

Diagnóstico de atrofia muscular espinhal (AME): experiência em laboratório clínico com o uso de MLPA.

Fatima, L.A.; Fornari, A.R.S.; Tomaz P.R.X.; Araujo S.A.; Costa G.K.S.; Jorge M.L.; Arismendi M.I.; Moreira C.M.; Baratela, W.A.R.; Moda B.S.; Nakano V.; Fraga, A.M., Ferreira, E.N.

Genesis Genomics – São Paulo, Brasil.

luciana.fatima@genesisgenomics.com.br

INTRODUÇÃO

A atrofia muscular espinhal (AME) é uma doença neuromuscular autossômica recessiva causada, na maioria dos casos, pela deleção em homozigose do éxon 7 do gene *SMN1* (*Survival Motor Neuron 1*), localizado no cromossomo 5q13. O gene *SMN2*, homólogo ao *SMN1*, apresenta uma alteração de *splicing* que reduz a produção da proteína funcional. O número de cópias de *SMN2* atua como modificador do fenótipo, influenciando a gravidade clínica da doença.

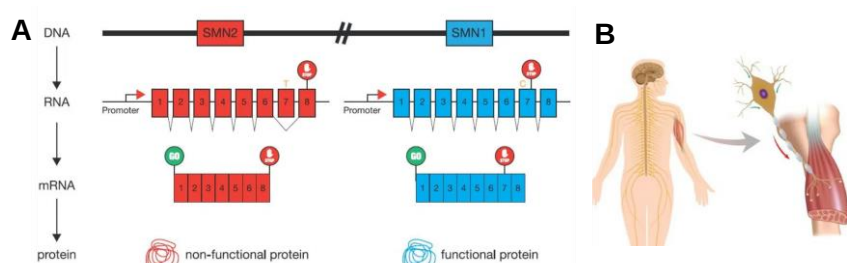
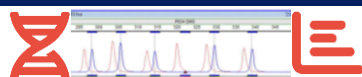


Figura 1: A- Representação dos genes *SMN1* e *SMN2* e sua relação com AME; B- manifestações clínicas da AME. *Non-functional protein*: proteína não funcional; *functional protein*: proteína funcional; *promoter*: região promotora; mRNA: RNA mensageiro; *protein*: proteína.

OBJETIVO



O objetivo deste trabalho foi avaliar de maneira retroativa o número de casos com alteração no número de cópias dos genes *SMN1* e *SMN2* em pacientes encaminhados para análise molecular em um laboratório clínico.

METODOLOGIA

- Amostras:** 1.224 (66,3% investigação AME; 33,7% triagem familiar/portadores).
- Material:** DNA de sangue periférico ou swab bucal (Oragene OCR-100).
- Método:** Quantificação *SMN1/SMN2* por MLPA (kit SALSA® P021 – MRC-Holland).
- Plataforma:** Eletroforese capilar automatizada + Coffalyzer.
- Dados clínicos:** Idade e sexo no momento da coleta.
- Foco:** Indivíduos com 0 ou 1 cópia do éxon 7 do *SMN1*.

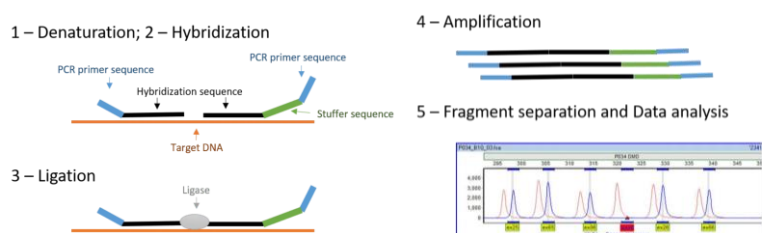


Figura 2: Representação esquemática da técnica de MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification).

