

10^o

FEPEG FÓRUM

ENSINO • PESQUISA
EXTENSÃO • GESTÃO

RESPONSABILIDADE SOCIAL: INDISSOCIABILIDADE
ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA



ISSN 1806-549 X

Autor(es): CÉLIA MARCIA FERNANDES MAIA, MATHEUS LEITE VIEIRA, DANIELLA REIS BARBOSA MARTELLI, HERCÍLIO MARTELLI JÚNIOR, RENATO ASSIS MACHADO, LUCIANO SÓLIA NASSER, VERA LUCIA GIL DA SILVA LOPES

CORRELAÇÃO FENÓTIPO-GENÓTIPO NA SÍNDROME DE JALILI

Palavras-chave: Síndrome de Jalili, amelogênese imperfeita, *CNNM4*, mutação, distrofia de cones e bastonetes

Introdução

A síndrome de Jalili (SJ) é uma desordem hereditária, rara, autossômica recessiva, associada a mutações no gene *CNNM4*, localizada no cromossomo 2q11^{5,7,8}. Clinicamente é caracterizada por alterações oculares (distrofia de cones e bastonetes) e dentária (amelogênese imperfeita)³. A primeira descrição da doença foi feita por Jalili & Smith (1988), após investigação, entre os anos de 1986 e 1987, em uma extensa família de origem Árabe, situados na Faixa de Gaza, com casamentos consanguíneos, na qual 29 membros apresentavam a associação entre distrofia de cones e bastonetes (CRD) e amelogênese imperfeita (AI).

A CRD corresponde a um largo espectro de doenças progressivas nas células fotorreceptoras da retina, caracterizada pela degeneração de células cones fotorreceptores e subsequentemente os bastonetes². O modo de herança da CRD é variado podendo ser transmitida através de um traço autossômico dominante, autossômico recessivo ou ligado ao cromossomo X, além disso, pode apresentar-se de forma síndrômica ou não síndrômica^{7,2}. O diagnóstico da CRD se baseia na história clínica, oftalmoscopia e eletrorretinograma². As manifestações clínicas encontradas na CRD incluem fotofobia, perda da visão central, acromatopsia, nistagmo e lesão macular^{2,5}.

A AI é um termo clínico para um grupo de condições heterogêneas, de origem genética e hereditária que afetam a qualidade e a quantidade do esmalte dentário formado, tanto da dentição decídua como da dentição permanente^{1,6}. Pode ocorrer de maneira isolada ou associada a síndromes e possui modos de transmissão autossômico dominante, autossômico recessivo e ligada ao cromossomo X⁶. Witkop (1988) desenvolveu e revisou o sistema de nomenclatura mais comumente utilizado para AI caracterizando pelos aspectos fenotípicos predominantes em hipoplásico, hipomineralizado/hipocalcificado e hipomaturada. Desses tipos ainda foram subdivididos em 14 subtipos de acordo com características fenotípicas adicionais e padrão de herança¹. Os achados clínicos da AI no esmalte dentário incluem a presença de um esmalte fino podendo apresentar desgastes ou ranhuras, esmalte macio e áspero, manchado, facilmente desgastado ou soltando-se em lascas^{1,5}.

O gene *CNNM4* é o codificador da proteína transportadora de metal ACDP4 que é responsável pela regulação de íons Mg²⁺ em seu transporte e homeostase⁶. Mutações nesse gene atuam em dois órgãos independentes, o dental e o ocular, na SJ promovendo uma redução dos níveis desse íon que resulta numa limitação da função da retina e na biomineralização do esmalte^{7,8}.

A presente investigação científica se trata dos primeiros casos da síndrome de Jalili no Brasil e objetiva-se por avaliar e descrever as características clínicas, imaginológicas, genéticas e o padrão de herança em duas novas famílias acometidas por essa síndrome.

Materiais e métodos

Foi realizado um estudo de caráter transversal, descritivo e laboratorial tendo como pacientes estudados membros de duas famílias, sendo uma residente no município de Porteirinha – Minas Gerais e a segunda residente no município de Americana – São Paulo. Avaliações clínicas foram realizadas por meio de uma ficha de exame odontológico e radiografias intra e extra bucais. Exames oftalmológicos foram realizados por oftalmologista experiente e incluiu retinografia, tomografia da retina e eletrorretinograma. A avaliação genética constituiu-se pela realização do heredograma e sequenciamento genético de amostras dos pacientes do estudo.

A amostra do estudo incluiu duas famílias com pais e mães normais e suas filhas com características fenotípicas de SJ. Na família de Porteirinha – MG também foi avaliado um irmão da afetada com características normais.

