

GHM

GENÉTICA HUMANA E MÉDICA



Microssatélite D14S606 no gene Receptor do Hormônio Estimulador da Tireóide (rTSH) em pacientes com Hipotireoidismo Congênito da Paraíba: Frequências gênicas e alélicas

Oliveira, Y¹; Oliveira, JMF¹; Costa, AB¹; Rego-Silva, JH¹; Souza, LD¹; Barros, JAC¹; Nascimento, DQ¹; Rocha, AM²; Santos-Lopes, SS¹.

¹Laboratório de Genética e Biologia Molecular - Departamento de Biologia - Universidade Estadual da Paraíba (UEPB);

²Hospital Universitário Alcides Carneiro da Universidade Federal de Campina Grande (HUAC/UFCG)

sisil.santos@gmail.com

Palavras-chave: Hipotireoidismo congênito, rTSH, microssatélites, frequência alélica, Paraíba.

O Hipotireoidismo congênito é o distúrbio endócrino congênito mais comum na infância, que mundialmente apresenta a prevalência de 1: 3000-4000 indivíduos. Tal distúrbio é definido como a deficiência ou ausência da produção de hormônios tireoidianos que acarreta na redução dos processos metabólicos do organismo e prejudica o neurodesenvolvimento, podendo ser causado por qualquer defeito no desenvolvimento da glândula tireóide (disgenesia tireoidiana) em 85% dos casos, ou por erros inatos de biossíntese dos hormônios da tireóide (disormonogênese) em 10 a 15% dos pacientes com HC. O crescimento e função da tireóide são controlados principalmente pelo hormônio estimulante da tireóide (TSH). A total insensibilidade ou resposta reduzida do receptor do hormônio estimulador da tireóide ao TSH bioativo resulta no desenvolvimento de uma glândula tireóide hipoplásica e diminuição da síntese e secreção de HTs que pode ser causada por mutações inativadoras no gene do receptor do TSH (rTSH). O microssatélite D14S606 (GATA)_n localiza-se próximo ao gene do rTSH, sendo utilizado para análise por haplotipagem junto a mutações do gene do rTSH. Este estudo foi realizado com objetivo de analisar as frequências alélicas do microssatélite D14S606 em amostras de 24 pacientes com HC por disormonogênese com diagnóstico clínico-laboratorial confirmado, assistidos no Hospital Universitário Alcides Carneiros- HUAC/UFCG do estado da Paraíba, e 22 indivíduos saudáveis para HC (controles). O microssatélite D14S606 foi analisado em gel de poliacrilamida a 10%, visualizado em eletroforese e corado com nitrato de prata. Os alelos foram identificados por contagem direta. Observou-se um total de sete alelos, cuja a heterozigosidade média foi de 0,634 ($\pm 0,093$). O alelo 1 foi identificado apenas em um indivíduo da população de pacientes – paciente 5. Foram visualizados 12 genótipos nos pacientes: 1/4 (4,17%), 2/2 (12,5%), 2/3 (4,17%), 2/5 (4,17%), 3/3 (4,17%), 3/4 (8,33%), 3/5 (12,5%), 4/4 (12,5%), 4/7 (8,33%), 5/7 (12,5%), 6/6 (8,33%) e 7/7 (8,33%). O índice de diversidade genética apresentado foi de 0,845 ($\pm 0,0171$). O estudo das frequências alélicas de marcadores associados a doenças podem ser utilizados em conjunto com outros marcadores polimórficos para a definição de haplótipos específicos para pacientes. O conhecimento das frequências alélicas na amostragem estudada será utilizado para compor o bloco haplotípico junto com marcadores do tipo polimorfismos de nucleotídeos únicos (SNPs) para verificar a associação ao HC.

Apoio financeiro: CNPq.

A recorrência do subtipo triplo negativo e a avaliação de seu significado clínico em mulheres no hospital da FAP em Campina Grande-PB

Guimarães, B.D¹; Andrade, ACM¹; Araújo, HCS¹; Weller, M².

