

Análise do promotor, 5'UTR e éxon 1 do gene *BTD* em pacientes brasileiros com deficiência de biotinidase

Samyra Espíndola Lima^{1,2,3}, Ida VD Schwartz^{1,2,4}

1 Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2 Laboratório BRAIN, HCPA; 3 Centro Universitário Ritter dos Reis, UniRitter; 4 Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA)

Introdução

→ Na deficiência de biotinidase (DB), doença de herança autossômica recessiva, estão prejudicadas a absorção e a reutilização da vitamina biotina, levando à deficiência múltipla de carboxilases dependentes de biotina. A DB pode ser total (atividade <10%) ou parcial (atividade entre 10-30%). Sinais/sintomas dermatológicos e neuropsicomotores podem aparecer na ausência de tratamento, que consiste em administração oral de biotina na forma livre.

→ O éxon 1 do gene que codifica a biotinidase, *BTD*, codifica o primeiro dos dois possíveis sítios de início de tradução (AUG) e é responsável pela síntese de um peptídeo sinal (figura 1).

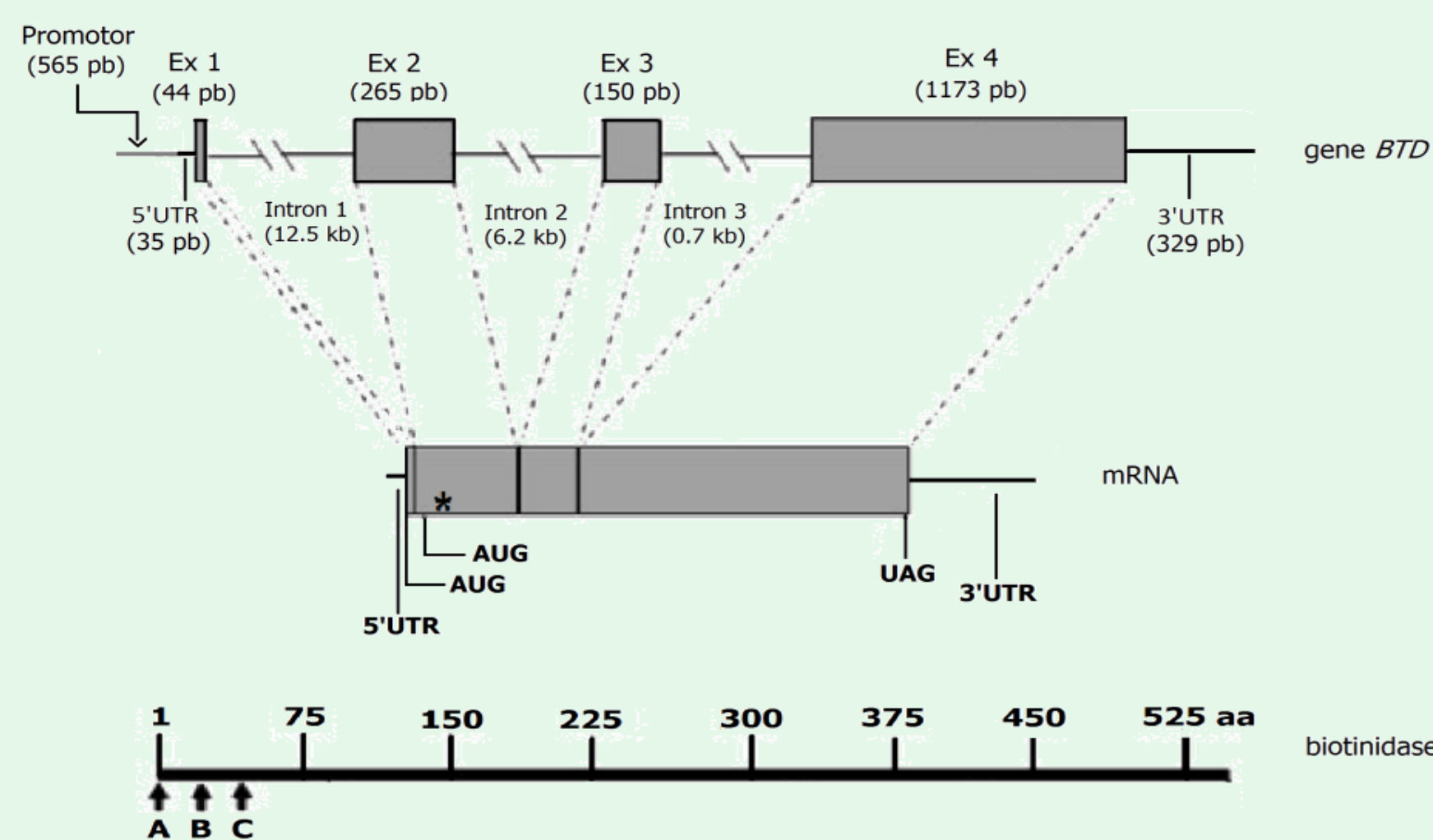


Figura 1. Organização do gene que codifica a biotinidase (*BTD*), seu mRNA e enzima resultante. O asterisco indica a posição correspondente ao N-terminal da proteína madura. A até C: peptídeo sinal de 41 aminoácidos se a tradução iniciar no primeiro AUG; B até C: peptídeo sinal de 21 aminoácidos se a tradução iniciar no segundo AUG. Adaptado de Pindolia (2010).

