing the ability to assess the potential risks associated with the development of myeloproliferative hematologic neoplasms (MPN). By understanding the clinical impacts of these variants, it becomes feasible to investigate the pathways involved in regulation as well as epigenetic and carcinogenic alterations. In addition to integrating genomics into diagnostics, which includes conventional cytogenetic testing, there is a growing adoption of innovative therapies for treatment based on genomic knowledge. Given this perspective, it is pertinent to conduct a comprehensive analysis of recent advances in genomics in personalized medicine and its impact on the diagnosis, prognosis, and management of patients, with a focus on chronic BCR-ABL-negative MPNs. Thus, the objective was to provide a critical analysis of current advances in genomics in personalized medicine for hematologic neoplasms, aiming to offer perspectives that guide future applications. To achieve this aim, a non-systematic review of recent literature through databases was conducted, aiming to critically understand the advances and perspectives of genomics in this context. It is concluded that, when analyzing clinical trials and precision therapies in development, it is crucial to consider the ethical and socioeconomic challenges involved in the implementation of personalized medicine to ensure its benefits are accessible to all.

Keywords: Myeloproliferative Neoplasms, Personalized Medicine, Genomics.

INTRODUÇÃO

As neoplasias mieloproliferativas (NMP) constituem um conjunto de distúrbios caracterizados pela proliferação descontrolada de células-tronco hematopoiéticas clonais, afetando a linhagem mieloide. Incluídas nesses distúrbios, estão a Policitemia Vera (PV), Trombocitemia Essencial (TE) e Mielofibrose Primária (MP) entre outros (1). Uma característica proeminente observada em 90% dos casos de NMP é a presença de mutações nos genes Janus Quinase 2 (JAK2), Calreticulina (CALR) e Receptor de Trombopoietina (MPL), que acarretam a ativação anormal da via de sinalização JAK/STAT, resultando em hiperproliferação celular e resistência à apoptose (2).

Conforme delineado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) em 2016, a análise morfológica permanece como o método fundamental para classificar tumores do tecido hematopoiético. Contudo, a abordagem de rastreamento de mutações está emergindo como um complemento essencial, visando confirmar o diagnóstico morfológico (3,4).

Nesse contexto, a citogenética convencional, um método abrangente e imparcial de avaliação das anomalias cromossômicas, tem sido o pilar dos testes genômicos nas últimas décadas. Com a implementação de exames de sequenciamento genético, o uso de painéis genéticos possibilitou uma melhor detecção de mutações e o risco associado ao desenvolvimento de neoplasias, se tornando um exame complementar às abordagens convencionais (3).

Diante de tal cenário, considerando a crescente integração das análises genéticas no diagnóstico das NMP, é fundamental explorar estudos que se concentrem no desenvolvimento de terapias combinadas capazes de otimizar os tratamentos existentes. As atuais técnicas genômicas têm permitido uma compreensão mais detalhada das bases moleculares dessas neoplasias (5). No entanto, é de importância reconhecer os desafios existentes, como a interpretação de dados complexos e a implementação de terapias individualizadas (6).

Assim, a finalidade do presente artigo é proporcionar uma análise crítica dos avanços mais recentes da genômica na medicina personalizada para neoplasias hematológicas com ênfase nas NMP BCR-ABL negativas, buscando fornecer perspectivas que orientem futuras aplicações. Para alcançar esse propósito, foi realizada uma revisão não sistemática da literatura recente por meio de bancos de dados, visando compreender de maneira crítica os avanços e perspectivas da genômica nesse contexto. O presente estudo sintetizou os principais ensaios e terapias inovadoras em desenvolvimento voltados para a pesquisa do câncer, visando ressaltar o potencial genômico no diagnóstico, prognóstico e tratamento neoplásico. Desta forma, por meio de uma visão crítica e

abrangente, os desafios atuais, perspectivas futuras e resultados preliminares dessas terapias foram discutidos, com o objetivo final de aprimorar o manejo dos pacientes oncológicos.

REVISÃO DE LITERATURA

GENÔMICA NA MEDICINA PERSONALIZADA E CORRELAÇÃO COM A ONCOLOGIA

De acordo com a *Global Cancer Observatory (GCO)*, é previsto um aumento no número global de novos casos de câncer entre 2022 e 2050, abrangendo ambos os sexos e todas as faixas etárias, representando um aumento de 77% de novos casos (7).

Dessa forma, nos últimos anos, tem sido relevante o desenvolvimento da medicina personalizada no contexto oncológico, tendo em vista o prognóstico frequentemente infavorável desses casos e potenciais efeitos colaterais severos dos tratamentos vigentes (8). Nesse contexto, o estudo das chamadas “ômnicas”, como a genômica, transcriptômica e proteômica têm se tornado fundamentais. Essas abordagens, baseadas em tecnologias de alto rendimento, permitem a análise de grandes conjuntos de dados em diferentes níveis provenientes de um único paciente, visando elucidar suas características moleculares e clínicas (8,9,10). Desta maneira, o conhecimento obtido através das abordagens ômnicas tem impulsionado o desenvolvimento da medicina de precisão (9,10). Esta abordagem, em conjunto com a medicina personalizada, visa considerar o indivíduo de maneira integral, incorporando não apenas a variabilidade genética e o histórico familiar do paciente, mas também suas condições sociais e estilo de vida (10).

Nesse sentido, a genômica permitiu o estudo de polimorfismos de nucleotídeo único, variantes e deleções/inserções no genoma e suas associações com a carcinogênese (10). Assim, juntamente com avanços nas áreas de biologia molecular e bioinformática, a genômica ampliou o entendimento sobre diversas doenças, abrindo caminhos para o desenvolvimento de novas terapias e tratamentos personalizados.

NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVAS

De acordo com o sistema de classificação revisado da OMS em 2008, o termo adotado em 2001 como doenças mieloproliferativas crônicas (DMPC) passou a ser substituído por NMP, englobando as seguintes neoplasias: Leucemia Mieloide Crônica BCR-ABL1 positiva (LMC), PV, TE,

MP, Leucemia Neutrofílica Crônica (LNC), Leucemia Eosinofílica Crônica não Especificada (LEC), Mastocitose e Neoplasia Mieloproliferativa Inclassificável (NMI) (11).

As NMP BCR-ABL negativas, que englobam a PV, TE e MP, são um grupo de distúrbios hematológicos clonais resultantes de mutações genéticas de células-tronco hematopoiéticas mieloides. Essas mutações levam à proliferação descontrolada das células sanguíneas e seus progenitores, sem a presença da anomalia genética associada ao cromossomo Philadelphia, que é característica da Leucemia Mieloide Crônica. As mutações mais comuns associadas a esse grupo de neoplasias acometem os genes que codificam as proteínas JAK2, CALR e o MPL, que resultam na ativação constitutiva da via de sinalização JAK-STAT independente de citocinas, ocasionando na hiperproliferação celular de linhagem mieloide (1).

A via de sinalização JAK-STAT compõe um mecanismo vital de transdução de sinais transmembrana que é ativada por meio de citocinas, como interferons e interleucinas, e permite a transmissão de estímulos extracelulares da membrana celular para o núcleo, ocasionando em alterações transcricionais do DNA cruciais para a regulação de processos biológicos e patológicos. Essa via de sinalização está envolvida em múltiplos processos fisiológicos, como hematopoiese, apoptose, modulação imunológica, proliferação e diferenciação celular (12).

A via JAK-STAT é composta por tirosina quinases citosólicas associadas a receptores (JAKs) e transdutores de sinal e ativadores da transcrição (STATs). As JAKs atuam como proteínas intermediadoras intracelulares para estímulos de citocinas e as STATs atuam como fatores de transcrição. Uma vez estabelecida a interação receptor-ligante extracelular, a JAK associada ao receptor fosforila uma tirosina do receptor e os STATs do citoplasma são recrutados para o receptor ativado. Após o recrutamento, uma tirosina STAT é fosforilada formando um dímero STAT, que se transloca ao núcleo celular para atuar no complexo de fatores de transcrição, transcrevendo genes específicos (1).

POLICITEMIA VERA (PV)

É um distúrbio neoplásico clonal crônico caracterizado pela hiperproliferação de células tronco hematopoiéticas multipotentes da linhagem eritroide, resultando em um aumento do volume total da massa de glóbulos vermelhos, independente da ação dos mecanismos regulatórios habituais da eritropoese (3,4,5,6).

Laboratorialmente, a PV se manifesta por valores no hemograma que ultrapassam o limiar superior do intervalo de referência, apresentando eritrocitose, aumento adquirido na concentração de hemoglobina e hematócrito, assim como uma produção secundária de leucócitos e plaquetas, resultando em panmielose (2,13,14). Essas alterações refletem a hiperatividade da medula óssea e contribuem para outros distúrbios hematológicos, inflamatórios e microvasculares observados na prática clínica da PV (2,15).

TROMBOCITEMIA ESSENCIAL (TE)

É um distúrbio neoplásico clonal crônico que afeta a produção da linhagem megacariocítica (3). Caracteriza-se pela hiperproliferação anormal de plaquetas e hiperplasia medular e está associada a complicações hemorrágicas e trombóticas (2,3,13,15). Esse processo independe do mecanismo de regulação desempenhado pelo hormônio trombopoetina (TPO), no processo de trombopoese (1,13).

Laboratorialmente, no hemograma a TE caracteriza-se pela trombocitose, contagem elevada de plaquetas, glóbulos brancos ligeiramente aumentados e concentração de hemoglobina normal ou reduzida (13). Essas alterações hematológicas contribuem para o desenvolvimento de eventos trombóticos, hemorrágicos e complicações vasculares, observados na prática clínica da TE (3,13). São necessários exames complementares para excluir as possíveis causas de trombocitose reativa, que são processos transitórios e podem estar relacionados com condições infecciosas, inflamatórias, síndromes hereditárias, hemorragia aguda e reações a medicamentos (2,3,13).

MIELOFIBROSE PRIMÁRIA (MP)

É um distúrbio neoplásico clonal crônico caracterizado pela hiperplasia megacariocítica, granulocítica e à fibrose medular progressiva (13,16). Esse processo resulta em uma produção anômala de células sanguíneas e na substituição do tecido hematopoético normal por tecido fibroso, comprometendo a hematopoiese (2,3).

Laboratorialmente, a MP é marcada por anemia, leucocitose ou leucopenia, e trombocitose ou trombocitopenia (2,13). A presença de dacriócitos no esfregaço sanguíneo periférico, associada a leucoeritroblastose, é um achado característico da doença (2,3). A biópsia de medula óssea, revela hiper celularidade no início da doença, seguida de fibrose medular (2,3,13). Com o tempo, a fibrose medular severa leva à hematopoiese extramedular, manifestada por esplenomegalia maciça e hepatomegalia (2)

EPIDEMIOLOGIA

As NMP BCR-ABL negativas são um grupo de distúrbios hematológicos que dividem características biológicas, mas se diferem quanto as taxas de incidência na população (13,17). A PV acomete frequentemente adultos entre 50 e 60 anos, possuindo uma taxa de incidência anual de 0,84 casos por 100.000 habitantes e uma taxa de sobrevida estimada entre 10-15 anos (2,3,13,17,18). Na PV não é evidenciado predomínio de gênero, mas sabe-se que existe uma incidência familiar da doença (13).

