

P 4028**O MLPA como ferramenta de diagnóstico molecular em pacientes com distrofia muscular de Duchenne**

Silvia Liliana Cossio, Marina Siebert, Filippo Pinto e Vairo, Roberto Giugliani, Jonas Alex Morales Saute, Ursula da Silveira Matte
Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA)

A Distrofia Muscular de Duchenne (DMD) e distrofia muscular de Becker (BMD) são doenças com herança ligada ao X causadas por mutações no gene *DMD*, que codifica a proteína distrofina. A DMD usualmente manifesta-se na infância por fraqueza da musculatura proximal, a qual leva a dificuldade de locomoção progressiva e necessidade de cadeira de rodas até os 13 anos de idade. Complicações respiratórias e cardíacas são frequentes, mas mais tardias. A BMD apresenta um fenótipo semelhante, porém mais leve, com muitos indivíduos mantendo a independência da marcha durante a terceira década de vida e após. Deleções e duplicações de éxons completos no gene *DMD* são as alterações mais frequentemente encontradas em pacientes afetados. A frequência de deleções e duplicações em *DMD* tem sido estimada em 60-70% e 5-10% dos casos, respectivamente, sendo o restante correspondente a mutações de ponto. Uma das abordagens moleculares utilizadas para a detecção de deleções/duplicações é a técnica de MLPA. O MLPA (*Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*) é um método capaz de detectar o número de cópias de até 50 sequências diferentes de DNA de uma determinada amostra em uma única reação de amplificação por PCR. Rotineiramente, deleções e duplicações de um gene em particular (ou uma parte dele) não são detectadas por sequenciamento convencional se existe um alelo normal na amostra que está sendo analisada. Dentro deste contexto, este estudo propõe implementar a técnica de MLPA para o diagnóstico molecular de DMD/BMD em pacientes com diagnóstico clínico estas condições acompanhados no Serviço de Genética Médica do HCPA. Até o momento foram analisados 12 pacientes utilizando os kits comerciais *SALSA MLPA P034 e P035 probe mix* (MRC-Holland) seguindo as instruções do fabricante. Os resultados foram analisados no *Software Coffalyser.net*. Em todos os 12 pacientes analisados foram encontradas alterações no gene DMD: 75% apresentou deleção de um ou mais éxons, 16.7% apresentou duplicação, e um paciente (8.3%) não apresentou nenhuma alteração. O MLPA é uma técnica rápida e de relativo baixo custo que pode ser implementada na rotina do Serviço de Genética Médica para diagnóstico molecular de DMD/BMD. Palavras-chaves: DMD, MLPA, diagnóstico molecular.