

TACIANE ALEGRA; CRISTINA C. B. NETTO, FABIANE LOPES DE OLIVEIRA, BÁRBARA KRUG, SIMONE M. DE CASTRO, ANA PAULA SANTIN, CARINA ZALESKI, DIVAIR DONEDA, MAYNA ÁVILA, PAULO D. PICON, IDA V. D. SCHWARTZ

INTRODUÇÃO/OBJETIVO: Citopenias e hepatoesplenomegalia são algumas manifestações da Doença de Gaucher (DG). Descrevemos a prevalência de anemia em pacientes com DG atendidos em um centro terciário. **MÉTODOS/PACIENTES:** Realizado hemograma e eletroforese de hemoglobina prospectivamente em todos os pacientes. Anemia foi definida por níveis de Hb utilizados internacionalmente para DG: homens 100fl foi definida como micro e macrocitose, respectivamente. Os anêmicos foram investigados em relação aos níveis séricos de ferro. **RESULTADOS:** Avaliados 22 pacientes (DG tipo I=19; tipo III=3), 9/22 femininos e 5/22 esplenectomizados. Dois adultos não estavam em Terapia de Reposição Enzimática (TRE) com imiglucerase e mostravam hemograma normal. Entre aqueles em TRE (n= 20), a dose média atual para o tipo I (n=17) foi, respectivamente 34,4 e 18,1 UI/kg/infusão para os

POTENT ANTI-FIBROGENIC EFFECTS OF S-NITROSO-N-ACETYLCYSTEINE (SNAC) IN LIVER CARCINOGENESIS AND FIBROGENESIS: IN VITRO STUDIES

FERNANDA DOS SANTOS DE OLIVEIRA, BARBARA GROSSMANN, CAROLINA URIBE, MARIO REIS, URSULA MATTE, GABRIELA DE SOUZA, MARCELO OLIVEIRA, FLAIR CARRILLO, THEMSI REVERBEL DA SILVEIRA, CLAUDIA OLIVE

Background/Aim: Nitric oxide (NO) plays several signaling roles in cells, whose effects depend on its local concentration. In tumor cells, such effects may range from anti-apoptotic to cytotoxic, allowing to propose its use as a chemotherapeutic drug in cancer treatment. Furthermore, NO has been shown to act as a potent antifibrotic effector by down-regulating fibroblast replication and myofibroblast differentiation. The aims of the present study were to evaluate the effectiveness of a NO donor, S-nitroso-N-acetylcysteine (SNAC), as antifibrogenic drug.. **Methods:** Myofibroblast-like GRX cell lines were cultured in Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM). GRX cells were incubated with different concentrations of SNAC and NAC and the cell viability was measured after 24 h by MTT colorimetric assay. SNAC-induced conversion of myofibroblast into lipocyte (fat storing) phenotype was evaluated by measuring TGF- β 1 levels (ELISA) and by Oil-Red-O staining of fat droplets formed. **Results:** GRX myofibroblast cells, SNAC at low concentration (50 μ M) led to a decrease in TGF- β 1 levels, compared to NAC at the same concentration, with significant cytotoxicity observed only at the highest concentration (2500 μ M).

This result was confirmed by the Oil-Red-O staining assay. **Conclusions:** SNAC is able to induce involution of myofibroblast into lipocyte phenotype on GRX cell lines, with concomitant reduction in TGF- β 1 levels, suggesting an antifibrogenic effect. These in vitro results are currently being investigated in an in vivo model of hepatic carcinogenesis and fibrogenesis.

ANFOTERICINA B COMO BLOQUEADOR DE TGF BETA 1 EM CULTURA DE CÉLULAS GRX

FERNANDA DOS SANTOS DE OLIVEIRA; BARBARA GROSSMANN, CAROLINA URIBE, JOSEANE MULLER, THEMSI REVERBEL DA SILVEIRA, URSULA MATTE