A incidência anual de TE é de aproximadamente 1 a 2,5 casos por 100.000 habitantes, com uma ligeira prevalência em mulheres, acometendo principalmente adultos entre os 50-70 anos de idade e tendo uma expectativa de sobrevida de 15-20 anos (2,3,13,18). A MF ocorre tipicamente após a quinta década de vida, mas a doença também pode ocorrer em neonatos e crianças (13). A incidência anual de MF é de aproximadamente 0,5 a 2,5 casos por 100.000 habitantes, com uma expectativa de sobrevida de 2-5 anos (2,3,17). A MF infantil ocorre geralmente nos primeiros 3 anos de vida, sendo o sexo feminino mais afetado (13). Nos adultos, a doença ocorre com igual frequência em homens e mulheres (13).

Importante evidenciar que existe uma variação nas estimativas de incidência das NMP, posto que são subnotificadas ou classificadas de maneira incorreta (2,17). Essa variação se deve ao fato de que a classificação dessas doenças depende de critérios clínicos e laboratoriais que têm sido revisados conforme novas descobertas sobre elas (2,17). Até o momento, não existem dados disponíveis na literatura referentes a América do Sul (2).

FISIOPATOLOGIA DAS NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVAS CRÔNICAS BCR-ABL NEGATIVAS

A fisiopatologia das NMP é caracterizada pela hiperproliferação de células progenitoras da linhagem mieloide, ocasionada por diferentes mutações somáticas adquiridas (3). Esse processo patológico se manifesta com a proliferação excessiva de eritrócitos na PV, sinalização hiperativa de citocinas na TE e proliferação anormal de megacariócitos com consequente fibrose medular na MF (2,13).

Conhecidas como *driver mutations* as mutações nos genes JAK2, MPL e CALR são alterações genéticas responsáveis pelo fenótipo das NMP (3). A presença de apenas uma delas é o suficiente para o desenvolvimento desses distúrbios, posto que todas ativam constitutivamente as mesmas

vias de sinalização intracelular (a jusante, a via JAK/STAT, a via PI3K/AKT/mTOR, RAS e a via MAPK/ERK), culminando em um fenótipo hiperproliferativo com resistência à apoptose e risco aumentado de complicações trombóticas, hemorrágicas, além de transformação fibrótica ou leucêmica (3). A Figura 1 apresenta de forma esquemática a via de sinalização JAK-STAT, comparando sua fisiologia normal com as situações em que ocorrem mutações específicas, como JAKV617F, MPLW515L e CALR^{ex9}.

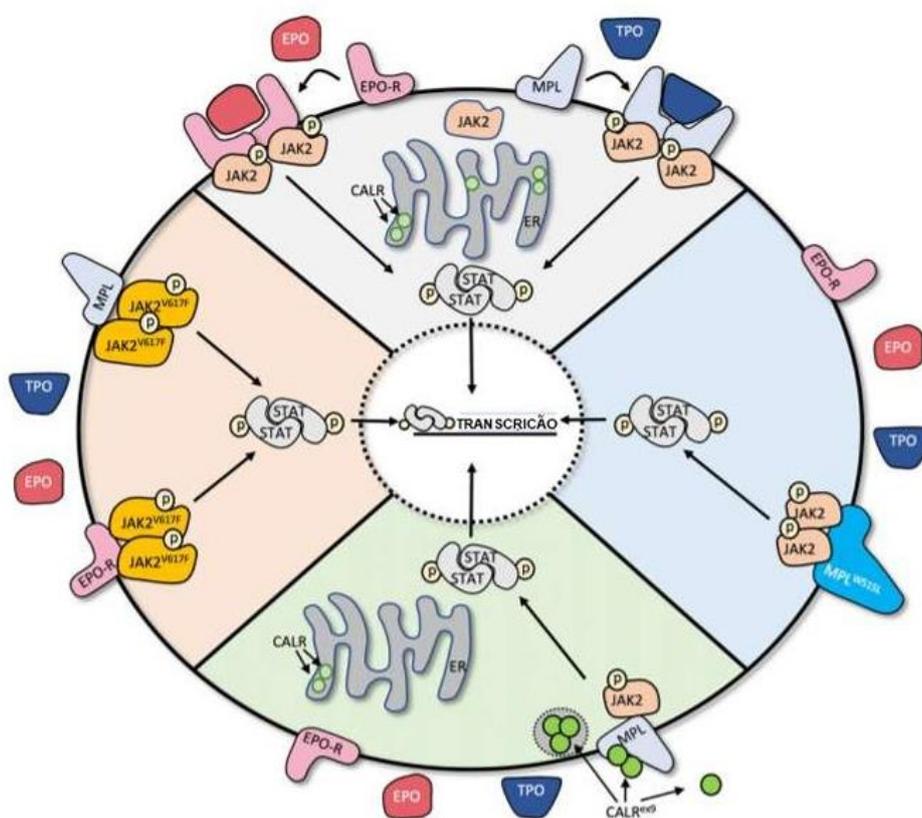


Figura 1. Via JAK-STAT. Na fisiologia normal (parte superior), a ligação da eritropoietina (EPO) ou da trombopoietina (TPO) a seus respectivos receptores (EPO-R, MPL) leva à fosforilação e à ativação de JAK2, resultando na transcrição dependente de STAT dos genes-alvo. As mutações JAKV617F (esquerda), MPLW515L (direita) e CALR éxon 9 (CALR^{ex9}, parte inferior) resultam em ativação constitutiva de JAK-STAT.

Fonte: Schieber et al. Blood Cancer Journal 2019 (19).

A principal mutação encontrada nas NMP é a JAK2 V617F, localizada no éxon 14 do cromossomo 9, e que resulta a substituição da valina pela fenilalanina, no códon 617 do gene JAK2 (3,16). Essa mutação é observada em cerca de 90% dos pacientes com PV, com um subgrupo raro que apresenta uma mutação no éxon 12 da JAK2 (3,13,15). Já na TE e na MF está presente em

aproximadamente 50% e 60% dos pacientes, respectivamente (3,13,16). Esta mutação, impede a função auto-inibitória normal de proliferação celular e leva à ativação constitutiva dos receptores de citocinas presentes na via de sinalização intracelular JAK-STAT pela tirosinaquinase, promovendo a hiperproliferação da linhagem celular mielóide (16). Nos pacientes com MF, essa mutação também promove a liberação excessiva de citocinas pró-fibróticas, como o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e o fator de transformação do crescimento beta (TGF- β) (15). Essas citocinas estimulam os fibroblastos na medula óssea, resultando na deposição de colágeno e na subsequente fibrose medular (20).

