

## Avaliação da translocação dos cromossomos 11/14 e 14/18 em doenças linfoproliferativas em fase circulante

Lara da Silva Paula<sup>1</sup> (IC)\*, Neusa Batista Melo<sup>2</sup> (PG), Isabela Jubé Wastowski<sup>3</sup> (PQ)

\*laradasilvapaula1996@gmail.com

<sup>1</sup> Universidade Estadual de Goiás/*Campus* Morrinhos

<sup>2</sup> Universidade Federal de Goiás/ Faculdade de Medicina

<sup>3</sup> Universidade Estadual de Goiás/ *Campus* Laranjeiras - Goiânia

Resumo: O diagnóstico das doenças onco-hematológicas no setor público de toda a região Centro-Oeste tem sido dificultado pela ausência da realização de exames específicos e indispensáveis. Não há atualmente programas de pesquisa ou de rotina, que disponibilize pelo Sistema Único de Saúde as técnicas de biologia molecular e citogenética aos pacientes que necessitam ser diagnosticados e tratados com estas patologias. A principal contribuição deste trabalho, neste contexto, é a padronização e potencial implantação da metodologia de genética molecular para pesquisa das translocações 11/14 e 14/18, imprescindíveis para complementar o diagnóstico de algumas doenças linfoproliferativas, tais como a Leucemia Linfóide Crônica (LLC) e os Linfomas de Células do Manto e Linfomas Foliculares no setor público de saúde.

Palavras-chave: Diagnóstico diferencial. Leucemia linfóide crônica. Linfomas do manto e folicular. Onco- hematologia.

### Introdução

As doenças linfoproliferativas crônicas são um grupo heterogêneo de neoplasias do tecido linfóide classificadas na Organização Mundial da Saúde (OMS) de acordo com a associação de fatores clínicos, morfológicos, imunofenotípicos e genéticos (Zerbini et al, 2011). Esta, reconhece três categorias de neoplasias linfóides de células maduras ou diferenciadas: linfóides B, T e Natural Killer. Estas, por sua vez, são sub-agrupadas de acordo com sua apresentação clínica típica em predominantemente disseminada (leucêmica ou com fase circulante), extralinfonodal, e predominantemente linfonodal. As doenças com apresentação disseminada (leucemia/linfoma) cursam com infiltração medular, com ou sem envolvimento do sangue periférico, e incluem a Leucemia Linfóide Crônica (LLC) e os Linfomas Não Hodgkin (LNH). A LLC é uma neoplasia que se origina de linfócitos diferenciados e clonais da linhagem linfóide B, enquanto os LNH podem ser originados de linfócitos

diferenciados e clonais de qualquer linhagem linfóide: B (LNH-B), T (LNH-T) e Natural Killer (NK, designadas de leucemia/linfoma NK). Sendo assim, as patologias de interesse neste estudo são a LLC e os LNH-B que, com maior frequência, envolvem o sangue periférico: Linfomas Foliculares e o Linfoma de Células do Manto. Os linfomas de células do manto (LCM) são neoplasias linfóides usualmente disseminadas ao diagnóstico, que representam aproximadamente 6% dos linfomas não-Hodgkin (LNHs) (Campos & Andrade, 2009).

Os Linfomas não-Hodgkin possuem algumas características que são essenciais para o diagnóstico objetivo, sendo que os pacientes podem apresentar linfadenopatia em 40% dos casos agressivos, neoplasia primária em 65% dos casos (Araújo et al, 2008), e podendo ser encontrado também esplenomegalia (60%) e hepatomegalia (30%) nos testes clínicos (Oliveira et al, 1999).

O Linfoma de Células do Manto é tumor com alto grau de malignidade, considerado incurável, com maior incidência em idosos do sexo masculino, apresentando os pacientes uma sobrevida média entre 3 e 5 anos (Barros, 2013). Vale ressaltar que o estudo citogenético, a técnica de FISH, hibridização por fluorescência *in situ*, permite detectar alterações cromossômicas através da utilização de uma sonda, para detecção de uma sequência de aminoácidos, tendo como princípio básico, o anelamento entre as duas sequências. É um método sensível e rápido para detecção de mutações cromossômicas, como as translocações, frequente em alguns tipos de linfomas (Barros, 2013).