¹Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS). Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). Campina Grande, Brasil;

²Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública. Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). Campina Grande, Brasil.

biadantas@gmail.com

Palavras-chave: Subtipos moleculares, triplo negativo, câncer de mama, receptores hormonais, valores prognósticos

O câncer de mama não mais é visto como uma única doença, mas como um conjunto de diferentes doenças com distintas características biológicas e moleculares. A expressão dos receptores hormonais (RH) de estrógeno (ER), progesterona (PR) e do receptor HER2/neu definem os subtipos moleculares do câncer de mama, sendo classificados de acordo com estes parâmetros em: Luminal A (ER+ e/ou PR+ e HER2-), Luminal B (ER+ e/ou PR+ e HER2+), superexpressão HER2 (ER- PR- HER2+) e triplo negativo (TN; ER- PR- HER2-). Os subtipos moleculares possuem diferentes valores prognósticos, onde o subtipo triplo negativo revela maior agressividade. Além disso, não há possibilidade de imunoterapia ou terapia hormonal para pacientes com este subtipo. Até o presente momento, pouco se sabe sobre os subtipos moleculares de câncer de mama em diferentes populações brasileiras. O presente estudo teve como objetivo investigar a frequência de subtipos moleculares do câncer de mama numa população do Nordeste do Brasil. Os dados de 633 pacientes com câncer de mama invasivo de 2005 à 2011 foram obtidos a partir de registros médicos do hospital da FAP de Campina Grande – PB. Dentre as pacientes que apresentaram em seu registro médico o exame imunohistoquímico (296 pacientes), os resultados revelaram que, 17.10% eram do subtipo molecular TN, e destas, 67.39% tinham idade acima de 50 anos enquanto que 19.57% tinham idade entre 31 e 40 anos ($p=0.0046$). Tamanhos intermediários de tumores $> 2.0\text{cm} \leq 5.0\text{cm}$ (T2) foram mais frequentes no subtipo TN ($p= 0.0448$), assim como o alto grau histológico (Grau 3) de tumores (34.28%; $p< 0.0001$), quando comparado aos outros subtipos. Dado o exposto, este estudo pôde revelar que pacientes de subtipo molecular basal (triplo negativo) apresentaram tumores mais nocivos, estando maior parte das pacientes na condição de pós-menopausa. Considerando-se que não há estudos sobre os fatores de risco que aumentam a frequência de tumores TN em populações do Nordeste Brasileiro, enfatiza-se a necessidade de maior investigação sobre os mesmos, para que se possa melhorar a qualidade de vida das pacientes portadoras deste subtipo molecular.

Suporte Financeiro: CNPq, Universidade Estadual da Paraíba – UEPB.

The lack of immunohistochemistry assays reveals health disparities between two groups of breast cancer patients in a public hospital in Brazil

Guimarães, B.D¹; Andrade, ACM¹; Araújo, HCS¹; Weller, M².

¹Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS). Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). Campina Grande, Brasil;

²Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública. Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). Campina Grande, Brasil.

biadantasg@gmail.com

Keywords: Breast cancer, immunohistochemistry assays, therapeutic opportunities, clinical and histological parameters, hormone receptor

The incidence of breast cancer in Northeastern Brazil is rapidly increasing. Many breast cancer patients treated in public hospitals have an unknown hormone receptor (HR) and HER2/neu status. The aim of the present study was to compare characteristics of breast cancer patients, who have and have not performed immunohistochemistry (IHC) assays. Data of 677 patients with invasive breast cancer, registered in the years between 2005 and 2010, were obtained from medical records of a public hospital in Campina Grande, state of Paraíba, Brazil. Overall, 384 (56.72%) out of 677 patients have not performed IHC assays. Patients who have not performed IHC assays had an increased tumor size ($p = 0.0200$), higher histological grade ($p = 0.0025$) and an increased number of lymph node positive breast cancer ($p = 0.0004$). Breast cancer of stage I and II was characteristic for 147 (62.82%) out of 293 and 283 (54.42%) out of 384 patients who have and have not performed IHC assays, respectively ($p < 0.0001$). Increased tumor size (OR= 2.08; CI= 1.27- 3.45; $p = 0.0030$) and high histological grade (OR= 2.17; CI= 1.18- 4.17; $p = 0.0130$), were associated with decreased five- year survival. Analysis of five- year survival rates were 89.42% and 83.85% for patients who have and have not performed IHC assays, respectively ($p = 0.0329$). The hazard ratio was 1.580 (95% CI of ratio: 1.045 to 2.369). Findings showed that breast cancer of patients who have not performed IHC assays had been in an advanced state of disease. This resulted in a decreased five- year survival rate. Results indicated that missing implementation of IHC assays was not caused solely by an advanced phase of disease, but may have principally economic reasons. Furthermore, there exist additional unknown factors that cause the observed health disparities between patients who have and have not performed IHC assays, respectively. Breast cancer treatment in Brazil could be improved by the implementation of immunohistochemistry facilities in those public hospitals that until today do not offer IHC assays.

