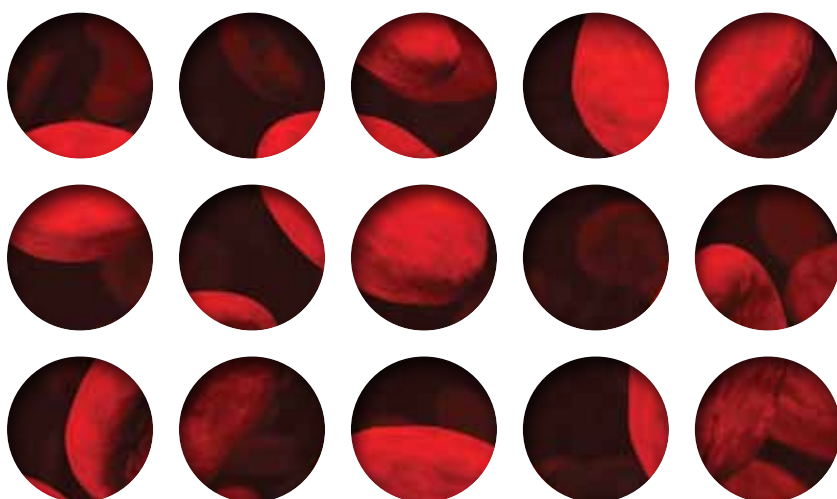




DIAGNÓSTICO EM GENÉTICA MOLECULAR



Hematologia



DIAGNÓSTICO EM GENÉTICA MOLECULAR

Hematologia





DIAGNÓSTICO EM GENÉTICA MOLECULAR

Hematologia

O recente avanço científico e tecnológico direcionado à genética promoveu excepcional desenvolvimento no diagnóstico laboratorial de diversas doenças hematológicas de natureza hereditária e mesmo adquirida. As técnicas moleculares trouxeram simplicidade, rapidez e confiabilidade na detecção de portadores de doenças hematológicas e no diagnóstico preventivo de distúrbios hemostáticos; o que vem sendo comprovado com a elucidação de alterações moleculares de diversas doenças, como trombose, talassemia, leucemia, hipertensão, hemocromatose e hiperhomocisteinemia. O diagnóstico molecular aplicado a Hematologia Clínica é uma ferramenta imprescindível para a correta avaliação e diagnóstico de linfomas e leucemias.

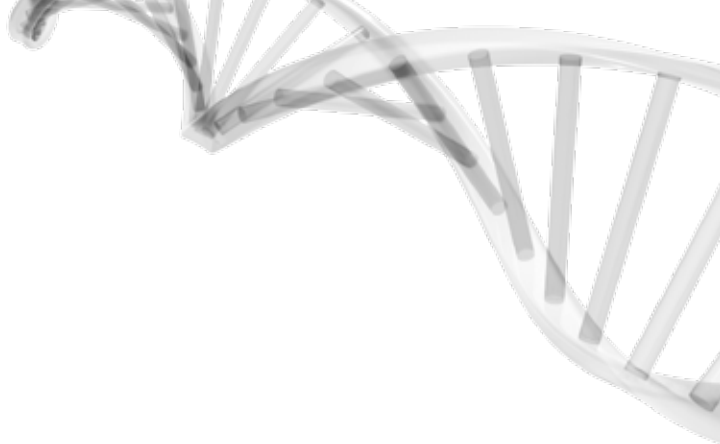
Deve-se destacar a importância da genética na área de hipercoagulabilidade. O tromboembolismo venoso (TEV) afeta de 1 a 3 indivíduos por mil habitantes/ano e é estimado que 60% da predisposição a trombose seja atribuída a componentes genéticos. Os fatores genéticos envolvidos consistem em mutações em diferentes genes que codificam fatores hemostáticos, que podem ocorrer isolados ou combinados entre si. Esta variabilidade genética está relacionada com a grande variabilidade nas manifestações clínicas. Nos últimos anos vários polimorfismos genéticos foram associados à

trombose, sendo os mais frequentes: Fator V de Leiden, Gene da Protrombina, MTHFR, Cistationa Beta Sintetase e PAI-I. A pesquisa destes polimorfismos pode definir uma estratégia de atenção especial, aconselhando a profilaxia primária para doentes assintomáticos em situações de risco.

Além disso, as alterações genéticas de qualquer natureza têm o risco de serem transmitidas aos descendentes diretos. Portanto, o reconhecimento destas alterações pode motivar a pesquisa familiar, com o intuito de identificar o grupo de pessoas que pode ter o risco de trombose sem qualquer conhecimento e direcioná-lo a medidas de prevenção.

Este catálogo também é dirigido ao estudo de diferentes patologias hematológicas. A base técnica sobre a qual sustenta esta tecnologia é a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), que aportou grande impacto no diagnóstico hematológico, otimizado por sua variante Real Time (RT-PCR quantitativa) que pode ser utilizado em todo tipo de amostra hematológica (sangue periférico e medula óssea). De forma complementar, as técnicas de Sequenciamento e MLPA (*Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*) permitem abordar com mais precisão o diagnóstico de risco familiar.

Para informações adicionais e atualizações acerca do menu completo de exames acesse o link www.hermespardini.com.br/helpdexames



Índice

Alfa talassemia - Estudo molecular	6	Gene HJV - Mutação Pontula GLY320 VAL	13
Apolipoproteína B-100 defeituosa familiar - Estudo molecular	6	Microquimerismo em Transplante de Medula	14
Beta Talassemia - Estudo molecular	7	PAI-1 - Polimorfismo 4G/5G	14
CADASIL - Estudo molecular da arteriopatia cerebral autossômica dominante	7	Predisposição genética a hiperhomocisteinemia (CBS, MTHFR C677T e MTHFR A1298C)	15
Cistationina Beta Sintetase - Polimorfismo 844INS68	8	Predisposição genética à hipertensão (ECA I/D e Proteína G C825T)	15
Enzima Conversora da Angiotensina - Polimorfismo I/D da ECA (Hipertensão)	8	Proteína G (Hipertensão) - Polimorfismo C825T	16
Fator XII - Estudo molecular da mutação C46T	8	Protrombina - Mutação	16
Fator V de Leiden	9	Rearranjo BCL1/JH t(11,14)	17
G6PD, mutação 202 (G/A)	9	Rearranjo BCL2/JH t(14,18)	17
Gene FLT3 - Prognóstico molecular de LMA	10	Rearranjo BCL6	18
Hemocromatose - Diagnóstico molecular da mutação S65C	10	Translocação BCR-ABL - Qualitativo	19
Hemocromatose - Diagnóstico molecular das mutações C282Y e H63D	11	Trombofilias - Estudo genético	20
Hemocromatose - Diagnóstico molecular das mutações C282Y, H63De S65C	11	Trombofilias Plus - Estudo genético	21
Hemocromatose tipo III - Mutação Y250X no gene TFR2	12	Varfarina, análise molecular ampliada da sensibilidade a -	21
JAK2 V617F (Policitemia vera, Trombocitemia e Mielofibrose idiopática)	12	Genes VKORC1 e CYP450	21
Metilnotetrahidrofolato redutase - Mutações A1298C e C677T	13		

Alfa talassemia - Estudo molecular

A alfa talassemia constitui um grupo de doenças hereditárias, causadas pela deficiência de síntese de cadeias alfa da hemoglobina. Existem quatro genes da alfa globina, localizados no par de cromossomos 16 (região 16p13.3) e os fenótipos da alfa talassemia são determinados pela deleção de 1, 2, 3 ou 4 desses genes, ou por pequenas mutações pontuais. De acordo com o número de genes deficientes, os fenótipos observados são: portador silencioso, traço alfa talassêmico, doença da hemoglobina H e hidropsia fetal por hemoglobina Bart's, respectivamente. A alfa talassemia $\alpha^{3/7}$ é a forma mais comum mundialmente, seguida de $\alpha^{4/2}$, α^{--MED} , $\alpha^{2/5}$, α^{--SEA} .

