

PADRONIZAÇÃO DAS TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO DE DNA E PCR EM AMOSTRAS DE SANGUE IMPREGNADO EM PAPEL-FILTRO PARA ANÁLISE MOLECULAR DE MUCOPOLISSACARIDOSE TIPO VI EM UMA REGIÃO COM ALTA INCIDÊNCIA DA DOENÇA

Aline Nemetz Bochernitsan, Sandra Leistner Segal, Fernanda Bender, Roberto Giugliani

A Mucopolissacaridose tipo VI (MPS VI), causada pela deficiência da enzima Nacetilgalactosamina 4-sulfatase (ARSB), tem herança autossômica recessiva e apresenta uma sintomatologia que varia de leve a grave. Até o momento foram identificadas 140 mutações no gene que codifica ARSB. A MPS VI é uma doença rara que parece ter alta incidência (1:5000) no município de Monte Santo (BA). Dos 13 pacientes que apresentam a doença nesta região, uma única mutação, p.H178L, foi encontrada em homozigose, além da identificação do mesmo haplótipo utilizando polimorfismos intragênicos. O objetivo deste trabalho foi padronizar a técnica de PCR utilizando amostras de sangue impregnado em papel-filtro (SIPF) obtidas a partir do teste do pezinho de Monte Santo. A partir desta padronização, buscamos avaliar a possibilidade de executar um programa de triagem neonatal para MPS VI utilizando o mesmo material biológico coletado no teste do pezinho através de técnicas de análise de DNA. Para a identificação da mutação p.H178L foi realizado PCR-RFLP seguido de eletroforese em gel de agarose. Foram utilizados dois procedimentos para o preparo do papel filtro antes da etapa de amplificação e pudemos observar que a utilização do papel diretamente na reação de PCR foi mais eficiente, além de diminuir custos com reagentes e reduzir o tempo da análise. Esse estudo terá continuidade com a análise de um número maior de amostras, provenientes dos recém-nascidos de Monte Santo, o que deverá permitir o cálculo da incidência da doença na região estudada, além de direcionar o aconselhamento genético para as famílias nas quais a mutação for identificada, contribuindo para a detecção e tratamento precoce dos pacientes afetados por MPS VI. Apoio: FAPERGS, FIPE-HCPA