

**30013****ANÁLISE MOLECULAR DO GENE DA ARILSULFATASE A EM TRÊS FAMÍLIAS COM SUSPEITA CLÍNICA DE LEUCODISTROFIA METACROMÁTICA**

Eduarda Machado Conde, Marina Siebert, Maira Graeff Burin, Laura Bannach Jardim, Roberto Giugliani.

**Orientador:** Maria Luiza Saraiva Pereira**Unidade/Serviço:** Centro de Pesquisa Experimental - Laboratório de Identificação Genética

A leucodistrofia metacromática (LDM) é uma doença lisossômica de depósito, de herança autossômica recessiva, caracterizada por degeneração progressiva da mielina e perda axonal no sistema nervoso central e periférico. A LDM é causada pela deficiência da enzima arilsulfatase A (ARSA), enzima responsável por catalisar a hidrólise de esfingolipídios sulfatados. Essa deficiência leva ao acúmulo intralisossômico do substrato não degradado. Essa deficiência enzimática é causada por mutações no gene ARSA, o qual se localiza no locus 22q13.33 e está dividido em oito éxons distribuídos ao longo de 3.2kb de DNA genômico. Várias mutações foram descritas até o momento e associadas à LDM. Além disso, 2 mutações nesse gene estão associadas a uma condição denominada Pseudodeficiência de Arilsulfatase A (PD-ASA), que se caracteriza por deficiência enzimática de ARSA in vitro em indivíduos normais, isto é, sem manifestações fenotípicas. O objetivo desse estudo foi identificar as mutações em 3 famílias com análise bioquímica para LDM e identificar as alterações associadas à PD-ASA. A coorte é composta por 3 famílias (3 casos índices, seus respectivos pais e irmãos, totalizando 11 pessoas) no período de julho de 2012 a junho de 2013. O DNA dos indivíduos foi isolado a partir de uma amostra de sangue usando a técnica de precipitação em excesso de sais e quantificado pelo método espectrofotômetro NanoDrop. A amplificação dos oito éxons do gene foi realizada através de PCR, utilizando 4 pares de primers específicos, e os resultados da amplificação foram avaliados através de gel de agarose 1,2% (p/v). Os amplicons foram purificados por ExoSAP-IT e sequenciados usando o kit BigDye Terminator v.3.1. Os produtos do sequenciamento foram purificados e analisados por eletroforese capilar no equipamento ABI 3130xl Genetic Analyser. O genótipo do primeiro caso-índice foi determinado como c.459+1G>A/p.G127R. Essas duas mutações estão localizadas no éxon 2 do gene e a mutação c.459+1G>A foi transmitida pelo alelo paterno enquanto a mutação p.G127R foi de origem materna. No segundo caso-índice foi identificado como homocigoto para a mutação c.459+1G>A (genótipo c.459+1G>A/c.459+1G>A). Essas mutações foram identificadas nos pais desse paciente e a análise de um irmão do paciente identificou que o mesmo é heterocigoto para essa mutação. O caso-índice da terceira família foi identificado como homocigoto para a mutação p.P426L (genótipo p.P426L/p.P426L). Essas mutações foram também identificadas nos pais desse paciente. Entretanto, o pai do paciente também é portador das alterações para PD-ASA (alterações p.N350S e c.1524+95A>G). O irmão do paciente é heterocigoto para as alterações do alelo de PD-ASA, apresentando atividade baixa da atividade enzimática de ARSA. O presente trabalho enfatiza a importância da realização da análise molecular em casos com suspeita clínica de LDM para confirmação dos resultados bioquímicos e para esclarecer todas as alterações presentes no gene ARSA em uma família. Esses dados são essenciais para o aconselhamento genético, assim como para identificação de portadores e para o oferecimento de medidas terapêuticas, como a eventual necessidade de realização de um diagnóstico pré-natal ou para a realização de um transplante de medula óssea. (Apoio: PIBIC-CNPq, FIPE-HCPA, CNPq e FAPERGS). GPPG: 03-382.