Financial Support: CNPq, Universidade Estadual da Paraíba – UEPB.

Relação do polimorfismo no gene da interleucina 1 beta e a susceptibilidade a infecção por HPV

Ribeiro, MCS^{1,2}; Oliveira, RS^{1,2}; Macedo, JL³; Oliveira, ML⁶; Lima Junior, SF^{2,4}; Souza, PRE^{2,5}

¹Graduação em Bacharelado em Ciências Biológicas, UFRPE, Recife, PE; ²Laboratório de Genética, Bioquímica e Sequenciamento Tânia Falcão, UFRPE, Recife, PE; ³Doutoranda em Biotecnologia em Saúde pelo RENORBIO, UFRPE, Recife, PE; ⁴Programa de Pós-Graduação em Biologia Aplicada à Saúde, UFPE, Recife, PE; ⁵Departamento de Biologia – Área de Genética – UFRPE – Recife, PE; ⁶Instituto de Medicina Integrada Prof. Fernando Figueira - IMIP, Pernambuco, PE

maysa.csr@hotmail.com

Palavras-chave: câncer de colo uterino, persistência, citocina, genótipo, inflamação

A infecção pelo Papilomavírus Humano é uma doença relativamente comum podendo gerar diversos tipos de acometimentos, sendo os cânceres de diversos tipos, em especial o de colo uterino, o principal interesse médico. O câncer de colo de útero figura-se com o segundo lugar em incidência de câncer entre mulheres do Brasil. No entanto, a maioria das mulheres infectadas não apresenta qualquer tipo de sintoma ou eliminam a infecção espontaneamente, evidenciando que outros fatores são necessários para o desenvolvimento e malignidade da doença. A manutenção da infecção e lesões causadas pelo HPV está fortemente relacionada à ativação do sistema imunológico e a suscetibilidade genética do hospedeiro. A Interleucina IL-1 β , uma citocina pró-inflamatória, tem sido associada à mediação da inflamação aguda e crônica. O polimorfismo de um único nucleotídeo (SNP) na posição +3953 do gene IL-1 β tem sido associado a diversas patologias, entre elas o câncer do colo do útero, porém com resultados contraditórios. O objetivo deste estudo é avaliar a relação entre o polimorfismo da IL-1 β e a susceptibilidade a infecção pelo HPV em mulheres do Estado de Pernambuco. Foram selecionadas 120 mulheres que foram atendidas no Centro de Saúde da Mulher do Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira – IMIP – PE, sendo 60 com diagnóstico de infecção pelo HPV (Caso) e 60 livres da infecção viral (Controle). A detecção do SNP +3953 (T/C) no gene IL-1 β foi realizada pela técnica de PCR-RFLP. As amostras foram tratadas estatisticamente utilizando-se a ferramenta on-line SNPStats. Quando comparadas as frequências genotípicas entre os grupos de caso e controle verificou-se que pacientes com genótipo TC ou CC possuíam uma maior proteção para infecção viral (OR=0,46; IC 95%: 0.22 – 0.97; p<0,039). Estes dados sugerem que a detecção deste polimorfismo poderá ser útil como marcador para avaliação de risco para infecção e persistência da infecção pelo HPV na população do Estado de Pernambuco podendo contribuir associado a outros dados clínicos laboratoriais para redução significativa dos casos de câncer cervical.

