

## Disfunções ribossômicas na anemia de Diamond-Blackfan

Ribosomal dysfunctions in Diamond-Blackfan anemia

Disfunciones ribosómicas en la anemia de Diamond-Blackfan

Felipe Henrique da Silva<sup>1</sup>, Elton Gonçalves de Oliveira<sup>1</sup>, Graziela Maria da Silva<sup>1</sup>, José Antônio Figueiredo Santos<sup>1</sup>, Larissa Kécia da Silva do Carmo<sup>1</sup>, Elisangela Vilar de Assis<sup>1</sup>, Francisco José Gonçalves Figueiredo<sup>1</sup>, Rafaelle Cavalcante de Lira<sup>1</sup>.

### RESUMO

**Objetivo:** Identificar na literatura científica a associação entre distúrbios ribossomais e sua implicação na anemia de Diamond-Blackfan. **Métodos:** Trata-se de uma revisão integrativa com artigos publicados entre 2008 a 2023, no idioma português, inglês e espanhol e com texto completo disponível. Utilizou-se como questão norteadora: Qual a relação entre as disfunções nos ribossomos e a Anemia de Blackfan-Diamond? A pesquisa bibliográfica foi realizada em outubro de 2023, sendo realizada buscas nas bases de dados: BVS e PUBMED, por meio dos Descritores em Ciências da Saúde (DeCS): Ribossomos e Anemia de Diamond-Blackfan, e pelo Medical Subject Headings terms (MeSh terms): dysfunction, ribosome e anemia, diamond blackfan, realizando-se combinações com os termos com o uso do operador booleano "AND". **Resultados:** 13 artigos que obedeceram aos critérios de inclusão e exclusão, nos quais os mecanismos subjacentes da DBA foram explorados, destacando-se questões genéticas e moleculares. **Considerações finais:** A pesquisa destaca a complexidade dos mecanismos de biogênese ribossômica, genes reguladores, proteína p53, associando-os a produção de células sanguíneas e na caracterização fenotípica da doença. O entendimento da interligação desses aspectos regulatórios é imprescindível para diagnóstico e tratamento, abrindo perspectivas para terapias mais direcionadas no futuro.

**Palavras-chave:** Anemia de Diamond-Blackfan, Ribossomos, Proteínas, Gene.

### ABSTRACT

**Objective:** To identify in the scientific literature the association between ribosomal disorders and their implication in Diamond-Blackfan anemia. **Methods:** This is an integrative review, with articles published between 2008 and 2023, in Portuguese, English, and Spanish, with full text available. The guiding question was: What is the relationship between ribosomal dysfunctions and Diamond-Blackfan anemia? The bibliographic search was conducted in October 2023, with searches in the following databases: BVS and PUBMED, using Health Science Descriptors (DeCS): Ribosomes and Diamond-Blackfan Anemia, and Medical Subject Headings terms (MeSH terms): dysfunction, ribosome, and anemia, diamond blackfan, combining terms using the boolean operator "AND". **Results:** 13 articles that met the inclusion and exclusion criteria, in which the underlying mechanisms of DBA were explored, with a focus on genetic and molecular aspects. **Final considerations:** The research highlights the complexity of ribosomal biogenesis mechanisms, regulatory genes, p53 protein, linking them to blood cell production and the phenotypic characterization of the disease. Understanding the interconnection of these regulatory aspects is essential for diagnosis and treatment, opening up prospects for more targeted therapies in the future.

**Keywords:** Diamond-Blackfan Anemia, Ribosomes, Proteins, Gene.

<sup>1</sup>Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Cajazeiras – PB.

## RESUMEN

**Objetivo:** Identificar en la literatura científica la asociación entre trastornos ribosomales y su implicación en la anemia de Diamond-Blackfan. **Métodos:** Se trata de una revisión integrativa, con artículos publicados entre 2008 y 2023, en portugués, inglés y español, y con texto completo disponible. La pregunta guía fue: ¿Cuál es la relación entre las disfunciones ribosomales y la anemia de Diamond-Blackfan? La búsqueda bibliográfica se realizó en octubre de 2023, con búsquedas en las siguientes bases de datos: BVSy PUBMED, utilizando Descriptores en Ciencias de la Salud (DeCS): Ribosomas y Anemia de Diamond-Blackfan, y términos del Medical Subject Headings (MeSH): disfunción, ribosoma y anemia, diamond blackfan, combinando términos utilizando el operador booleano "AND". **Resultados:** Se encontraron 13 artículos que cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión, en los que se exploraron los mecanismos subyacentes de la DBA, con un enfoque en aspectos genéticos y moleculares. **Consideraciones finales:** La investigación resalta la complejidad de los mecanismos de biogénesis ribosómica, genes reguladores, proteína p53, vinculándolos a la producción de células sanguíneas y la caracterización fenotípica de la enfermedad. Comprender la interconexión de estos aspectos regulatorios es esencial para el diagnóstico y tratamiento, abriendo perspectivas para terapias más dirigidas en el futuro.

