

30542

IDENTIFICAÇÃO DE REARRANJOS GÊNICOS EM PACIENTES COM DOENÇA DE NIEMANN-PICK TIPO C

Márcia Polese, Hugo Bock, Maria Cristina Matte, Suelen dos Santos Melo, Evelize Bohn, Barbara Silveira, Rafaela Radomski da Silva, Fernanda Timm Seabra de Souza, Roberto Giugliani. **Orientador:** Maria Luiza Saraiva Pereira
Unidade/Serviço: Laboratório de Identificação Genética - Centro de Pesquisa Experimental

A doença de Niemann-Pick tipo C (NP-C) caracteriza-se pelo acúmulo de colesterol não esterificado e glicoesfingolipídeos nos lisossomos devido à falha no tráfego intracelular dos lipídeos, sendo que as manifestações clínicas ocorrem desde a idade perinatal até a idade adulta. Mutações nos genes NPC1 e NPC2 foram associadas à doença de NP-C, os quais estão localizados nos loci 18q11-q12 e 14q24.3, respectivamente. O gene NPC1 está dividido em 25 éxons e, até o momento, mais de 250 alterações de sequências já foram descritas nesse gene, incluindo mutações e polimorfismos. Esse gene codifica uma glicoproteína transmembrânica de 1278 aminoácidos, com 13 domínios responsáveis pelo o tráfego intracelular de colesterol. O gene NPC2 está dividido em 5 éxons e 18 alterações de sequências foram descritas nesse gene. O produto do gene NPC2 é uma glicoproteína solúvel de 132 aminoácidos expressa em todos os tecidos que se liga ao colesterol. O teste bioquímico de Filipin é um dos mais usados e se caracteriza pela observação de intensa fluorescência ao redor do núcleo, pelo acúmulo de colesterol não esterificado. A análise molecular identifica alterações associadas à doença, sendo que a maior parte delas são mutações de sentido trocado (missense), porém também são observadas também mutações na junção íntron-éxon e mutações sem sentido (nonsense), além de rearranjos gênicos, do tipo inserções e deleções. O objetivo deste estudo foi identificar deleções e duplicações nos genes NPC1 e NPC2 em um grupo de pacientes com forte suspeita clínica de NP-C e teste do Filipin negativo e em pacientes com teste do Filipin positivo sem genótipo definido. O grupo analisado foi composto por 26 pacientes, cujo DNA foi isolado pelo método de excesso de sais a partir de uma amostra de sangue. Após a quantificação, o DNA foi submetido à análise de Multiplex Ligationdependent Probe Amplification (MLPA) e os fragmentos foram separados por eletroforese capilar no analisador genético ABI 3130xl (Applied Biosystems) e analisados no programa Coffalyser v.9. Os resultados da técnica de MLPA permitiu a identificação de alterações em 3 pacientes incluído na nossa coorte. Em um paciente foi observado a deleção do éxon 3 em um dos alelos. Esse paciente tinha resultado positivo no teste do Filipin. Em outro paciente foi identificado uma duplicação do éxon 23 em um dos alelos e o outro alelo deste paciente já tinha sido identificado com a mutação p.S954L. No terceiro paciente foi identificado uma duplicação dos éxons 22 e 23 e o outro alelo deste paciente apresenta a mutação p.P237S. Esses dois últimos pacientes tinham resultado inconclusivo no teste do Filipin. As amostras destes pacientes serão submetidas ao sequenciamento direto do DNA para confirmar o resultado do MLPA e para identificar exatamente os locais do início e término das alterações. Com os resultados obtidos podemos concluir que a técnica de MLPA é uma ferramenta diagnóstica auxiliar no diagnóstico da doença de NPC, auxiliando ou permitindo a identificação de rearranjos complexos nos genes associados a essa doença. (Apoio financeiro: FIPE-HCPA, CNPq, FAPERGS e Actelion). GPPG 05-168.