

ESTUDO COMPARATIVO ENTRE AS TÉCNICAS CITOGENÉTICAS DE QUEBRAS CROMOSSÔMICAS COM DIEPOXIBUTANO (DEB) E MITOMICINA-C (MMC) NA ANEMIA DE FANCONI (AF)

FERRARO, V.H. ^{1,2}; OLIVEIRA, M.R.A.A. ¹; CAPUTO, L.Z. ²

¹Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas - SÃO PAULO

²Laboratório CHROMOS de Citogenética Humana - SÃO PAULO

INTRODUÇÃO

Anemia de Fanconi (AF) é uma doença autossômica recessiva, caracterizada pelo aumento de quebras cromossômicas espontâneas ou induzida por agentes clastogênicos. O paciente com suspeita clínica desta patologia tem a sua confirmação diagnóstica laboratorial feita através do teste de DEB. No entanto, em alguns casos este teste apresenta-se duvidoso, surgindo a necessidade de se desenvolver um novo teste para auxiliar no diagnóstico. No Brasil, os ensaios moleculares padronizados para o diagnóstico da AF são escassos e restritos a centros universitários de pesquisa. Um outro agente clastogênico referenciado na literatura, para suprir os casos de DEB duvidosos, é a MMC, que apesar de apresentar menor toxicidade ao DEB, necessita ter seu valor de referência e concentração, devidamente padronizados.

OBJETIVO

Avaliar comparativamente os testes citogenéticos com os agentes clastogênicos MMC e DEB em pacientes com e sem AF

CASUÍSTICA E METODOLOGIA



- cultura celular sem indutor e com os indutores DEB e MMC (0,01µg/mL e 0,05 µg/mL).
- bandamento G.

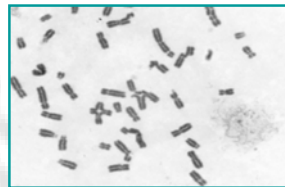
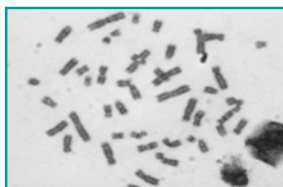


FIGURA 1: Comparação das metafases com os diferentes agentes estudados em um mesmo paciente com AF.

RESULTADOS

Na comparação dos testes com DEB e MMC (0,01µg/mL e 0,05 µg/mL), observou-se diferenças significantes, entre o grupo controle positivo (CP) com os outros grupos. (GRÁFICO 1)

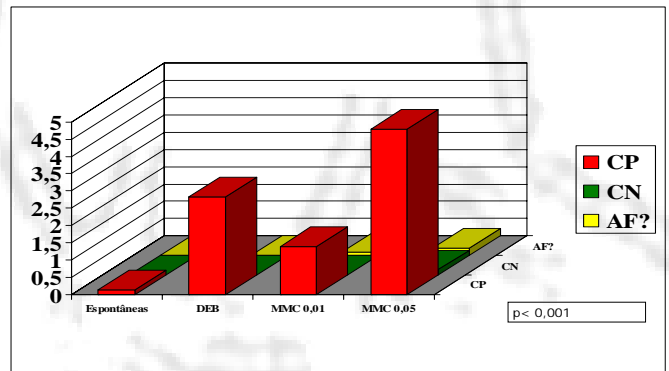


Gráfico 1: Comparação dos testes com os diferentes agentes clastogênicos nos grupos estudados

Na determinação da frequência das anormalidades cromossômicas na cultura induzida pelos agentes DEB e MMC (0,01µg/mL e 0,05µg/mL), as culturas com MMC (0,05 µg/mL) apresentaram um aumento do número de figuras radiais, quebras cromossômicas e rearranjos quando comparadas as encontradas na cultura com DEB (FIGURA1).

Analisando o total de alterações cromossômicas de todos os grupos e comparando-os entre si, verificou-se que no grupo CP as quebras de cromossomos e ou cromátide, figuras radiais, fragmentos e rearranjos foram mais frequentes nas culturas com MMC (0,05µg/mL). Já nas culturas com MMC (0,01µg/mL) esses valores são inferiores quando comparados aos valores da cultura com DEB que encontraram-se em escala intermediária para essas alterações (FIGURAS 2 e 3).

	anel	dic	frag	Get	eGer	Qet	Qer	Trir	Quadr	Rearr
DEB:	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MMC:	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
MMC:	0	1	2	5	1	0	0	4	1	
MMC:	0	0	1	2	5	1	0	4	1	

FIGURA 1: Controle Negativo

	anel	dic	frag	Get	eGer	Qet	Qer	Trir	Quadr	Rearr
DEB:	0	0	31	18	28	82	13	9	3	
MMC:	0	1	16	12	14	39	7	6	0	
MMC:	0	0	45	14	52	151	16	12	16	
MMC:	0	0	45	14	52	151	16	12	16	

FIGURA 2: Controle POSITIVO

FIGURAS 1 e 2: Quantidade de anormalidades cromossômicas encontradas por grupos.

CONCLUSÕES

- Nas amostras de portadores de AF, o uso da MMC na concentração de 0,05 µg/mL, determinou uma frequência maior de quebras cromossômicas quando comparado com aquele obtido nas culturas com DEB desses mesmos pacientes.
- Quanto maior a concentração da MMC maior a frequência de alterações cromossômicas.
- A MMC mostrou-se eficaz apresentando quebras cromossômicas diferentes em pacientes com e sem Anemia de Fanconi, embora ainda não tenha sido estabelecido o valor de referência e a concentração ideal para o uso deste agente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ISCN (1995) - An International System for Human Cytogenetic Nomenclature;
- CAPUTO, Luciana. Implantação da técnica de quebras cromossômicas com diepoxibutano (DEB) em laboratório de citogenética: estudo de 148 casos. 2002. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Disciplina de Fisiopatologia Experimental – área de concentração Citogenética - Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002;
- CERVENKA, J. : Mitomycin C teste for Diagnostic Differentiation of idiopathic Aplastic Anemia and Fanconi Anemia. *Pediatrics*. Minneapolis, v.67 n.01p. 119 –27, Janeiro, 1981;

AGRADECIMENTOS

A Dra. Chong A. Kim do Serviço de Genética do Instituto da Criança da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (ICR-FMUSP), ao Dr Jorge D.A Carneiro e Dra Lucy A Matsumoto, ambos do Serviço de Hematologia Pediátrica do ICR/FMUSP e a Bióloga Tânia A Vieira do Hospital Brigadeiro, pelo fornecimento das amostras dos portadores da AF.