

ANÁLISE DE VARIANTES NÃO PATOGÊNICAS DO GENE *GNPTAB* NA POPULAÇÃO BRASILEIRA

Soares, MB¹; Sperb-Ludwig, F^{1,2}

1- Centro de Terapia Gênica – Hospital de Clínicas de Porto Alegre – Porto Alegre – Brasil;
2- Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas – Universidade Federal Do Rio Grande do Sul – Brasil
malu.bettio@gmail.com

Introdução

O gene *GNPTAB* está localizado no cromossomo 12, posição 23.2 no braço longo, é constituído por 23 éxons e codifica as subunidades α/β (dentre as $\alpha/\beta/\gamma$) do complexo enzimático hexamérico UDP-N-acetyl-1-phosphotransferase. Mucopolidoses II e III (MLII e MLIII) alfa/beta são causadas por mutações no gene *GNPTAB* que acarretam deficiência dessa enzima que, responsável pela adição de GlcNac-fosfato aos resíduos de manose na síntese do marcador manose-6-fosfato, ocasiona o direcionamento incorreto das hidrolases lisossômicas.

Objetivo

Analisar as frequências das variantes não patogênicas do gene *GNPTAB* na população brasileira, previamente descritas em pacientes com MLs II e III.

Metodologia

O DNA genômico (gDNA) de 100 indivíduos foi extraído. Dez variantes não patogênicas estão sendo analisadas no gene *GNPTAB*. Até o momento, 7 delas foram completamente analisadas: c.323+20delT (íntron 3); c.365+96_97delGT e c.365+145C>T (íntron 4); c.1285-166G>A (íntron 10); c.1932A>G (éxon 13); c.3135+5T>C (íntron 15); c.3336-25T>C (íntron 17), e três estão com a análise em andamento: c.-41_-39delGGC (5'UTR); c.18G>A e c.27G>A (éxon 1). O gene foi amplificado por PCR, purificado com PEG8000/2,5M NaCl e sequenciado pelo método de Sanger. Os resultados foram analisados pelo software Chromas Lite e comparados com a sequência de referência NG_021243.1 (NCBI) (Figura 1).

Resultados

As frequências observadas foram, em sua maioria, um pouco distintas das frequências da população geral. As diferenças mais relevantes foram, respectivamente, das alterações c.365+145C>T e c.3336-25T>C.

A alteração intrônica de maior frequência foi c.1285-166G>A (íntron 10), apresentando 64% de alelos alterados, enquanto a alteração c.1932A>G (éxon 13), com 65% dos alelos, teve a maior frequência geral. Na população brasileira, foram observadas frequências maiores que a média global apenas para as alterações c.395+96_97delGT e c.3336-25T>C (Tabela 1); a alteração c.232+20delT foi encontrada apenas nesta população.

Discussão

Os resultados obtidos até o momento comprovam que as alterações analisadas se tratam de variantes não patogênicas, tendo em vista as altas frequências das alterações, inclusive em homozigose.

Raza et al. (2015) compararam raras alterações do *GNPTAB* associadas à gagueira, porém, constataram que as variantes que causam MLs são fundamentalmente distintas. Tais informações, em conjunto com o presente estudo, indicam que o gene é bastante polimórfico, além de ocasionar duas condições fenotipicamente distintas. A variante c.1932A>G, com maior frequência geral encontrada, já foi descrita por Coutinho et al. (2011) como uma alteração que está em desequilíbrio de ligação com a mutação mais frequentemente encontrada em pacientes com MLs II/III, c.3503_3504delTC, e foi utilizada para caracterizar os haplótipos e apresentar o histórico de mutações associadas às MLs, o que enfatiza a importância do estudo de polimorfismos. Além disso, esta é a mais extensa série de variantes não patogênicas analisada para este gene. Como perspectiva objetiva-se concluir a análise das variantes ainda em andamento, realizar a análise de haplótipos para população brasileira e compará-las com os haplótipos de pacientes com MLs II/III.