Suporte Financeiro: FACEPE e CNPq

Desenvolvimento de estratégias profilático-terapêuticas contra o Papilomavírus humano (HPV): construção de antígenos imunizantes para produção em sistema de expressão procarioto

Silva, AJD¹; Mariz, FC¹; Freitas, AC¹

¹Laboratório de Estudos Moleculares e Terapia Experimental, Departamento de Genética, Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco - Brasil

anna.jessica_7@hotmail.com

Palavras-chave: HPV; Câncer Cervical; Vacina; Imunização; Expressão heteróloga

A infecção por HPV é responsável por 5% dos cânceres em humanos, sendo o câncer cervical o mais relevante devido aos seus altos índices de prevalência e mortalidade. Embora comprovadamente eficazes, as atuais vacinas anti-HPV, baseadas em *virus-like particles* obtidas a partir da produção da proteína do capsídeo viral L1 em sistemas de expressão recombinante, não são capazes de combater infecções e lesões já estabelecidas e seu elevado custo dificulta a sua disponibilização. Esse cenário torna imprescindível o desenvolvimento de estratégias vacinais alternativas contra o HPV. Nesse sentido, este trabalho propõe a construção de diferentes genes recombinantes para superexpressão em sistema bacteriano, uma plataforma biotecnológica econômica, de fácil manipulação e de bom rendimento. Tais genes se baseiam na: (i) repetição de epitopos da oncoproteína viral E5, com potencial para geração de antígenos terapêuticos; (ii) inserção de epitopos da oncoproteína viral E5 em diferentes regiões da proteína L1, com potencial para geração de antígenos profilático-terapêuticos. Para tanto, foram desenhados primers para obtenção dos genes de interesse a partir do genoma viral (HPV-16) previamente clonado em vetor pBR322 e mediante PCR convencional e de fusão. Tais fragmentos foram posteriormente subclonados em pGEM-T e clonados em vetor de expressão pAE. Bactérias da linhagem *Escherichia coli* BL21 foram transformadas com os vetores de expressão gerados e as análises por sequenciamento e restrição enzimática confirmaram a correta obtenção das construções. Os resultados apresentados fornecem a base necessária para posterior produção dos antígenos recombinantes, os quais serão validados em futuros ensaios imunológicos quanto à capacidade de induzir respostas imunes profiláticas e terapêuticas em animais desafiados.

Suporte Financeiro: CNPq, CAPES.

A polymorphism in Interleukin-10 gene is associated with an earlier onset of type 1 diabetes in a population from Pernambuco, Brazil

Lacerda, GAN¹, Souza, APO¹, Javorski, N¹, Santos, MMS¹, Anjos, ZP¹, Moura, R^{1 2}, Silva Azevêdo, J¹, Crovella S¹, Tavares, NAC¹ and Guimarães, RL^{1 2}

¹Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami/LIKA – UFPE; ²Departamento de Genética – UFPE.
glauca.alacerda@yahoo.com.br

Keywords: Age at diagnosis, Autoimmunity, Interleukin-10, Polymorphism Single Nucleotide, Type 1 Diabetes Mellitus

Type 1 Diabetes Mellitus (T1D) is an autoimmune disease, more frequent in children and adolescent but also affects other age groups; the destruction of the β cells characterizes the disease and results on the loss of peripheral self-tolerance, probably occurring by the action of T lymphocytes. The cumulative process of autoimmunity is the critical point of T1D. The cytokines secreted by CD4 T helpers 1 and 2 (Th1 and Th2) have crucial role in the pathogenesis of the disease; it is believed that the Th2 cytokines protect against T1D but they may induce immune components anti- β cells, contributing to insulinitis, mainly through IL-10. Approximately 75% of the production of IL-10 is regulated genetically. Its gene is located at chromosome 1(1q), and has several polymorphisms in the promoter region, related to interindividual differences in the production of this interleukin. Changes in serum levels of IL-10 can cause imbalance between Th1 and Th2 and may be linked to susceptibility to T1D. The objective of this study was to determining the possible association between *IL-10* polymorphisms and the onset of T1D in a Brazilian population. This study was carried out at pediatric endocrinology services of three hospitals in Recife, Brazil (Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira, Hospital da Restauração e Hospital das Clínicas). The study included 351 patients and 190 control individuals with median age of 13.5 years. Genomic DNA was extracted from peripheral whole blood using the protocol of Salting out according to the standard laboratory protocols. TaqMan reactions were set up based on the manufacture's protocol and the samples were run at 7500 Real-Time PCR instrument (Applied Biosystem). Statistical analyzes were performed using the Fisher exact test and chi-square using the program R. The association with age of T1D onset was performed using the package SNPAssoc, implemented in statistical software R (version 3.0.0 <http://www.r-project.org>). No statistically significant differences in the allele and genotype frequencies of SNPs rs1800871 (-819) (C>T) and rs1800872 (-592) (C>A) were found between T1D patients and healthy controls (p-value=0.445 and p-value=0.277, respectively). However, for rs1800871 (-819 C> T), the T allele was associated with the age at diagnosis (p-value 0.03184). The average age of onset of DM1 Pernambuco population was 7.28 years old. In this study, although our results suggest that this polymorphism can confer protection to individuals T1D delaying the onset of the disease, thereby modulating the destruction of pancreatic beta cells.