**Palabras clave:** Anemia de Diamond-Blackfan, Ribosomas, Proteínas, Gen.

## INTRODUÇÃO

Os ribossomos são estruturas moleculares responsáveis pela tradução eficiente e precisa do código genético em proteínas em todos os tipos celulares. Todos os ribossomos, procariotos ou eucariotos, são formados por duas subunidades, sendo elas construídas por proteínas e RNA (WILSON DN e DOUDNA CATE JH, 2012).

O ribossomo 80s, presente nas células eucarióticas, possui duas subunidades, 60s e 40s, que, juntas, apresentam cerca de 80 proteínas articuladas em volta do RNA ribossômico. A subunidade menor (40s), garante o emparelhamento eficiente dos códons e do RNA transportador, uma vez que é responsável pela correta ligação e decodificação do RNA mensageiro, enquanto a subunidade maior (60s), é responsável por possuir o sítio ativo da enzima peptidil transferase, que forma as ligações peptídicas durante a síntese protéica. Além da síntese proteica, os ribossomos são, também, responsáveis por orientar os polipeptídeos para a sua localização celular correta (DOUDNA JA e RATH VL, 2002).

As ribossomopatias constituem um conjunto de distúrbios, nos quais irregularidades genéticas resultam em um desequilíbrio da biogênese e da função dos ribossomos (NARLA A e EBERT BL, 2010). A Anemia de Blackfan-Diamond (DBA), participante desse conjunto, é marcada por insuficiência eritróide, defeitos congênitos e, possível, predisposição ao câncer (LIPTON JM e ELLIS SR, 2009).

Drapchinskaja N, et al. (1999) discutiram sobre mutações regulares em um gene da proteína ribossômica RPS19 em pacientes com anemia Blackfan-Diamond. Com o passar do tempo, desde a primeira descrição sobre a relação entre disfunções ribossômicas e a síndrome de Diamond-Blackfan (DBA), foram descobertas, também, mutações nos genes RPS24, RPS17 e RPL35A, em cerca de 1/3 dos pacientes afetados (NARLA A e EBERT BL, 2010).

A síndrome de Blackfan-Diamond, é classificada como uma hipoplasia eritróide congênita rara, com uma incidência de 7 casos por milhão de nascidos vivos (DA COSTA L, et al., 2020). Como características hematológicas, esses paciente, geralmente, apresentam uma anemia crônica que se caracteriza por glóbulos vermelhos anormalmente grandes e com coloração normal. Além disso, eles têm uma contagem reduzida de reticulócitos (células precursoras de glóbulos vermelhos) e uma falta ou diminuição dessas células precursoras na medula óssea. Isso indica um problema na formação dos glóbulos vermelhos, embora a produção de glóbulos brancos e plaquetas na medula óssea esteja dentro dos parâmetros normais. Além disso, cerca de 1/3 dos pacientes com DBA apresentam anormalidades físicas congênitas, sendo mais comuns malformações do polegar e membros superiores, como também anomalias craniofaciais e baixa estatura (ENGIDAYE G, et al., 2019).

Cerca de 25% dos pacientes diagnosticados com essa síndrome, apresentam um defeito no gene que codifica a proteína S19 nos ribossomos, essa proteína compõe a subunidade 40s do ribossomo (CHOESMEL V, 2006). A ruptura ou mutações no gene RPS19 bloqueiam a formação da subunidade 40s, já que afetam a maturação do RNA pré-ribossômico. Essa deficiência na biogênese ribossomal pode comprometer a tradução celular, devido a falha ou baixa taxa na síntese das subunidades ribossômicas pequenas, ou, ainda, levar a célula a entender a situação como um “estresse nucleolar”, o que pode favorecer a parada do ciclo celular. Assim, esses acontecimentos poderiam impedir a formação e a diferenciação de proeritroblastos (GREGORY LA, 2007).

Diante deste cenário, o presente estudo visa contribuir para o conhecimento científico por meio de um levantamento bibliográfico sobre as disfunções ribossomais e a Anemia de Blackfan-Diamond. O objetivo foi impactar positivamente as equipes multiprofissionais em busca de atualizações sobre essa patologia, proporcionando insights valiosos para a compreensão e o manejo da doença.

## MÉTODOS

O presente estudo é caracterizado como uma revisão integrativa de literatura, uma vez que é escrito para identificar e analisar estudos sobre um assunto comum e contribuir para uma compreensão benéfica e completa da questão analisada (SOUZA MT, et al., 2010).

Para elaboração desta revisão foram seguidas seis etapas distintas e sequenciais preconizadas na literatura: 1) definição do tema e questão de pesquisa; 2) estabelecimento de critérios de inclusão e exclusão; 3) definição das informações a serem extraídas dos estudos selecionados; 4) avaliação dos estudos incluídos na revisão; 5) análise e interpretação dos resultados e 6) apresentação da revisão/síntese do conhecimento.