O alto grau de miscigenação na formação da população brasileira produziu elevadas frequências de hemoglobinopatias no país. A alfa talassemia, principalmente $\alpha^{3/7}$, é a alteração de hemoglobina mais comum na população brasileira, atingindo 20 a 25% da população afro-descendente. Em indivíduos com microcitose e hipocromia, a frequência é de cerca de 50%, conforme estudos brasileiros.

O teste molecular é útil para confirmar o diagnóstico, principalmente em pacientes com microcitose e hipocromia sem anemia, no aconselhamento genético e em estudos populacionais.

MÉTODO	PCR Multiplex
CONDIÇÃO	Sangue Total em EDTA
CONSERVAÇÃO PARA ENVIO	Até 2 dias à temperatura ambiente. Até 5 dias refrigerado entre 2° a 8°C.
TEMPO DE LIBERAÇÃO	25 dias úteis

6

Apolipoproteína B-100 defeituosa familiar - Estudo molecular

A deficiência familiar de apoB100 (FDB) juntamente com a hipercolesterolemia familiar pertencem ao tipo II/a de hiperlipidemia primária segundo a classificação de Fredrickson. FDB é uma enfermidade autossômica dominante que resulta em hipercolesterolemia. As manifestações clínicas são explicadas pelo acúmulo em plasma de LDL devido a apoB100 defeituosa. Estas trocas em apoB100 produzem uma menor afinidade pelo receptor de LDL (responsável em 80% dos casos). As consequências são hipercolesterolemia, xantoma tendinoso e arterosclerose prematura, que causa a aparição precoce da enfermidade cardio e cerebrovascular e morte prematura. A mutação mais comum é a G10699A, a qual resulta em substituição de Arg por Gln (R3500Q). Os portadores da mutação apresentam maiores níveis de colesterol em relação aos não portadores e, conseqüentemente, maior risco de doença cardíaca isquêmica.

A FDB é um dos problemas genéticos mais frequentes que podem ser tratados fenotipicamente através de medicamentos que diminuem os lipídios, ou dieta.

LOCALIZAÇÃO: 2q24

HEREDITARIEDADE: Autossômica dominante

EXAMES OFERECIDOS:

- Apolipoproteína B-100 defeituosa familiar - Estudo da mutação R3500Q
- Apolipoproteína B-100 defeituosa familiar - *Screening* R3500Q, R3500W, H3543Y por sequenciamento
- Apolipoproteína B-100 defeituosa familiar - Sequenciamento completo

MÉTODO	PCR e sequenciamento
CONDIÇÃO	Sangue Total em EDTA
CONSERVAÇÃO PARA ENVIO	Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.
TEMPO DE LIBERAÇÃO	30 dias úteis

Beta Talassemia - Estudo molecular

A b-talassemia caracteriza-se por uma reduzida síntese de hemoglobina de cadeia beta que resulta em anemia microcítica hipocrômica, sangue periférico anormal com células vermelhas nucleadas e redução da quantidade de hemoglobina A. Seu surgimento ocorre aproximadamente aos 2 anos de idade com severa anemia e hepatoesplenomegalia. O sequenciamento da região codificante do gene HBB detecta mutações em 99% dos indivíduos com talassemia. Deleções de extensão variável do gene b ou do cluster HBB que dão como resultado talassemia-b ou talassemia-b complexas denominadas talassemia-gdb e talassemia-gb são causa muito pouco comum de talassemia-b e seu estudo está disponível clinicamente e se realiza mediante MLPA.

LOCALIZAÇÃO: 11p15.1

HEREDITARIEDADE: Autossômica recessiva

MÉTODO

PCR e sequenciamento DO GENE HBB

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

20 dias úteis

CADASIL - Estudo molecular da arteriopatia cerebral autossômica dominante

A arteriopatia cerebral familiar é caracterizada por episódios de enxaqueca que se iniciam a partir da terceira década de vida. Evolui com infartos múltiplos subcorticais e demência entre 50 a 60 anos de idade. As alterações anátomo-patológicas observadas são depósitos granulares na camada média das arteríolas.

CADASIL é uma doença hereditária, autossômica dominante causada por mutações no gene Notch3, localizado no cromossomo 19 (q12). Aproximadamente 75% das mutações se encontram nos exons 3 e 4 deste gene. A mutação mais frequentemente relacionada à doença é a substituição de uma citosina por timina na posição 268 do exon 3 do Notch3 (R90C).

MÉTODO

PCR com primers intrônicos flanqueadores dos exons 3 e 4 do gene notch3, sequenciamento em duplo sentido e estudo da sequencia mediante Blast

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA.

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

35 dias úteis.

7



Cistationina Beta Sintetase - Polimorfismo 844INS68

A Cistationina Beta Sintetase (CBS) é uma enzima mediadora da conversão de homocisteína em cistationina. Deficiência na atividade desta enzima pode levar a hiper-homocisteinemia. Esta alteração é hoje considerada um fator de risco para doenças vasculares, incluindo a doença coronariana, a trombose venosa e o acidente vascular cerebral.

Muitos polimorfismos no gene da CBS têm sido relatados, sendo que alguns deles podem interferir na atividade enzimática. Dentre eles, o polimorfismo 844ins68 em heterozigose ou homozigose, está associado com o aumento dos níveis plasmáticos de homocisteína. É importante lembrar que outros genes ou outras mutações que levam à hiper-homocisteinemia não estão excluídos por este exame, como a deficiência da CBS de etiologia autossômica recessiva e a deficiência da metileno tetra-hidrofolato redutase (MTHFR).

MÉTODO	PCR alelo específico
CONDIÇÃO	Sangue Total em EDTA
CONSERVAÇÃO PARA ENVIO	Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.
TEMPO DE LIBERAÇÃO	10 dias úteis

Enzima Conversora da Angiotensina - Polimorfismo I/D da ECA (Hipertensão)

A ECA (enzima conversora de angiotensina) é responsável pela regulação da pressão arterial. O gene da enzima conversora da angiotensina (ECA) possui um polimorfismo bialélico, denominado Deleção (D) e Inserção (I), que afeta diretamente a quantidade circulante desta enzima. Portadores do genótipo DD (homozigose para o alelo D) para a ECA apresentam concentrações séricas mais elevadas da enzima, enquanto portadores do genótipo II (homozigose para o alelo I) apresentam concentração mais baixas de ECA. Segundo dados da literatura, os portadores do genótipo DD possuem um risco de serem acometidos por infarto aumentado em 3,2 vezes em relação aos genótipos II e ID. Observa-se, após amplificação e eletroforese, um produto de 490pb

na presença da inserção (alelo I) e de 190pb na ausência de inserção (alelo D), resultando em três possíveis genótipos: DD, II e I/D.