Já as mutações no gene MPL, encontradas em cerca de 4% dos casos, afetam o receptor de trombopoetina (TPO), crucial para a regulação da megacariocitopoiese e formação de plaquetas (2,13). As principais alterações genéticas no gene MPL foram identificadas no éxon 10 do cromossomo 1, e que resulta na troca do aminoácido triptofano por leucina (W515L) ou lisina (W515K), acarretando a ativação constitutiva do complexo receptor de TPO e fosforilação das vias de sinalização (3,16). Assim, promovendo à hiperproliferação de megacariócitos na medula óssea com consequente trombocitose periférica (14). Além disso, a mutação no gene MPL (W515L) também pode ser encontrada nos casos de MF, em aproximadamente 5% a 10% dos pacientes, e contribui para a ativação anormal da via JAK-STAT, exacerbando a fibrose (3,16).

As mutações no gene CALR, presentes em 15% a 35% dos casos de TE e em uma proporção semelhante em MF, são do tipo *indel* e ocorrem no éxon 9 do cromossomo 19, resultando em uma proteína anormal que também ativa as vias de sinalização intracelular (2,13,16). A CALR codifica a proteína calreticulina, responsável pela regulação do cálcio intracelular (2,13), sugerindo um papel significativo da CALR na proliferação, regulação de citocinas e apoptose celular através da regulação do cálcio (2). Portanto, pode-se inferir que essa alteração molecular desempenha um papel no fenótipo hiperproliferativo na TE e a progressiva insuficiência medular e ao desenvolvimento de hematopoiese extramedular na MF, ainda que os mecanismos precisos não estejam completamente elucidados (2).

O desenvolvimento de tecnologias avançadas de sequenciamento em larga escala permitiu a identificação de novas mutações adquiridas em neoplasias mielóides, chamadas mutações cooperantes, que podem coexistir com as mutações na JAK2, MPL ou CALR (2,13,21). Essas mutações são comuns a diferentes tipos de neoplasias e podem influenciar tanto a apresentação clínica no prognóstico quanto a progressão leucêmica (2,16). Foram identificadas mutações somáticas em

vários genes, envolvidos na regulação epigenética (ASXL1, EZH2, IDH1/2, TET2), processamento de mRNA (SF3B1, U2AF1), controle da transcrição, vias de sinalização celular (CBL) e no ciclo celular (TP53) (1,13,15,16).

APLICAÇÕES DA GENÔMICA NA MEDICINA PERSONALIZADA EM NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS

A incorporação progressiva de técnicas moleculares, como a reação em cadeia da polimerase (PCR) e o NGS, tem possibilitado a detecção de padrões mutacionais recorrentes em NMP, como as mutações nos genes JAK2, MPL e CALR (5). Essas tecnologias têm impactado não apenas a pesquisa oncológica, mas também a prática clínica (2). Desde 2001, a OMS adotou critérios genéticos como componentes obrigatórios para o diagnóstico das NMP, consolidando a genômica como uma ferramenta essencial na prática clínica (22). As alterações genéticas em conjunto com as anormalidades hematológicas e as alterações morfológicas da medula óssea formam a base dos critérios diagnósticos das NMP clássicas (Tabela 1)(23).

Neoplasia Mieloide	Crítérios Maiores	Crítérios Menores	Condições para diagnóstico
Policitemia Vera	<ul style="list-style-type: none"> - Mutação JAK2 V617F ou outras mutações no gene JAK2 - Aumento hemácias - Concentração elevada de hemoglobina e/ou hematócrito -Panmielose 	<ul style="list-style-type: none"> - Níveis de eritropoietina subnormais - Esplenomegalia 	Necessidade da presença de três critérios maiores ou dois critérios maiores e um menor.
Trombocitemia Essencial	<ul style="list-style-type: none"> - Mutação JAK2 V617F, MPL ou CALR - Contagem de plaquetas superior ao referencial - Hiper celularidade medular da linhagem de megacariócitos - Megacariócitos maduros com 	<ul style="list-style-type: none"> - Ausência de trombocitose reativa - Presença de um marcador clonal 	Necessidade da presença de todos os quatro critérios maiores ou três critérios maiores e um menor.

	núcleos hiperlobulados		
Mielofibrose Primária	- Mutação JAK2 V617F, MPL ou CALR - Hiperplasia megacariocítica - Hiperplasia medular granulocítica.	- Leucocitose - Anemia - Esplenomegalia significativa - LDH elevado	Necessidade da presença de todos os três critérios maiores e um menor.

Tabela 1. Critérios Diagnósticos da OMS para NMP BCR-ABL negativas.

Fonte: The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms (23).

O NGS tem se mostrado uma técnica revolucionária, permitindo a análise e sequenciamento simultâneo e abrangente de múltiplos genes associados às NMPs (24). Além de identificar mutações conhecidas, o NGS também revela variantes adicionais que podem influenciar a resposta ao tratamento (2,5,24). Com o avanço do sequenciamento genômico houve uma redução nos custos e um aumento na velocidade, sensibilidade e eficiência dos processos, tornando essa tecnologia mais acessível à prática clínica (2,5,24). Associado ao desenvolvimento de novas áreas, como a proteômica e a metabolômica, o sequenciamento genético contribui para a identificação de novos biomarcadores e para o desenvolvimento de terapias direcionadas (24).

