

**ATLAS CITOLÓGICO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE  
CITOLOGIA CLÍNICA E LABORATORIAL DA  
ACADEMIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE  
SÃO JOSÉ DO RIO PRETO – SP**

**Tema Citológico:** Uso da Técnica de Citogenética Clássica na Detecção do Cromossomo *Philadelphia* em Pacientes com Leucemia Mielóide Crônica.

**Autora:** Aline Virgínia Gastaldello

**Período do Curso:** Julho de 2011 a Dezembro de 2012

**Endereço para correspondência:**

e-mail: [aline.gasta@hotmail.com](mailto:aline.gasta@hotmail.com)

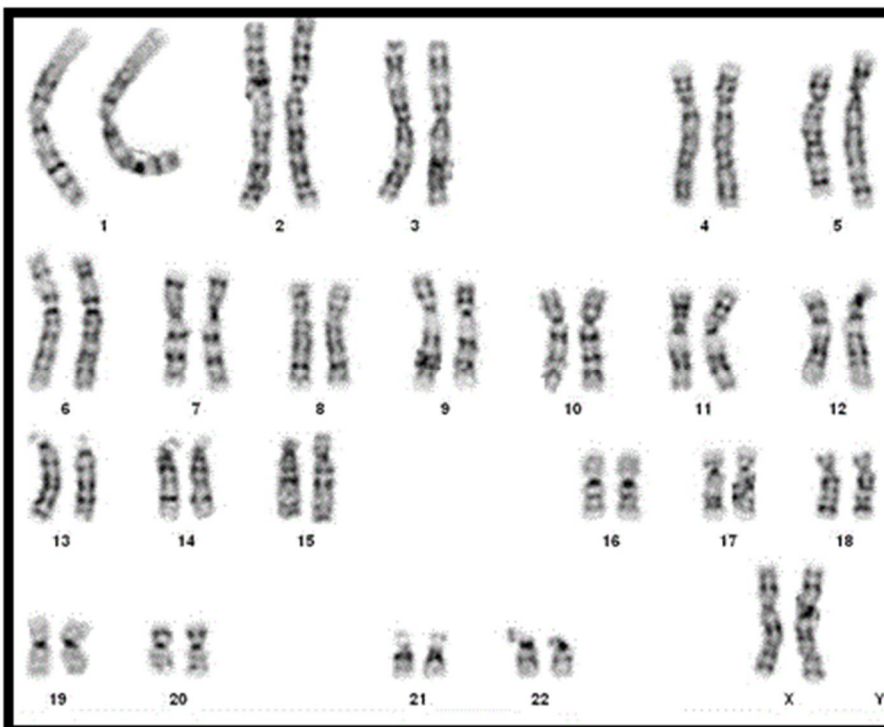
fone: (17) 34823215

## 1. CROMOSSOMOS

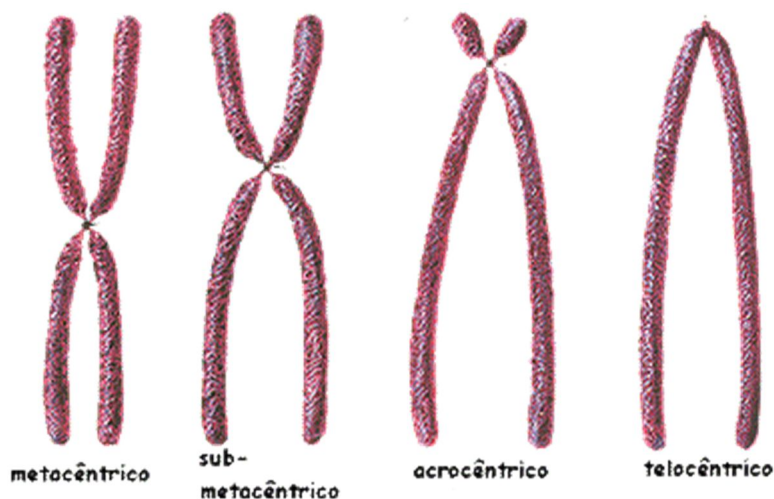
Cromossomos são estruturas filamentosas compostas por DNA e proteínas que estão situadas dentro do núcleo das células. A célula humana, chamada de eucarionte, possui 46 cromossomos, onde 44 são autossômicos e dois sexuais (x e y), sendo organizados em 23 pares (figura 1.1). Estes podem ser diferenciados utilizando os seguintes critérios:

- Através do tamanho dos cromossomos;
- Pelo centrômero, que une os cromossomos em pares e divide em braço curto (p) e braço longo (q), denominando-os em: metacêntrico, acrocêntrico, submetacêntrico e telocêntrico, de acordo com a localização do centrômero na extensão do cromossomo (figura 1.2);
- Por um padrão de bandas que são característicos para cada par cromossômico e só é possível serem visualizadas a partir de uma coloração especial.