MÉTODO	PCR
CONDIÇÃO	Sangue Total em EDTA
CONSERVAÇÃO PARA ENVIO	<ul style="list-style-type: none">- Até 2 dias à temperatura ambiente.- Até 5 dias refrigerado entre 2° a 8°C.
TEMPO DE LIBERAÇÃO	10 dias úteis

Fator XII - Estudo molecular da mutação C46T

O FXII é o primeiro fator da via intrínseca da coagulação. O polimorfismo C46T do exon 1 do gene do FXII cria um novo sítio de tradução antes do sítio correto, o que diminui a eficiência da tradução e tem sido apontado como fator de risco para doenças coronarianas.

MÉTODO	PCR + Sequenciamento
CONDIÇÃO	Sangue Total em EDTA
CONSERVAÇÃO PARA ENVIO	Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.
TEMPO DE LIBERAÇÃO	30 dias úteis

Fator V de Leiden

A deficiência do Fator V de Leiden é suspeitada em pessoas com trombose venosa profunda, embolia pulmonar, em mulheres com história de tromboembolismo venoso durante gestação ou uso de contraceptivo oral e em indivíduos com história pessoal ou familiar de trombose recorrente, principalmente de ocorrência antes de 50 anos.

A molécula do fator V da coagulação apresenta três sítios de clivagem para a Proteína C ativada (PCa). Um dos sítios tem o aminoácido Arginina (R), na posição 506. Quando ocorre uma mutação resultante da transição do nucleotídeo G para A na posição 1691 no gene do Fator V, o resultado é a substituição do aminoácido 506 Arginina por Glutamina (Q). Esta mutação é conhecida como Fator V de Leiden e é responsável pelo fenótipo Resistência à Proteína C ativada (RPCA). O fator V mutante torna-se menos susceptível à clivagem da PCa, mantendo-se ativo por mais tempo como fator de coagulação sanguínea. Comparado com a população em geral, o risco para tromboembolismo venoso em indivíduos heterozigotos aumenta aproximadamente 5 vezes, e nos homozigotos em cerca de 50 vezes.

Este exame é disponível nos seguintes mnemônicos:

1. FVM - Fator V Leiden
2. TROMBO - Estudo genético das trombofilias
3. TROMPL - Estudo genético das trombofilias PLUS

MÉTODO

PCR Real Time End Point para mutação pontual R506Q (G1691A) do gene Fator V Leiden

CONDIÇÃO

- Sangue Total em EDTA.
- Swab bucal - somente com autorização do setor técnico.

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

- Sangue: Até 2 dias a temperatura ambiente ou 7 dias refrigerado entre 2° e 8° C.
- Saliva: Até 2 dias refrigerado entre 2° e 8° C.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

10 dias úteis

G6PD, mutação 202 (G/A)

A deficiência de glicose-6-fosfato-desidrogenase (G6PD) é o defeito enzimático conhecido mais prevalente no mundo. As principais manifestações clínicas são icterícia neonatal e anemia hemolítica induzida por algumas drogas e infecções, sendo que ambas podem ser letais.

Este estudo é indicado para confirmar a suspeita de deficiência de G6PD pelo exame de triagem neonatal ("Teste do Pezinho"), para avaliar mulheres que sejam possíveis portadoras (heterozigotas) da mutação 202 (G > A) e elucidar casos em famílias onde já exista um histórico da doença. É importante lembrar que embora mulheres heterozigotas geralmente não manifestem crise hemolítica, a triagem genética é relevante para o aconselhamento genético, uma vez que filhos do sexo masculino apresentam possibilidade de 50% de serem deficientes de G-6-PD.

A investigação da deficiência de G6PD também é recomendada nas áreas endêmicas de malária vivax antes do emprego de tratamento com primaquina que pode desencadear hemólise nos indivíduos que apresentam esta deficiência enzimática.

MÉTODO

PCR – RFLP

CONDIÇÃO

1 tubo de sangue total (EDTA).

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

21 dias úteis

9

Gene FLT3 - Prognóstico molecular de LMA

FLT3 (FMS-like tyrosina kinase 3) é um receptor de tirosina quinase, com função bem conhecida na sobrevivência, proliferação e diferenciação celular. É expresso normalmente em células progenitoras hematopoiéticas, o que não ocorre nas células hematopoiéticas diferenciadas. Por sua vez, a linhagem B e as leucemias mielóides agudas (LMA) apresentam super-expressão da proteína FLT3.

As FLT3/ITD são duplicações de 3 a 400 bp no exon 11, sem mudança de matriz de leitura, que afetam cerca de 23% dos pacientes LMA, principalmente quando há contagem alta de células brancas sanguíneas e LMA tipo FAB Mo e M5. Sua presença indica pior prognóstico em pacientes adultos e pediátricos e há evidências que ITD maiores representam maior desvantagem frente às ITD menores.

A mutação pontual FLT3/D835, situada no exon 20, está presente em aproximadamente 8 a 12% dos pacientes LMA. A menor sobrevivência relacionada a FLT3/D835 já foi estimada em até 3 anos em comparação a pacientes LMA com genótipo FLT3/D835 selvagem.

As duas mutações são consideradas instáveis, visto que a porcentagem de alelos mutados do gene FLT3 varia durante o curso da doença, inclusive no tratamento e na(s) recaída(s); além do próprio comprimento da ITD diferir em um mesmo paciente, nas várias etapas da LMA.

Deve-se dar preferência para a pesquisa de amostras de sangue de medula óssea em EDTA, a fim de aumentar a sensibilidade do teste, uma vez que o sangue periférico pode conter um número muito baixo de blastos, principalmente após tratamento quimioterápico. Apesar do risco de resultados falso negativos, o uso do sangue periférico somente é recomendado em casos peculiares, por exemplo, nos quais a punção medular representa risco ao paciente.

MÉTODO

Mutação FLT3-D835 - PCR - RFLP
Mutação FLT3-ITD - PCR-Fluorescente e Genotipagem em Sequenciador Automático

CONDIÇÃO

Preferencialmente sangue de medula óssea em EDTA - 3mL
Sangue Total em EDTA: Casos especiais após consulta com o setor - 3mL

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar material (aspirado de medula óssea ou sangue) refrigerado entre 2° e 8 °C em até 3 dias.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

10 dias úteis

10

Hemocromatose - Diagnóstico molecular da mutação S65C

A Hemocromatose Hereditária (HH), uma desordem no metabolismo do ferro, pode estar relacionada a ocorrência de várias mutações no gene HFE. Foram identificadas cerca de 20 mutações no gene HFE, sendo que há, dentre elas, duas mutações do tipo missense C282Y e H63D mais comumente associadas à HH.