A PCR, por sua vez, com sua alta sensibilidade, continua sendo amplamente utilizada para identificar mutações específicas, como a JAK2 V617F (24). É uma técnica baseada na replicação enzimática do DNA, sendo os métodos de qPCR (PCR em tempo real) e dPCR (pCR digital) os mais utilizados para diagnóstico e monitoramento de doenças (24). Outra técnica que vem ganhando destaque é a biópsia líquida, uma abordagem inovadora que tem demonstrado grande valor na prática clínica (6,25,26). Esse método utiliza técnicas de amplificação ou sequenciamento de genes para analisar o DNA tumoral circulante (ctDNA) de forma não invasiva (6,24,25,26). Essa abordagem permite o monitoramento dinâmico do DNA tumoral e permite a detecção de mutações associadas à resistência ao tratamento (6,25,26).

Essas ferramentas moleculares não só aumentam a precisão diagnóstica na prática clínica, como também avançam a pesquisa, oferecendo perspectivas valiosas sobre os mecanismos biológicos e patológicos subjacentes às NMPs. Com isso, promovem o avanço do conhecimento científico na medicina personalizada, possibilitando melhoria nos desfechos clínicos dos pacientes.

TERAPIAS ALVO ESPECÍFICAS PARA NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS

Nos últimos anos, o desenvolvimento de ensaios clínicos baseados na medicina de precisão, impulsionados pela genômica, tem levado ao aprimoramento de terapias direcionadas às alterações moleculares específicas. Nesse contexto, o papel da genômica e sua interação com o sistema imunológico no câncer está se tornando cada vez mais evidente, com o objetivo de desenvolver tratamentos personalizados que minimizem os efeitos colaterais associados às abordagens tradicionais (25).

Em muitos estudos clínicos oncológicos de fase II e III, a avaliação dos resultados farmacológicos é realizada histologicamente, o que não oferece uma visão completa, uma vez que não consegue capturar os efeitos das terapias direcionadas a genes ou da imunoterapia. Por esse motivo, a importância da imunoterapia e sua interação com a genômica estão ganhando destaque como estratégias terapêuticas alvo. A combinação dessas abordagens tem mostrado resultados superiores em comparação com a monoterapia, tanto em diversos tipos de tumores quanto em cânceres específicos (25).

A associação de terapias direcionadas a genes, terapias hormonais e quimioterapia com estratégias focadas no sistema imunológico — como terapia com células CAR-T, vacinas e anticorpos monoclonais — tem potencializado a resposta do paciente ao tratamento. Essa integração não apenas maximiza a eficácia, mas também contribui para uma abordagem mais holística e personalizada no tratamento do câncer, destacando a necessidade de um entendimento profundo das interações genômicas e imunológicas na prática clínica (25).

CAR-T CELL

A imunoterapia com células T do receptor de antígeno quimérico (CAR-T) tem proporcionado respostas clínicas notáveis em determinados subgrupos de leucemia e linfoma de células B. Essa terapia inovadora recebeu a primeira aprovação do *Food and Drug Administration* (FDA) para tratar pacientes com leucemia linfoblástica aguda (Kymriah™) e pacientes com linfoma difuso de grandes células B (Yescarta™) (27).

A terapia CAR-T representa um avanço promissor no tratamento de neoplasias hematológicas, consistindo na modificação genética de células T autólogas para que reconheçam antígenos específicos expressos nas células cancerosas. Nesse processo, os linfócitos T do próprio

paciente são reprogramados com a construção de um receptor de antígeno quimérico (CAR) e, em seguida, reinfundidos no sangue do paciente, permitindo que eles ataquem e eliminem as células tumorais (27).

Atualmente, existem cinco gerações de receptores de antígeno quimérico (CARs), que são proteínas híbridas projetadas para substituir o receptor de células T (TCR). Cada CAR é constituído por quatro componentes principais: um domínio de ligação ao antígeno alvo, uma região de dobradiça, um domínio transmembrana e um ou mais domínios de sinalização intracelular. O domínio de ligação ao antígeno é crucial para a especificidade do CAR, sendo formado por cadeias pesadas variáveis (VH) e cadeias leves (VL) conectadas por um ligante, resultando em um fragmento variável de cadeia única (scFv). Esse scFv é responsável por reconhecer antígenos associados a tumores (TAAs). A região de dobradiça conecta a parte extracelular à parte transmembrana, conferindo a flexibilidade necessária para que o scFv se ligue eficazmente aos TAAs. O domínio transmembrana fixa o CAR na membrana plasmática do linfócito T, enquanto a região intracelular contém domínios coestimuladores, como CD28 e 4-1BB, que mimetizam o sinal do TCR quando ativados. Por fim, o domínio intracelular CD3 ζ é essencial para a ativação da resposta das células T, possuindo motivos de ativação de imunorreceptores baseados em tirosina (ITAMs). Quando fosforilados, esses ITAMs iniciam a transdução de sinal por meio da proteína tirosina quinase ζ de 70 kDa (ZAP70), permitindo a efetivação da resposta imunológica das células T contra as células tumorais (28).

Entretanto, é fundamental estar atento aos riscos de toxicidade associados a essa terapia, que podem, em casos extremos, ser fatais. Um dos principais riscos é a síndrome de liberação de citocinas (SLC), que ocorre devido à produção excessiva de citocinas resultante da ativação, expansão e morte maciça de células CAR-T *in vivo*. Essa condição pode desencadear uma resposta inflamatória sistêmica grave. Para o manejo da SLC, o Tocilizumabe, um anticorpo monoclonal que atua como imunossupressor, é frequentemente utilizado. Outra toxicidade relevante é a síndrome de lise tumoral (TLS), que se desenvolve a partir da destruição em massa de células cancerosas. Isso leva à liberação de seus componentes celulares, resultando em hepatotoxicidade e nefrotoxicidade. Além disso, a síndrome de neurotoxicidade associada a células efectoras imunes (ICANS) é uma preocupação importante, pois pode ocorrer quando as células CAR-T migram para o líquido cefalorraquidiano. Essa condição é frequentemente tratada com corticosteroides, que possuem a

capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica. Essas complicações exigem monitoramento rigoroso e manejo cuidadoso para garantir a segurança dos pacientes durante o tratamento (27).

