

P1720**Avaliação de os níveis enzimáticos da iduronato 2-sulfatasa em tecidos de camundongos Knockout MPS II tratados com o sistema CRISPR/CAS9 para a correção da Síndrome de Hunter**

Luisa Natalia Pimentel Vera, Roselena Silvestri Schuh, Angela Maria Tavares, Esteban Gonzalez, Graziella Rodrigues, Édina Poletto, Guilherme Baldo - UFRGS

Introdução: A mucopolissacaridose II (MPS II) é causada por mutações no gene da enzima iduronato 2-sulfatasa (IDS). A deficiência desta afeta o metabolismo dos glicosaminoglicanos e promove o acúmulo crescente de heparan e dermatan sulfato. Isto implica uma série de sintomas multissistêmicos progressivos, que leva a morte numa idade precoce. Até a data as únicas terapias disponíveis para o tratamento não são totalmente efetivas ou apresentam riscos que dificultam o uso. Devido às limitações, justifica-se a busca por novas abordagens. Usando a tecnologia do DNA recombinante, a edição genica pelo sistema CRISPR/Cas9 apareceu nos últimos anos como uma abordagem promissora. Neste sistema, uma nucleasse cliva o DNA em ponto específico, e uma nova sequência é inserida neste ponto do genoma, corrigindo a mutação. **Metodologia:** Para testar a capacidade corretiva do sistema CRISPR in-vivo camundongos MPS II de 3 meses de idade recebem pela via nasal durante 30 dias um complexo formado por um vetor lipossomal, um plasmídeo CRISPR/Cas9 e um DNA doador com a sequência do gene da IDS. Amostras de soro foram coletadas aos 15 e 30 dias da administração e durante cada mês até os 6 meses de idade, onde os camundongos foram eutanasiados e os tecidos coletados para realizar dosagem da enzima IDS. **Resultados, Discussão e conclusões:** O tratamento intranasal dos camundongos de 3 meses de idade (n = 7 camundongos MPS II, CEUA/HCPA#170137) resultou em níveis de atividade IDS no soro durante os 30 dias da administração entre o 3-4% da atividade normal, embora os seguintes meses após do tratamento até os seis meses, a atividade no soro diminui até um 0,5-1,5%. Houve um aumento significativo da atividade de IDS no coração nos pulmões e o bulbo olfatório superiores aos MPS II não tratados e próximo a 1 % dos níveis normais. Esses resultados forneceram uma visão preliminar da distribuição e afinidade do vetor pelos diferentes tecidos usando a via nasal como via da administração. Embora que não tenha aumento da atividade enzimática em todo o cérebro, o fato de ter produção da enzima no bulbo olfatório pode servir para a enzima ser secretada e absorvida pelos tecidos próximos. **Unitermos:** MPS II; CRISPR/CAS9.

P1722**Análise de variantes polimórficas na região 5' UTR do gene DNAJB6 em pacientes com a Doença de Machado-Joseph**

Maiara Kolbe Musskopf, Eduardo Preusser de Mattos, Luis Dias Ferreira Soares, Gabriel Vasata Furtado, Jonas Alex Morales Saute, Laura Bannach Jardim, Maria Luiza Saraiva-Pereira - HCPA