FINANCIAL SUPPORT: CAPES/FACEPE

Inversão do cromossomo 9 em uma paciente portadora de fissura labiopalatal, não síndrômica: relato de caso.

Laranjeira, RSM¹; Barros, JV¹; Pinto, RN¹; Alencar-Filho, AV²; Figueiredo, MGF²; Rosenblatt, A²; Santos, N¹; Calixto, MS¹.

¹Departamento de Genética/CCB/UFPE – Recife, PE; ²Odontopediatria/UPE

raysa.laranjeira@hotmail.com

Palavras-chave: citogenética, cromossomo 9, fissura labiopalatal, heteromorfismos, inversão

As fissuras labiopalatais (FL/P) são malformações congênitas que se desenvolvem durante o período embrionário e o início do período fetal, sendo representada clinicamente por uma falta de fusão do lábio superior e palato. AS FL/P são a malformação mais frequente da região da cabeça e pescoço e uma das mais frequentes anomalias em geral, acometendo aproximadamente 1/1.000 nascidos vivos, variando de acordo com região geográfica e nível socioeconômico. Sua etiologia multifatorial inclui hereditariedade, fatores ambientais, doenças congênitas infecciosas e predisposição genética. Este relato tem como objetivo investigar cromossomicamente uma paciente portadora de fissura labiopalatal, não síndrômica. As metáfases mitóticas foram obtidas através da cultura de linfócitos de sangue periférico da paciente e seus genitores. Através do bandeamento G foram analisadas 20 metáfases de cada (paciente, pai e mãe). Os resultados cariotípicos obtidos foram 46,XX,inv(9)[20]; 46,XY,inv(9)[20]; 46,XX[20], para a paciente, o pai e a mãe, respectivamente. Dessa forma, a inv(9) observada na paciente fissurada é uma alteração herdada do pai. Embora a inv(9) tenha uma frequência estimada de 1 a 3% na população geral, tem sido considerada por muitos geneticistas como uma variação cromossômica normal. Contudo, a inv(9) foi relatada em um indivíduo portador de FL/P e anomalias congênitas múltiplas. Estudos relatam a associação da inv(9) em várias doenças, tais como anomalias congênitas, casais com abortos de repetição espontâneos, má história obstétrica e infertilidade. Além disso, indivíduos portadores desta inversão apresentam um risco aumentado entre 1 a 10% de produzir uma progênie desbalanceada. Outros relatos também têm mostrado que a inversão pericêntrica do cromossomo 9 foi detectada em pacientes com diversas anomalias congênitas, como a face dismórfica, catarata congênita, surdez, anomalias cardíacas congênitas, hidronefrose, amenorreia, baixa estatura e fissura labiopalatal. É importante relatar a presença de heteromorfismos em indivíduos com fissuras labial e/ou palatina, pois, futuramente, a frequência desses heteromorfismos nesse grupo poderá ser comparada com a frequência na população normal. Apesar da escassez de casos na literatura, envolvendo este tipo de alteração cromossômica com a fissura labiopalatal, é bem conhecida a relação destas, com anomalias de outros sistemas, fazendo com que um diagnóstico completo das FL/P seja fundamental para o tratamento adequado e também para o aconselhamento e orientação reprodutiva do paciente e sua família.

Suporte financeiro: CNPq e FACEPE

Análise do microssatélite TGrI29 em pacientes com hipotireoidismo congênito da Paraíba

Rego-Silva, JH¹; Oliveira, Y¹; Costa, AB¹; Oliveira, JMF¹; Souza, LD¹; Rocha, AM²; Santos Lopes, SS¹.