A mutação S65C foi recentemente relacionada a formas leves da doença. Esta mutação determina a conversão do aminoácido serina (S) na posição 65 por cisteína (C), devido a transversão do nucleotídeo adenina (A) para timidina (T), na posição 193 do gene HFE.

A frequência da S65C em caucasianos é de 0.005 a 0.03. Na população brasileira encontra-se em torno de 0.0087. A população equatoriana apresenta uma frequência alélica de 0.04, a mais alta encontrada até o momento. HH de menor gravidade também associa-se à presença de heterozigose composta de H63D/S65C e C282Y/S65C.

Este exame verifica a presença da mutação S65C no gene da hemocromatose, que é a terceira mutação mais comum no gene HFE.

MÉTODO

PCR - RFLP

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar até 2 dias a temperatura ambiente.
Enviar até 7 dias entre 2° e 8° C.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

15 dias úteis

Hemocromatose - Diagnóstico molecular das mutações C282Y e H63D

Hemocromatose Hereditária clássica (HH) é uma desordem autossômica recessiva comum na população caucasiana, com uma prevalência entre 1:200 a 1:500 indivíduos. Caracteriza-se por aumento inapropriado da absorção do ferro pelo intestino, resultando em seu armazenamento excessivo, principalmente no fígado, pele, pâncreas, coração, articulações e testículos. Os indivíduos não tratados evoluem com fibrose hepática ou cirrose.

Foram identificadas cerca de 20 mutações no gene HFE, sendo que há, dentre elas, duas mutações do tipo missense C282Y e H63D mais comumente associadas à HH. Cerca de 90% dos afetados são homocigotos para a mutação C282Y, ou heterocigotos compostos C282Y/H63D. A variante H63D tem menor penetrância e determina formas mais brandas de HH.

Estudos genéticos das mutações C282Y e H63D são indicados para confirmação diagnóstica, como testes preditivos para familiares de afetados que tenham risco aumentado da doença e para identificação de portadores,

além do diagnóstico pré-natal. É importante ressaltar que o encontro de um certo genótipo determina apenas susceptibilidade genética e não firma o diagnóstico de hemocromatose que requer, além das alterações clínicas, outras análises, de acordo com os órgãos afetados.

MÉTODO

PCR Real Time End Point para mutação pontual C282Y e PCR mini sequenciamento para H63D. (Metodologia in house)

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

10 dias úteis

Hemocromatose - Diagnóstico molecular das mutações C282Y, H63D e S65C

Hemocromatose Hereditária clássica (HH) é uma desordem autossômica recessiva comum na população caucasiana, com uma prevalência entre 1:200 a 1:500 indivíduos. Caracteriza-se por aumento inapropriado da absorção do ferro pelo intestino, resultando em seu armazenamento excessivo, principalmente no fígado, pele, pâncreas, coração, articulações e testículos. Os indivíduos não tratados evoluem com fibrose hepática ou cirrose.

Foram identificadas cerca de 20 mutações no gene HFE, sendo que há, dentre elas, duas mutações do tipo missense C282Y e H63D mais comumente associadas à HH. Cerca de 90% dos afetados são homocigotos para a mutação C282Y, ou heterocigotos compostos C282Y/H63D. A variante H63D tem menor penetrância e determina formas mais brandas de HH.

A análise molecular deve ser solicitada para a confirmação do diagnóstico, em pacientes com elevação inexplicável da ferritina ou saturação de transferrina, na avaliação de parentes de pacientes afetados e para

diagnóstico pré-natal. O estudo genético da hemocromatose plus avalia as 3 mutações, C282Y, H63D e S65C que são as mais frequentemente relacionadas com o desenvolvimento desta doença.

MÉTODO

PCR Real Time End Point para mutação pontual C282Y, PCR mini sequenciamento para H63D e PCR-RFLP para S65C

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

10 dias úteis

Hemocromatose tipo III - Mutação Y250X no gene TFR2

Hemocromatose tipo 3 esta ligada a mutações no gene do receptor de transferrina tipo 2, localizado no locus 7q22. Y250X é a principal mutação relatada neste gene, com associação a sobrecarga de ferro. A hemacromatose hereditária relacionada a TFR2 (TFR2-HHC) se caracteriza-se por uma absorção de ferro intestinal aumentada que causa acúmulo de ferro no fígado, coração, pâncreas e nos órgãos endócrinos. O único gene associado a TFR2-HHC é o TFR2 que codifica para o receptor da transferrina-2. Em casos negativos para Y250X, recomenda-se realizar a análise de mutações pontuais p.Arg30ProfsX31, p.Met172Lys, p.Ala621_Gln624del in TFR2, que permitem identificar mutações em cerca de 50% dos indivíduos com TFR2-HHC.

MÉTODO

Amplificação baseada em sequência de ácido nucléico (LOINC®: NASBA)

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

- Até 2 dias a temperatura ambiente.
- Até 5 dias refrigerado de 2° a 8°C.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

45 dias úteis

JAK2 V617F (Policitemia vera, Trombocitemia e Mielofibrose idiopática)

A associação de JAK2 com desordens mieloproliferativas (MPDS), incluem Policitemia Vera(PV), Trombocitemia(ET) e Mielofibrose Idiopática(IMF). PV está associada ao aumento do número de precursores eritróides (eritrócitos),causando um aumento no volume sanguíneo, tornando-o mais espesso, de modo que o sangue passa a fluir com menor facilidade através dos pequenos vasos sanguíneos, podendo complicar para eventos trombóticos. Na trombocitemia, os megacariócitos tornam-se anormais e produzem plaquetas em excesso, levando à formação espontânea de coágulos, que provocam a obstrução do fluxo sanguíneo. Na mielofibrose ocorre um envolvimento dos fibroblastos (células que produzem tecido fibroso ou conjuntivo), que parecem ser estimulados por células precursoras anormais, possivelmente megacariócitos (células que produzem plaquetas).

A troca de um nucleotídeo guanina por uma timina no éxon 12 do gene Janus Quinase 2(JAK2) representa uma mutação que pode ser adquirida e está presente na li-

nhagem mielóide. Ocorre uma substituição do aminoácido fenilalanina por valina no códon 617,causando uma ativação constitutiva da Tyrosina kinase, que é responsável por crescimento celular. Esta mutação está presente em 66% dos casos de policitemia Vera, 23,6% de trombocitemia essencial e 35,6% de mielofibrose crônica, tornando-a um importante auxílio diagnóstico.

MÉTODO

PCR qualitativo em tempo real com TAQ MAN

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA ou Medula Óssea em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Até 5 dias refrigerado entre 2° e 8° C.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

7 dias úteis

12

Metilenotetrahidrofolato redutase - Mutações A1298C e C677T

A hiperomocisteinemia é o aumento da concentração plasmática de homocisteína, um derivado da metionina, cuja concentração é influenciada por fatores genéticos, nutricionais e patológicos. O aumento da homocisteína plasmática, de natureza genética, resulta de alterações funcionais das enzimas metileno tetrahidrofolato redutase (MTHFR) e cistationa beta sintetase (CBS), envolvidas no metabolismo da metionina ou da deficiência de co-fatores enzimáticos, como as vitaminas B6 e B12 e o ácido fólico.