**Figura 1. 1.** Cariótipo normal do sexo feminino. Na figura é possível visualizar os 23 pares de cromossomos, a diferença no seu tamanho e um padrão de bandas claras e escuras.



**Figura 1.2.** Estrutura e classificação do cromossomo de acordo com a localização do centrômero.



## 2. LEUCEMIA MIELÓIDE CRÔNICA

A LMC é uma doença mieloproliferativa clonal maligna das células de linhagem mielóide da medula óssea, onde há intensa proliferação de granulócitos e megacariócitos, com presença de eosinofilia e basofilia na maioria dos casos. A LMC pode acometer todas as idades. Possui três estágios de evolução clínica: fase crônica, fase acelerada e fase blástica (Tabela 2.1).

Está associada a uma alteração genética denominada como cromossomo “*Philadelphia*” (*Ph*). O cromossomo *Ph* é o resultado de uma translocação recíproca entre os braços longos (q) dos cromossomos 9 e 22, isto é,  $t(9; 22)$ , resultando no gene *bcr-abl*, que possui uma atividade tirosina-quinase desregulada, desencadeando uma mieloproliferação contínua na medula óssea. Aproximadamente 90% dos casos de Leucemia Mielóide Crônica apresentam o cromossomo *Ph*.

**Tabela 2.1:** Fases de evolução clínica da Leucemia mielóide crônica e suas principais características.

<b>FASES</b>	<b>CARACTERÍSTICAS</b>
<b><i>Crônica</i></b>	Hiperplasia medular e capacidade de maturação das células mielóides. Manifestações no sangue periférico facilmente controladas pela terapia medicamentosa convencional. Fase Benigna.
<b><i>Acelerada</i></b>	Evolução clonal das células de MO e aumento de blastos, pró mielócitos e basófilos com diminuição de plaquetas. Resistente a terapia medicamentosa.
<b><i>Blástica</i></b>	Aumento de blastos no sangue periférico ou medula óssea. Resistente a terapia medicamentosa convencional. Paciente apresenta quadro clínico de Leucemia aguda com sobrevida muito curta.

A LMC pode ser diagnosticada através de vários exames, dentre eles a Citogenética Clássica, onde é possível observar o cromossomo *Ph*.

### **3. CITOGENÉTICA**

As técnicas citogenéticas permitem a visualização e caracterização dos cromossomas através de técnicas de bandeamento e coloração, onde é possível identificar anomalias cromossômicas estruturais ou numéricas. Para identificação do cromossomo *Ph* a técnica de bandeamento utilizada é a de bandas G, onde os cromossomos apresentam bandas claras e escuras, no qual as faixas escuras caracterizam DNA rico em bases AT (adenina e timina) e poucos genes ativos; as bandas claras têm DNA rico em bases GC (guanina e citosina) e apresentam muitos genes ativos.

No caso da Leucemia Mielóide crônica, a citogenética é importante para identificar a presença do cromossomo *Philadelphia* e após transplante ou tratamento para monitorar a doença.

Para se fazer uma análise cromossômica são mais comumente utilizados os linfócitos, por serem capazes de crescer e se dividir rapidamente em meios de cultura e por serem encontrados em maior concentração na circulação sanguínea.