→ Não foram descritas variantes na região promotora, 5'UTR e éxon 1 do gene *BTD* em pacientes, embora as mesmas tenham sido descritas em banco de dados populacional (Projeto 1000 genomas).

→ A análise do gene *BTD* muitas vezes é importante para elucidar o diagnóstico e para decisão terapêutica. Entretanto, algumas vezes, o *fenótipo bioquímico esperado* de acordo com o genótipo discorda do *fenótipo bioquímico observado* (atividade enzimática).

→ É possível que variantes nas regiões regulatórias e éxon 1 interfiram na expressão gênica (quantidade, localização subcelular e/ou atividade da biotinidase), alterando sítios de fatores de transcrição, alterando/formando sítios alvos para microRNA na região 5'UTR do mRNA ou modificando a informação do peptídeo sinal.

Objetivos

→ Investigar a região promotora, 5'UTR e éxon 1 do gene *BTD* para verificar se existem variações de sequência que contribuem à atividade enzimática dos pacientes.

Metodologia

→ Estudo transversal, observacional, multicêntrico e com amostragem de conveniência. Foram obtidos dados clínicos e amostras de DNA de pacientes com atividade reduzida da biotinidase para sequenciamento da região promotora, 5'UTR do e éxon 1 e do gene *BTD* (conforme anotação gênica do GenBank, acesso AF018630).

→ Para fins de comparação, frequências alélicas populacionais foram obtidas do Projeto 1000 genomas (26 populações, n=2504).

Resultado

→ A amostra é composta por 67 pacientes (sexo masculino= 37; amplitude de idade= 1 mês a 18 anos; consanguinidade parental= 4/67) de diferentes regiões do Brasil (nordeste=13, sudeste=14 e sul=40 pacientes).

→ Foram encontradas três variantes na região promotora: c.-183G>A (rs2279841), c.-315A>G (rs2019160) e c.-514C>T (rs41284037), com frequências alélicas de 6,9%, 100% e 3,8%, respectivamente. Nenhuma variante foi encontrada na região 5'UTR e no éxon 1.

→ As variantes c.-183G>A e c.-514C>T foram encontradas em pacientes de diferentes regiões do Brasil (tabela 1).

Tabela 1. Dados moleculares e bioquímicos de pacientes que apresentam variações na região promotora.

Paciente	Estado de origem	Sequenciamento do promotor, 5'UTR e éxon 1 (alelo 1 / alelo 2)	Sequenciamento dos éxons 2-4 (alelo 1 / alelo 2)	Fenótipo bioquímico esperado conforme genótipo dos éxons 2-4	Fenótipo bioquímico observado (atividade enzimática %)
DB 04	RS	c.-183G>A / N	c.1330G>C / c.594_596delCGT	Parcial	Parcial (25%)
DB 05	PB	c.-183G>A / N	c.1330G>C / c.[595G>A;1413T>C]	Parcial	H _z (37%)
DB 25	RS	c.-183G>A / N	c.1413T>C / N	N	H _z /N (65%)
DB 27	SP	c.-514C>T / N	N / N	N	H _z (54%)
DB 29	RS	c.-183G>A / N	c.[1330G>C;511G>A] / c.1413T>C	H _z	H _z (44%)
DB 33	PB	c.-183G>A / N	c.1330G>C / N	≈N	H _z (41%)
DB 37	PB	c.-514C>T / N	c.664G>A	ND	H _z (46%)
DB 38	SC	c.[-183G>A;-514C>T] / N	c.1595C>T / N	H _z	H _z (58%)
DB 40	RJ	c.-183G>A / N	c.[595G>A;1413T>C] / N	H _z	H _z (48%)
DB 41	PB	c.-514C>T / N	N / N	N	H _z (44%)
DB 44	RS	c.-514C>T / N	c.1368A>C / N	H _z	H _z (37%)
DB 53	CE	c.-183G>A / c.-183G>A	c.1413T>C / c.1413T>C	N	ND
DB 70	CE	c.-183G>A / N	c.1481A>G/c.1413T>C	H _z	H _z (53%)

Em itálico variante não patogênica (sinônima); em vermelho pacientes cujo fenótipo esperado discorda do fenótipo observado; N: normal; ≈N: semelhante ao normal; H_z: heterozigoto; ND: não disponível; H_z/N: atividade borderline.

Conclusão

→ As variantes encontradas na região promotora são polimórficas de acordo com "The 1000 Genomes Project". A variante c.-183G>A tem frequência estimada na população em geral de 17%. A frequência dessa variante na amostra estudada é semelhante à frequência na população queniana (7%). A variante c.-315A>G é a forma alélica mais comum, cuja frequência estimada na população em geral é de 96%. A variante c.-514C>T tem frequência estimada na população em geral de 6%, e a população gambiana apresenta frequência mais parecida (3,5%) com a encontrada neste estudo.

→ É possível que a variante c.-514C>T contribua para uma leve diminuição da expressão gênica, já que pacientes sem mutações patogênicas (DB 27 e 41) possuem atividade compatível com heterozigoto.

→ Análises *in silico* poderão informar sobre o efeito das variantes encontradas em elementos regulatórios, como sítios para fatores de transcrição.