

EFEITO IN VITRO DE LONGA E CURTA DURAÇÃO DA GENTAMICINA SOBRE FIBROBLASTOS CULTIVADOS DE PACIENTE COM SÍNDROME DE HURLER COM MUTAÇÃO STOP-CODON PREMATURA NO GENE IDUA

OSVALDO ALFONSO PINTO ARTIGALÁS; GUILHERME BALDO; ROBERTO GIUGLIANI; IDA SCHWARTZ; URSULA MATTE

Introdução: A síndrome de Hurler (MPS I) é uma doença de acúmulo lisossomal rara, que caracteriza-se pela deficiência da enzima alpha-L-iduronidase (codificada pelo gene IDUA) e participa da degradação de glicosaminoglicanos. Sugere-se que a gentamicina (assim como outros aminoglicosídeos) suprimam mutações stop-codon prematuras, permitindo que o ribossomo potencialmente faça a leitura (“read-through”) e adquira o sinal de terminação apropriado no final do gene. Objetivo: Medir a atividade enzimática de IDUA antes e depois do tratamento com gentamicina, em cultura de fibroblastos de paciente com MPS I portador de mutação stop-codon no gene IDUA. Métodos: Fibroblastos MPS I (apresentando a mutação W402X) foram crescidos até 90-95% de confluência em DMEM suplementado com 10% soro fetal bovino, 1% penicilina/estreptomicina e 2mM L-glutamina. As culturas foram divididas em 2 grupos e tratadas com gentamicina 200 ug/mL duas vezes por semana por 60 dias (n=4) e durante 24 horas (n=3). Fibroblastos não tratados foram usados como controles (n=3). A atividade enzimática de IDUA foi medida em lisado celular e sobrenadante por método fluorimétrico, e os resultados expressos em nmol/h/mg protein para lisado celular e nmol/h/mL para sobrenadante. Usamos teste t de Studente para comparar os dados. Resultados: A atividade da IDUA em fibroblastos elevou-se de valores praticamente nulos (6.13 ± 0.5) até 546.8 ± 126.1 após 24h e manteve valores similares após 60 dias (543.9 ± 43.9), sendo estatisticamente significativo (p