30521

ANÁLISE MOLECULAR DE GNPTG EM 17 PACIENTES BRASILEIROS COM MUCOLIPIDOSES II E III

Renata Voltolini Velho, Fernanda Sperb, Gabriela Cury, Taciane Alegra, Ursula Matte. **Orientador:** Ida Vanessa Doederlein Schwartz

Unidade/Serviço: Centro de Pesquisa Experimental - Laboratório de Terapia Gênica

Introdução: Mucolipidoses II e III (ML II/III) são doenças autossômicas recessivas caracterizadas pelo tráfego e localização subcelular anormal das hidrolases ácidas devido à deficiência da enzima N-acetilglicosamina-1-fosfotransferase. Apesar das ML II e III apresentarem heterogeneidade de lócus (pelo menos dois genes, GNPTAB e GNPTG, são reconhecidos, quando mutados, como causadores dessas doenças), e da enzima deficiente ser codificada por ambos, a maioria da literatura versa sobre GNPTAB (causador das ML II e III alfa/beta). Até o presente momento, 131 mutações foram descritas em GNPTAB e 25 em GNPTG. A maioria destas mutações são únicas ou raras. Objetivo: Analisar o gene GNPTG em 17 pacientes brasileiros com ML II e III, 14 previamente diagnosticados com ML alfa/beta e descrever os novos casos de ML III gama bem como, as novas mutações identificadas. Metodologia: A análise foi realizada a partir de gDNA de 17 pacientes com ML II e III (14 pacientes com ML alfa/beta). Éxons e regiões flanqueadoras de GNPTG foram amplificados por PCR e sequenciados em sequenciador automático ABI3100®. RT-PCR foi realizado em amostras do paciente B e qRT-PCR, em amostras dos pacientes A, B e C. Resultados/Discussão: Análises moleculares - Quatro novas mutações foram identificadas em 4 pacientes: c.328G>T, c.244_247dupGAGT, c.-112C>G (n em controles: 0/200 alelos) em pacientes com ML III gama e c.233+7G>T (31/200 alelos) em uma paciente com ML alfa/beta. Os genótipos apresentados pelos pacientes foram: A - c.[244_247dupGAGT]+[-112C>G;328G>T]; B e C - c.[-112C>G;328G>T]+[-112C>G; 328G>T]. Análise de RT-PCR falhou em detectar a mutação c.328G>T (p.E110X) no paciente B. Um baixo nível de expressão de GNPTG foi verificado por qRT-PCR nos pacientes avaliados. A diminuição do nível de mRNA pode ser resultado do mecanismo de decaimento de mRNA (NMD) ou pela presença de uma mutação em homozigose na região 5'UTR. Já a diferença entre os sequenciamentos do gDNA e cDNA pode ser explicada pelo processo de edição de mRNA. Relato dos Casos de ML III gama - Paciente A, sexo feminino, foi diagnosticada aos 8 anos de idade com contraturas e restrições articulares, principalmente nas mãos (dificuldade para extensão dos quirodáctilos), pés (hálux valgo) e ombros (dificuldade na elevação acima de 180º). O paciente B do sexo masculino foi encaminhado ao serviço de genética médica por diferentes problemas esqueléticos aos 35 anos. Após seu diagnóstico, seu irmão, paciente C, foi também encaminhado por apresentar sintomas similares aos 40 anos. Conclusões: Resultados sugerem que GNPTG não apresenta grande heterogeneidade alélica e que análises deste gene devem ser realizadas em gDNA devido a instabilidade do mRNA ao conter códons de terminação prematura. Projeto GPPG/HCPA 11-0477. Palavras-chave: GNPTG; Mucolipidoses II e III; Doenças Lisossômicas.