

*Resumo de Tese / Thesis***Efeito da hidroxiuréia e progesterona na regulação da transcrição do gene da gama globin***Effect of hydroxyurea and progesterone in the regulation of the expression of the beta-globin gene*

Adriana S. S. Duarte

Orientadora:

Sara T. O. Saad

Resumo

A anemia falciforme é uma doença hereditária com alta incidência na população, causada por um defeito estrutural na cadeia β -globina, originando a HbS. Essa hemoglobina anômala, sob baixas tensões de oxigênio, forma polímeros intracelulares, provocando a deformação dos eritrócitos que por sua vez bloqueiam a microcirculação, ocasionando infarto de vários órgãos. Estudos clínicos demonstraram que a HbF possui a capacidade de inibir a polimerização da UbS e reduzir a falcização, melhorando o quadro clínico.

A indução farmacológica por vários compostos químicos, dentre os quais a hidroxiuréia (HU), 5-azacitidina, butirato e os hormônios esteróides, aumentam a síntese de HbF em pacientes com anemia falciforme. A regulação da expressão da UbF está relacionada à presença de elementos ativos ligados em "cis" ao complexo da β -globina, bem como de proteínas regulatórias do processo de transcrição gênica denominadas fatores de transcrição, como as proteínas CATA-1, GATA-2 e NF-E2, expressas principalmente na linhagem eritróide.

Esse projeto teve por objetivo estudar o efeito da HU e do hormônio progesterona na modulação da expressão gênica pelos fatores de transcrição GATA-1, GATA-2 e NF-E2 e do gene γ globina, em células da linhagem eritróide obtidas através da cultura de duas fases a partir de sangue periférico de doadores de sangue atendidos no Hemocentro da Unicamp. A expressão dos genes dos fatores de transcrição foi determinada por RT-PCR semiquantitativo e quantificação por densitometria.

Os nossos resultados mostraram que nas células tratadas com HU ou progesterona houve aumento significativo da expressão do fator de transcrição GATA-1 e do gene γ globina a partir de 96hs da Fase II do sistema de cultura líquida em duas fases até o seu término com 216hs, quando comparada com as células sem tratamento ($p < 0,05$, teste de Wilcoxon). A expressão do fator de transcrição NF-E2 não demonstrou sofrer influência pela administração de HU e progesterona durante todo o processo de diferenciação eritróide e ambos os fármacos não exerceram qualquer influência de caráter significativo sobre a expressão do fator de transcrição GATA-2 ($p > 0,05$, teste de Wilcoxon).

Abstract

Sickle cell anemia is a very common hereditary disease caused by a structural defect in the beta-globin chain, giving rise to HbS. This anomalous hemoglobin, under low oxygen tensions, forms intracellular polymers, causing deformation of the erythrocytes which, in turn, block the micro-circulation and cause infarction in various organs.

Pharmacological induction using various chemical compounds, the best known being hydroxyurea (HU), 5-azacytidine, butyrate and steroid hormones, increase the synthesis of HbF in sickle cell patients. The regulation of the expression of HbF is related to the presence of active elements linked "cis" to the beta-globin as well as to the presence of regulatory proteins of the genomic transcription process (known as transcription factors), such as the GATA-1, GATA-2 and NF-E2 proteins, expressed principally in the erythroid lineage

This project aimed to study the effect of HU and the hormone progesterone on the modulation of the genetic expression of the transcription factors

GATA-1, GATA-2, NF-E2 and the gamma globin gene in erythroid lineage cells obtained from two-phase culture of peripheral blood donors at the Hemocenter, UNICAMP. The expression of the transcription factors was determined by semi-quantitative RT-PCR and quantified by densitometry.

Our results demonstrate that in the cells treated with HU and progesterone there was a significant increase, when compared with the untreated cells ($p < 0.05$, Wilcoxon test), in the expression of the GATA-1 transcription factor and of the gamma globin gene after 96hs of phase II culture until termination at 216hs. The expression of the NF-E2 transcription factor was not affected by HU or progesterone administration during the entire process of erythroid differentiation and neither of the chemicals had any significant influence upon the expression of the GATA-2 transcription factor ($p > 0.05$, Wilcoxon test).

Recebido – 24/02/2002

Aceito – 15/05/2002