INTRODUÇÃO: A anfotericina B é um antifúngico e é usada para tratar micoses há 50 anos. Como quase todos os antifúngicos atuam ligando-se e alterando especificamente os esteróis da membrana celular das células do fungo, (ergosterol) o que altera sua permeabilidade e a célula perde potássio e moléculas pequenas. Está descrito que pacientes em tratamento com anfotericina B têm queda dos níveis de TGF beta 1 e de IL-10 séricos. O objetivo deste trabalho foi testar se miofibroblastos ativados regressariam ao fenótipo de lipócito na presença da droga, uma vez que a ativação destas células é dependente de TGF beta 1. **MATERIAL E MÉTODOS:** Células da linhagem GRX foram separadas em dois grupos: um deles foi mantido em condições de cultura celular padrão e outro grupo recebeu anfotericina na concentração de 0,5% adicionado ao meio padrão. Realizou-se ensaio de MTT para estimar a toxicidade da droga. Para avaliar a taxa de migração celular o teste de Wound Healing foi usado e observada a migração por 24 horas destas células. Para a detecção de gotas de gordura, as células foram coradas com oil red. ELISA foi usado para quantificar IL-10 e TGF beta 1 nos sobrenadantes celulares. **RESULTADOS:** O ensaio de MTT demonstrou que uso desta droga em culturas na dose usual de 1% é tóxica causando morte celular em mais de 50% destas. A citocina TGF beta 1 e IL-10 dosadas no sobrenadante IL-10 decaíram significativamente em relação ao grupo controle. Além disso as células tratadas foram menos invasivas que as do controle, demonstrando diminuição na capacidade migrativa. Mudanças de fenótipo foram observadas nas células tratadas, que adquiriram muitas gotas de gordura no seu interior, tendenciando a uma reversão de fenótipo. **CONCLUSÃO:** A fungizona, quando usada in vitro parece possuir um grande potencial de diferenciação celular e desativação em células esteladas hepáticas, podendo atuar como uma droga antifibrogênica. :

POLIMORFISMOS NOS GENES GSTM1, GSTT1 E GSTP1 EM 750 MULHERES PARTICIPANTES DE UM PROGRAMA DE RASTREAMENTO MAMOGRAFICO DE CÂNCER DE MAMA (NMPOA) NO SUL DO BRASIL.

ERNESTINA SILVA DE AGUIAR; J. GIACOMAZZI; BOCK-H; SARAIVA PEREIRA-MARIA LUIZA; SANTOS PAC; E. PALMERO; R. GIUGLIANI; M. CALEFFI; L. SCHÜLER-FACCINI; SUZI CAMEY; P. ASHTON-PROLLA

Introdução: Polimorfismos genéticos em genes relacionados com metabolismo, como os genes da super família das glutationas-S-transferases (GSTM1, GSTT1 e GSTP1) têm sido associados com aumento de risco para câncer de mama (CM). Objetivos: Considerando-se a alta incidência do CM em Porto Alegre, o objetivo desse estudo é caracterizar mulheres quanto à frequência alélica e genotípica dos alelos M1 nulo de GSTM1, T1 nulo de GSTT1 e P1 de GSTP1. Metodologia: A amostra é constituída de 750 mulheres (40-69 anos) recrutadas na Coorte Núcleo Mama Porto Alegre (NMPOA). Informações referentes à raça foram obtidas por auto-denominação através de revisão de prontuário. As análises laboratoriais foram realizadas pelo método de reação da polimerase em cadeia (PCR) – Multiplex para M1/T1, e PCR em tempo real para P1. As análises estatísticas foram realizadas em SPSS v.15. Resultados: Quinhentos e noventa e nove (80%) das mulheres se auto-denominaram como brancas e 151 (20%) como negras. Entre as brancas, a frequência alélica de M1 e T1 nulos (M- e T-) e homocigotos nulo para ambos os genes (M1-/T1-) foi 281 (46,9%), 119 (19,9%) e 64 (10,7%), respectivamente. Entre as negras estas frequências foram 58 (38,4%), 39 (25,8%) e 12 (7,9%). A distribuição genotípica para GSTP1 em brancas foi: I/I 268 (44,7%), I/V 270 (45,1%) e V/V 61 (10,2%) e a frequência alélica foi de 0,66 para Ile. Em negras as frequências genotípicas foram: I/I 61 (41,0%), I/V 59 (39,1%) e V/V 30 (19,9%) e a frequência alélica de Ile foi 0,61. Conclusões: As frequências genotípicas e alélicas dos polimorfismos GSTM1/GSTT1 nulos não diferem significativamente entre os grupos. Houve diferença estatisticamente significativa para o gene GSTP1 genótipo mutado, ($p=0,005$). Observando-se maior frequência deste em mulheres negras. A caracterização da nossa população quanto a polimorfismos associados com risco de câncer de mama pode elucidar riscos adicionais relacionados com câncer de mama nesta comunidade.

