

Bárbara Strada^{1,2}, Marina Siebert^{1,2,3}, Maria Luiza Saraiva-Pereira^{1,2,3,4}

¹Laboratório de Identificação Genética – Centro de Pesquisa Experimental – HCPA

²Serviço de Genética Médica – HCPA; ³Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular;

⁴Departamento de Bioquímica – UFRGS (email: mlpereira@hcpa.ufrgs.br)

Introdução

Lipofuscinoses ceróides neuronais (LCNs) constituem um grupo de doenças hereditárias, neurodegenerativas, de depósito lisossômico caracterizadas por uma deterioração intelectual e motora progressiva, convulsões e morte precoce. As LCNs podem ser divididas em subgrupos divididos com base na idade de início dos sintomas e características clínicas. Perda visual é uma característica da maioria das formas.^{1,2}

A Lipofuscinose ceróide neuronal tipo 3 (LCN3 ou Doença de Batten) é a forma juvenil, com uma incidência de 1:25.000 nascimentos e de herança autossômica recessiva. Em alguns casos, os sinais clínicos são sutis, com mudança da personalidade e de comportamento e aprendizagem lenta. Os sintomas mais severos geralmente se manifestam entre os 5 e 10 anos de idade, com epilepsia e atraso nos movimentos psicomotores, seguidos pela deterioração do sistema nervoso.¹

A LCN3 é causada por mutações no gene *CLN3*, o qual está localizado no *locus* 16p12.1. Este gene abrange 15 Kb de DNA genômico, que está organizado em 15 exons e produzindo um cDNA de 1.314 pb. A proteína produzida apresenta 438 aminoácidos cuja função permanece desconhecida. A mutação mais comum no gene *CLN3* é uma deleção de 1,02 kb, a qual é encontrada em aproximadamente 81% os cromossomos mutantes.^{1,2}

Objetivo

O objetivo deste estudo foi identificar a deleção de 1,02 kb em pacientes com suspeita clínica de LCN3.

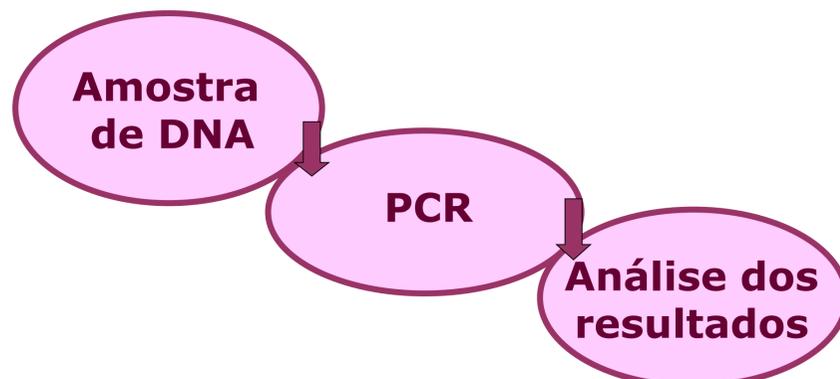
Materiais e Métodos

Amostras: 9 indivíduos analisados.

Isolamento de DNA: O DNA foi isolado a partir de 5mL de sangue periférico através da técnica de precipitação em excesso de sais. O DNA foi quantificado pelo método fluorimétrico e as amostras foram diluídas a 100ng/μL.

PCR: usando primers específicos para a região próxima a deleção no gene *CLN3*.

Análise dos resultados: material amplificado por PCR foi analisado por eletroforese em gel de agarose 1,2% e os resultados foram observados em transluminador em luz UV.



Resultados

A figura 1 mostra a análise das amostras de pacientes com suspeita clínica para LCN3.

No período de janeiro a julho deste ano, 9 paciente foram analisados e 2 deles foram identificados como homozigotos para a deleção de 1,02 kb no gene *CLN3*, confirmando a suspeita clínica.

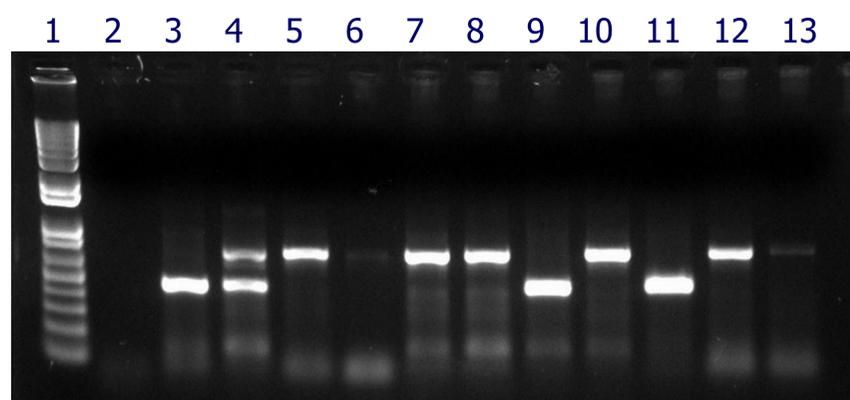


Figura 1. Identificação de alelos normais e mutados no gene *CLN3*. Análise dos produtos de PCR por eletroforese em gel de agarose 1,2% (p/v). Coluna 1 – marcador de peso molecular de 1 kb; coluna 2 - controle sem DNA; coluna 3 – amostra controle de paciente homozigoto para a deleção; coluna 4 – amostra controle de pacientes heterozigotos para a deleção; coluna 5 – amostra controle de paciente normal; colunas 6, 7, 8, 10, 12 e 13 – amostras de pacientes com resultados normais; colunas 9 e 11 – amostras de pacientes homozigotos para a deleção.

Discussão e Conclusão

A identificação molecular da deleção é essencial para a confirmação da suspeita clínica de LCN3. Além disso, a grande variabilidade fenotípica dos pacientes pode dificultar o diagnóstico sem a avaliação laboratorial.

A associação de dados moleculares com dados fenotípicos é extremamente relevante para o aconselhamento genético e para a orientação quanto à evolução clínica dos pacientes. Apesar do fato de ser uma doença rara, a identificação completa de novos casos é essencial para o oferecimento de aconselhamento genético.

Referências

- Hofmann & Peltonen. Scriver's OMMBID. Chapter 154, 38 pp, 2001.
- Mole & Williams. Gene Reviews. www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1428/ acesso em 15/09/2011.