Para definição da questão de pesquisa, utilizou-se a estratégia PICO, composta de quatro elementos indispensáveis para que a pergunta de pesquisa, suporte à busca bibliográfica: P (população ou problema); I (intervenção proposta); C (controle ou comparação), porém não cabe para este estudo; O (desfecho, resultado esperado) (STONE PW, 2002). Dessa forma, a questão norteadora foi: “Qual a relação entre as disfunções nos ribossomos e a Anemia de Blackfan-Diamond?”.

Logo após, foi feita a pesquisa bibliográfica nas seguintes bases de dados: BibliotecaVirtual em Saúde (BVS) e PubMed, no mês de outubro de 2023, nas quais foram utilizados os Descritores em Ciências da Saúde (DeCS), para a BVS, como também os Medical Subject Headings terms (MeSh terms), para o PubMed.

Os termos usados no DeCS foram: Ribossomos e Anemia de Diamond-Blackfan, enquanto os termos usados no MeSH terms, foram: dysfunction, ribosome e anemia, diamond blackfan. Utilizou-se, sempre, o operador booleano “AND” para o cruzamento em pares dos descritores. Ressalta-se, também, que, em nenhuma das bases, foram utilizados campos de busca específicos.

Foi estipulado um período de 15 anos (2008-2023) para a busca dos artigos, a fim de encontrar os estudos mais atualizados sobre os assuntos. Ademais, os resultados foram filtrados. Como critérios de inclusão dos estudos, optou-se por artigos disponíveis na íntegra e de forma gratuita, que respondessem a pergunta norteadora, nos idiomas português, inglês ou espanhol, publicados no período de 2008-2023.

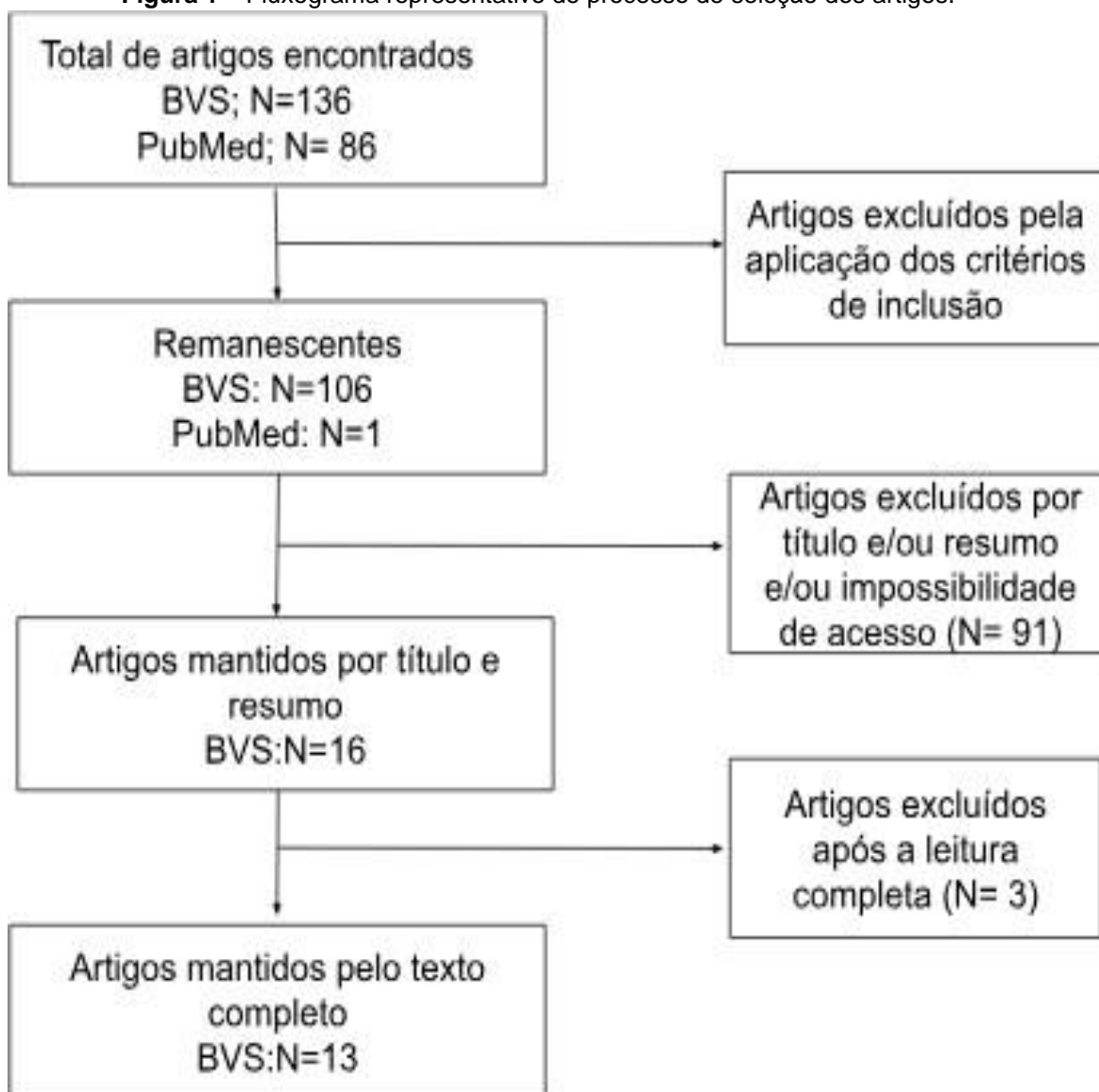
Os critérios de exclusão foram: revisões de qualquer estilo, artigos que não abordassem o tema da pesquisa ou que não respondessem à questão norteadora, estudos em formato de editorial e artigos duplicados em mais de uma base de dados.

