

ANÁLISE GENÉTICO MOLECULAR DE PACIENTES COM SUSPEITA DE CADASIL.

Gustavo Brambila Trindade Da Silva¹; Viviane da Silva Miniucci¹; Vinicius André Minhoto da Costa¹; Maria Cristina Fernandes Alvim;¹Lília D'Souza-Li 1

1 Centro de Investigação em pediatria – Faculdade de Ciências Médicas (FCM) Universidade Estadual de Campinas.

PALAVRAS CHAVE: AVC, infartos subcorticais/ demência/leucoencefalopatia

INTRODUÇÃO

A Cadasil, (MIM#125310, Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy with Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy) é uma desordem hereditária, na sua maioria de padrão autossômico dominante. É a causa genética mais freqüente de infartos cerebrais e constitui modelo importante de estudo de demências vasculares subcorticais.

É uma doença que aparece na fase adulta jovem entre 35 a 45 anos de idade. . A CADASIL é uma doença autossômica dominante caracterizada por infartos subcorticais, fortes enxaquecas com presença de aura, distúrbios de humor e demência. Está associada a mutações no gene *Notch3*. O gene *Notch3* humano está localizado no locus 19p13.2-p13.1, possui 33 exons e se expande por cerca de 41 Kb. O cDNA possui 7 kb e a proteína codificada pelo gene *Notch3* consiste de 2.321 aminoácidos com um único domínio transmembrana. O receptor notch é uma proteína heterodímera que está envolvida no controle da proliferação de células de músculo liso e sua manutenção em um estado estável.

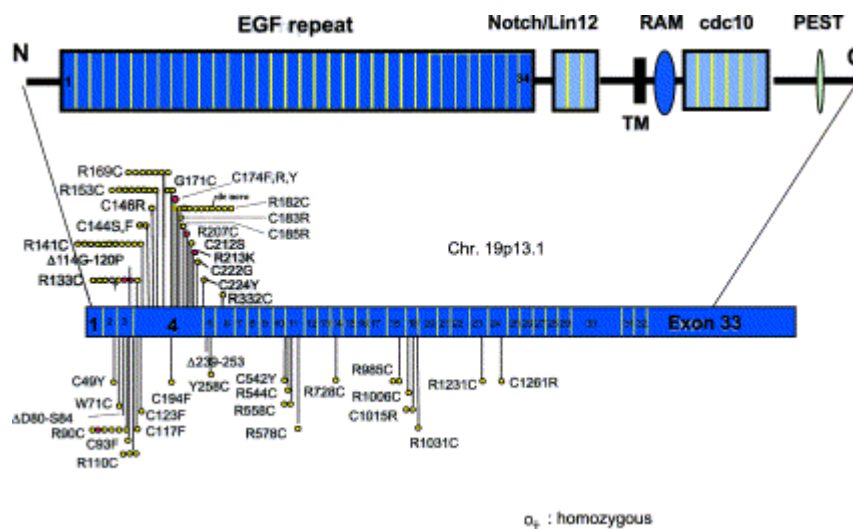


Figura 1. Mapa do DNA genômico do gene Notch3 que abrange 41,35 Kb. As caixas preenchidas representam os exons e as linhas contínuas representam os introns.

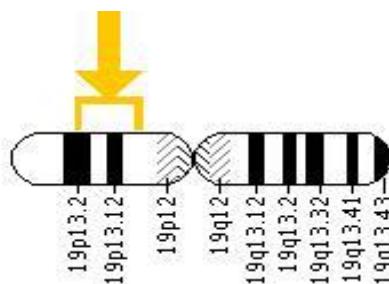


Figura 2 - Gene *Notch3*, um membro da família Notch e sua localização no locus 19 p13.2 - p13.1

Proteína

A proteína Notch3 possui 34 regiões de ligação de fatores de crescimento epidérmico situadas na porção extracelular, que matem a estabilidade das pontes dissulfídicas de resíduos de cisteínas. Possui um domínio transmembrana e um domínio intracelular necessário para a transdução de sinal. O domínio extracelular contém 6 resíduos de cisteínas altamente conservados que formam 3 pontes dissulfídicas e interage com o receptor Notch. O receptor Notch está envolvido no controle da proliferação de células de músculo liso e sua manutenção em um estado indiferenciado. A maioria das mutações descritas na proteína Notch3 são mutações missense (95%) e se

resumem em ganho ou perda de resíduos de cisteínas, alterando seu número para um número ímpar dentro de um dado domínio do fator de crescimento epidérmico com alteração de sua estrutura conformacional.

