**Biologia Celular e Molecular II – Cromossoma Filadélfia e a sua Importância no Diagnóstico Oncológico**

O cromossoma Filadélfia (Ph) consiste numa anormalidade cromossómica que resulta de uma **translocação** recíproca entre os cromossomas 9 e 22, sendo designado por t(9; 22) (q34;q11). Esta descoberta conferiu à citogenética um papel fundamental na hematologia, permitindo o diagnóstico da Leucemia Mielóide Crónica (LMC) e Leucemia Linfoblástica Aguda Ph (+) (LLA) e impulsionando a pesquisa no âmbito da Oncologia.

Como consequência molecular da translocação forma-se um gene anormal a partir da fusão do gene BCR do cromossoma 22 com o proto-oncogene ABL proveniente do cromossoma 9. Esta mutação origina a transcrição de um mRNA quimérico BCR/ABL que codifica uma proteína alterada que apresenta actividade tirosina-quinase exacerbada em comparação com a proteína ABL normal, criando resistência à apoptose e aumentando a proliferação das células blásticas; e está envolvida na leucemogénese.

A **Leucemia** corresponde a uma neoplasia maligna das células hematopoiéticas. Por norma as células estaminais/totipotentes são produzidas na medúla óssea e dividem-se dando origem aos blastos, isto é, a células percursoras imaturas que, posteriormente se transformam em células maduras. Numa primeira fase de diferenciação podem-se formar células estaminais mielóides (glóbulos vermelhos, plaquetas, alguns tipos de glóbulos brancos - granulócitos) ou células estaminais linfóides (glóbulos brancos - linfócitos). Nesta doença verifica-se uma acumulação de células blásticas na medula óssea sem que amadureçam completamente.

Os Oncogenes são considerados os genes alterados e responsáveis por promover a neoplasia maligna. Estes genes podem estar na forma activa ou inativa, sendo estes últimos designados por proto-oncogenes (ex: BCR-ABL e erb-B2, MYC, RAS). Como anteriormente descrito, o gene BCR- ABL é activado por uma translocação que dá como resultado uma proteína BCR-ABL com actividade de tirosina-cinase aumentada com uma activação anómala de uma série de vias de transmissão intracelular de sinais.

A **Leucemia Mieloide Crónica** é uma doença mieloproliferativa clonal que surge da transformação neoplásica das células progenitoras pluripotentes, resultando numa agranulocitose progressiva. É desencadeada por uma alteração cromossómica específica, a t(9:22) que origina o cromossoma Filadélfia (Ph). Divide-se em 3 fases:

\*Fase crónica – aumento de percursores mieloides e células maduras na medúla óssea, sanque periférico e células extra-medulares (trombocitose, leucocitose);

\*Fase acelerada – perda e ausência da capacidade de diferenciação, o que leva a um aumento das células imaturas em relação às células diferenciadas (trombocitopenia, leucopenia, aumento das células blásticas, esplenomegália);

\*Fase blástica/aguda - Rápida expansão das células blásticas mieloides no organismo e presença de sarcoma granulócito.

De referir ainda que também foi detetada a presença do Ph em pacientes com **Leucemia Linfoblástica Aguda** sendo 25-30% dos casos adultos e 2-10% crianças. Os sintomas evoluem de forma muito lenta, contudo aumenta bruscamente quanto maior for o número de células blásticas no sangue. Existem múltiplos sintomas associados às leucemia anteriormente referidas, tais como: cansaço (durante a actividade física), hemorragias idiopáticas, febres altas, dores ósseas e nas articulações (devido à acumulação de glóbulos brancos na medúla óssea), linfoadenopatia, esplenomegalia (devido ao excesso de células sanguíneas armazenadas no baço), hepatomegalia, palidez, etc…

O **diagnóstico** é baseado inicialmente pela componente clínica. Assim, a avaliação da esplenomegalia, a realização hemograma completo (centrado nos basófilos, eosinófilos e blastos), mielograma, biópsia óssea com coloração de prata para identificação de fibrose e, de seguida, a realização de exames moleculares e citogenéticos; são as técnicas mais recomendadas para o tratamento e monotorização, segundo a Acta Médica Portuguesa publicada em 2009.

A detecção do Ph é feita por análise citogenética. Assim, e sendo que este cromossoma existe nas células da linhagem hematopoiética, a análise é realizada a uma amostra sanguínea periférica e através da medula óssea. Existem vários métodos específicos utilizados para a identificação das translocações associadas a este cromossoma, ou em alternativa aos produtos resultantes da transcrição genética, nomeadamente a PCR (Polymerase Chain Reaction), a FISH (Fluorescent in situ Hibridization), Southern Blotting, Reverse Transciptase Polimerase Chain Reaction (**RT-PCR**) – a mais utilizada e, Quantitative real-time Reverse Transcriptase Polimerase Chain Reaction (RQ-PCR) – é a técnica mais sensível.

Como o cariótipo é o único exame que avalia todos os cromossomas, estabelece-se como padrão ouro, sendo no entanto necessário conhecer *a priori* as várias alterações cromossómicas possíveis no diagnóstico de CML. A análise do cariótipo implica a condensação dos cromossomas e portanto células em fase mitótica, pelo que geralmente é realizado em culturas de células da medula óssea.

O **tratamento** da leucemia mieloide crónica tem como meta alcançar uma hematopoiese não-clonal, não neoplásica durável e prolongada que provoque a erradicação de quaisquer células residuais que contenham a transcrição BCR/ABL. Por isso, o objectivo é sem dúvida a remissão molecular completa e cura. Para isso recorre-se a várias terapias:

- Uma das terapêuticas que pode ser utilizada é um inibidor específico da proteína tirosina cinase ABL. A utilização de mesilato de imatinibe que actua especificamente na proteína BCR/ABL funcionando por meio de inibição competitiva no local de ligação ao ATP da ABL cinase na conformação inactiva, o que inibe a fosforilação por parte da tirosina na transdução de sinais da proteína BCR/ABL. Podem surgir mecanismos e resistência à utilização do imatinibe, sendo utilizado nessas situações quer o Dasatinib quer o Nilotinib como alternativas terapêuticas.

- Para além do uso de fármacos inibidores da tirosina cinase, outra forma de terapêutica são por exemplo: a Quimioterapia, a Terapia biológica, a Quimioterapia com transplante de células estaminais, o Interferão-α e, por fim, Esplenectomia.

Em suma, a descoberta do Ph e a posterior da utilização do fármaco - mesilato de imatinibe - para efectuar a inibição da tirosina-cinase foi o começo da terapia dirigida no tratamento do cancro, um passo fulcral no tratamento da doença oncológica.