

**ACADEMIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE SÃO JOSE DO RIO PRETO
POS-GRADUAÇÃO EM HEMATOLOGIA E BANCO DE SANGUE**

A BIOLOGIA MOLECULAR NO AUXÍLIO À HEMATOLOGIA

JULIANE CRISTINA LANTI RAGAZZO

DEZEMBRO 2018

LIMEIRA –SP

RESUMO

A aplicação cada vez mais abrangente de técnicas de biologia molecular em análises clínicas pode ser resumida por meio do uso de dois principais métodos cientificamente aprovados para esse fim: PCR e FISH.

A PCR possibilita a síntese de fragmentos de DNA, usando a enzima DNA-polimerase, a mesma que participa da replicação do material genético nas células.

Já a Hibridização fluorescente in situ (FISH) é um método usado para identificar partes específicas de um cromossomo.

As aplicações da tecnologia molecular em hematologia podem elucidar o conhecimento das alterações moleculares de doenças. Facilitando o tratamento e qualidade de vida dos pacientes.

Sumário

RESUMO	2
1. INTRODUÇÃO	3
2. METODOLOGIA	4
2.1. APLICAÇÃO DA BIOLOGIA MOLECULAR EM HEMATOLOGIA	4
2.2. BIOLOGIA MOLECULAR APLICADA EM HEMOTERAPIA, BANCO DE SANGUE E IMUNO-HEMATOLOGIA	4
2.3. O QUE EXAMES GENÉTICOS PODEM FAZER	5
2.4. EXAMES GENÉTICOS PARA DOENÇAS HEMATOLÓGICAS	6
2.4.1. Fish Alk para linfoma neoplásico de grande célula.....	6
2.4.2. Fish para leucemia mielóide crônica	6
2.4.3. Pannel de mutações para neoplasias mielóides	6
CONCLUSÃO.....	8
REFERÊNCIAS	9

1. INTRODUÇÃO

O advento da biologia molecular, e da genética molecular trouxeram consigo algumas descobertas com implicações no diagnóstico e terapêutica de doentes do foro das mais diversas especialidades médicas. A Hematologia, não sendo exceção beneficiou também dos avanços da genética molecular, em 3 áreas distintas: As doenças linfoproliferativas, o estudo das doenças víricas, e as doenças genéticas do foro hematológico. Os dois primeiros grupos são talvez aqueles em que o poder da genética molecular é mais pronunciado, já que permite não só detectar e caracterizar a doença, sendo um útil auxiliar de diagnóstico, mas disponibiliza ainda uma forma de avaliação da progressão da doença, proporcionando elementos de avaliação preciosos quanto ao tipo de resposta à terapêutica. No caso das doenças genéticas, o benefício maior ocorre nos estudos familiares, e de despiste em populações randomizadas, permitindo detectar indivíduos assintomáticos portadores da doença (quer sejam homozigóticos quer heterozigóticos), permitindo em muitos casos que o tratamento se inicie antes mesmo de existir doença clínica, prevenindo a formação de lesões. É ainda de salientar, no caso das doenças genéticas, a possibilidade de efetuar diagnóstico pré-natal. A possibilidade de trabalhar com pequenas quantidades de amostra introduzida pelas tecnologias de PCR, aliada à grande sensibilidade destas técnicas permite com segurança, e partindo de colheitas de material muito reduzidas, efetuar o diagnóstico pré-natal a fetos de alto risco.

Foi apenas em 1944 que Griffith demonstrou que a hereditariedade era transmitida pelos ácidos nucleicos. A experiência realizada demonstrou que a capacidade de matar um ratinho era conferida a uma estirpe bacteriana não virulenta, pelo DNA de uma outra estirpe bacteriana. Em 1952, Hershey e Chase demonstraram que o fago T2 (um vírus que infecta bactérias) transmite o seu código genético à bactéria infectada, através da injeção do seu DNA na bactéria, alargando assim o número de organismos que demonstradamente utilizam o DNA como registo genético. Sabemos hoje que com a exceção de alguns tipos de vírus, todos os organismos utilizam o DNA como portador da sua informação genética. Os vírus que fogem a esta regra utilizam o RNA para o mesmo efeito. Com a aceitação generalizada por volta dos anos 50 de que a informação genética residia no DNA, a grande questão passou a ser o mecanismo de armazenamento dessa informação. Com efeito, nesta altura não se compreendia como é que um polímero tão simples (apenas constituído por 4 tipos de unidades diferentes) e que se pensava ser homogêneo em toda a sua extensão podia codificar a enorme variedade de