IDENTIFICAÇÃO SEMI-AUTOMATIZADA DE MUTAÇÕES FREQUENTES NO GENE DA FENILALANINA HIDROXILASE

TAMARA DA SILVA VACCARO; FERNANDA MARQUES DE SOUZA GODINHO; HUGO BOCK; LUIZ CARLOS SANTANA DA SILVA; ROBERTO GIUGLIANI; MARIA LUIZA SARAIVA-PEREIRA

Fenilcetonúria (PKU) se caracteriza pela deficiência total ou parcial da enzima fenilalanina hidroxilase (PAH), a qual converte o aminoácido fenilalanina em tirosina, sendo codificada pelo gene fenilalanina hidroxilase (PAH). A PKU é causada por mutações no gene

PAH e muitas alterações diferentes nesse gene já foram descritas. O espectro de mutações em pacientes com PKU do sul do Brasil já foi estabelecido e as seis mutações mais frequentes estão presentes em 63,6% dos alelos analisados. Este estudo teve como objetivo desenvolver e validar um protocolo baseado em PCR em tempo real para a identificação das mutações IVS2nt5G>C, I65T, R261X, R261Q, R408W e IVS12nt1G>A. O grupo de estudo foi composto por amostras de 39 pacientes com PKU, as quais foram previamente testadas para essas mutações pela metodologia de RFLP e/ou sequenciamento direto. O DNA foi isolado a partir de amostras de sangue pelo método de precipitação de sais e proteinase K e quantificado pelo método fluorimétrico e as amostras diluídas a 2ng/ul. Os primers e as sondas foram desenhados no programa Primer Express v. 2.0 (Applied Biosystems). As mutações foram analisadas pelo sistema TaqMan® no equipamento ABI 7500 PCR System. As reações foram padronizadas para as seis mutações e todas as amostras foram testadas. Os resultados obtidos nesse estudo concordaram com os resultados obtidos anteriormente. A metodologia padronizada demonstrou ser mais rápida que as metodologias empregadas anteriormente, além de necessitar de uma menor quantidade de material para a sua realização. Portanto, o novo protocolo já está incorporado na análise molecular de novos casos de PKU. Além disso, essa metodologia pode ser adaptada para a análise molecular de amostras proveniente de outras fontes de DNA, como sangue em papel-filtro (Apoio Financeiro: FIPE-HCPA, FAPERGS e CNPq).

AVALIAÇÃO DO ESPECTRO MUTACIONAL DE 20 FAMÍLIAS COM ADRENOLEUCODISTROFIA LIGADA AO X

FERNANDA DOS SANTOS PEREIRA; LAURA BANNA-CH JARDIM; URSULA DA SILVEIRA MATTE; ROBERTO GIUGLIANI; CRISTINA BRINCKMAN DE OLIVEIRA NETTO; CARMEM REGLA VARGAS; DEBORAH BLANK; LUIZA RENCK; MARIANA LA BELLA COSTA; ANDREW CHAVES FEITOSA DA SILVA

A adrenoleucodistrofia ligada ao X (X-ALD) é uma doença genética do metabolismo dos peroxissomos, na qual a degradação dos ácidos graxos muito longos saturados (VLCFA) encontra-se impedida ou limitada. A X-ALD afeta principalmente a córtex adrenal, a mielina do sistema nervoso central e os axônios centrais e periféricos. Sua variabilidade fenotípica é muito alta e não pode ser prevista nem pelos níveis dos VLCFA, nem pela história familiar, limitando a validade da correlação genótipo-fenótipo. O gene da X-ALD (ABCD1), contém 10 exons e ocupa 20 kb do DNA genômico no braço longo do cromossomo X (Xq28). Mais de 200 mutações foram identificadas e a maioria delas (58%) é “privada”. Dentre as mutações encontradas, aproximadamente 7% são grandes deleções, 24% mutações por mudança no quadro de leitura (frameshift), 3% são devidas a defeitos das junções