O genótipo homocigoto mutante (677TT), encontrado em 4 a 14% da população em geral, está associado ao aumento de 25% da concentração plasmática de homocisteína e pode gerar defeitos neurológicos, retardo psicomotor, doença vascular prematura e tromboembolismo. A mutação A1298C, em homocigose, é responsável pela redução da atividade da MTHFR, aumentando os níveis de homocisteína. Efeitos similares aos observados para os homocigotos 677TT ocorrem na combinação de heterocigose para as duas mutações da MTHFR. Esta combinação é de grande relevância clínica para os eventos vasculares, visto que a frequência de A1298C e C677T varia de 40 a 50%, conforme as referências bibliográficas.

Estas mutações estão disponíveis nos seguintes módulos:

- A1298C - Mutações A1298C da MTHFR
- MTHFR - Mutações C677T da MTHFR
- METIL - Mutações A1298C e C677T da MTHFR

Para análises completas do perfil genético de trombofilia, são oferecidos:

- TROMBO - Estudo genético das trombofilias
- TROMPL - Estudo genético das trombofilias PLUS
- PRHOMO - Estudo genético da predisposição a Hiperhomocisteinemia

MÉTODO

PCR-RFLP para A1298C e PCR Real Time para C677T

CONDIÇÕES

Sangue Total em EDTA ou swab bucal.

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

10 dias úteis

13

Gene HJV - Mutações Pontuais GLY320 VAL

É recomendado que se inicie a pesquisa molecular para hemocromatose tipo 2 pelo estudo da mutação pontual Gly320Val do gene HJV, que está presente em cerca de 50% dos casos estudados. Em casos de resultado negativo para esta análise, recomenda-se partir para o sequenciamento completo do gene.

MÉTODO

PCR

CONDIÇÕES

Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

- Até 2 dias em temperatura ambiente ou até 7 dias refrigerado entre 2° e 8°C.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

30 dias úteis

Microquimerismo em Transplante de Medula

Este exame é indicado para pacientes que se submeteram ao transplante de medula a fim de se verificar o quimerismo. A semelhança do padrão genético observado entre o swab bucal e o sangue/medula do paciente indica que não houve a formação de quimerismo, ou seja, o transplante não foi eficiente. No entanto, uma vez obtido diferente padrão entre o swab bucal e o sangue/medula do paciente, há indicação da eficiência do transplante. O encontro de 3 ou mais alelos para um mesmo marcador indica a presença simultânea de resquícios da medula do paciente somada a nova medula recebida do doador.

MÉTODO	PCR STR Fluorescente
CONDIÇÃO	Sangue Total em EDTA e Swab bucal
CONSERVAÇÃO PARA ENVIO	Sangue: Até dois dias em temperatura ambiente ou até 7 dias refrigerado entre 2° e 8°C. Swab: Até 5 dias em temperatura ambiente.
TEMPO DE LIBERAÇÃO	10 dias úteis

PAI-1 - Polimorfismo 4G/5G

O inibidor do ativador do plasminogênio tipo 1 (PAI-1) forma um complexo com o ativador do plasminogênio tissular (t-PA), desempenhando atividade reguladora da hemostasia. Mais exatamente, o PAI-1 tem atividade inibidora fibrinolítica. O polimorfismo 4G/5G, uma variação comum na região promotora do gene do PAI-1, consiste numa inserção ou deleção de uma guanosina, a 675pb após o sítio de início da tradução; que afeta a transcrição deste gene e, portanto, está relacionado com a concentração plasmática do PAI-1. O alelo 4G apresenta um sítio de ligação para um ativador da transcrição, o que reflete em maiores concentrações de PAI-1; enquanto o alelo 5G apresenta um sítio de ligação adicional, destinado a um repressor de transcrição, resultando em menores níveis de PAI-1 circulantes. Homozigotos para o alelo 4G têm concentrações 25% maiores de PAI-1 que indivíduos homozigotos para 5G.

A presença do alelo 4G está associada com o risco aumentado de eventos tromboembólicos e doenças cardiovasculares, inclusive de 20% para o infarto do miocárdio, uma vez que inibe a fibrinólise e pode exarcebar

lesões teciduais, afetando negativamente o prognóstico. Além disso, altas concentrações de PAI-1 são encontradas em mulheres com aborto precoce de causa desconhecida, visto que a fibrinólise prejudicada promove a deposição de fibrina na circulação placentária precocemente.

MÉTODO	PCR Fluorescente e Genotipagem em Sequenciador Automático do polimorfismo 4G/5G do gene PAI-1
CONDIÇÃO	Sangue Total em EDTA
CONSERVAÇÃO PARA ENVIO	Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.
TEMPO DE LIBERAÇÃO	10 dias úteis

14

Predisposição genética a hiperhomocisteinemia (CBS, MTHFR C677T e MTHFR A1298C)

Entre as causas hereditárias da hiperhomocisteinemia destacam-se a deficiência funcional da cistationina b-sintetase (CBS) e a variante termolábil da metileno tetra-hidrofolato redutase (MTHFR), responsáveis pela deficiente conversão de homocisteína em cistationina. Isto constitui fator de risco isolado para doenças vasculares, incluindo a doença arterial coronariana, o tromboembolismo venoso e o acidente cerebral vascular. Estudos de meta-análise reforçam a importância da hiperhomocisteinemia como fator de risco para o tromboembolismo venoso. O estudo genético, em conjunto, da CBS e da MTHFR tem maior valor informativo quanto à predisposição à hiperhomocisteinemia do que quando analisado apenas uma das enzimas.

O estudo genético dos polimorfismos da MTHFR e CBS é indicado para indivíduos com história familiar de doença arterial coronariana, tromboembolismo venoso e acidente cerebral vascular, relacionados a hiperhomocistei-

nemia. Mutações em outros genes ou outras mutações que causem hiperhomocisteinemia não estão excluídas por este exame.

MÉTODO

PCR para CBS + PCR RFLP e PCR Real time para mutações no gene MTHFR

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA.

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

10 dias úteis

Predisposição genética à hipertensão (ECA I/D e Proteína G C825T)

O genótipo 825TT do GNB₃ contribui para um alto risco de hipertensão e obesidade em brancos e negros e ao genótipo thrifty. O alelo 825T associa-se ao aumento da massa corporal e retenção de peso na população em geral e, principalmente, em mulheres primíparas. Vários estudos também indicam o papel farmacogenético do polimorfismo 825T, concernente a resposta farmacológica a sibutramina, um fármaco empregado no tratamento de redução de peso e sua manutenção. Diante da significativa variabilidade individual quanto a terapia com sibutramina, pesquisas evidenciaram sua maior efetividade em indivíduos de genótipo CC do que em genótipo CT ou TT.