proteínas que compunham os organismos. Para tal, houve necessidade de elucidar de forma precisa a estrutura dos ácidos nucleicos. Os ácidos nucleicos são a base da informação genética. Sabemos hoje que os ácidos nucleicos são polímeros de nucleotídeos. Cada nucleotídeo contém um anel heterocíclico de carbono com 5 átomos de azoto (a base nitrogenada), 1 anel de 5 carbonos (uma pentose) e um grupo fosfato. As bases nitrogenadas são de 2 tipos: purinas e pirimidinas, sendo o número total de bases disponível de cinco. No entanto, cada tipo de ácido nucleico utiliza apenas 4 das cinco bases: o DNA contém Adeninas (A), Timidinas (T), Guaninas (G) e Citosinas (C); enquanto o RNA contém Adeninas (A), Uracilos (U), Guaninas (G) e Citosinas (C).

2. METODOLOGIA

Foram realizadas pesquisas bibliográficas através de artigos e sites. Juntamente com o trabalho de laboratórios de apoio que realizam pesquisas genéticas e seus exames. Após realização da pesquisa na base de dados online, foi realizada uma seleção dos exames mais utilizados e com maior demanda por esses laboratórios científicos que se adequavam ao tema em estudo, considerando a credibilidade, pertinência e confiabilidade dos mesmos.

2.1. APLICAÇÃO DA BIOLOGIA MOLECULAR EM HEMATOLOGIA

As aplicações da tecnologia molecular em hematologia poderão elucidar o conhecimento das alterações moleculares de doenças, tal como ocorre atualmente na caracterização das lesões do gene da globina beta nas talassemias do tipo beta e na identificação dos haplótipos da Hb S. Entre as técnicas de biologia molecular, o PCR revolucionou as tendências de aplicabilidade da biologia molecular, não somente pela sua simplicidade, mas pelo rápido diagnóstico de doenças infecciosas, na detecção de doença residual mínima em diversas malignidades hematológicas onde se conhece o defeito molecular, e notadamente na detecção de portadores e no diagnóstico pré-natal de hemofilias e anemias hereditárias. Finalmente, os objetivos mais profundos das aplicações dos conhecimentos de biologia molecular se direcionam na clonagem e sequenciamento de genes para identificar, caracterizar e manipular os genes responsáveis por doenças e produtos tóxicos específicos.

2.2. BIOLOGIA MOLECULAR APLICADA EM HEMOTERAPIA, BANCO DE SANGUE E IMUNO-HEMATOLOGIA

O conhecimento atual sobre genética dos grupos sanguíneos tem permitido o uso das técnicas de biologia molecular como uma importante ferramenta na prática hemoterápica. Além da acurácia na determinação do fenótipo eritrocitário, a genotipagem de grupos sanguíneos pode auxiliar na identificação de anticorpos irregulares, bem como na economia de unidades de sangue de fenótipos menos freqüentes na população. Isto pode ser exemplificado em resultados encontrados em pacientes portadores de anemia falciforme, cujos fenótipos RhD eram indeterminados e puderam ser concluídos como RhD positivo por genotipagem. Estes pacientes, que antes recebiam transfusões com hemocomponentes RhD negativo, passaram a receber sangue RhD positivo com segurança.

A aplicação da biologia molecular em imuno-hematologia sem dúvida terá um grande impacto na medicina transfusional. Os problemas encontrados na rotina de doadores de sangue, como a busca de hemácias antígeno-negativo e a identificação correta de indivíduos RhD-negativo são facilmente solucionados.

