

que apresentaram conformação diferente destes foram sequenciados de forma automatizada. Após a identificação da mutação, 100 amostras controles foram submetidas ao mesmo protocolo para garantir que a alteração encontrada não era um polimorfismo. **Resultados:** Foi identificada a mutação Y333C no éxon 10, na qual há a troca de um aminoácido tirosina por uma cisteína. Esta mutação, nunca antes descrita, ocorreu em homozigose nos dois irmãos. **Conclusões:** Concluímos que a mutação Y333C é causadora deste fenótipo único, o que nos leva a propor que mais estudos devem ser realizados para descrever seu efeito na conformação da proteína. Apoio: BIC/UFRGS, FIPE/HCPA.

APLICAÇÃO DE PCR EM TEMPO REAL NA IDENTIFICAÇÃO DAS MUTAÇÕES A3243G, A8344G E T8993G NO MTDNA.

HEMILLIANO DE LEMOS; HUGO BOCK; CAROLINA FISCHINGER MOURA DE SOUZA; MARIA LUIZA SARAIVA-PEREIRA.

A mitocôndria é uma organela citoplasmática que exerce um papel fundamental para a produção de energia na célula. Esta organela apresenta determinadas particularidades, entre elas a existência de seu próprio DNA, denominado DNA mitocondrial (mtDNA). O mtDNA está sujeito a ocorrência de polimorfismos e mutações. Essas mutações podem estar associadas a doenças, como no caso das mutações A3243G, A8344G e T8993G, as quais estão associadas às síndromes mitocondriais MELAS, MERRF e NARP/Leigh, respectivamente. O objetivo desse trabalho é identificar as mutações A3243G, A8344G e T8993G no mtDNA por PCR em tempo real. O grupo de estudo foi composto por 35 amostras, as quais foram previamente testadas para essas mutações pela metodologia de RFLP. O DNA foi isolado a partir de amostras de sangue pelo método de precipitação de sais e proteinase K, 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 (Applied Biosystems). As reações foram padronizadas para as três mutações e todas as amostras foram testadas. Os resultados obtidos concordaram com os resultados encontrados pela outra metodologia. A padronização dessa metodologia se mostrou eficiente na identificação das mutações, podendo ser utilizada no diagnóstico de doenças mitocondriais. A aplicação dessa metodologia poderá facilitar o diagnóstico e poderá também ser padronizada para identificar outras mutações de ponto no mtDNA (Apoio financeiro: PROPESQ/UFRGS, FIPE-HCPA e CNPq).

MODELO DE HEPATOTOXIDADE INDUZIDA POR CCL4: TGF- β 1 E FIBROSE HEPÁTICA

BARBARA GROSSMANN SIQUEIRA; FERNANDA DOS SANTOS DE OLIVEIRA; CAROLINA URIBE; JOSEANE JOHN MÜLLER; THEMIS REVERBEL DA SILVEIRA; URSULA DA SILVEIRA MATTE;

INTRODUÇÃO: Fibrose hepática é o resultado da deposição do excesso de matriz extracelular no parênquima hepático. Uma das principais citocinas envolvidas na fibrogênese é o TGF- β 1 (Transforming growth factor-beta 1), que induz a diferenciação das células esteladas hepáticas em miofibroblastos. Um dos modelos animais para induzir a formação de fibrose hepática é a administração em longo prazo de tetracloreto de carbono (CCl₄). O estresse oxidativo parece ser o mecanismo envolvido na hepatotoxicidade por CCl₄, onde as espécies reativas de oxigênio têm importante papel na patogênese da fibrose hepática. **OBJETIVO:** Avaliar o comportamento do TGF- β 1 junto à fibrogênese em ratos com lesão induzida por CCl₄. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Ratos Wistar machos foram induzidos uma vez por semana com 0,25mL/kg de CCl₄ via oral por 16 semanas, mantidos com restrição alimentar e água suplementada com Fenobarbital. Nos tempos 0, 5, 6, 10, 11, 12 e 16 semanas foram obtidas amostras de soro e quantificou-se o TGF- β 1 por ELISA. Em 10, 11 e 12 semanas foram coletadas amostras de fígado, fixadas e coradas para quantificação de fibrose através da técnica de picrossirius. **RESULTADO:** Os resultados prévios demonstraram aumento à nível sérico do TGF- β 1 e da quantidade de colágeno no parênquima entre a 11ª e 12ª semana. **CONCLUSÕES:** O fato de a citocina ter aumentando na fase aguda do processo fibrogênico, mas ter voltado ao parâmetro normal, mesmo com a progressão da fibrose, demonstra que TGF- β 1 parece não ser um bom marcador sorológico de lesão hepática, apesar de contribuir fortemente com a estabilização do dano.

CORREÇÃO DA DEFICIÊNCIA DE ARSA EM FIBROBLASTOS DE PACIENTES COM LEUCODISTROFIA METACROMÁTICA

VALESKA LIZZI LAGRANHA; GUILHERME BALDO, TALITA GIACOMET DE CARVALHO, MAIRA BURIN, MARIA LUIZA SARAIVA PEREIRA, ROBERTO GIUGLIANI, URSULA MATTE

Introdução: Leucodistrofia metacromática (LDM) é uma doença causada pela deficiência da enzima Aril-sulfatase A (ARSA). Tratamentos em estudos incluem a terapia de reposição enzimática, porém com limitações devido à barreira hemato-encefálica (BHE). Uma alternativa seria a implantação no cérebro, de células encapsuladas superexpressando ARSA, simulando a reposição enzimática sem injeções repetidas e eliminando a necessidade de transpor a BHE. **Objetivos:** Corrigir, in vitro, a deficiência de ARSA em fibroblastos de pacientes com LDM. **Materiais e Métodos:** Três grupos foram analisados: fibroblastos tratados com células BHK superexpressando ARSA (rBHK) imobi-