A ECA (enzima conversora de angiotensina) também é responsável pela regulação da pressão arterial. Portadores do genótipo DD (homozigose para o alelo D) para a ECA apresentam concentrações séricas mais elevadas da enzima, enquanto portadores do genótipo II (homozigose para o alelo I) apresentam concentração mais baixas de ECA. Segundo dados da literatura, os portadores do genótipo DD possuem um risco de serem acometidos

por infarto aumentado em 3,2 vezes em relação aos genótipos II e ID. Os genótipos 825TT do GNB₃ e DD da ECA atuam independente e sinergicamente para o desenvolvimento de hipertensão. Portanto, o estudo genético dos polimorfismos da Proteína G e da ECA é indicado para indivíduos com história familiar de hipertensão. Um resultado positivo para quaisquer dos dois polimorfismos indica predisposição genética à hipertensão e portanto, sugere a prevenção quanto ao seu desenvolvimento.

MÉTODO

PCR para ECA e PCR RFLP para Proteína G

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Até 2 dias a temperatura ambiente.
Até 5 dias refrigerado entre 2 e 8 °C.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

10 dias úteis

15

Proteína G (Hipertensão) - Polimorfismo C825T

O genótipo 825TT do GNB3 contribui para um alto risco de hipertensão e obesidade em brancos e negros e ao genótipo thrifty. O alelo 825T associa-se ao aumento da massa corporal e retenção de peso na população em geral e, principalmente, em mulheres primíparas. Vários estudos também indicam o papel farmacogenético do polimorfismo 825T, concernente a resposta farmacológica a sibutramina, um fármaco empregado no tratamento de redução de peso e sua manutenção. Diante da significativa variabilidade individual quanto a terapia com sibutramina, pesquisas evidenciaram sua maior efetividade em indivíduos de genótipo CC do que em genótipo CT ou TT.

MÉTODO

PCR RFLP para polimorfismo C825T

CONDIÇÃO

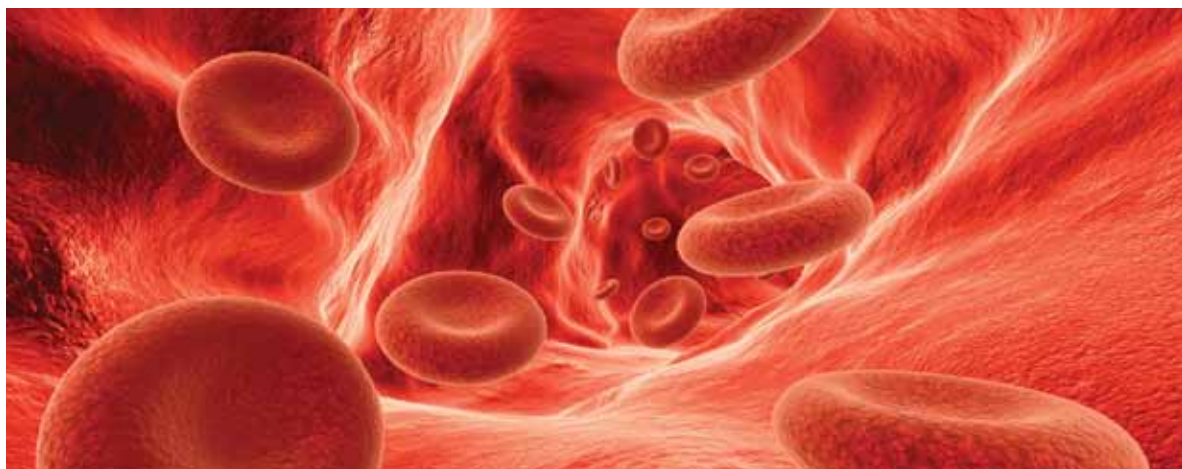
Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Até 2 dias à temperatura ambiente.
Até 5 dias refrigerado entre 2° a 8°C.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

10 dias úteis



16

Protrombina - Mutação

Uma transição G para A no último nucleotídeo 20210 da região não traduzida 3' do DNA complementar do gene do fator II da coagulação (protrombina), aumenta a estabilidade do RNA mensageiro da protrombina e assim, essa mutação eleva os níveis plasmáticos de protrombina, resultando na formação aumentada de trombina e consequentemente coagulação exacerbada e risco aumentado para ocorrência de TEV. Em pacientes com eventos tromboembólicos, a prevalência do alelo mutante da protrombina varia de 4% a 7%, enquanto que em indivíduos normais, a frequência está estimada em cerca de 2,3%.

Este exame é disponível nos seguintes mnemônicos:

- GENPRO - Mutação no gene da protrombina
- TROMBO - Estudo genético das trombofilias
- TROMPL - Estudo genético das trombofilias PLUS

MÉTODO

PCR Real Time para mutação pontual G20210A do gene da Protrombina

CONDIÇÃO

- Sangue Total em EDTA ou saliva (swab bucal).

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

- Sangue: Até 2 dias em temperatura ambiente ou até 7 dias refrigerado entre 2° e 8°C.
- Swab: Até 5 dias em temperatura ambiente.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

10 dias úteis

Rearranjo BCL1/JH t(11,14)

O gene codifica a ciclina D1; 295 aminoácidos; 36 kDa.

Expressão: não há uma expressão normal em linfócitos; expressão dependente de ciclo celular: máxima em G1, mínima em S.

LOCALIZAÇÃO: principalmente nuclear.

FUNÇÃO: Controle do ciclo celular: Progressão de G1 a G1/S; forma complexos com CDK4 e 6; fosforilação de RB1 pela ciclina D1/CDK4; inibida por P21, P15 e P16

ENTIDADE: t(11;14)(q13;q32)/B-cell . BCL1 - IgH.

PATOLOGIA: t(11;14) detecta-se principalmente no linfoma de células do manto; também na leucemia promielocítica, linfoma esplênico; raro em leucemia linfocítica crônica, mieloma múltipla.

RESULTADO DA ANOMALIA CROMOSSÔMICA: 5' BCL1 translocado no cromossomo 14 cerca de JH (IgH) e C em 3'.

PROTEÍNA ANORMAL: Não existe proteína de fusão, mas troca de promotor; o enhancer do gene da imunoglobulina estimula a expressão de bcl-1. Esta expressão acelera o trânsito celular na fase G1.

DIAGNÓSTICO: A detecção se faz mediante Nested PCR.

O teste é indicado para determinar a presença ou ausência de rearranjo no gene BCL1 em casos recentemente diagnosticados de linfoma de células do manto, linfomas não classificados ou para monitorização de doença residual mínima. É realizada a pesquisa para fusões IgH/BCL1, presentes na maior região MCL2. Um resultado positivo indica a presença de translocação cromossomal bcl-1/JH t(11;14). Um resultado negativo não exclui completamente a presença desta translocação.

MÉTODO

PCR

CONDIÇÃO

- Medula Óssea em EDTA ou sangue total em EDTA.

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

- Até 3 dias refrigerado entre 2° e 8° C

TEMPO DE LIBERAÇÃO

15 dias úteis

Rearranjo BCL2/JH t(14,18)

BCL2 apresenta 25 kDa; 205 aminoácidos (BCL2b) ou 239 aminoácidos (BCL2a que tem, além disso, uma terminação hidrofóbica aderida a membrana. Esta terminação tem atividade anti-apoptótica. Contém domínios BH (homo/heterodimerização) e NH.

EXPRESSÃO: ampla; em B e T em particular.

LOCALIZAÇÃO: Principalmente em membrana mitocondrial.