Este ainda não se encontra disponível como rotina em órgão público na região centro-oeste, como importante ferramenta diagnóstica no grupo das doenças linfoproliferativas, pois a translocação entre os cromossomos 11 e 14 favorece o Linfoma de Células do Manto e a translocação entre os cromossomos 14 e 18 favorece o Linfoma Folicular.

## Material e Métodos

a) Encaminhamento e aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa; b) Seleção de pacientes com doenças linfoproliferativas: Os casos de pacientes portadores de doenças linfoproliferativas foram selecionados na Santa Casa de Misericórdia de Goiânia e nos serviços de clínica hematológica privada da região de

Goiânia. Os dados clinicopatológicos foram colhidos dos respectivos prontuários e utilizados para a confecção de um banco de dados. Critérios de inclusão: i) Pacientes com diagnóstico de doenças linfoproliferativas em fase circulante com diagnóstico confirmado por citometria de fluxo e/ou anátomo-patológico de tecido que concordem em assinar Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

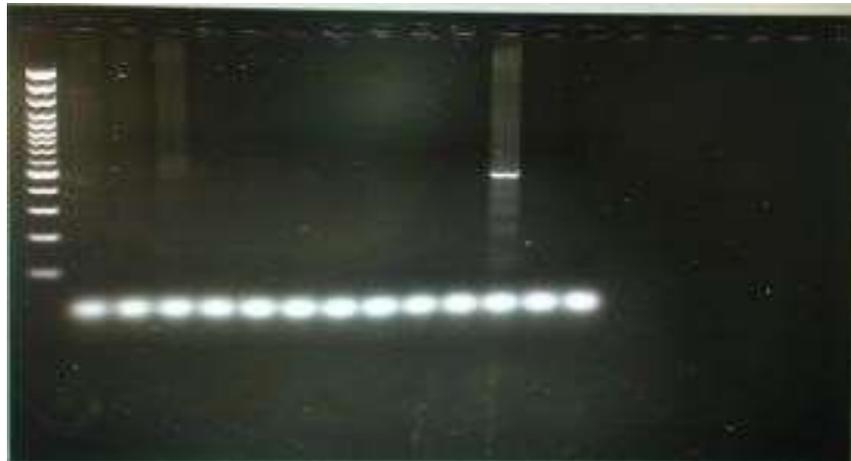
Critérios de Exclusão: i) Pacientes com neoplasias linfoproliferativas de células maduras das linhagens T e NK. ii) linfomas não Hodgkin de células B que não apresentem a fase circulante. c) Extração de DNA das amostras de sangue foi realizada utilizando-se o KIT comercial de purificação Wizard SV Genomic DNA Purification system, Promega (Madison, USA), seguindo as instruções do fabricante. Uma reação de PCR (reação em cadeia da polimerase) para o gene constitutivo GAPDH (gliceraldeído 6-fosfato desidrogenase) foi realizada para avaliar a qualidade do DNA extraído, com análise posterior em gel de poliácridamida a 8%. d) A translocação 11;14 e 14;18 foi avaliada por técnica de PCR clássico como descrito por Luthra e colaboradores (1995) e nested PCR descrito por Kornacker e cols (2009) respectivamente. e) Análise estatística: foram utilizados testes estatísticos não paramétricos. Todos os dados obtidos foram correlacionados às variáveis clínicas, epidemiológicas e laboratoriais.

## Resultados e Discussão

Foram coletadas amostras de 30 pacientes. Todos apresentavam doença linfoproliferativa. Foi realizada imunofenotipagem em todos os casos, sendo confirmado o diagnóstico de doença linfoproliferativa de células B CD5+. Foram estudados também 5 casos de doenças linfoproliferativas cujas células apresentaram imunofenótipo B, porém CD5 negativas e um caso de linhagem linfóide T diferenciadas que foram utilizadas como controles negativos para a reação de PCR para as translocações 11;14 e 14;18. Os pacientes selecionados para o estudo apresentavam faixa etária entre 53 e 79 anos; sendo 60% do sexo masculino.

As metodologias de PCR clássico foram devidamente padronizadas. Para a translocação (11;14) (Figura 1), obtivemos uma banda de 600 pb, enquanto para a translocação (14;18) (Figura 2) foram obtidas bandas entre 130 e 200 pb nos casos positivos.