Após o procedimento da busca eletrônica, as publicações foram pré-selecionadas, inicialmente pela leitura do título e depois com base no resumo. Após a leitura na íntegra dos artigos previamente selecionados, foram identificados os artigos que compuseram a amostra final desta revisão integrativa.

No total foram encontrados 222 estudos e selecionados 13 artigos, das seguintes bases de dados: 13 BVS. A **Figura 1** apresenta o fluxograma referente ao processo de seleção dos artigos que fizeram parte da amostra final desta seleção. Seguindo a coleta e análise de dados descrita na literatura, a descrição dos estudos incluídos foi realizada de um modo geral, contendo: título, autores, periódicos, ano de publicação e

principais resultados da literatura analisada. Tais dados foram coletados e registrados e serão discutidos criticamente a seguir, seguindo as etapas de análise destacadas em uma revisão integrativa, sendo elas: análise crítica dos trabalhos incluídos, discussão dos resultados dos estudos e considerações finais (SOUZA MT, et al., 2010).

**Figura 1** – Fluxograma representativo do processo de seleção dos artigos.



Fonte: Henrique F, et al., 2024.

## RESULTADOS

Os artigos analisados predominantemente abordaram os mecanismos subjacentes à Anemia de Diamond-Blackfan (DBA), com foco nos aspectos genéticos que contribuem para os fenótipos característicos da doença. Dentre os estudos incluídos, 61,5% direcionaram sua atenção para a relação entre a proteína RPS19 e a DBA, destacando seu papel significativo nos processos fisiopatológicos da enfermidade. Além disso, outros genes foram explorados e serão discutidos detalhadamente ao longo deste trabalho. O **Quadro 1** resume de forma concisa as informações fornecidas pelos artigos analisados na revisão da literatura, oferecendo uma visão resumida das variáveis essenciais e dos principais resultados das pesquisas, facilitando a compreensão das contribuições individuais de cada estudo e identificando padrões emergentes.