A doença de Machado-Joseph ou ataxia espinocerebelar tipo 3 (DMJ/SCA3) é uma doença neurodegenerativa causada pela expansão do trinucleotídeo CAG no gene ATXN3. A idade de início (ii) dos sintomas ocorre predominantemente na vida adulta (30 a 50 anos) e é inversamente proporcional ao tamanho da expansão. Entretanto, outros moduladores genéticos e/ou ambientais parecem influenciar a ii, uma vez que pacientes com o mesmo tamanho de expansão podem apresentar ii discordantes. Um dos potenciais moduladores genéticos da ii é a proteína DNAJB6 supressora da agregação de proteínas amiloidogênicas associadas a doenças. Além disso, trabalhos recentes têm demonstrado alterações nos níveis de expressão da DNAJB6 em pacientes com DMJ/SCA3, além da correlação destes níveis com a progressão da doença em pacientes com uma ii precoce ou tardia. Desta forma, este trabalho visa analisar as frequências de variantes polimórficas na região 5' UTR do gene DNAJB6 que possam estar relacionadas com a modulação da ii de pacientes com DMJ/SCA3. Para isto, foi selecionada uma região compreendendo 1500 nucleotídeos à montante do éxon 1 para ser analisada em 65 amostras de DNA (45 pacientes com ii precoce ou tardia e 20 indivíduos saudáveis). Esta região foi dividida em 4 sub-regiões sobrepostas, as quais foram posteriormente amplificadas pela técnica de PCR e submetidas ao sequenciamento de Sanger utilizando o kit BigDye® v3.1. Os produtos do sequenciamento foram resolvidos por eletroforese capilar e os resultados foram analisados pelo software SeqScape® v2.5 seguidos de análise estatística através do software SPSS v.18. A região selecionada abrange 36 variantes polimórficas já descritas na literatura, as quais não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre as frequências alélicas de pacientes, controles e amostras do banco de dados 1000 Genomes. Nove variantes se mostraram heteroalélicas na população em estudo, e a comparação das frequências genotípicas entre pacientes e controles não apresentou nenhuma diferença estatisticamente significativa. De maneira geral, o presente estudo indica que as variantes polimórficas desta porção da região 5' UTR não estão relacionadas com uma possível modulação da ii de pacientes de DMJ/SCA3. Entretanto, devido às evidências experimentais a nível de proteína, é relevante a continuidade da investigação através da análise de haplótipos, fatores de transcrição e/ou outros componentes genéticos associados a esta região. **Unitermos:** Doença de Machado-Joseph; Modificadores de fenótipo; Gene DNAJB6.

P1762**Perdas gestacionais recorrentes: entendendo o papel da família gênica EGF-CFC na reprodução humana**

Joao Matheus Bremm, Lucas Rosa Fraga, Fernanda Sales Luiz Vianna, Thayne Woycinck Kowalski, Flávia Gobetti Gomes, Maria Teresa Vieira Sanseverino - HCPA

Introdução: Perdas Gestacionais Recorrentes (PGR) são definidas como duas ou mais perdas gestacionais que ocorrem antes das 20 semanas de gestação. PGR são um importante problema de saúde reprodutiva, afetando 1%-5% dos casais. Em cerca de 50% dos casos, a causa permanece indefinida. Na busca de fatores de susceptibilidade existem diversos estudos que associam variantes em genes com as PGR. Nesse contexto variantes nos genes TDGF1 e CFC1, da família EGF-CFC, são fortes candidatos baseando-se no seu papel durante o reconhecimento embrio-materno, implantação embrionária e desenvolvimento embrionário. **Objetivo:** Avaliar a participação dos genes da família EGF-CFC na reprodução através de ferramentas de bioinformática e biologia molecular. **Material e Métodos:** foram levantadas as Variantes de Nucleotídeo Único (SNV) de ambos genes através do software R studio, que posteriormente foram filtradas em bancos de dados, ABraOM e GenomeAD com base nas suas frequências. As SNVs com frequência ≥ 0.01 foram submetidas à revisão da literatura e predições funcionais. Este projeto está aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA (CAAE 89992818.3.0000.5327). **Resultados e Conclusões:** No gene TDGF1 foram encontradas 1254 SNVs, dentre essas 43 são com frequência ≥ 0.01 , já em CFC1 foram encontradas 286 SNV e dessas apenas 3 com frequência ≥ 0.01 . Dentre as variantes analisadas de TDGF1, 3 alteraram ilhas CpG, 23 apresentaram ganho ou perda de ligação de pelo menos um miRNA, 32 estão localizadas em sítios de interação com 76 diferentes fatores de transcrição (FT) e 34 apresentaram potencial alteração de sítio de splicing. Dos 76 FT encontrados ligando-se as SNVs 24 estão associados a ontologias reprodutivas