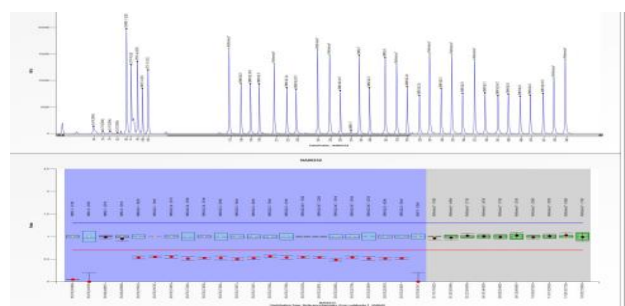
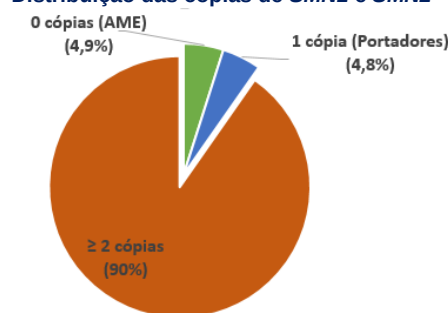


Figura 3: Representação de resultado de MLPA para paciente com AME (0 cópias de *SMN1*).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Distribuição das cópias de *SMN1* e *SMN2*



- **1224** amostras analisadas
- **4,9%** - **0** cópias de *SMN1* (AME)
- **4,8%** - **1** cópia de *SMN1* (portadores)
- **90%** - **2** ou **mais** cópias de *SMN1*.

Entre os pacientes diagnosticados com AME:

- **80%** < 2 anos
- **40%** até 6 meses.

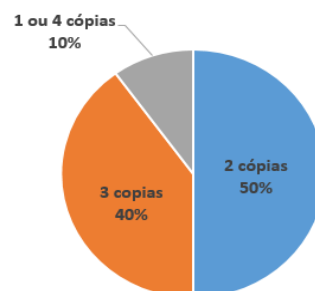
Entre os portadores:

- **69%** >20 anos.

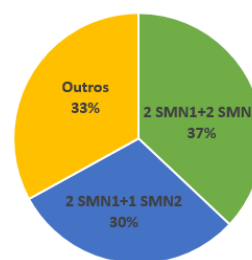
O número de cópias de *SMN2* nos casos de **AME** variou de **1 a 4**, com predominância de 2 cópias (50%) e 3 cópias (40%).

Nas **amostras em geral**, os perfis mais frequentes foram: **2 cópias de *SMN1* e 2 de *SMN2*** (37%), seguidos de **2 cópias de *SMN1* e 1 de *SMN2*** (30%).

Cópias de *SMN2* nos casos de AME



Perfis mais frequentes de *SMN1* + *SMN2*



Entre as amostras enviadas **para triagem de portadores**, observou-se **3% com 1 cópia de *SMN1***, valor compatível com a frequência esperada de heterozigotos na população mundial.

Os dados reforçam o diagnóstico precoce da AME, com a maioria dos casos identificados em menores de 2 anos. A predominância de 2 ou 3 cópias de *SMN2* nos pacientes com AME está em linha com a literatura, refletindo o impacto no fenótipo. A presença de 69% de portadores com mais de 20 anos indica prevalência de triagens adultas em contextos reprodutivos.

CONCLUSÃO:

Os dados confirmam a aplicabilidade da triagem genômica quantitativa (MLPA) na detecção de pacientes com AME e na identificação de portadores em diferentes contextos clínicos. A associação entre idade e número de cópias de *SMN1* confirma o perfil clínico esperado, com diagnóstico precoce em pacientes afetados e investigação tardia em adultos portadores. Esses dados reforçam a importância da genotipagem no manejo clínico de pacientes e no aconselhamento genético da AME.

REFERÊNCIAS

- D'Amico A, Mercuri E, Tiziano FD, Bertini E. Spinal muscular atrophy. Orphanet J Rare Dis. 2011;6:71.
- Verhaart IEC, Robertson A, Wilson IJ, et al. Prevalence, incidence and carrier frequency of 5q-linked spinal muscular atrophy - a literature review. Orphanet J Rare Dis. 2018;23:1.
- Mercuri E, Finkel RS, Muntoni F, et al. Diagnosis and management of spinal muscular atrophy: Part 1: Recommendations for diagnosis, rehabilitation, orthopedic and nutritional care. Neuromuscul Disord. 2018;28(2):103-115.