FUNÇÃO: antiapoptoses, mediante um processo complexo; dimerização com BAX; papel antiapoptótico formando complexos com caspase-9 e APAF1, prevenindo o metabolismo de proteases (através de ativação dependente de caspase-3 citocromo C).

ENTIDADE: t(14;18)(q32;q21)/B-cell . IgH - BCL2

PATOLOGIA: B-cell NHL principalmente;

INCIDÊNCIA: Encontra-se em 80% - 90 % de linfomas foliculares, 30% de linfomas de células grandes difusas.

RESULTADO DA ANOMALIA CROMOSSÔMICA: 5' BCL2 se transloca no cromossomo 14 cerca de JH (IgH) e C em 3'.

PROTEÍNA ANORMAL: Não existe proteína de fusão, mas troca de promotor; o enhancer do gene da imunoglobulina estimula a expressão de BCL-2. Como BCL-2 é um

inibidor apoptótico, há um atraso na morte celular e há um acúmulo celular.

O exame genético é empregado para detecção molecular da alteração cromossômica ocasionada pela t(14;18) (q32;q21), que caracteriza 90% dos casos de linfoma folicular. O resultado da translocação é a transformação maligna das células afetadas e consequente alteração da expressão gênica do BCL2, o que favorece a proliferação das células linfóides em relação as células normais.

O rearranjo de BCL-2 é indicado para o diagnóstico de linfomas difusos de células grandes e investigação e monitorização de Doença Residual Mínima (DRM) durante e ao final do tratamento.

MÉTODO

PCR nested

CONDIÇÃO

- Medula Óssea em EDTA ou Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

- Até 3 dias refrigerado entre 2° e 8° C.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

15 dias úteis

17



Rearranjo BCL6

PATOLOGIA: O maior número de translocações que afetam o gene BCL-6 são encontrados nos linfomas B non-Hodgkin

18

INCIDÊNCIA: Detecta-se de 15%-40% dos casos em linfomas de células B grandes (DLBCL), 6%-15% de linfomas foliculares e 50% dos casos de linfomas de Hodgkin nodulares.

EXPRESSÃO: Na linha germinal de células B e T, outros tecidos linfóides, células musculares e queratinócitos.

LOCALIZAÇÃO: Nuclear.

FUNÇÃO: A proteína se une a uma sequência específica de DNA e reprime sua transcrição. A união do DNA é mediada através da sequência TTCCT(A/C)GAA enquanto as interações proteína-proteína se realizam mediante domínios BTB/POZ inter-atuando com outras proteínas através de dedos de zinco (incluindo *Histone Deacetylase 1* (HDAC1) e *Silencing Mediator of Retinoid and Thyroid Receptor 1* (SMRT1)). O extremo carboxi-terminal, por outra parte, é responsável pela união específica do DNA através de seus 6 dedos de zinco.

ENTIDADE: 3q27 /NHL (non Hodgkin linfomas).

CITOGENÉTICA: Os reordenamentos em 3q27 são diversos e incluem microdeleções, mutações pontuais e hiper-mutação. Em 50% destas translocações, são afetados os genes Ig em 14q32 (IgH), 2p12 (IgK) e 22q12 (IgL) (e.g. t(3;14)(q27;q32)). Menos da metade afetam a outras regiões cromossômicas (1q21, 2q21, 4p11, 5q31, 6p21, 7p12,

8q24, 9p13, 11q13, 11q23, 12q11, 13q14-21, 14q11, 15q21; 16p11...). Além dessas, há alterações bialélicas.

RESULTADO DA ANOMALIA CROMOSSÔMICA: A substituição de promotor entre BCL-6 e suas diferentes partes dão lugar a transcritos quiméricos com um extremo 5' do gene participante fusionado ao local de splice do éxon 2 do BCL-6. Em alguns casos é possível encontrar quimeras recíprocas com a região reguladora 5' do BCL-6 fusionada com região codificante do gene partner.

O gene BCL6, altamente expresso em células germinativas tipo B, desempenha uma função central na modulação da transcrição dos genes envolvidos na ativação linfocítica, ciclo celular, apoptose e diferenciação. Expressão alterada de BCL6 em células B germinativas tem função oncogênica, provavelmente por inibir a apoptose e aumentar a proliferação celular. São conhecidas mutações na região 5' não codificante, relacionadas a estes eventos.

MÉTODO

PCR multiplex

CONDIÇÃO

Medula Óssea em EDTA ou Sangue Total em EDTA.

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Até 3 dias refrigerado entre 2° e 8° C..

TEMPO DE LIBERAÇÃO

15 dias úteis

Translocação BCR-ABL - Qualitativo

A Leucemia Mielóide Crônica (LMC) é a doença mieloproliferativa mais comum, representando cerca de 20% a 25% de todos os casos de leucemia e cerca de 3% das leucemias infantis, sendo que sua incidência é de 1 caso a cada 100.000 pessoas em países ocidentais. Acomete principalmente indivíduos entre 45 e 55 anos, sendo que 30% dos pacientes diagnosticados têm mais de 60 anos.

A LMC caracteriza-se pela presença do cromossomo Philadelphia (Ph), que resulta da fusão de parte do oncogene ABL no cromossomo 9 com o gene BCR no cromossomo 22. Esta fusão é denominada translocação BCR/ABL (p210) ou translocação t(9;22) e apresenta dois tipos característicos: b2a2 e b3a2.

Embora o diagnóstico da LMC possa ser feito por análise citogenética, tendo uma sensibilidade de 90%, a detecção da translocação BCR/ABL através de Reação em Cadeia da Polimerase Reversa (RT-PCR) é considerada a técnica mais sensível para diagnóstico desta Leucemia (aproximadamente 98% de sensibilidade), podendo identificar uma célula maligna em até 10⁶ células normais.

Devido a sua alta sensibilidade, a RT-PCR é a técnica mais indicada não só para o diagnóstico inicial da LMC, mas também para identificação de células malignas

resistentes após tratamento com quimioterápicos (Doença Residual Mínima) e na monitorização de pacientes submetidos a transplante de medula. Por fim, o controle e a cura da LMC necessitam de um diagnóstico exato, preciso e com alta sensibilidade que só a técnica da Reação em Cadeia da Polimerase Reversa (RT-PCR) pode oferecer.

MÉTODO

Reação em Cadeia da Polimerase Reversa (RT-PCR)

CONDIÇÃO

Sangue de Medula Óssea em EDTA ou Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

- Enviar material refrigerado entre 20 e 80 em até 7 dias.
- Não congelar.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

10 dias úteis



Trombofilias - Estudo genético

Trombofilias são doenças multifatoriais, em que, fatores genéticos de suscetibilidade e fatores ambientais determinam tendência à trombose venosa, geralmente de caráter familiar.

O Fator V Leiden resulta na resistência do FV à clivagem pela proteína C ativada, aumentando o risco de eventos vasoclusivos venosos, em portadores em homozigose ou heterozigose dessa mutação. Os pacientes heterozigotos possuem um risco trombótico sete vezes maior e os homozigotos até 80% maior do que indivíduos controle. Os eventos trombóticos relacionados a esta mutação são comumente de origem venosa, acometendo principalmente vasos profundos de membros inferiores e menos frequentemente o sistema porta, veias superficiais e cerebrais.

