

P 1140**O alelo A do polimorfismo -866G/A no gene UCP2 causa a diminuição da expressão deste gene em células HUVECs**

Bianca M. de Souza; Liana P. A. da Silva; Ana Paula Bouças; Rodrigo Carlessi; Taís S. Assmann; Letícia de Almeida Brondani; Luís H. Canani; Daisy Crispim - HCPA

Introdução: A proteína desacopladora 2 (UCP2) está localizada na membrana mitocondrial interna e atua dissipando o gradiente de prótons da cadeia respiratória mitocondrial, diminuindo a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs). Esta proteína é expressa em vários tecidos, incluindo na retina. Considerando-se que o estresse oxidativo é um dos principais fatores associados à retinopatia diabética (RD), polimorfismos neste gene podem estar envolvidos na patogênese dessa complicação. De fato, um estudo do nosso grupo mostrou a associação do haplótipo -866A/55Val/Ins (constituído pelos polimorfismos -866G/A, Ala55Val e Ins/Del na UCP2) com risco para RD proliferativa em pacientes com diabetes tipo 1 e 2. Este haplótipo foi também associado com diminuição da expressão de UCP2 na retina humana. Estudos sugerem que o polimorfismo -866G/A afeta diretamente a expressão de UCP2 em alguns tipos celulares, entretanto, o efeito deste polimorfismo em células endoteliais sob diferentes concentrações de glicose não é bem definido. **Objetivo:** Em uma linhagem de células endoteliais humanas, investigar se o polimorfismo -866G/A influencia a expressão de UCP2 em diferentes concentrações de glicose. **Métodos:** Células endoteliais da veia do cordão umbilical humano (HUVECs) foram transfectadas com plasmídeos pGL3-Basic_L793 contendo a região promotora do gene UCP2 e a sequência codificante da luciferase firefly, usando-se a Lipofectamina LTX (Life Technologies). As condições teste são: 1) transfecção com o alelo selvagem (pGL3-UCP2-G) e 2) transfecção com o alelo mutado (pGL3-UCP2-A), sob condições de normoglicemia (4mM) ou hiperglicemia (25mM). O plasmídeo pCMV codifica a luciferase renila e foi co-transfectado como controle interno e o pGFP como o controle da transfecção. Após 24h da transfecção, os níveis de luciferase foram medidos com Ensaio Dual-luciferase luminescente (Promega). **Resultados:** Em condições basais, células transfectadas com o plasmídeo contendo o alelo mutado (pGL3-UCP2_A) tiveram uma diminuição de 35% na expressão de UCP2 comparado a células transfectadas com o plasmídeo contendo o alelo ancestral (pGL3-UCP2_G) ($p=0,017$; $n=3$). Os experimentos de incubação com diferentes concentrações de glicose (por mais 24h) ainda estão em andamento. **Conclusão:** Nossos resultados preliminares demonstram que o alelo -866A causa uma menor expressão de UCP2 em células HUVECs, fornecendo uma explicação biológica para os nossos dados anteriores de estudos de associação. **Unitermos:** Polimorfismo -866G/A; UCP2; HUVECs