**Quadro 1 - Apresentação das características dos artigos incluídos na Revisão Integrativa.**

<b>Autor(es)/ano</b>	<b>Periódico</b>	<b>Principais resultados</b>
Badhai J, et al. (2011)	Plos One 6(3)	O experimento realizado apresentou relevância na associação entre variações na proteína RPS19 e a anemia de Diamond-Blackfan.
Boria I, et al. (2010)	Wiley Online Library	Análise observacional no processo de manifestação da doença, como nova mutação ou hereditariedade, capaz de auxiliar na compreensão das formas de manifestação de maneira aprofundada.
Sieff, Colin A, et al. (2009)	British Journal of Haematology	O presente estudo levanta importantes dados na associação da deficiência na proteína ribossomal RPS19 e a anemia de Diamond-Blackfan.
Uechi, Tamayo, et al. (2008)	Human Molecular Genetics	A inibição do gene rps19 no peixe-zebra resultou na reprodução do fenótipo característico da Anemia de Diamond-Blackfan (DBA), que inclui uma drástica redução na produção de células eritróides.
Farrar, Jason E, et al. (2008)	Blood	Estudo revelou que mutações no gene RPL35A podem estar associadas à Anemia de Diamond-Blackfan e que a expressão deficiente desse gene afeta a biogênese de subunidades ribossômicas, levando a anormalidades no processamento de RNA ribossômico e prejudicando as células precursoras eritróides.
Choesmel, Valérie, et al. (2008)	Human Molecular Genetics	Destaca a importância do gene RPS24 na biogênese do ribossomo e como mutações nesse gene podem afetar o processamento do pré-rRNA, levando a distúrbios como a Anemia de Diamond-Blackfan. Além disso, o estudo sugere uma interdependência funcional entre RPS24 e RPS19 na produção da subunidade 40S do ribossomo.
Garçon, Loïc, et al. (2013)	Blood	Retrata a forma que defeitos diferentes na biogênese e hematopoiese podem levar ao quadro de anemia de Diamond-Blackfan, ratifica o tratamento pela correção gênica da expressão de proteínas específicas, além de apresentar método promissor para produção de células DBA humanas, as quais são de extrema importância para ampliar a gama de estudos e futuramente possibilitar a testagem de medicamentos.
Rastislav Horos, et al. (2011)	Blood	Identificou a perda seletiva de transcritos, principalmente das proteínas Bag1 e Csde1, que tem papel crucial em células eritróides, após knockdown de Rps19 ou Rpl11, a expressão reduzida de Rps19 ou Rpl11 suprimiu a tradução geral mediada por IRES mais profundamente do que a tradução dependente de cap.
Noemy Piantanida, et al. (2022)	Frontiers in Genetics	Um importante contribuinte para o fenótipo pró-apoptótico das células eritróides DBA é o desequilíbrio entre a síntese de globina e heme devido ao número reduzido de ribossomos funcionais; As células deficientes em RPS26 apresentaram número reduzido de células viáveis e aumento do número de células mortas.
Disha-Gajanan Hiregange, et al. (2022)	FEBS Open Bio	Embora muitas mutações eS19 possam não dificultar a biogênese dos ribossomos, aquelas ligadas à relevância funcional, por exemplo, R62, podem obstruir a montagem dos ribossomos.
O'Donohue, Marie-Françoise, et al. (2022)	Blood	Uma descoberta importante deste trabalho é que a derrubada do HEATR3 em células CD34 + , ou outras linhas celulares, não desencadeia a estabilização do p53 ou a regulação positiva do seu alvo p21.
Gazda, Hanna T, et al. (2008)	AJHG	O estudo relacionou características fenotípicas da DBA com a RPL5 RPL11, que desencadeiam defeitos na maturação das unidades pré-ribossomais.
Ellis, Steven R, et al (2014)	Elsevier	Relaciona a montagem abortiva das subunidades ribossomais à ativação do P53, através de interações com o HDM2, gerando entre outras alterações a notável ausência de precursores eritróides, fenótipo pró- apoptótico associado a níveis elevados de p53 .

Fonte: Henrique F, et al., 2024.

## DISCUSSÃO

Inicialmente, é crucial ressaltar que os variados mecanismos implicados na regulação da biogênese das subunidades ribossomais são extraordinariamente complexos, caracterizados pela multifatorialidade e pela presença de múltiplos genes. Essa complexidade acrescenta um desafio substancial à compreensão dos processos subjacentes à fisiopatologia da Anemia de Diamond-Blackfan (DBA). Diante disso, embora a análise monogênica e unifatorial seja de suma importância para identificar o papel de cada gene na caracterização fisiopatológica da doença, é imperativo considerar a análise conjunta desses genes. Tal abordagem é necessária devido às interseções entre genes, sejam eles hereditários ou não, e fatores presentes em diversas vias de ação e formação, seja das unidades pré-ribossomais ou mesmo na atuação das proteínas.

Sugestão: O gene RPS19 destaca-se como o primeiro gene mutado identificado como potencial causador da Anemia de Diamond-Blackfan (DBA), sendo frequentemente afetado, com mutações ocorrendo em 25% dos pacientes (UECHI T, et al., 2008; HIREGANGE D, et al., 2022; BORIA I, et al., 2010). Dois estudos convergentes ressaltam que as mutações no RPS19 podem comprometer a eficiência da tradução de mRNAs essenciais para a diferenciação dos eritroblastos, resultando em defeitos seletivos nas células eritróides (UECHI T, et al., 2008; BADHAI J, et al., 2011).

Simultaneamente, a perda ou deficiência do RPS19 induz ao aumento de células multinucleadas, indicando uma interferência na citocinese dos eritroblastos. O RPS19 desempenha um papel crucial na maturação do RNA ribossômico 18S (rRNA) e na montagem das subunidades ribossômicas 40S. Uma insuficiência parcial desse gene leva ao acúmulo de p53 e à interrupção do ciclo celular em células progenitoras hematopoiéticas humanas (HOROS R, et al., 2012).

Estudos com organismos modelo, como peixe-zebra, revelaram, ao inativar a expressão do gene RPS19, uma significativa redução na produção de células sanguíneas e na circulação sanguínea, isso se tornou notável ao observar que, nos embriões normais, a coloração avermelhada do coração era evidente devido à elevada concentração de células sanguíneas, contrastando significativamente com a aparência praticamente transparente nos embriões com mutações no gene RPS19 (UECHI T, et al., 2008).