¹Universidade Estadual da Paraíba, UEPB; ²Universidade Federal de Campina Grande, UFCG

hugo.rego.frs@gmail.com

Palavras-chave: Hipotireodismo Congênito, Microssatélite, Genotipagem, Tiroglobulina, Disormonogênese

O Hipotireoidismo Congênito (HC) é a deficiência de hormônios tireoidianos presente no nascimento e se encontra associado ao defeito na formação dos hormônios tireoideanos T3 (triiodotironina) e T4 (tiroxina), caracterizando um quadro clínico conhecido como disormonogênese. As mutações no gene da tiroglobulina geralmente são transmitidos por herança autossômica recessiva. O microssatélite TGrI29, presente no íntron 29 do gene da Tiroglobulina, tem sido investigado por meio de estudos moleculares em pacientes com HC. O presente estudo objetiva analisar as frequências alélicas do microssatélite TGrI29 em pacientes com HC e indivíduos saudáveis do estado da Paraíba para verificar a presença de associação do marcador e o hipotireoidismo congênito por disormonogênese. Foram analisadas amostras de DNA de 25 indivíduos da segunda Macrorregião de Saúde da Paraíba com diagnóstico confirmado para HC por disormonogênese e amostras de 22 indivíduos sadios (controles). O microssatélite TGrI29 foi amplificado pela técnica de PCR, visualizado após por eletroforese em gel de poliacrilamida 12% e corado com nitrato de prata. Foram observados oito alelos no TGrI29, a heterozigiosidade média encontrada foi de 0,705. Apenas um alelo foi encontrado exclusivo em pacientes, o alelo 28, com frequência 39,6% em pacientes. A população estudada está em equilíbrio de Hardy-Weinberg. O índice de diversidade do marcador foi de 0,00118(±0,00059). O presente estudo permitiu a identificação das frequências alélicas do grupo de pacientes com HC por disormonogênese do estado da Paraíba para um marcador localizado no intron 29 do gene da Tiroglobulina, gene candidato para HC. A presença de alelos observados apenas em pacientes poderá ser útil como ferramenta de triagem para análise de mutações no gene da TG, no entanto, será necessário a ampliação da amostragem para verificar a frequência deste marcador na população da Paraíba.

Financiamento: CNPq

A relação entre deficiências e consanguinidade em dois municípios paraibanos

Lima, SOA¹; Monteiro, KS¹; Lopes, FRL¹; Wanderley, TC¹; Figueiredo, TC^{1,2}; Pequeno, TA¹; Santos, S¹.

¹Núcleo de Estudos em Genética e Educação, Universidade Estadual da Paraíba (UEPB) ; ²Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

shirley.bio2011@hotmail.com

Palavras-chave: Deficiências, consanguinidade, prevalência, genética, endocruzamento.

No Brasil, há quinze vezes mais casamentos consanguíneos no nordeste do que no sudeste; e, nessa região, também são encontradas as maiores taxas de pessoas com alguma deficiência. A consanguinidade aumenta a probabilidade de nascimento de crianças com doença genética de herança autossômica recessiva. Neste trabalho, realizamos um estudo de base populacional com amostragem probabilística envolvendo 20% da população de dois municípios da Paraíba. Os pesquisadores entrevistaram 642 casais em Brejo do Cruz com população de 13.123 habitantes e 194 em Brejo dos Santos com 6.128 habitantes para estimar a frequência de consanguinidade e prevalência de pessoas com deficiência; e obtiveram, como resultados, os valores de 19% e 27% de casamentos consanguíneos e 6,69% e 11,55% de deficiência, respectivamente. O coeficiente de endocruzamento no município de Brejo dos Santos foi 0,008, e em Brejo do Cruz 0,007; dos 46 casais consanguíneos, 11 tiveram filhos deficientes, enquanto dos 148 casais não aparentados, 13 tiveram alguma deficiência em Brejo dos Santos e em Brejo do Cruz dos 127 casais aparentados, 22 tiveram filhos deficientes, enquanto em 515 casais não consanguíneos apenas 34 tiveram filhos deficientes. Portanto, os filhos de casais consanguíneos tiveram duas vezes mais chances de apresentar alguma deficiência. Os dados revelam que a consanguinidade contribui para manifestação de doenças genéticas e que são necessárias políticas públicas para estabelecimento de serviços de Genética Médica nessa região e educação genética comunitária.

