

Naiany Canabarro Cielo<sup>1,2</sup>; Maria Luiza Saraiva-Pereira<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Identificação Genética – Centro de Pesquisa Experimental – HCPA; <sup>2</sup>Serviço de Genética Médica – HCPA; <sup>3</sup>PPG em Genética e Biologia Molecular – UFRGS; <sup>4</sup>Depto. de Bioquímica – UFRGS.

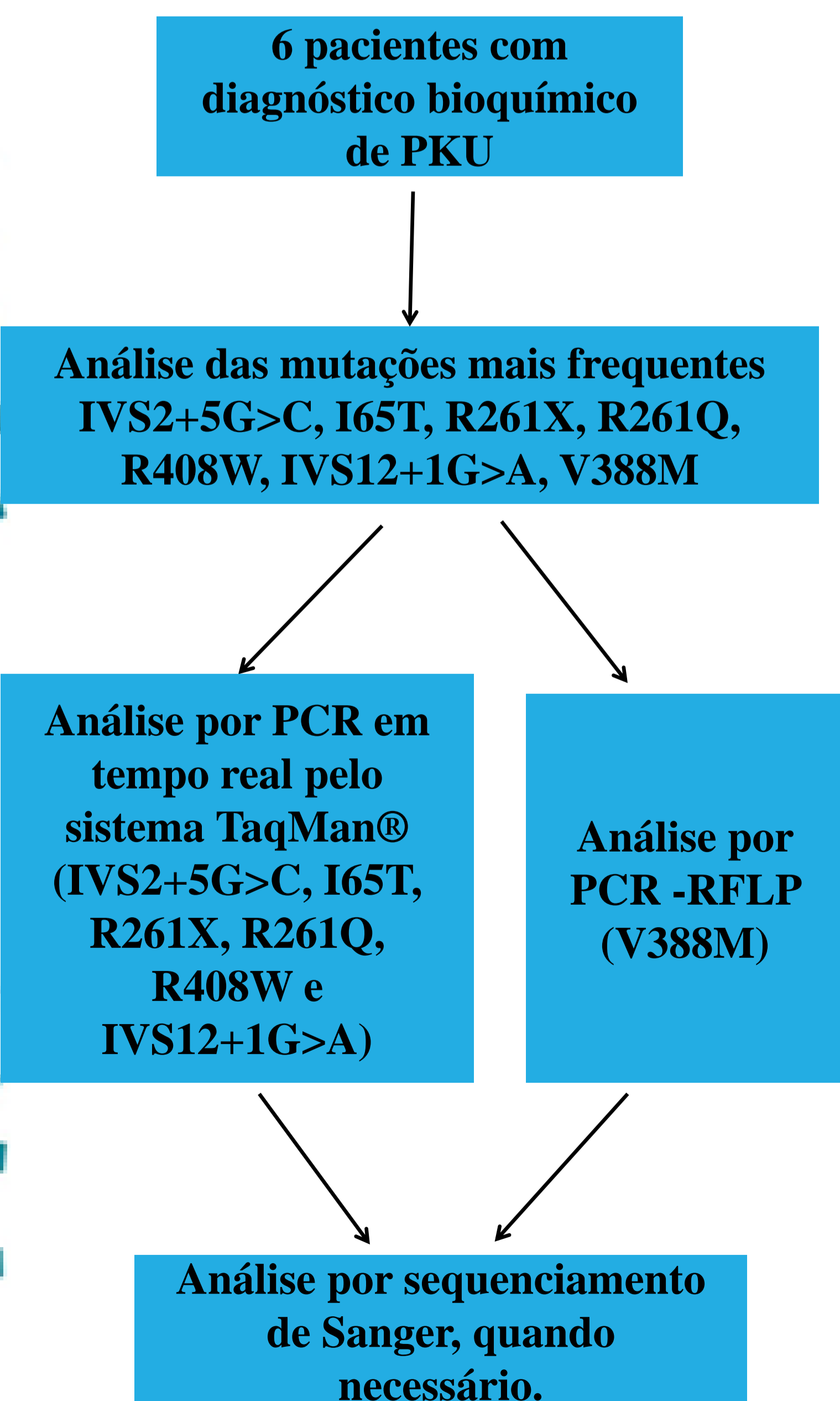
## INTRODUÇÃO

A fenilalanina-hidroxilase (PAH) é a enzima responsável pela metabolização da fenilalanina (Phe), a qual é convertida em tirosina (Tyr), sendo responsável por essa etapa essencial dentro do metabolismo de aminoácidos aromáticos. Essa enzima é codificada pelo gene *PAH*, o qual está localizado no *locus* 12q22-q24.2. Mutações nesse gene estão associadas à fenilcetonúria (PKU), uma doença genética rara, de herança autossômica recessiva, causada pela deficiência enzimática total ou parcial da enzima fenilalanina-hidroxilase. A deficiência desta enzima leva a um acúmulo de Phe e de seus metabólitos nos tecidos dos pacientes, causando retardo mental, convulsões e hiperatividade, entre outras manifestações clínicas. O diagnóstico dos pacientes é realizado através da determinação bioquímica dos níveis de Phe no plasma e a análise molecular é um procedimento complementar na caracterização da doença.

## OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi a identificação das mutações comuns no gene *PAH* (IVS2+5G>C, I65T, R261X, R261Q, R408W, IVS12+1G>A, V388M) em pacientes com PKU.

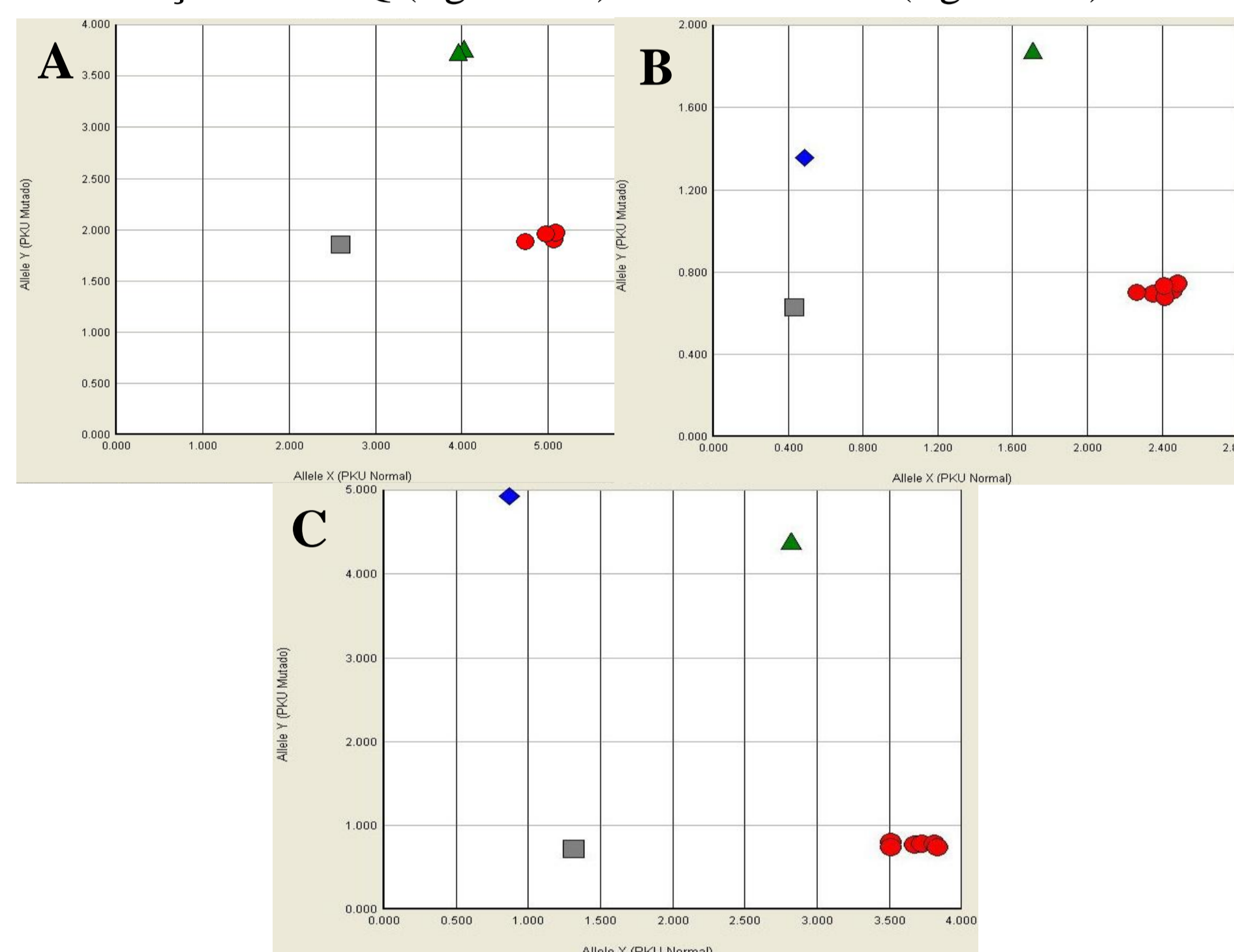
## MATERIAIS E MÉTODOS



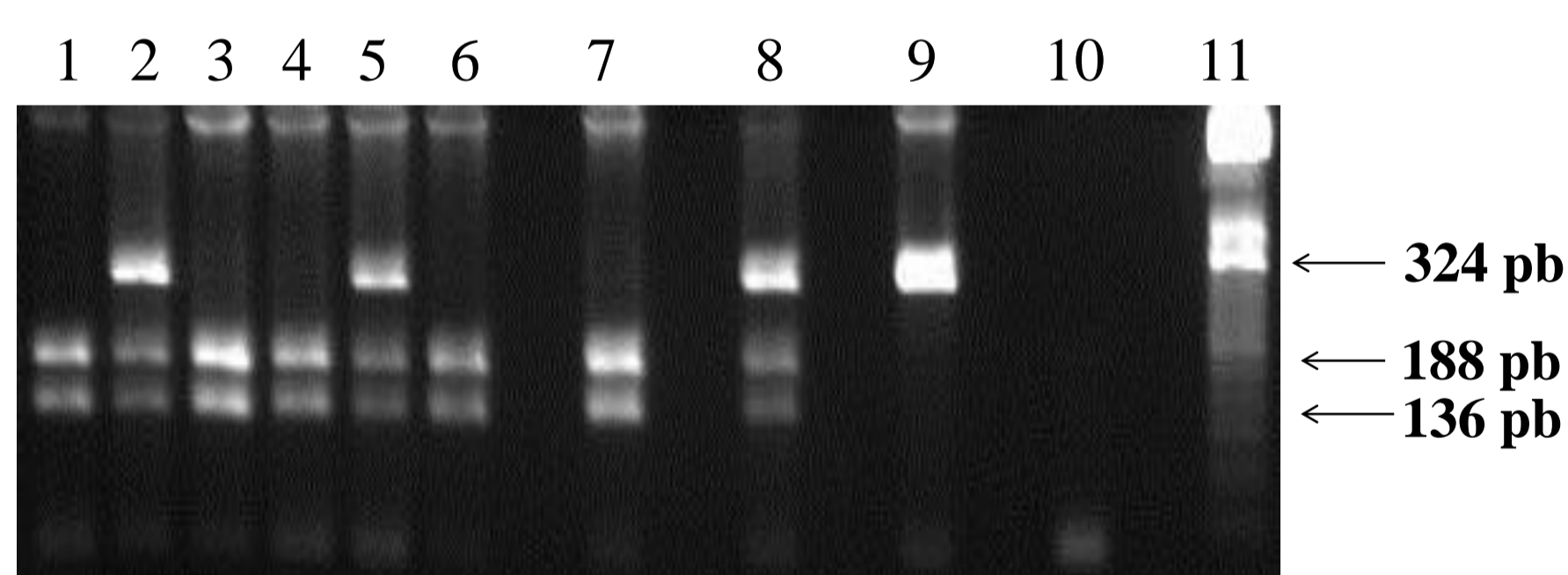
## RESULTADOS

Até o momento foram realizadas as análises para as mutações IVS2+5G>C, R261Q, IVS12+1G>A e V388M.

A mutação IVS12+1G>A foi identificada em um dos alelos de um paciente (heterozigoto) (figura 1-a) e a mutação V388M foi identificada em um dos alelos de outros dois pacientes (heterozigotos) (figura 2). Não foram identificados alelos com as mutações R261Q (figura 1-b) e IVS2+5G>C (figura 1-c).



**Figura 1: Análise por PCR em tempo real pelo sistema TaqMan®:** ■ branco; ● homogigoto normal (HN); ▲ heterozigoto (HT); ◆ homogigoto mutado (HM). A- resultados da análise da mutação IVS12+1G>A com um controle HT; B- resultados da análise da mutação R261Q com um controle HT e um controle HM; C- resultados da análise da mutação IVS2+5G>C com um controle HM e um controle HT.



**Figura 2 – Análise da mutação V388M por RFLP.** Colunas 1, 3, 4 e 6: amostras de pacientes homogigotos normais; colunas 2 e 5: amostras de pacientes heterozigotos; coluna 7: controle homogigoto normal; coluna 8: controle heterozigoto; coluna 9: controle homogigoto para a mutação; coluna 10: controle negativo (sem DNA); coluna 11: marcador de peso molecular de 50 pb.

## CONCLUSÃO

Até o momento, somente três pacientes tiveram uma mutação identificada, indicando que com a análise dessas quatro mutações pode se identificar 25% dos alelos mutados neste grupo. A realização do teste para as outras três mutações mais comuns (I65T, R261X, R408W) é essencial para melhor identificação das alterações presentes nesses pacientes. Caso a análise dessas mutações não seja suficiente para identificar o genótipo dos pacientes, essas amostras deverão ser encaminhadas para o sequenciamento completo do gene.

A definição do genótipo completo do paciente associado aos dados clínicos podem melhorar o conhecimento atual do efeito dessas mutações no genoma humano.