O estudo genético foi realizado a partir da coleta de células bucais por meio de um bochecho por 60 segundos com 5 ml de uma solução aquosa de sacarose a 3% onde o conteúdo do bochecho foi transferido para um tubo de 15 mL o qual continha um volume de 3mL de uma solução 66% alcoólica. A seguir foi realizado o isolamento do DNA por métodos de centrifugação, lavagem e incubação do conteúdo. A determinação da concentração e pureza das amostras foram

Apoio financeiro: FAPEMIG

Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Unimontes nº 1.293.651



determinadas por espectrofotometria utilizando a razão 260/280 nm. onde valores inferiores a 1,7 indica contaminação com proteína e valor superior a 2 indica contaminação com RNA. Posteriormente foram selecionados os primers para avaliação de todos os éxons do gene *CNNM4* através da realização de reação em cadeia de polimerase (PCR) e separação dos fragmentos amplificados através da eletroforese em gel. Os fragmentos amplificados foram purificados com Quick Gel Extraction Kit da Invitrogen conforme recomendações do fabricante. Para a reação de sequenciamento dos fragmentos gel purificados utilizou-se o Big Dye Cycle Sequencing Kit. Após essa etapa as amostras foram encaminhadas para o sequenciador, modelo ABI Prism 3500 Genetic analyzer (Applied Biosystem, Foster City, CA, USA). Por fim, a análise do sequenciamento foi realizada através do programa Sequence Scanner Software 2.

Resultados parciais e discussão

Exame intrabucal e imaginológico na paciente afetada natural de Porteirinha, B.M.S. oito anos de idade, revelaram a presença de amelogênese imperfeita disseminada do tipo hipoplásica em dentição decídua e permanente (Fig. 1A). Observou-se também mordida aberta anterior. Os dentes eram bastante sensíveis, prejudicando uma boa higiene e dificultando a alimentação, e apresentavam-se desgastados. Na radiografia panorâmica observou-se uma ausência de transição entre a dentina e o esmalte dentário em dentição permanente e em dentes não erupcionados, raízes afiladas e diastemas entre os dentes permanentes. Exames oftalmológicos realizados evidenciaram a presença de fotofobia, nistagmo pendular e acromatopsia. A retinografia evidenciou um distúrbio pigmentar em aspecto de metal batido e manchas esbranquiçadas em região da mácula e circunvizinha (Fig. 2B). A tomografia retiniana revelou uma alteração histológica de ausência da camada de cones em região macular da retina da paciente (Fig. 2E) e o eletrorretinograma constatou uma ausência de atividade elétrica dos bastonetes na periferia da retina da paciente (Fig. 2C). Inicialmente a paciente apresentava um diagnóstico prévio de Amaurose Congênita de Leber, porém com os novos achados foi dado o diagnóstico de síndrome de Jalili como descrito por Jalili & Smith, 1988.

No heredograma mostra a presença de casamento consanguíneo entre os pais e avós da paciente afetada pela SJ. No estudo genético da afetada e seus familiares demonstraram um padrão de herança autossômica recessivo onde a paciente apresenta mutação em c.971T>C. Essa mesma mutação foi relatada por PARRY *et al.*, (2009) em estudo de sequenciamento genético de uma paciente com características fenotípicas da SJ na Escócia.

Exame intrabucal e imaginológico da paciente afetada pela SJ natural de Americana - São Paulo, T.A.N.N. oito anos de idade, evidenciou a presença de amelogênese imperfeita generalizada sendo classificada como hipomaturada em dentição decídua e hipoplásica em dentes permanentes erupcionados (Fig. 1B). Observou-se também mordida aberta anterior e mordida topo a topo posterior, desgaste oclusal nos primeiros molares permanentes e molares decíduos e os dentes 12, 22, 41, 42, 31, 32 apresentam apinhados. Paciente relatou discreta sensibilidade sem prejuízos maiores para alimentação porém com higiene bucal deficiente e formação de placas. Ao exame clínico oftalmológico foi verificada diminuição da acuidade visual, fotofobia e nistagmo pendular. Os exames oftalmológicos confirmaram a presença de distrofia de cones e bastonetes. A mãe apresentava sem alterações ao exame clínico odontológico e não foram encontradas alterações nos exames oftalmológicos. Entretanto o pai da paciente apresentava-se com alteração em região macular da retina com sinal de distrofia, o exame intrabucal mostrou ausência de sinais de amelogênese imperfeita.

Observou-se nessa família a ausência de casamento consanguíneo ao heredograma. O sequenciamento genético da mãe apresentava sem mutações. Todavia no pai e na filha foi expressa uma mutação heterozigota em c.9771T>C e uma nova mutação ainda não relatada em estudos anteriores em c.1742C>G.

Conclusões

Trata-se de uma síndrome rara e bem descrita. Foi ratificada a presença de alterações dentais fortemente manifestadas associadas a alterações oftalmológicas progressivas e diante dos achados confirmou-se a presença dos primeiros casos da síndrome de Jalili no Brasil. O estudo de sequenciamento genético evidenciou ainda uma nova mutação relacionada com a síndrome de Jalili e um novo padrão de herança apresentado caracterizado por uma expressão variável ou penetrância incompleta. Novos exames estão sendo realizados para confirmar os achados relatados no pai da paciente de Americana – São Paulo.