A mutação G20210A no gene da Protrombina acarreta elevação nos níveis plasmáticos desta proteína na ordem de 30%, resultando na formação aumentada de trombina e consequente coagulação exarcebada, com risco aumentado para trombose venosa, cerca de 3 vezes em comparação à população em geral. Este polimorfismo também predispõe a embolia pulmonar e trombose venosa cerebral, sendo que alguns autores sugerem também um risco de trombose arterial.

20

A variante termolábil da metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR) é uma responsável genética pela deficiente conversão de homocisteína em cistationina, causando a hiperhomocisteinemia. Isto constitui fator de risco isolado para doenças vasculares, incluindo a doença arterial coronariana, o tromboembolismo venoso e arterial e o acidente cerebral vascular. Estudos de meta-análise

reforçam a importância da hiperhomocisteinemia como fator de risco para o tromboembolismo venoso.

Em suma, a presença isolada ou em conjunto destes polimorfismos deve ser vista como um fator predisponente à trombofilia e deve direcionar o indivíduo portador a medidas de prevenção.

EQUIVALE

- Fator V Leiden
- Metilenotetrahidrofolato Redutase C677T
- Gene Da Protrombina

MÉTODO

PCR Real Time End Point para mutação pontual R506Q (G1691A) do gene Fator V Leiden, PCR em tempo Real End Point para a mutação pontual C677T no gene MTHFR, PCR Real Time End Point para Mutação G20210A do gene da Protrombina

CONDIÇÃO

- Sangue Total em EDTA
- swab bucal

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

- Sangue: Até 2 dias a temperatura ambiente ou 7 dias refrigerado entre 2° e 8° C.
- Saliva: Até 2 dias refrigerado entre 2° e 8° C.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

10 dias úteis



Trombofilias Plus - Estudo genético

O Estudo Genético das Trombofilias Plus avalia as 6 mutações mais relevantes para o desenvolvimento de eventos trombóticos. (Ver também PAI-1, CBS e A1298C).

A importância do ESTUDO GENÉTICO DAS TROMBOFILIAS PLUS se baseia em dois fatos:

1. A trombose por tratar-se de uma modificação genética, em grande porcentagem dos casos, apresenta um risco de ocorrência e recorrência permanente. Esse conhecimento dá condição ao médico de proteger o paciente através de medicamentos e outras atitudes muito bem estabelecidas em estudos mundiais.
2. As alterações genéticas de qualquer natureza têm o risco de serem transmitidas aos descendentes diretos. Portanto, o reconhecimento destas alterações pode motivar a pesquisa familiar, com o intuito de identificar o grupo de pessoas que pode ter o risco de trombose sem qualquer conhecimento e direcioná-lo a medidas de prevenção.

EQUIVALE

- Fator V Leiden
- Gene Da Protrombina
- Metilenotetrahidrofolato Redutase C677T
- Metilenotetrahidrofolato Redutase A1298C
- Polimorfismo 4G/5G no Gene PAI-1
- Polimorfismo 844INS68 da CBS

MÉTODO

PCR Real Time End Point para mutacao pontual R506Q (G1691A) do gene

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

- Até 2 dias em temperatura ambiente ou até 7 dias refrigerado entre 2° e 8°C.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

10 dias úteis

Varfarina, análise molecular ampliada da sensibilidade a - Genes VKORC1 e CYP450

Terapia anticoagulante oral com derivados cumarínicos, realizada principalmente com varfarina, é usada amplamente para profilaxia de tromboembolismo, trombose arterial e venosa e sua recorrência, bem como para pacientes com válvula cardíaca mecânica. No entanto, o controle da anticoagulação oral é geralmente dificultada pela variabilidade individual quanto as doses requeridas para prevenção adequada. Os cumarínicos representam o grupo dos antagonistas da vitamina K e a varfarina sódica é a droga mais comumente usada.

O polimorfismo genético C1173T na subunidade 1 do complexo da vitamina K epóxi redutase (VKORC1) altera a atividade da enzima vitamina K epóxi redutase, influenciando a ativação dos fatores de coagulação. Pacientes que apresentam o genótipo 1173TT podem apresentar um maior risco de desenvolver hemorragias quando medicados com varfarina, enquanto o genótipo 1173CC está relacionado com maiores doses requeridas deste anticoagulante, para se atingir o equilíbrio da hemostasia.

O citocromo P-450 CYP2C9 catalisa a conversão do enantiômero mais potente S-varfarina em seus metabólitos inativos, com 100% de atividade para o alelo CYP2C9*1. Respectivamente, os alelos CYP2C9*2 e CYP2C9*3 têm 12% e 5% da atividade enzimática.

MÉTODO

PCR em tempo real para polimorfismo G1639A do gene VKORC1 PCR RFLP para polimorfismos CYP2C9*2 e CYP2C9*3

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

- Até 2 dias a temperatura ambiente.
- Até 5 dias refrigerado.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

7 dias úteis



O Hermes Pardini prioriza a constante atualização de técnicas avançadas e metodologias precisas do mundo científico, buscando a prestação de serviços com excelência na área de Genética Molecular. Isto permite atender e superar as expectativas de nossos clientes na qualidade de nossos exames, permitindo com a máxima precisão, detectar a presença de agentes patogênicos responsáveis pelas doenças infecciosas, diagnosticar desordens genéticas e oferecer testes com total confiabilidade.

O diagnóstico genético molecular vem adquirindo papel preponderante na prática da medicina. Muitos médicos, em sua atividade clínica, têm se encontrado por diversas vezes diante da necessidade de confirmar uma hipótese diagnóstica relacionada com uma doença genética. Deste modo, as alternativas apresentadas neste CATÁLOGO são propostas do Laboratório Hermes Pardini para dar suporte aos Laboratórios Conveniados e profissionais médicos, oferecendo estas e futuras alternativas diagnósticas.

A Genética de Microorganismos do Hermes Pardini é reconhecida por oferecer um amplo menu de exames que auxiliam nas decisões clínicas como contribuição para a melhoria da saúde. Disponi-

bilizamos testes moleculares para diagnóstico preciso e precoce de diversas doenças infecciosas e acompanhamento de pacientes, permitindo um tratamento mais direcionado e o monitoramento da resposta do paciente à terapia.

Dentre as metodologias empregadas temos a Reação em Cadeia de Polimerase(PCR), PCR em Tempo Real, Análise de Perfil de Fragmentação por Enzima de Restrição, Captura Híbrida e Sequenciamento Genético.

Como importantes diferenciais de qualidade, a área apresenta pessoal altamente qualificado para a execução de todos os diagnósticos moleculares e automação total para diagnóstico de alguns microor-

ganismos infecciosos.

A área ocupada pela divisão foi desenhada para atender aos mais altos padrões de qualidade, com fluxo unidirecional, evitando contaminações e garantindo segurança no diagnóstico.

Neste CATÁLOGO DE DIAGNÓSTICO EM GENÉTICA MOLECULAR, os exames são oferecidos ao cliente apresentados por especialidade médica para praticidade e otimização da consulta.

DIAGNÓSTICO EM GENÉTICA MOLECULAR

