

Alta sensibilidade na investigação do quimerismo utilizando STR's através da eletroforese capilar

Instituto de Oncologia Pediátrica – GRAACC /UNIFESP

Juliana Thomazini Gouveia de Lima; Francine Tesser Gamba; Adriana Seber; Victor Gottardello Zecchin; Renata Fittipaldi da Costa Guimarães; Sílvia Regina Caminada de Toledo

Introdução

A análise de quimerismo é a metodologia utilizada para monitorar o perfil genético da linhagem hematopoiética de pacientes submetidos ao transplante de células tronco hematopoiética (TCTH) alogênico. STR's (short tandem repeats), são sequências repetitivas e altamente polimórficas, que estabelece um perfil para cada indivíduo e determinar se existe quimerismo mesmo em uma quantidade mínima de células. O quimerismo pós TCTH pode ser classificado como: quimerismo completo (QC), é detectado apenas o perfil genético do doador, quimerismo misto (QM) são detectados alelos do doador e receptor e falha de pega, é detectado apenas o perfil do receptor pós TCTH. STR (short tandem repeats) são sequências dispersas no genoma humano, altamente polimórficas que determinam uma grande variabilidade entre os indivíduos.

Objetivo

Monitorar e quantificar o quimerismo misto em diversas amostras de DNA de 327 pacientes submetidos ao TCTH.

Metodologia

Amostras de DNA de 327 pacientes, no período de novembro de 2017 até março de 2024, PÓS-TCTH (doenças malignas e não malignas) foram analisados em comparação com o DNA PRÉ-TCTH e doador, utilizando o kit GlobalFiler®PCR, um painel multiplex de 24 loci de STR, sendo 21 autossômicos e 3 loci de cromossomos sexuais. A eletroforese capilar foi realizada no Genetic Analyzer 3500® e os dados foram analisados de forma qualitativa e quantitativa com o software GeneMapper IDX 1.4®.

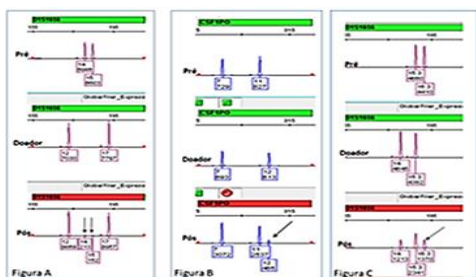
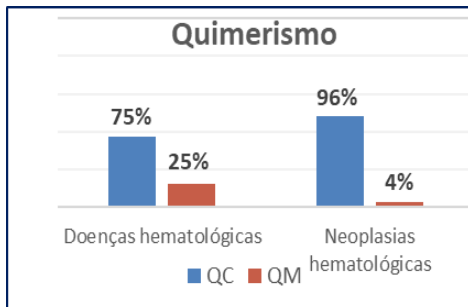


Figura A: Quimerismo misto detectado com baixa porcentagem perfil do receptor
Figura B: Quimerismo misto com alta porcentagem perfil do receptor
Figura C: Quimerismo misto detectado com proporções semelhantes

Resultados

DNA de 327 pacientes, 87(26%) doenças hematológicas e 240(74%) neoplasias hematológicas foram avaliadas de novembro de 2017 até março 2024. 249(76%) pacientes permanecem em acompanhamento e 78 (24%) morreram, 45(60%) por recidiva da doença. No grupo das recidivas por LLA, 12(40%) apresentaram QM e 2 (6%) perda do enxerto. No grupo de pacientes com LMA 11(84%) apresentaram QM e 2(16%) QC na última avaliação. 84 pacientes com doenças hematológicas seguem em acompanhamento, 63(75%) QC e 21(25%) QM. 165 pacientes com doenças neoplásicas, 159(96%) QC e 6(4%) QM. Dois pacientes com QM realizaram o TCTH há mais de cinco anos, realizaram DLI (infusão de linfócitos do doador) no decorrer desse período e permanecem com QM. Um paciente apresenta QM inferior a 2% de células autólogas há 2 anos. Os demais pacientes com QM realizaram o TCTH a menos de 6 meses.



Status do quimerismo dos pacientes em acompanhamento

Conclusão

A análise por STR utilizando estratégia de eletroforese capilar é a metodologia padrão ouro no monitoramento do quimerismo. A alta sensibilidade e especificidade, viabiliza a detecção de um perfil misto em porcentagens mínimas, o que contribui para um melhor controle e acompanhamento do tratamento pós TCTH.

Apoio financeiro: GRAACC