Na área da medicina transfusional, a possibilidade de fornecer sangue fenótipo compatível para pacientes politransfundidos abre uma nova perspectiva, podendo inclusive reduzir o número de testes pré-transfusionais. Embora seja pouco provável que a genotipagem molecular venha a substituir totalmente a hemaglutinação nos próximos anos, estas técnicas utilizadas em conjunto têm um valor potencial importante na segurança transfusional e materno-fetal.

No Brasil, esta abordagem vem sendo introduzida aos poucos em algumas instituições de reconhecida competência na Hemoterapia, mas sua disponibilização deve tornar-se mais generalizada, através da formação de centros de referência para atendimento das diversas unidades hemoterápicas. Mostrando que é possível implantar o aprimoramento tecnológico para aplicação de novos métodos diagnósticos no atendimento aos pacientes da rede SUS

2.3.O QUE EXAMES GENÉTICOS PODEM FAZER

Como já falamos anteriormente, os genes são segmentos da molécula de DNA que contêm todas as “instruções” para a produção de proteínas e enzimas responsáveis pela formação e funcionamento do nosso organismo. Eles controlam desde as nossas características físicas, como a cor do cabelo e dos olhos, até as atividades dos diversos órgãos. Através dos exames, é possível elucidar alguns diagnósticos mais complexos, estudar o risco do desenvolvimento de determinadas condições e a chance destas se repetirem na família e,

em alguns casos, auxiliar até mesmo no direcionamento de escolhas terapêuticas, possibilitando tratamentos mais personalizados.

2.4.EXAMES GENÉTICOS PARA DOENÇAS HEMATOLÓGICAS

2.4.1. Fish Alk para linfoma neoplásico de grande célula

O linfoma anaplásico de grande célula associa-se à (t2;15) (p23; q35), ou rearranjo dos genes ALK-NPM, que resulta na expressão da proteína de fusão ALK-NPM. Os pacientes positivos para essa expressão têm melhor sobrevida que os negativos.

2.4.2. Fish para leucemia mielóide crônica

Usando a sonda BCR-ABL1, o exame consegue identificar o rearranjo gênico BCR-ABL1 ou o equivalente molecular da translocação entre os cromossomos 9 e 22, que resulta no cromossomo Philadelphia.

É um método rápido, sensível e específico, indicado para o diagnóstico de leucemia mielóide crônica, doenças mieloproliferativas crônicas e leucemia mielóide aguda. Pode ser realizado em sangue periférico ou aspirado de medula óssea.

2.4.3. Painel de mutações para neoplasias mielóides

Detecta mutações em 36 genes, frequentemente envolvidos em neoplasias mielóides agudas, crônicas (policitemia vera, mielofibrose primária e trombocitemia essencial) ou síndrome mielodisplásica.

ASXL1	BCOR	BRAF
CALR	CBL	CEBPA
CSF3R	DNMT3A	ETV6
EZH2	FLT3	GATA1

GATA2	IDH1	IDH2	
JAK2	KIT	KTM2A (MLL)	
KRAS	MPL	MYD88	
NOTCH1	NPM1	NRAS	
PTPN11	RUNX1	SETBP1	
SF3B1	SRSF2	STAG2	
TERT (incluindo região UTR)		U2AF1	
TET2	TP53	WT1	ZRSR2

CONCLUSÃO

Apesar de ser uma área intimamente ligada à genética e à bioquímica, a Biologia Molecular consiste principalmente em estudar as interações entre os vários sistemas da célula, partindo da relação entre o DNA, o RNA e a síntese de proteínas, e o modo como essas interações são reguladas. Isso favorece, e muito, o desenvolvimento do processo de descoberta e até mesmo a cura de algumas doenças hematológicas.

Uma vez descoberto seus genes e suas pré-disposições, a atuação médica torna-se mais eficaz, aumentando a estimativa e qualidade de vida dos pacientes.

REFERÊNCIAS

Gilfillan S., et al Science 1993; 261:1175

Feeney A.J. J.Immunol. 1991;147:4343

Charmley P., et al J.Exp.Med. 1993; 177:135-143

<http://homepage.ufp.pt/jcabeda/manuais/Sebenta-1996.pdf> ACESSO EM 31-08-2018

Izraeli S., Janssen JWG., Haas OA. et al. Leukemia 7:671-8, 1993