Além disso, experimentos em camundongos demonstraram que a inativação controlada do gene RPS19 resulta em uma insuficiência progressiva da medula óssea (PIANTANIDA N, et al., 2022). Essas evidências apontam para a influência crucial da proteína RPS19 na linhagem eritróide da Anemia de Diamond-Blackfan, onde a alta demanda por síntese de RNA pode levar ao bloqueio na biogênese ribossômica, caracterizando um dos principais fenótipos da DBA: a anemia, devido à redução na produção de células sanguíneas (GARÇON L, et al., 2013).

Outro gene regulatório que pode contribuir para a manifestação da Anemia de Diamond-Blackfan é o RPS24. Conforme evidenciado por um estudo baseado na análise do gradiente de sacarose, observou-se uma perda significativa de subunidades 40S livres, sugerindo que o RPS24 desempenha um papel crucial na produção da subunidade ribossômica 40S (CHOESMEL V, et al., 2008).

Adicionalmente, as células depletadas do RPS24 demonstraram uma marcante redução nos níveis da proteína RPS19, indicando uma possível cooperação entre essas proteínas em uma fase crítica da biogênese do ribossomo. Esse fenômeno sinaliza a interrupção do ciclo celular quando não atendido, um sinal que, juntamente com outras pressões, prejudica a diferenciação de progenitores eritróides e outros processos de desenvolvimento (CHOESMEL V, et al., 2008). Essas descobertas reforçam a complexidade da rede de genes envolvidos na Anemia de Diamond-Blackfan e a interconexão crítica entre esses componentes no contexto da biogênese ribossômica e na homeostase celular.

Mutações nos genes RPL5 e RPL11 demonstram associação com uma variedade de defeitos na maturação de RNAs ribossômicos durante a biogênese de suas subunidades grandes e/ou pequenas (GAZDA HT, et al., 2008). A RPL5, com seus 297 aminoácidos, é um componente protéico essencial da grande subunidade ribossomal 60S, localizando-se tanto no citoplasma quanto no nucléolo. Atuando como uma proteína de transporte núcleo-citoplasmático, desempenha um papel crucial no transporte intracelular de 5S

rRNA durante a montagem da subunidade 60S. Por outro lado, a RPL11, composta por 178 aminoácidos, também integra a grande subunidade ribossomal (GAZDA HT, et al., 2008).

A análise de dados médicos de pacientes com mutações no RPL5 revelou que a maioria (70%) apresentou múltiplas anormalidades físicas, incluindo anomalias craniofaciais, do polegar e do coração. Em contraste, malformações isoladas do polegar foram predominantemente observadas em pacientes com mutações no RPL11. Ademais, as mutações no RPL5 parecem resultar em um fenótipo mais grave da doença em comparação com as mutações no RPL11 e RPS19. Notavelmente, as mutações no RPL11 estão principalmente associadas a anomalias no polegar (GAZDA HT, et al., 2008).

Essas associações entre mutações específicas e fenótipos variados ilustram a complexidade do espectro clínico da Anemia de Diamond-Blackfan e sublinham a importância da compreensão detalhada das alterações genéticas no contexto dessa patologia.

Na investigação genética da fisiopatologia da Anemia de Diamond-Blackfan (DBA), dos 11 genes identificados como relevantes para a doença, todos, exceto um, desempenham a função de codificar proteínas estruturais das subunidades ribossômicas, seja 40S ou 60S. A exceção a essa regra é o gene GATA 1, que codifica um fator de transcrição envolvido no desenvolvimento eritróide (ELLIS SR, 2014).

Como previamente discutido, indivíduos com DBA apresentam medula óssea hipocelular, com notável ausência de precursores eritróides, e esse fenótipo pró-apoptótico está associado a níveis elevados de p53. Observou-se que níveis reduzidos de p53 revertiam fenótipos associados à diminuição da expressão de proteínas ribossômicas em diversos sistemas modelo, indicando um papel crucial para a ativação de p53 na doença. Quando a montagem da subunidade é interrompida devido a quantidades reduzidas de uma proteína ribossômica, o processo de montagem é abortado e o pré-rRNA é degradado. Algumas proteínas desmontadas são degradadas, enquanto outras são desviadas para destinos alternativos. Uma dessas rotas alternativas envolve a interação de proteínas ribossômicas liberadas com o HDM2, um regulador crítico dos níveis de p53.

O HDM2 é uma ubiquitina ligase que reconhece p53 e o marca para degradação proteossômica. A ligação das proteínas ribossômicas ao HDM2 inibe sua atividade, resultando no aumento dos níveis de p53 e no acúmulo de proteínas ribossomais no nucléolo, desencadeando estresse nucleolar. Considerando que os níveis de p53 desempenham um papel crucial no desenvolvimento das características da DBA, estudos em camundongos sugerem que a montagem abortiva do ribossomo, ligada à ativação da p53, pode tornar os pacientes potencialmente sensíveis a níveis elevados de espécies reativas de oxigênio (ERO) no período pós-natal (ELLIS SR, 2014).