CRISPR

CRISPR (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*)-Cas 9 revolucionou a engenharia genômica, uma vez que permitiu editar diversos tipos de genoma, com o objetivo de gerar mutações pontuais (inserções e deleções) até mesmo mutações de perda de função. Neste contexto, esse editor de genoma forneceu uma ampla variedade de aplicações na medicina de precisão, visando estudar por exemplo, como os genes impactam no desenvolvimento de resistência aos medicamentos (29).

Biologicamente, o sistema CRISPR é proveniente de procariontes e atua como uma imunidade adaptativa, combatendo infecções virais e introdução de ácidos nucleicos exógenos. Este sistema é formado por dois componentes: RNA guia (sgRNA), responsável por reconhecer a sequência alvo do DNA e uma nuclease associada a CRISPR (Cas), que é direcionada ao alvo para edição genômica, sendo a nuclease Cas9 a mais comumente utilizada (29).

Na medicina personalizada oncológica, esse sistema busca principalmente estudar o genótipo do paciente para pesquisar novos alvos farmacológicos, assim como os seus genes podem atuar sinergicamente ou de forma resistente a tratamentos medicamentosos, evitando recaídas (29).

iPSCs

A geração de células-tronco pluripotentes induzidas humanas (iPSCs) emergiu como uma ferramenta revolucionária na pesquisa hematológica, destacando-se na pesquisa básica e translacional para a compreensão dos mecanismos subjacentes às doenças. Esse avanço possibilita não apenas a exploração de novos alvos terapêuticos, mas também a realização de ensaios de toxicidade e o cultivo de células para transplantes (30).

No contexto hematológico, as doenças sanguíneas hereditárias monogênicas foram as pioneiras na modelagem com iPSCs. Por outro lado, a modelagem de distúrbios hematológicos malignos enfrentou desafios consideráveis, especialmente na derivação de iPSCs a partir de células cancerosas. Essa dificuldade é atribuída à ausência de protocolos de diferenciação robustos e padronizados, na dificuldade de estabelecer linhagens celulares de iPSCs além da heterogeneidade clonal observada nas iPSCs geradas a partir de amostras de pacientes com neoplasias mieloides. Essa

variabilidade dificulta a criação de controles normais geneticamente correspondentes, limitando a eficácia dos modelos experimentais (30).

A criação de modelos de células-tronco pluripotentes induzidas (iPSCs) na onco-hematologia é viável em grande parte devido à relativa facilidade de isolar células hematopoiéticas, que podem ser cultivadas por períodos curtos *in vitro*. A geração de modelos de iPSCs se concentra principalmente nas NMP com a mutação JAK2-V617F, que demonstram uma reprogramação mais eficiente em comparação com células saudáveis (30).

A maioria das pesquisas sobre modelagem em NMP foca no estudo das respostas e resistências a fármacos, particularmente inibidores de quinases e do JAK2, amplamente utilizados na prática clínica, incluindo o imatinibe. Esses estudos são fundamentais para compreender as dinâmicas de resistência aos tratamentos e para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas que visem melhorar a eficácia do tratamento dessas condições. Isso abre novas perspectivas para o estudo e o tratamento de doenças hematológicas, proporcionando um ambiente experimental que facilita a pesquisa translacional e o desenvolvimento de terapias inovadoras (30).

IMPACTO DA GENÔMICA NA MEDICINA PERSONALIZADA E OS DESAFIOS EM SUA IMPLEMENTAÇÃO NA PRÁTICA CLÍNICA

A crescente integração da genômica na oncologia, especialmente em sua relação com o sistema imunológico, tem possibilitado o desenvolvimento de terapias direcionadas que consideram alterações moleculares, bem como biomarcadores genômicos e transcriptômicos exclusivos de cada paciente. Contudo, ao explorar a genômica no contexto das neoplasias malignas, surgem desafios nas terapias, como a necessidade de direcionar o tratamento a genes específicos além do tumor primário. Essa abordagem individualizada é fundamental, pois leva em conta as características biomoleculares exclusivas de cada paciente. Portanto, é necessário adotar uma estratégia precisa para enfrentar as neoplasias malignas, visando a implementação de tratamentos personalizados (25).

Com a incorporação gradual de exames de rotina de NGS, tem-se observado um avanço na reprodutibilidade e padronização no rastreamento de variantes em genes associados à predisposição hereditária ao câncer. Essa ferramenta se torna um recurso valioso tanto para a prevenção quanto como complemento ao diagnóstico anatomopatológico e imuno-histoquímico. Nesse cenário, o sequenciamento padrão, que tradicionalmente se concentra na análise de biópsias

tumorais, também evoluiu para incluir a investigação do ctDNA. Essa técnica não invasiva permite um acompanhamento eficaz do paciente, possibilitando a avaliação da heterogeneidade tumoral e o controle de subclones, com o objetivo de monitorar a carga tumoral ao longo do tratamento (25).

Entretanto, o impacto da genômica na pesquisa e prática clínica trouxe à tona parâmetros e desafios significativos que precisam ser considerados. Um dos principais aspectos é como conduzir ensaios clínicos oncológicos em uma população altamente variável em termos de subgrupos genômicos. Como esses ensaios frequentemente se baseiam no uso de medicamentos inovadores patrocinados pela indústria farmacêutica, deve-se considerar características comuns entre os pacientes participantes, como o tipo de tumor e as alterações genéticas associadas. Diante disso, surgem questionamentos cruciais: como é possível oferecer um tratamento oncológico que beneficie a maioria, se os ensaios clínicos tendem a focar em subgrupos populacionais restritos, ignorando a ampla diversidade da população? Devido a isso, a medicina personalizada surgiu como uma alternativa, já que a peça central do ensaio clínico seria o paciente e não o medicamento (25).

