



|                   |  |
|-------------------|--|
| <b>Evento</b>     | Salão UFRGS 2013: SIC - XXV SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS   |
| <b>Ano</b>        | 2013   |
| <b>Local</b>      | Porto Alegre - RS  |
| <b>Título</b>     | ANÁLISE MOLECULAR DO GENE DA ARILSULFATASE A EM TRÊS FAMÍLIAS COM SUSPEITA CLÍNICA DE LEUCODISTROFIA METACROMÁTICA |
| <b>Autor</b>      | EDUARDA MACHADO CONDE  |
| <b>Orientador</b> | MARIA LUIZA SARAIVA PEREIRA  |

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), uma enzima lisossômica, responsável por catalisar a hidrólise de esfingolipídios sulfatados, sendo o mais importante deles o cerebrosídeo sulfato, causando o acúmulo intralisossômico do substrato não degradado. A LDM é dividida em 3 formas clínicas, de acordo com a idade de início, a gravidade e progressão dos sintomas: a forma infantil tardia, a forma juvenil e a forma adulta. 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 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. O segundo caso-índice foi identificado como homozigoto 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 heterozigoto para essa mutação. O caso-índice da terceira família foi identificado como homozigoto 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 heterozigoto 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).