Rpl5 e Rpl11, em particular, atuam como reguladores centrais da atividade de HDM2 contra o p53, formando um complexo com o rRNA 5S. Esse rRNA é transcrito pela RNA polimerase III, distinguindo-o de outras espécies de rRNA. A regulação positiva de p53 em resposta à montagem abortiva do ribossomo pode ser crucial para entender a base molecular subjacente da anemia de Diamond-Blackfan (DBA). No entanto, a descoberta de mutações de perda de função em RPL5 e RPL11 em pacientes DBA levanta questões sobre como essas proteínas, essenciais para a montagem do ribossomo, podem ter papéis adicionais na sinalização do estresse nucleolar.

A redundância potencial dessas interações com outras proteínas pode explicar a variedade de fenótipos observados em pacientes com mutações em RPL5 e RPL11. Portanto, os efeitos congênitos associados à montagem abortiva do ribossomo e os efeitos ambientais relacionados ao aumento dos níveis de ERO no nascimento podem desencadear a hiperativação da p53 e conseqüentes manifestações clínicas em pacientes com DBA (ELLIS SR, 2014). Este intrincado interplay entre fatores genéticos, moleculares e ambientais destaca a complexidade da fisiopatologia da DBA.

A variante isolada HEATR3 é reconhecida como uma causadora da Anemia de Diamond-Blackfan (DBA), resultando em anemia por meio de um mecanismo distinto na biogênese do ribossomo (O'DONOHUE M, et al., 2022). O estudo indica, também, que variantes recessivas que levam à perda de função no gene HEATR3 resultam em um quadro patogênico em seres humanos, caracterizado por uma forma típica da anemia de

Diamond-Blackfan (DBA) com traços desproporcionais e limitações intelectuais. Além de indicar que as alterações no HEATR3 comprometem a forma como o pré-rRNA e o ribossomo são formados, afetando assim a síntese de proteínas essenciais. Os fatores envolvidos na biogênese dos ribossomos não participam da produção integral dessas estruturas; em vez disso, eles têm interações temporárias com as subunidades precursoras durante o processo de maturação, facilitando diversas etapas de montagem. A maioria desses fatores é considerada essencial, e alguns podem ser reutilizados após completar sua função. Portanto, os genes relacionados à biogênese dos ribossomos são considerados candidatos de alta prioridade para a pesquisa em famílias com Distúrbio de Diamond-Blackfan, que segue um padrão de herança recessiva (O'DONOHUE M, et al., 2022).

Nesse contexto, é observado que as variantes recessivas induzem um fenótipo que abrange tanto os sinais clássicos da DBA quanto deficiências intelectuais (O'DONOHUE M, et al., 2022). Essa compreensão aprofundada da relação entre variantes genéticas específicas e o fenótipo clínico contribui para a identificação e compreensão abrangente da diversidade genética na Anemia de Diamond-Blackfan. Análises subsequentes identificaram mutações no gene RPL35A em pacientes com Anemia de Diamond-Blackfan (DBA), estimando que aproximadamente 3,3% dos pacientes com DBA possuem mutações nesse gene (FARRAR JE, et al., 2008). Experimentos de silenciamento do gene RPL35A revelaram sua necessidade para a proliferação e viabilidade de células hematopoiéticas, indicando um papel crítico na formação da subunidade ribossômica 60S.

O estudo também demonstrou que a redução da expressão de RPL35A resultou em uma diminuição na proliferação celular, anormalidades no processamento de RNA ribossômico e um aumento na apoptose, afetando preferencialmente as células precursoras eritróides. Esses efeitos se assemelham aos observados em pacientes com mutações no gene RPS19, indicando que mutações no gene RPL35A também podem estar associadas à Anemia de Diamond-Blackfan (FARRAR JE, et al., 2008). Essa descoberta amplia a compreensão das bases genéticas da DBA, destacando a diversidade de genes envolvidos na patogênese dessa condição hematológica rara.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em resumo, a análise dos pontos discutidos evidencia de forma incontestável a influência genética no desenvolvimento e manifestação da Anemia de Diamond-Blackfan (DBA). A compreensão da fisiopatologia da DBA revela a complexidade dos mecanismos que regulam a biogênese das subunidades ribossômicas. Genes reguladores, como RPS19, RPS24, RPL5, RPL11 e RPL35A, desempenham funções fundamentais na montagem e maturação dos ribossomos, impactando a produção de células sanguíneas e desencadeando os sintomas característicos da DBA. Além disso, a ativação da proteína p53 desempenha um papel crucial no desenvolvimento da doença, conectando a montagem abortiva do ribossomo a efeitos congênitos e ambientais. A identificação de variantes recessivas em genes relacionados à biogênese ribossômica destaca a importância da pesquisa genética em famílias com DBA, visando esclarecer a fisiopatologia de maneira mais abrangente e específica para o diagnóstico e tratamento dessa condição. Esses estudos avançados expandem significativamente nossa compreensão da DBA e abrem caminho para abordagens terapêuticas mais direcionadas no futuro. A investigação genética aprofundada é essencial para uma abordagem clínica mais personalizada e eficaz, proporcionando benefícios substanciais para os pacientes afetados por essa rara condição hematológica.