Outras limitações para o acesso da medicina personalizada baseada na genômica no Brasil incluem a infraestrutura de laboratórios, que é frequentemente restrita a centros urbanos e centros acadêmicos selecionados, o que dificulta o acesso em regiões mais remotas. Há também questões logísticas, como transporte e tempo de processamento de amostras, cujas variáveis podem comprometer a viabilidade do material biológico essencial ao diagnóstico. Outro ponto relevante seriam as questões relacionadas ao reembolso por parte de planos de saúde e do sistema público de saúde, uma vez que muitos exames e terapias personalizadas não são amplamente cobertos e possuem custo elevado. Além disso, a carência de profissionais treinados para interpretar exames genômicos de alta complexidade representa um desafio adicional. Por fim, essa realidade evidencia a limitação do acesso às terapias personalizadas genômicas, o que agrava as desigualdades já existentes no sistema de saúde (6,31).

PERSPECTIVAS FUTURAS PARA NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS MIELOPROLIFERATIVAS CRÔNICAS BCR-ABL NEGATIVAS

Com o avanço dos estudos genômicos e a implementação gradual dessas tecnologias, espera-se que as terapias em desenvolvimento, como a aplicação do CRISPR para investigar a influência dos genes na resistência a medicamentos, a utilização das células CAR-T para reprogramar células autólogas no tratamento de neoplasias hematológicas, e a geração de iPSCs para estudar as

respostas a fármacos, tragam significativas inovações. Além disso, técnicas como o NGS e a biópsia líquida têm o potencial de revolucionar o diagnóstico e a prevenção de diversas neoplasias.

Espera-se, portanto, que essas aplicações emergentes possam consolidar a reprodutibilidade do NGS como uma ferramenta fundamental na pesquisa, no diagnóstico e na prevenção de várias condições, incluindo diferentes tipos de neoplasias, mesmo diante de desafios consideráveis que possam surgir (6).

CONCLUSÃO

A aplicação da genômica na medicina personalizada nas NMP gera um cenário de grandes expectativas, mas também levanta questões críticas que necessitam de uma análise cuidadosa. O aprimoramento da precisão da área diagnóstica através do NGS e a possibilidade de tratamentos direcionados, impulsionados por tecnologias avançadas como células CAR-T e CRISPR, evidenciam um avanço significativo na compreensão dos mecanismos moleculares dessas doenças.

Embora os resultados positivos na identificação de alterações genéticas, que permitem um entendimento mais detalhado dos mecanismos moleculares patológicos subjacentes a esses distúrbios e possibilitam a personalização das abordagens terapêuticas, não podemos assumir que esses sucessos se traduzirão em melhorias generalizadas para todas as condições complexas. O investimento em tecnologias sofisticadas frequentemente beneficia uma minoria, intensificando as desigualdades no acesso à saúde.

A incorporação de novas tecnologias à prática médica está inserida em um contexto histórico, político e sociocultural, influenciado por diversos fatores, como a indústria farmacêutica, pesquisadores e profissionais de saúde. Portanto, a transformação da medicina vai além de sua utilidade clínica, refletindo fatores socioeconômicos e políticos que moldam seu desenvolvimento.

Nesse sentido, a caracterização genética das NMP oferece oportunidades para monitorar com precisão a resposta a medicamentos e terapias direcionadas, aprimorando os resultados terapêuticos. Assim, a expectativa é que, à medida que essas terapias evoluam, seu acesso também se amplie na mesma proporção. É essencial realizar uma análise crítica dos desafios e das perspectivas futuras na aplicação da genômica às neoplasias hematológicas. Isso inclui estabelecer mais ensaios replicáveis, obter resultados robustos e aprimorar a metodologia da pesquisa básica, translacional e clínica, com o objetivo final de melhorar o manejo clínico e os desfechos dos pacientes oncológicos.

AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer à Professora Patrícia pela orientação, dedicação e por todo o conhecimento compartilhado durante cada fase de desenvolvimento deste trabalho, e ao Centro Universitário São Camilo pelo suporte e recursos oferecidos. Por fim, aos nossos familiares e amigos, por todo o apoio e incentivo ao longo dessa jornada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Baumeister J, Chatain N, Sofias AM, Lammers T, Koschmieder S. Progression of Myeloproliferative Neoplasms (MPN): Diagnostic and Therapeutic Perspectives. *Cells*. 2021 Dec 16;10(12):3551.
2. Valente ACMM, Ribeiro RT. Diagnóstico hematológico e molecular das neoplasias mieloproliferativas crônicas BCR-ABL negativas. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*. 2021;53(4).
3. Chauffaille M de LLF. Neoplasias mieloproliferativas: revisão dos critérios diagnósticos e dos aspectos clínicos. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2010;32(4):308–16.
4. Barbui T, Thiele J, Gisslinger H, Kvasnicka HM, Vannucchi AM, Guglielmelli P, et al. The 2016 WHO classification and diagnostic criteria for myeloproliferative neoplasms: document summary and in-depth discussion. *Blood Cancer J*. 2018 Feb 9;8(2):15.
5. Iriart JAB. Medicina de precisão/medicina personalizada: análise crítica dos movimentos de transformação da biomedicina no início do século XXI. *Cad Saude Publica*. 2019;35(3).
6. Berger MF, Mardis ER. The emerging clinical relevance of genomics in cancer medicine. *Nat Rev Clin Oncol*. 2018 Jun 29;15(6):353–65.
7. International Agency for Research on Cancer (IARC). Global cancer burden growing, amidst mounting need for services. World Health Organization.
8. Hayes DF, Schott AF. Personalized Medicine: Genomics Trials in Oncology. *Trans Am Clin Climatol Assoc*. 2015;126:133–43.
9. Heo YJ, Hwa C, Lee GH, Park JM, An JY. Integrative Multi-Omics Approaches in Cancer Research: From Biological Networks to Clinical Subtypes. *Mol Cells*. 2021 Jul 31;44(7):433–43.
10. Rajput DS, Gupta N, Singh S, Sharma B. A Comprehensive Review: Personalized Medicine for Rare Disease Cancer Treatment. *Chinese Journal of Applied Physiology*. 2023;39:e20230008.

