RASTREAMENTO DO GENE CYP21A2 QUANTO A MUTAÇÕES EM PACIENTES COM HIPERPLASIA ADRENAL CONGÊNITA

Luana G. dos Santos* (SAE), Débora de P. Michelatto (PQ), Sophia H. V. Lemos-Marini (PQ), Maricilda P. de Mello (PQ).

Resumo

A Hiperplasia Adrenal Congênita (HAC), uma das desordens autossômicas recessivas mais frequentes, é causada pela deficiência de uma das 5 enzimas que participam da síntese dos esteróides adrenais. Uma consequência disto é o desvio da síntese para a super produção de hormônios androgênicos, resultando nas formas clássica e não clássica da HAC. Portanto, o objetivo desse estudo foi analisar o gene CYP21A2 em 33 famílias, buscando identificar mutações que pudessem justificar o diagnóstico clínico.

Palavras-chave: Hiperplasia Adrenal Congênita, mutações, CYP21A2.

Introdução

A deficiência da enzima CYP21A2 acarreta no acúmulo de precursores que são desviados para a via não afetada dos esteroides sexuais, provocando um excesso de hormônios androgênicos na corrente sanguínea^{2,3}; e na diminuição da produção de aldosterona e cortisol, o que acarreta em maior liberação do hormônio ACTH, causando um superestímulo das glândulas adrenais e sua consequente hiperplasia³.

As manifestações clínicas da HAC por deficiência da CYP21A2 são classificadas em forma clássica (CL) e não clássica (NC). Na forma CL a criança pode apresentar perda de sal (fenótipo perdedor de sal) ou não (fenótipo virilizante simples) durante o período neonatal e meninas afetadas apresentam genitália ambígua. Na forma não clássica os sinais de excesso androgênico são acne, hirsutismo, e irregularidades menstruais em mulheres jovens. Já crianças apresentam puberdade precoce, velocidade de crescimento acelerada e maturação óssea precoce¹.

A forma CL apresenta uma incidência de 1:10.000 a 1:15.000 nascidos vivos^{4,5}, sendo a forma NC muito mais frequente, com uma incidência de 1:500 nascidos vivos em populações caucasianas⁶.

investigadas por sequenciamento dos fragmentos usando-se *primers* internos. Toda a região do gene incluindo 600pb da região 5'UTR, 10 exons, 9 íntrons e cerca de 500pb da região 3'UTR, foi sequenciada num total de aproximadamente 3000pb. Essa análise foi realizada para 33 famílias com pelo menos 1 indivíduo afetado com a forma CL ou NC da deficiência da CYP21A2, totalizando 107 indivíduos.

Para pacientes com o fenótipo perdedor de sal (1/3 dos casos) foram identificados grandes rearranjos com a presença do gene híbrido CYP21A1P/CYP21A2, bem como mutações e combinações de mutações conhecidas provenientes do pseudogene. Mutações mais raras ausentes do pseudogene, como é o caso da c.290-2A/C>G, foram também identificadas. Para o fenótipo virilizante simples a mutação mais frequente foi a p.Ile172Asn. Alelos portadores de 2 ou 3 mutações foram identificados em aproximadamente 3% dos indivíduos. Já para o fenótipo NC, a mutação p.Val281Leu foi a mais prevalente em genótipos que combinam essa mutação e outras mutações. Entre os indivíduos estudados há 2 que apresentam um fenótipo mais grave que o previsto pelo genótipo. Houve famílias nas quais mais do que 2 alelos portadores de mutações foram identificados.

Conclusões

Devido à possibilidade de se encontrar mais de uma mutação em um mesmo alelo, a análise da família para a correta definição do genótipo é de fundamental importância. O conhecimento dos alelos portadores de mutações que segregam numa família vem a ser uma ferramenta poderosa tanto para o aconselhamento genético como para a definição do tratamento pré-natal através do diagnóstico pré-natal.

Agradecimentos

À FAPESP, ao SAE e ao CNPq

Figura 1. A: Nove mutações mais comumente encontradas no gene CYP21A2 que são transferidas por eventos de microconversão entre o gene ativo CYP21A2 e o seu pseudogene CYP21A1P. B: Estratégia de amplificação do gene CYP21A2 e *primers* internos utilizados no sequenciamento. C: Eletroferograma de uma sequência normal e de uma sequência com a mutação p.Val281Leu em heterozigose.

Resultados e Discussão

A partir do DNA genômico, extraído do sangue total periférico, amplificou-se o gene CYP21A2 por reações de PCR alelo-específica (ASO-PCR) para que o pseudogene, que apresenta uma homologia de 98% com o gene, não fosse amplificado. As mutações foram

¹Speiser et al., 2010. Congenital adrenal hyperplasia due to steroid 21-hydroxylase deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. JCEM, 95(9), pp.4133–4160.
²Nimkarn et al., 2011. Steroid 21 Hydroxylase Deficiency Congenital Adrenal Hyperplasia. Pediatric Clinics of North America, 58(5), pp.1282–1300.
³White & Speiser, 2000. Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. Endocrine Reviews, 21(3), pp.245–291.
⁴van der Kamp et al., 2004. Neonatal screening for CAH. Eur. J. Endocrinol;151 Suppl :U71–5
⁵Therrell et al., 2001. Newborn screening for congenital adrenal hyperplasia. Endocrinology and metabolism clinics of North America, 30(1), pp.15–30.
⁶Trakakis et al., 2009. Congenital adrenal hyperplasia because of 21-hydroxylase deficiency. A genetic disorder of interest to obstetricians and gynecologists. Obstetrical & gynecological survey64(3) pp.177–89.