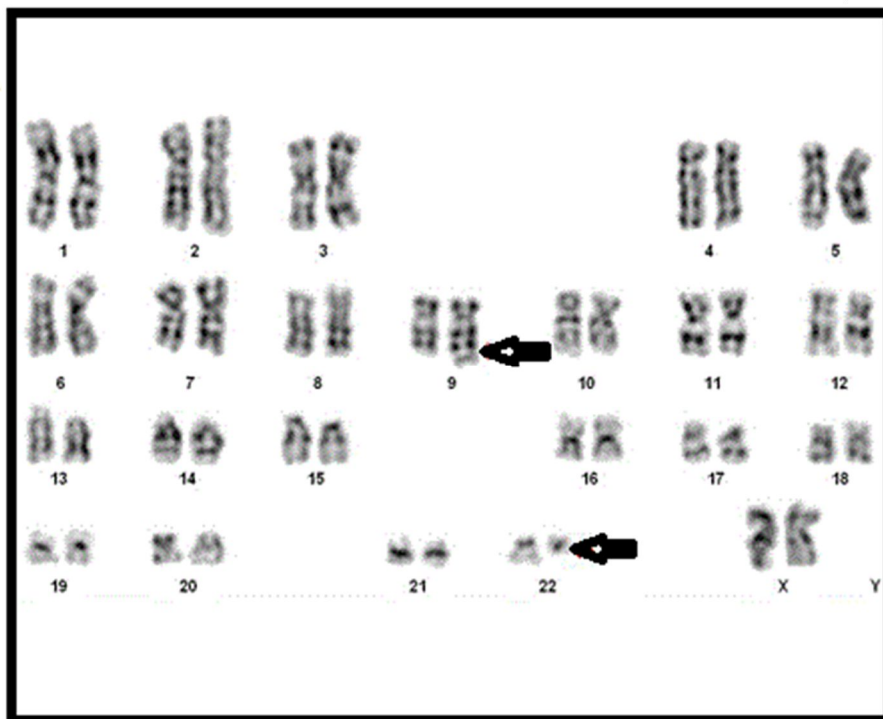
As amostras podem ser de sangue periférico ou medula óssea. O sangue periférico é o material mais fácil de ser obtido.

### **3.1. Técnica de Citogenética Clássica - Cariótipo**

- A amostra deve ser coletada com o uso de anticoagulante heparina e permanecer em repouso de 30 a 60 minutos para que ocorra a sedimentação.
- Coleta-se a o plasma, rico em linfócitos.
- É feita uma lavagem com solução contendo polissacarose e diatrizoato sódico para isolamento dos linfócitos.
- Em seguida faz-se a cultura com meio específico apropriado contendo estimulante mitótico e inibidor microbiano. Incuba-se em estufa de gás carbônico (CO<sup>2</sup>).
- A coleta do material é feita após um período de 76 horas para linfócitos estimulados, ou 48 horas para linfócitos não estimulados. Após esse período é utilizada uma substância para que as células parem de se dividir. A substância mais utilizada é a solução de colchicina.
- O choque hipotônico com solução salina (KCL) faz com que os cromossomos se separem e elimina restos citoplasmáticos.
- O material é fixado com metanol-absoluto e ácido acético.
- O material então deve ser bem espalhado em lâmina limpa e seca e em seguida corado com corante convencional, Giemsa ou Leishman.
- Deve ser feita uma análise de, no mínimo, 20 metáfases, fazendo uma varredura na lâmina e analisando as melhores células.

É necessária a presença de pelo menos quatro cromossomos *Philadelphia* para a positividade do exame (figura 3.1.1).

**Figura 3.1.1.:** Cariótipo de paciente feminino portadora do cromossomo *Ph*. As setas indicam o translocamento dos cromossomos 9 e 22,  $t(9;22)$ .



Montenegro, V S. et al. Análise Citogenética na Leucemia Mielóide Crônica. 2008.

Leucemia Mielóide Crônica. Revista brasileira de cancerologia, 2003.  
[http://www.inca.gov.br/rbc/n\\_49/v01/pdf/conduatas.pdf](http://www.inca.gov.br/rbc/n_49/v01/pdf/conduatas.pdf)

Bergantini, APF. et al. Leucemia Mielóide Crônica e o Sistema Fas-FasL. Revista brasileira de hematologia-hemoterapia, 2005.  
<http://www.scielo.br/pdf/rbhh/v27n2/v27n2a12.pdf>

Almeida, A. et al. Recomendações para o diagnóstico, tratamento e monitorização da Leucemia Mielóide crônica, 2009.  
<http://www.actamedicaportuguesa.com/pdf/2009-22/5/537-544.pdf>

Carvalho, AVCP. Avaliação de Técnicas de Estudo Cromossômico de Produtos de Abortamento: Citogenética Convencional *versus* Biologia Molecular (MLPA e QF-PCR), 2009.

Flavia Scapin. Genética e Câncer.  
<http://genetica.ufcspa.edu.br/biomedic/conteudo/genetica%20e%20cancer/geneticaecancer.PDF>

Flavia Scapin. Técnicas Citogenéticas.  
<http://genetica.ufcspa.edu.br/biomedic/conteudo/citogenetica/03tecnicascitogeneticas.PDF>.

Imagens:

<http://www.virtual.epm.br/cursos/genetica/htm/estru.htm>

[www.lookfordiagnosis.com](http://www.lookfordiagnosis.com)