11. Tefferi A, Thiele J, Vardiman JW. The 2008 World Health Organization classification system for myeloproliferative neoplasms. *Cancer*. 2009 Sep 26;115(17):3842–7.
12. Xue C, Yao Q, Gu X, Shi Q, Yuan X, Chu Q, et al. Evolving cognition of the JAK/STAT signaling pathway: autoimmune disorders and cancer. *Signal Transduct Target Ther*. 2023 May 19;8(1):204.
13. LINDA J. BURNS, MARCEL M. LEVI, MARSHALL A. LICHTMAN, DAVID C. LINCH, KENNETH KAUSHANSKY, KENNETH KAUSHANSKY, et al. WILLIAMS MANUAL OF HEMATOLOGY. 10th ed. 2022. 1275–1339 p.
14. Lu X, Chang R. Polycythemia Vera. 2024.
15. Gianelli U, Thiele J, Orazi A, Gangat N, Vannucchi AM, Tefferi A, et al. International Consensus Classification of myeloid and lymphoid neoplasms: myeloproliferative neoplasms. *Virchows Archiv*. 2023 Jan 29;482(1):53–68.
16. Grabek J, Straube J, Bywater M, Lane SW. MPN: The Molecular Drivers of Disease Initiation, Progression and Transformation and their Effect on Treatment. *Cells*. 2020 Aug 14;9(8):1901.
17. Titmarsh GJ, Duncombe AS, McMullin MF, O'Rourke M, Mesa R, De Vocht F, et al. How common are myeloproliferative neoplasms? A systematic review and meta-analysis. *Am J Hematol*. 2014 Jun 11;89(6):581–7.
18. Rumi E, Cazzola M. Diagnosis, risk stratification, and response evaluation in classical myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2017 Feb 9;129(6):680–92.
19. Schieber M, Crispino JD, Stein B. Myelofibrosis in 2019: moving beyond JAK2 inhibition. *Blood Cancer J*. 2019 Sep 11;9(9):74.
20. Liesveld J. Mielofibrose primária (MFP) [Internet]. Vol. 2023. Manual MSD; 2023. Available from: <https://www.msmanuals.com/pt/professional/hematologia-e-oncologia/distúrbios-mieloproliferativos/mielofibrose-primária-mfp>
21. Mroczkowska-Bękarciak A, Wróbel T. BCR::ABL1-negative myeloproliferative neoplasms in the era of next-generation sequencing. *Front Genet*. 2023 Sep 8;14.
22. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, Bloomfield CD, Cazzola M, Vardiman JW. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016 May 19;127(20):2391–405. doi: 10.1182/blood-2016-03-643544. Epub 2016 Apr 11. PMID: 27069254.
23. Khoury JD, Solary E, Abla O, Akkari Y, Alaggio R, Apperley JF, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms. *Leukemia*. 2022 Jul 22;36(7):1703–19.

24. Duncavage EJ, Bagg A, Hasserjian RP, DiNardo CD, Godley LA, Iacobucci I, Jaiswal S, Malcovati L, Vannucchi AM, Patel KP, Arber DA, Arcila ME, Bejar R, Berliner N, Borowitz MJ, Branford S, Brown AL, Cargo CA, Döhner H, Falini B, Garcia-Manero G, Haferlach T, Hellström-Lindberg E, Kim AS, Klco JM, Komrokji R, Lee-Cheun Loh M, Loghavi S, Mullighan CG, Ogawa S, Orazi A, Papaemmanuil E, Reiter A, Ross DM, Savona M, Shimamura A, Skoda RC, Solé F, Stone RM, Tefferi A, Walter MJ, Wu D, Ebert BL, Cazzola M. Genomic profiling for clinical decision making in myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2022 Nov 24;140(21):2228-2247. 10.1182/blood.2022015853. PMID: 36130297; PMCID: PMC10488320.
25. Tsimberidou AM, Fountzilas E, Nikanjam M, Kurzrock R. Review of precision cancer medicine: Evolution of the treatment paradigm. *Cancer Treat Rev*. 2020 Jun;86:102019.
26. Noor J, Chaudhry A, Noor R, Batool S. Advancements and Applications of Liquid Biopsies in Oncology: A Narrative Review. *Cureus*. 2023 Jul 31;15(7):e42731. doi: 10.7759/cureus.42731. PMID: 37654932; PMCID: PMC10466971.
27. Haslauer T, Greil R, Zaborsky N, Geisberger R. CAR T-Cell Therapy in Hematological Malignancies. *Int J Mol Sci*. 2021 Aug 20;22(16).
28. Sterner RC, Sterner RM. CAR-T cell therapy: current limitations and potential strategies. *Blood Cancer J*. 2021 Apr 6;11(4):69.
29. Ancos-Pintado R, Bragado-García I, Morales ML, García-Vicente R, ArroyoBarea A, Rodríguez-García A, et al. High-Throughput CRISPR Screening in Hematological Neoplasms. *Cancers (Basel)*. 2022 Jul 25;14(15).
30. Papapetrou EP. Modeling myeloid malignancies with patient-derived iPSCs. *Exp Hematol*. 2019 Mar;71:77–84.
31. Alvarez-Gomez RM, De la Fuente-Hernandez MA, Herrera-Montalvo L, Hidalgo-Miranda A. Challenges of diagnostic genomics in Latin America. *Curr Opin Genet Dev*. 2021 Feb;66:101–9.