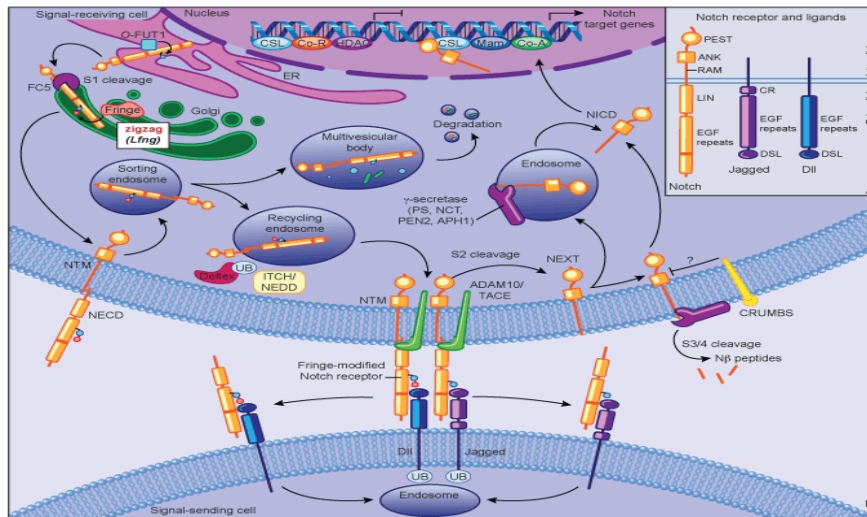


Figura 3 - Processamento e sinalização do receptor Notch.

OBJETIVO

O presente estudo tem como objetivo o estudo molecular de pacientes que apresentam suspeita de Cadasil.

Pacientes

Serão avaliados pacientes em acompanhamento no Ambulatório de Neurovascular do hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas que apresentem AVC e que tenham suspeita de CADASIL.

MÉTODOS

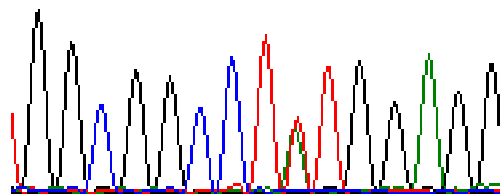
Foi coletado 5ml de sangue total de pacientes após assinatura de termo de consentimento livre esclarecido. Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP#391/2005).

Este este material enviado ao Laboratório de Endocrinologia Pediátrica do Centro de Investigação Pediátrica.

Foi realizada a extração do DNA genômico de sangue total utilizando o kit Puregene Blood Core Kit B da QIAGEN, em seguida este DNA foi quantificado em Nanodrop 2000. Para a amplificação genômica foi realizada a técnica da PCR e o resultado visualizado em gel de agarose a 2%. Os produtos da PCR foram seqüenciados e analisados.

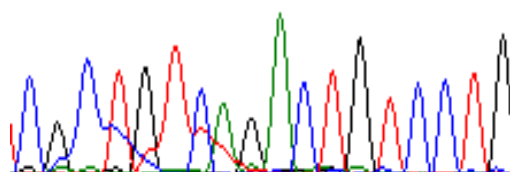
RESULTADOS

GGC GGCC TWT GGAGG



Análise seqüenciamento número 1, seqüenciamento forward, onde encontramos um polimorfismo na região de íntron.

CGC TGT YAGACTGTCCTG



Análise sequenciamento número 2, do exon 23. Sequenciamento forward, onde encontramos uma alteração que resulta em um polimorfismo sem troca de aminoácido.

CONCLUSÃO

O estudo do gene *Notch3*, identificou duas alterações na sequência de bases que não resultaram em uma troca de aminoácido, caracterizando dois polimorfismos. Estamos em busca de novos pacientes para continuação do estudo e procura de mutações.