ANALISE DE MUTAÇÕES NO GENE DA TIREOGLOBULINA (TG) EM PACIENTES COM HIPOTIREOIDISMO CONGÊNITO DA PARAÍBA

Costa, AB¹, Santos-Lopes, SS¹; Oliveira, Y¹; Oliveira, JMF¹; Rego-Silva, JH¹; Souza, LD¹; Nascimento, DQ¹; Barros, JAC¹; Rocha, AM².

¹Departamento de Biologia - Universidade Estadual da Paraíba – UEPB; ²Hospital Universitário Alcides Carneiro – HUAC- UFCG

brazilina_a@hotmail.com

Palavras-chave: Hipotireodismo Congênito, tireoglobulina, mutação, RFLP, ancestralidade.

O Hipotireoidismo Congênito é uma doença endócrina com incidência estimada mundialmente de 1:3.500 crianças nascidas vivas. Manifestações clínicas características da doença são o retardo no desenvolvimento ósseo, inabilidade no intelecto se não tratado, dentre outros, podendo acontecer casos esporádicos ou familiar. Uma das principais causas da doença são a disgenesia, compreendendo a má formação da glândula tireoidiana durante a embriogênese, ou uma falha na síntese da produção hormonal da glândula da tireóide, disormonogênese. A prevalência estimada no estado da Paraíba em 2005 foi de 1:2300 nascidos vivos. Sobretudo essas frequências podem ser variadas entre os grupos étnicos, mulheres e casamentos consanguíneo o que permanece freqüente no estado da Paraíba. A disormonogênese tireoidiana está diretamente ligada a mutações no gene Tireoglobulina (TG), que é uma glicoproteína com 270kb localizado 8q24. Aproximadamente já foram identificados sessenta e duas mutações para esse gene, cujas frequências variam entre populações. A mutação pontual no exon 7 do gene do TG na posição c.886C<T gera codon stop [p.R277X exon 7] é considerada bastante freqüente nas populações, como da Argentina por exemplo. Com intuito de verificar a freqüência desta mutação em pacientes com HC por disormonogenes do estado da Paraíba foi realizado a análise da mutação em 24 pacientes com diagnóstico clínico-laboratorial confirmado para HC acompanhados no Hospital Universitário Alcides Carneiros – HUAC/UFCG e 22 controles. A mutação na posição c.886C<T do exon 7 do gene da TG foi analisado por RFLP. Dentre os 24 pacientes estudados encontramos 01 paciente com a mutação c.886C<T no gene Tireoglobulina, A presença desta mutação pode está relacionada a possível ancestralidade européia dos pacientes com HC, devido a freqüência desta mutação nas populações européias e processo de formação do povo brasileiro. No entanto, o conhecimento da natureza e origem das mutações irão contribuir para entendimento da prevalência no estado, e permitir o aconselhamento genético nas famílias dos pacientes e em suas localidades de origem por meio da difusão das informações obtidas nesta pesquisa, visando a prevenção de novos casos de HC.

Distribuição de polimorfismo de base única (SNPs) no gene do fator de necrose tumoral ($TNF\alpha$) (-308) entre pacientes com lesão cervical e infectadas pelo Papilomavírus humano

Chagas, BS¹; Duarte, AJ¹; Silva, RCO¹; Crovella, S²; Freitas, AC¹

¹Laboratório de Estudos Moleculares e Terapia Experimental, Departamento de Genética, Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco - Brasil; ²Laboratório de Variabilidade e Genética Humana, Departamento de Genética, Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco - Brasil.

anna.jessica7@hotmail.com; babisimas@gmail.com

Palavras-chave: Câncer Cervical; Fator de Necrose Tumoral α ($TNF\alpha$); Papilomavírus Humano; Polimorfismo; Genotipagem.