## REFERÊNCIAS

1. BADHAI J, et al. 5'UTR Variants of Ribosomal Protein S19 Transcript Determine Translational Efficiency: Implications for Diamond-Blackfan Anemia and Tissue Variability. *PLoS ONE*, 2011; 6(3): e17672.
2. BORJA I, et al. The ribosomal basis of diamond-blackfan anemia: mutation and database update. *Human Mutation*, 2010; 31(12): 1269-1279.
3. CHOESMEL V, et al. Impaired ribosome biogenesis in Diamond-Blackfan anemia. *Blood*, 2006; 109(3): 1275-1283.



4. CHOESMEL V, et al. Mutation of ribosomal protein RPS24 in Diamond-Blackfan anemia results in a ribosome biogenesis disorder. *Human Molecular Genetics*, 2008; 17(9): 1253-1263.
5. DA COSTA L, et al. Diamond-Blackfan anemia. *Blood*, 2020; 136(11): 1262-1273.
6. DOUDNA JA e RATH VL. Structure and Function of the Eukaryotic Ribosome. *Cell*, 2002; 109(2): 153-156.
7. DRAPTCHINSKAIA N, et al. The gene encoding ribosomal protein S19 is mutated in Diamond- Blackfan anaemia. *Nature Genetics*, 1999; 21(2): 169-175.
8. ELLIS, SR. Nucleolar stress in Diamond Blackfan anemia pathophysiology. *Biochimica et BiophysicaActa (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 2014; 1842(6): 765-768.
9. ENGIDAYE G, et al. Diamond Blackfan anemia: genetics, pathogenesis, diagnosis and treatment. *EJIFCC*, 2019; 30(1): 67.
10. FARRAR JE, et al. Abnormalities of the large ribosomal subunit protein, Rpl35a, in Diamond-Blackfan anemia. *Blood*, 2008; 112(5): 1582-1592.
11. GARÇON L, et al. Ribosomal and hematopoietic defects in induced pluripotent stem cells derived from Diamond Blackfan anemia patients. *Blood*, 2013; 122(6): 912-921.
12. GAZDA HT, et al. Ribosomal Protein L5 and L11 Mutations Are Associated with Cleft Palate and Abnormal Thumbs in Diamond-Blackfan Anemia Patients. *The American Journal of Human Genetics*, 2008; 83(6): 769-780.
13. GREGORY LA, et al. Molecular basis of Diamond Blackfan anemia: structure and function analysis of RPS19. *Nucleic Acids Research*, 2007; 35(17): 5913-5921.
14. HIREGANGE D, et al. Mutations in RPS19 may affect ribosome function and biogenesis in Diamond Blackfan anemia. *FEBS Open Bio*, 2022; 12(7): 1419-1434.
15. HOROS R, et al. Ribosomal deficiencies in Diamond-Blackfan anemia impair translation of transcripts essential for differentiation of murine and human erythroblasts. *Blood*, 2012; 119(1): 262-272.
16. LIPTON JM e ELLIS SR. Diamond-Blackfan Anemia: Diagnosis, Treatment, and MolecularPathogenesis. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, 2009; 23(2): 261-282.
17. NARLA A e EBERT BL. Ribosomopathies: human disorders of ribosome dysfunction. *Blood*, 2010; 115(16): 3196-3205.
18. O'DONOHUE M, et al. HEATR3 variants impair nuclear import of uL18 (RPL5) and drive Diamond- Blackfan anemia. *Blood*, 2022; 139(21): 3111-3126.
19. PIANTANIDA N, et al. Deficiency of ribosomal protein S26, which is mutated in a subset of patients with Diamond Blackfan anemia, impairs erythroid differentiation. *Frontiers in Genetics*, 2022; 13.
20. SOUZA MT, et al. Integrative review: what is it? How to do it?. *Einstein (São Paulo)*, 2010; 8(1): 102-106.
21. STONE PW. Popping the (PICO) question in research and evidence-based practice. *Applied nursing research: ANR*, 2002; 15(3): 197-198.
22. UECHI T, et al. Deficiency of ribosomal protein S19 during early embryogenesis leads to reduction of erythrocytes in a zebrafish model of Diamond-Blackfan anemia. *Human Molecular Genetics*, 2008; 17(20): 3204-3211.
23. WILSON DN e DOUDNA CATE JH. The Structure and Function of the Eukaryotic Ribosome. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2012; 4(5): a011536.