

Comparação de 3 protocolos para aumento da resolução de bandas em cariótipo constitucional e uso de FISH (Pintura Cromossômica) para elucidação de anormalidades citogenéticas

Santos, M.F.M.¹; Prudente, S.R.²; Ratis, C.A.¹; Kishimoto, R.K.¹;
Castro-Fabris, C.I.E.¹; Velloso, E.D.R.P.^{1,3}

Abstract/Resumo

Resolução ≥ 550 bandas é sugerida por programas de controle de qualidade em citogenética para estudo cariotípico de distúrbios e deficiência intelectual. Entre os protocolos disponíveis estão o uso de agentes que inibem a condensação cromossômica por intercalação das bases de DNA, como actinomicinaD e brometo de etídio. A técnica de FISH pode ser utilizada para elucidação de anormalidades cariotípicas. Os objetivos deste trabalho foram: (a) padronização de protocolos para aumento do nível de resolução de bandas em cariótipo constitucional de sangue periférico e (b) avaliação por meio da técnica de FISH de alterações cromossômicas de origem desconhecida. Foram realizados cariótipos de 54 amostras, 11 com 10 μ L de actinomicinaD (1mg/mL), 26 com 2,5 μ L de brometo de etídio (10mg/mL) e 17 com 5,0 μ L de brometo de etídio (10mg/mL) e comparadas com culturas padrão (meio de cultura RPMI suplementado com 10% de soro fetal bovino e 1% de fitohemaglutinina incubadas a 37°C por 72h) quanto ao índice mitótico, qualidade das metáfases, nível de resolução de bandas e detecção de anormalidades. Após padronização foram estudados 5 casos com sondas de pintura cromossômica total [whole chromosome painting (wcp)] para os 24 cromossomos (Chromoprobe Multiprobe® Octochrome™ System, Cytocell, UK), envolvendo anormalidades citogenéticas não conclusivas (5q, 9p, 14q e pequenos cromossomos marcadores). A técnica de array-CGH CytoGenomics (Agilent, USA) foi aplicada em um caso (5q). Em relação ao índice mitótico, qualidade das metáfases e detecção de anormalidades [4 casos: +21, +21, XXY, fra(16)], não houve diferença entre os protocolos. As culturas com brometo de etídio 5,0 μ L apresentaram maior percentual de metáfases com ≥ 550 bandas (53%) ($p < 0,05$), [culturas padrão: 7%, actinomicinaD: 18% e brometo de etídio 2,5 μ L: 15%]. FISH identificou a origem dos materiais adicionais presentes nos cromossomos 5q, 9p e 14q, porém foi inconclusiva nos demais casos. A técnica de array-CGH foi elucidativa no caso selecionado. Preparações com 5 μ L de brometo de etídio resultaram em melhor resolução de bandas, mas comparada ao protocolo padrão não mostrou diferença nos achados citogenéticos. A técnica de FISH se mostrou ineficaz na análise de cromossomos marcadores muito pequenos. Técnicas citogenômicas, como array-CGH, poderão ser utilizadas como primeiro exame para identificar ganhos e perdas de material genômico, com utilização subsequente de cariótipo para estudo de risco de recorrência e aconselhamento genético.

Keyword/Palavras-chave: Cariótipo; Bandeamento cromossômico; FISH; Pintura Cromossômica

1 Bióloga, Sociedade Beneficente Israelita Brasileira Hospital Albert Einstein, Laboratório de Técnicas Especiais, Genética, SP-SP, mauren.santos@einstein.br

2 Biomédica, Sociedade Beneficente Israelita Brasileira Hospital Albert Einstein – Curso de Patologia Clínica/Citogenética – Instituto Israelita de Ensino e Pesquisa Albert Einstein, São Paulo-SP

3 Médica Hematologista, Hospital das Clínicas – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – Genética, São Paulo-SP