

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

(*splice defects*), 9% são devidas à perda de sentido (*nonsense*), 5%, por deleções-inserções e 53% são mutações por mudança de sentido (*missense*). O objetivo deste estudo foi avaliar o espectro mutacional das famílias com X-ALD atendidas no HCPA. O caso-índice de cada família foi convidado a participar desse estudo, tendo o seu gene ABCD1 analisado por PCR dos 10 éxons e posterior triagem de mutações nesses éxons pela técnica de SSCP. Os éxons que apresentaram padrão de migração diferente da amostra controle foram seqüenciados de forma automatizada. Até o momento, vinte famílias foram incluídas. Os dez éxons do gene ABCD1 foram amplificados e foi realizado SSCP para todos os éxons. Seis dos vinte casos-índice apresentaram padrão de migração alterado por SSCP. Após seqüenciamento automatizado dessas amostras, seis mutações foram encontradas: P623L, 1430delA, IVS+1g>a, T632P e 696del111 (não descritas na literatura) e Y296C (descrita por Takano et al., 1999). A triagem de mutações por SSCP continuará para os demais 14 casos-índices. Apoio: FIPE-HCPA, CNPq.

ESTUDO ASSOCIATIVO DA HERANÇA CUMULATIVA DE ALELOS DE DOIS LOCI E O RISCO DE CHOQUE SÉPTICO EM PACIENTES CRÍTICOS

LUCAS ROSA FRAGA; FRANCIS JACKSON DE OLIVEIRA PALUDO; JULIANE BENTES PICANÇO; JOSÉ LUIS FERRARO; THIAGO JESUS BORGES; FERNANDO SUPARREGUI DIAS; CLARICE SAMPAIO ALHO

Introdução: A sepse consiste em uma resposta inflamatória somada a um foco de infecção. Choque séptico consiste em sepse mais hipotensão. O óxido nítrico (NO), produzido pela enzima sintase do óxido nítrico endotelial (eNOS), é um dos principais agentes vasodilatadores, e assim como o superóxido (O₂⁻), têm sua produção aumentada na célula durante o quadro séptico. A enzima superóxido dismutase dependente de manganês (MnSOD) age na eliminação deste O₂⁻. Estudos anteriores realizados no Laboratório de Genética Humana e Molecular - PUCRS demonstram associação entre a presença do alelo T do gene da eNOS (SNP 894G>T; Glu298Asp) com sepse e choque séptico. Comparou-se pacientes críticos com sujeitos saudáveis e verificou-se a presença do homocigoto 894TT superior em pacientes com sepse (p=0,017) e com choque séptico (p=0,024). Outro estudo associou o alelo -9Ala do gene da MnSOD (SNP SOD2 47C>T; -9Ala/Val) com choque séptico. Nesse estudo, observou-se a presença do alelo -9Ala superior no grupo de pacientes sépticos que evoluíram para choque, quando comparado aos que não tiveram choque séptico (p=0,02). **Objetivo:** Investigar o efeito cumulativo da herança de alelos em dois diferentes loci, associados ao risco de choque séptico em pacientes críticos. Para isso se aumentará o número de indivíduos genotipados para o gene eNOS. **Metodologia:** A técnica utilizada foi PCR-RFLP. **Resultados:** Foram genotipados mais 120

pacientes para a eNOS totalizando, assim, 327 pacientes genotipados para ambos os polimorfismos. Da amostra total (N=327), 221 pacientes apresentaram sepse e 157 desenvolveram choque séptico. Nossos resultados mostraram que no grupo de portadores dos alelos -9Ala e 894T houve mais casos de choque séptico quando comparados ao grupo de pacientes sem esses alelos (p=0,007). **Conclusão:** Nosso estudo sugere que a herança cumulativa dos alelos SOD2 -9Ala e eNOS 894T pode aumentar o risco de choque séptico em pacientes em estado crítico de saúde.

ESTIMATIVA DA PROBABILIDADE DE MUTAÇÃO GERMINATIVA EM GENES MMR EM FAMÍLIAS COM FENÓTIPO SUGESTIVO DE SÍNDROME DE LYNCH USANDO DIFERENTES MODELOS MATEMÁTICOS

SILVIA LILIANA COSSIO; PATRICIA IZETTI LISBOA RIBEIRO, CARLOS EDUARDO PITROSKI, AISHAMERIANE VENES SCHMIDT, PATRICIA KOEHLER-SANTOS, JOÃO CARLOS PROLLA, PATRICIA ASHTON-PROLLA

A síndrome de Lynch é a síndrome mais comum de câncer colorretal (CCR) hereditário. Tem herança autossômica dominante e é heterogênea do ponto de vista molecular, sendo causada por mutações germinativas em vários genes de alta penetrância (hMLH1, hMSH2, hMSH6 e PMS2). Além de CCR, indivíduos portadores de mutação tem risco vital elevado para o desenvolvimento de outros tumores, incluindo câncer de endométrio. Neste estudo foi realizada uma análise comparativa das probabilidades de mutação estimadas por diferentes modelos matemáticos disponíveis na literatura. Foram analisados 76 pacientes. Para inclusão no estudo os pacientes deveriam preencher critérios clínicos de Amsterdam ou Bethesda e/ou apresentarem câncer de endométrio antes dos 50 anos de idade, independente da história familiar. Dos 76 pacientes incluídos, todos tinham história pessoal de câncer e 57 (75,0%) eram do sexo feminino. A idade média ao diagnóstico do primeiro tumor foi 43.7 anos (\pm DP 8.5) e os números de pacientes com pelo menos um diagnóstico de CCR, endométrio e ovário foram 54 (71.1%), 28 (36,8%) e 3 (3,9%). Dez pacientes (13,2%) apresentavam mais de um tumor primário. O número de casos em cada grupo de critérios foi: 19 pacientes com critérios Amsterdam, 45 com critérios Bethesda e 12 com câncer de endométrio antes dos 50 anos de idade. As probabilidades médias de mutação em cada um dos grupos utilizando o modelo PREMM1,2 foi 46,5%, 17,2% e 10,9%, respectivamente. Utilizando o modelo de Weijnen (que não considera casos de câncer de endométrio) as respectivas probabilidades foram 42,2%, 12,8% e zero. Utilizando o modelo CAGENE que estima as probabilidades individuais de mutação para os genes MMR, a probabilidade geral de mutação em hMLH1, hMSH2 e hMSH6 na amostra foi de 22,0%, 25,0% e 4,6%. Embora hM-