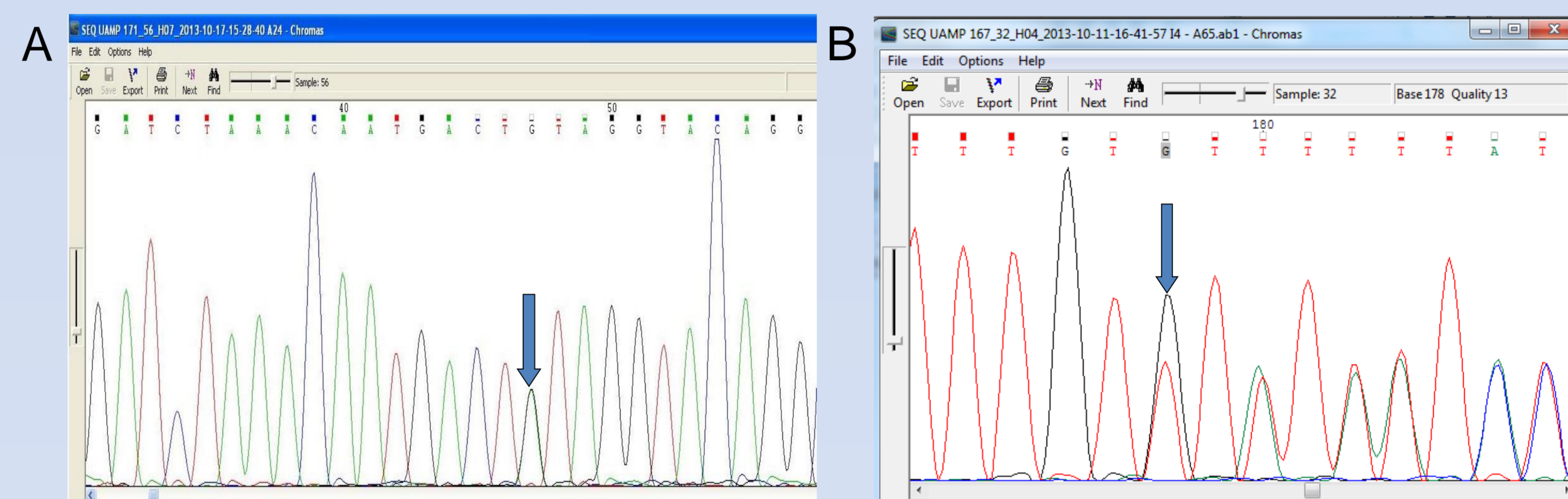


Figura 1: Resultados de sequenciamento. A: Análise do íntron 10 de um indivíduo heterozigoto para c.1285-166G>A, B: Análise do íntron 4 de um indivíduo heterozigoto para c.365+96_97delGT.

Tabela 1: Polimorfismos analisados, localização no gene *GNPTAB*, frequências encontradas e frequências globais.

| Localização | Alteração | Frequência alélica | Frequência alélica global (1000 genomas) | SNP |
|-------------|------------------|--------------------|--|------------|
| Íntron 3 | c.323+20delT | 0% | - | - |
| Íntron 4 | c.365+96_97delGT | 42% | 33% | rs4015837 |
| Íntron 4 | c.365+145C>T | 46% | 68% | rs2108694 |
| Íntron 10 | c.1285-166G>A | 64% | 65% | rs7963747 |
| Éxon 13 | c.1932A>G | 65% | 65% | rs10778148 |
| Íntron 15 | c.3135+5 T>C | 58% | 69% | rs759935 |
| Íntron 17 | c.3336-25 T>C | 46% | 31% | rs3736476 |

Referências

- Raza, MH et al. European Journal of Human Genetics, 1-6, 2015.
- Coutinho, MF et al. Clin Genet, 80: 273-280, 2011.