Referências



1. Crawford PJM, Aldred M, Bloch-Zupan A. Amelogenesis imperfecta. Orphanet Journal of Rare Diseases 2007;2:17
2. Hamel CP. Distrofia de conos y bastones. Orphanet Journal of Rare Diseases 2007;2:1-7
3. IK Jalili, Smith NJ. A progressiva cone-rod dystrophy and amelogenesis imperfecta: a new syndrome. J Med Genet .1988;25: 738-740
4. Luder Hans U., Gerth-Kahlert C, Ostertag-Benzinger S., Schorteret DF. Dental phenotype in Jalili Syndrome due to a c.1312 dup C homozygous mutation in the CNNM4 Gene. Am J Hum Genet. 2013; 8(10),78529
5. Michaelides M, Bloch-Zupan A, Holder GE, Hnt DM, ATmoore AT. An autosomal recessive cone-rod dystrophy associated with Amelogenesis imperfecta. J Med genet. 2004;41:468-473
6. Nair P, Obeid T, Tadmouri GO, Najid Al-Khaja, Jalili IK. A study in pleiotropy – Jalili syndrome. Hamdan Medical Journal 2013;6:233-240
7. Parry DA; Mighell AJ; El-Sayed W; Shore RC; Jalili IK, Dollfs H; Bloch-Zupan A; Carlos R; Carr IM; Downey LM; Blain KM; Mansfield DC; Shahrabi M; Heidari M; Aref P; Abbasi M; Michaelides M; Moore AT, Kirkham J; Inglehear CF. Mutations in CNNM4 cause jalili syndrome consisting of Autosomal-recessive cone-rod Dystrophy and Amelogenesis Imperfecta. Am J Hum Genet. 2009; 84:266-273
8. Polok B, Escher P, Ambresin A, choeuery E, Bolay S, Meunier I, Nan F, Hamel C, Munier FL, Thilo B, Megarbané A, shorderet DF. Mutations in CNNM4 cause recessive cone-rod dystrophy with Amelogenesis Imperfect. Am J Hum Genet 2009;84:259-265

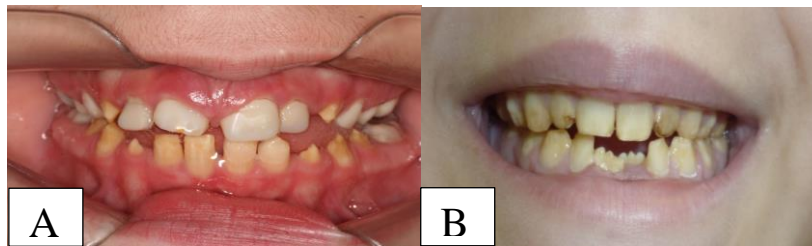


Figura 1: 1A foto da dentição da paciente B.M.S. demonstrando amelogenese imperfeita generalizada. 1B foto da dentição da paciente T.A.N.N. demonstrando dentição mista com amelogenese imperfeita nas duas dentições.

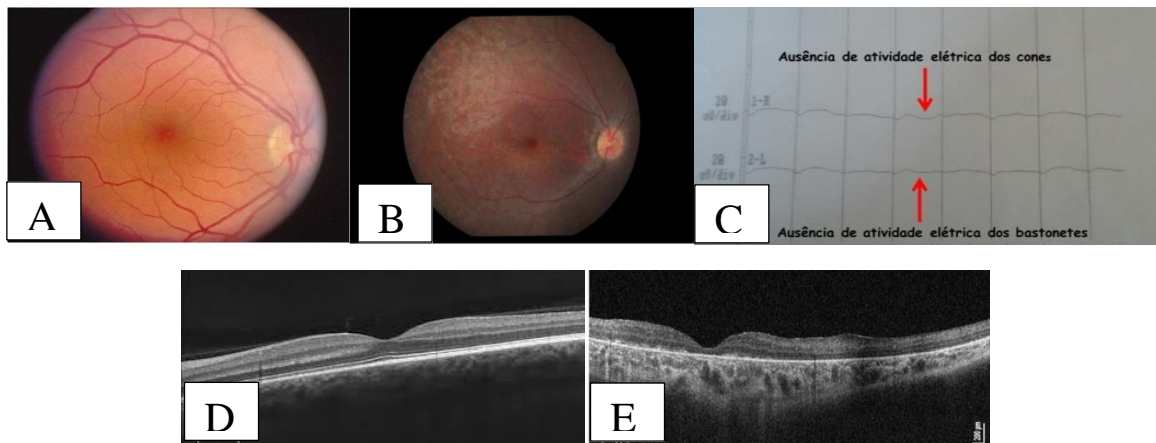


Figura 2: 2A retina normal. 2B retina da paciente B.M.S. evidenciando distúrbio pigmentar em aspecto de metal batido e manchas esbranquiçadas em região macular. 2C eletrorretinograma da paciente B.M.S. evidenciando ausência de atividade elétrica em cones e bastonetes. 2D tomografia retiniana normal. 2E tomografia retiniana da paciente B.M.S. demonstrando ausência da camada de cones.