Figura 1. Gel de eletroforese para detecção da translocação (11;14)



t (11;14) Banda: 600 pb

Figura 2. Gel de eletroforese para detecção da translocação (14;18)



t (14;18) Banda: 130-200 pb

De acordo com Barros (2013), algumas doenças relacionadas ao linfoma não-Hodgkin possuem alterações cromossômicas irreversíveis, que podem ser identificadas pela técnica de FISH, porém como nesse trabalho podendo ser avaliadas também através da citometria de fluxo e confirmadas pela reação de cadeia de polimerase.

## Considerações Finais

O presente estudo teve por objetivo o desenvolvimento de pesquisas com potencial de aplicação ao Sistema Único de Saúde. Os testes moleculares padronizados são de aplicação imediata e a custo inferior ao disponível em laboratórios particulares. Vale ressaltar que em Goiás não há rotina clínica laboratorial para a avaliação dessas translocações. Esses testes são feitos em outros estados o que onera ainda mais esse exame indispensável ao estabelecimento do diagnóstico.

## Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG) pelo auxílio no estudo sendo subsidiado pelo Projeto financiado pelo edital PPSUS -FAPEG, ao Laboratório de Imunologia Molecular da Universidade Estadual de Goiás, *Campus Laranjeiras-Goiânia*. Em especial as pós-graduandas Camila Rodrigues da Silva e Gabriela Tayrine Pereira Caetano, pela presteza na realização dos experimentos.

A Universidade Estadual de Goiás pelo fomento do Programa Próprio de Bolsas, por intermédio da Coordenadoria Central de Bolsas na concessão de Bolsa de Iniciação Científica & Tecnológica.

## Referências

ZERBINI, M. C. N.; SOARES, F. A.; MORAES, J. C.; VASSALLO, J.; VELLOSO, E. D. R. P.; CHAUFAILLE, M. L. L. F.; CHIATTONE, C. S.; ALDRED, V. L.; SIQUEIRA, S. A. C.; ALVES, A. C.; CASTELLI, J. B.; OLIVEIRA, C. R. G. M. C.; MENEZES, Y.; PAES, R. P. **CLASSIFICAÇÃO DOS TUMORES HEMATOPOÉTICOS E LINFOIDES DE ACORDO COM A OMS: PADRONIZAÇÃO DA NOMENCLATURA EM LÍNGUA PORTUGUESA 4ª EDIÇÃO**. J Bras Patol Med Lab. v. 47 n. 6. p. 643-648, Dezembro 2011.

CAMPOS, L. C.; ANDRADE, D. A. P. **LINFOMA NÃO-HODGKIN DE CÉLULAS DO MANTO: RELATO DE CASO**. Revista médica de Minas Gerais (Belo Horizonte), v. 19(2), p. 177-179, 2009.

ARAÚJO, L. H. L.; VICTORINO, A. P. O. S.; MELO, A. C.; ASSAD, D. X.; LIMA, D. S.; ALENCAR, D. R.; MOREIRA, M. M. L.; FILHO, O. M.; COELHO, R. F. S.; ASMAR, S. B.; PEREIRA, B. S. V.; SCHELIGA, A. **LINFOMA NÃO-HODGKIN DE ALTO GRAU – REVISÃO DE LITERATURA.** Revista Brasileira de Cancerologia, v. 54(2), p. 175-183.

OLIVEIRA, A.; DUTSCHMANN, L. **LINFOMA DE CÉLULAS DO MANTO: CASOS CLÍNICOS.** Revista medicina Interna, v. 6, n. 1, p. 18-22, 1999.

BARROS, L. E. S. **LINFOMAS DE HODGKIN E LINFOMAS NÃO HODGKIN: CLASSIFICAÇÃO E MÉTODOS DIAGNÓSTICOS.** Brasília, DF, 2013.

LUTHRA, R.; HAI, S.; PUGH W. C. **POLYMERASE CHAIN REACTION DETECTION OF THE T(11;14) TRANSLOCATION INVOLVING THE BCL-1 MAJOR TRANSLOCATION CLUSTER IN MANTLE CELL LYMPHOMA.** DIAGN MOL PATHOL. 1995, 4(1):4-7.

KORNACKER, M.; KORNACHER, B.; SCHIMITT, C.; LEO, E.; HENSEL, Ho-M. A. D. **COMMERCIAL LIGHTCYCLER-BASED QUANTITATIVE REAL-TIME PCR COMPARED TO NESTED PCR FOR MONITORING OF BCL-2/IGH REARRANGEMENT IN PATIENTS WITH FOLLICULAR LYMPHOM.** ANN HEMATOL, 2009(88):42-50