

COMPARAÇÃO ENTRE DOIS PROTOCOLOS DE DIAGNÓSTICO MOLECULAR PARA A IDENTIFICAÇÃO DE REARRANJOS COMPLEXOS NO GENE DA IDURONATO SULFATASE EM PACIENTES COM MPSII

LUIZA ABRAHÃO; ANA CAROLINA BRUSIUS-FACCHIN; CAMILA ZIMMER DA SILVA; IDA VANESSA D. SCHWARTZ; ROBERTO GIUGLIANI; SANDRA LEISTNER-SEGAL

A mucopolissacaridose do tipo II (MPS II ou síndrome de Hunter) é uma doença lisossômica de depósito (DLD) de herança recessiva ligada ao X, causada pela deficiência da L-iduronato-2-sulfato sulfatase (iduronato-sulfatase ou IDS). A IDS é uma das enzimas responsáveis pela degradação dos glicosaminoglicanos heparan (HS) e dermatan sulfato (DS). O gene que codifica a IDS foi mapeado no cromossomo Xq28.1, é composto por 9 éxons e 8 introns e tem um tamanho aproximado de 24 kb. Um pseudogene com alta homologia aos exons II e III e aos íntrons 2, 3 e 7 do gene IDS está localizado 20 Kb distal ao gene ativo. De acordo com a literatura cerca de 20% dos pacientes com MPS II apresentam algum tipo de rearranjo complexo devido a esta homologia, sendo mais prevalente, a inversão causada pela recombinação entre as sequências homólogas do gene e do pseudogene. Pelo fato da frequência desse rearranjo ser em torno de 12% a sua análise é o primeiro passo realizado em nosso laboratório, que se dá através da amplificação de um fragmento de DNA através da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), aonde 4 reações são necessárias utilizando-se 4 pares de primers distintos. O objetivo desse trabalho é propor um novo protocolo de identificação dessas inversões, a fim de diminuir o tempo e custo das análises. Os novos estudos foram realizados utilizando-se apenas uma amplificação de um fragmento específico através da PCR, seguida de digestão com a enzima de restrição Hinf I. Diferentes padrões puderam ser visualizados, já que a presença do pseudogene cria um sítio de clivagem para a enzima de restrição utilizada. Dentre os padrões apresentados pelos pacientes analisados, um deles é característico aos pacientes portadores da inversão comum. O novo protocolo apresenta vantagens quanto ao custo e tempo das análises, o que resultará na intensificação dos nossos estudos.