O câncer cervical é considerado o terceiro mais comum entre mulheres. A infecção pelo Papilomavírus Humano (HPV) desempenha um papel crucial no desenvolvimento de lesões cervicais. Além disso, cofatores genéticos, ambientais e imunológicos podem estar envolvidos na predisposição para a doença. Considerando que genes envolvidos na resposta imune são importantes para a suscetibilidade ao câncer cervical, o desenvolvimento do câncer tem estado associado a diversas citocinas que são responsáveis pela modulação do controle imunológico, como, por exemplo, o Fator de Necrose Tumoral α ($TNF\alpha$). Polimorfismos de base única (SNPs) têm sido identificados na sequência do gene dessa citocina, principalmente dentro de regiões promotoras, incluindo o polimorfismo -308 G/A (rs1800629). Estudos sugerem que esse SNP pode estar associado a diferentes níveis de transcrição gênica e a várias doenças, incluindo carcinoma endometrial. No presente trabalho, um estudo caso-controle foi realizado para investigar o papel desse polimorfismo no promotor do gene $TNF\alpha$ em mulheres com lesões cervicais associadas com infecção por HPV, a fim de saber se variantes genéticas nesse promotor estão envolvidas na suscetibilidade ao desenvolvimento do câncer cervical em mulheres do Nordeste do Brasil. As amostras avaliadas foram obtidas por raspagem cervical de 494 pacientes voluntárias submetidas a rastreamento do câncer cervical nas Clínicas Ginecológicas do Hospital das Clínicas e do Hospital Universitário Oswaldo Cruz (Pernambuco). 191 mulheres com lesões cervicais e infecção por HPV foram classificadas como casos e 303 como controle (pacientes sem lesão cervical e HPV negativas). O estudo foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética (CAAE: 03606212.7.0000.5208) e consentimento esclarecido foi obtido de todas as pacientes do estudo. A detecção de HPV foi realizada por PCR (MY09/11). As amostras positivas foram purificadas e sequenciadas. O DNA de HPV também foi detectado por PCR baseada na amplificação do gene viral E6, usando *primers* específicos para os tipos mais frequentes no mundo (HPV-16 e HPV-18) e os três mais comuns na região Nordeste (HPV-31, HPV-33 e HPV-58). O SNP localizado na região promotora do $TNF\alpha$ foi genotipado por PCR em tempo real. Os testes do qui-quadrado e de Fisher foram utilizados e o nível de significância para todos os resultados estatísticos foi fixado em $p < 0,05$. Nossos dados não mostraram diferença significativa nas frequências alélicas e genotípicas entre o $TNF\alpha$ SNP-308 (rs1800629) e o risco para o câncer cervical na população estudada. Embora tenhamos uma amostra de tamanho razoável, ainda não fomos capazes de confirmar a possível susceptibilidade genética deste SNP. De forma que nesse estudo caso-controle, o polimorfismo $TNF\alpha$ -308 não teve efeito na carcinogênese cervical na população estudada. A compreensão da associação entre polimorfismos de genes de citocinas e o desenvolvimento de câncer cervical pode levar a uma visão mais abrangente do controle imunológico da infecção pelo HPV.

Suporte financeiro: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE).

ANÁLISE CITOGENÉTICA E MOLECULAR EM PACIENTES COM SUSPEITA DE SÍNDROME DE TURNER ATENDIDAS EM UM SERVIÇO DE CITOGENÉTICA HUMANA EM SÃO LUÍS, MARANHÃO.

Rodrigues, IVP¹; Belfort, MRC¹; Monteles, KL³; Moreira, VR¹; Garcia, MRS¹; Freitas, PL¹; Viegas, MSP¹; Doriqui, MJR²; Pereira, SRF¹.

¹Laboratório de Genética e Biologia Molecular - LabGeM, UFMA, São Luís, MA; ²Complexo Hospitalar Materno Infantil do Maranhão, São Luís, MA; ³Faculdade Estácio, São Luís, MA

igorvinih_@hotmail.com

Palavras-chave: SRY, Cromossomopatias, Hipogonadismo, Cariótipo, Monossomia X.

A Síndrome de Turner (ST) é decorrente de monossomia total ou parcial do cromossomo X, com incidência aproximada de 1:2.500 meninas nativas. As principais características clínicas são baixa estatura, alterações no desenvolvimento sexual e anormalidades na função reprodutiva. O presente estudo tem como objetivo descrever alterações citogenéticas e moleculares em pacientes com suspeita clínica de ST atendidas no Serviço de Citogenética Humana do Laboratório de Genética e Biologia Molecular da Universidade Federal do Maranhão, no período de 2002 a 2014. Foi realizado um estudo retrospectivo, com levantamento de dados de 70 pacientes com sinais clínicos da síndrome. A análise citogenética foi realizada em cultura temporária de linfócitos de sangue periférico (Ford e Hamerton, 1956), utilizando-se técnica de bandamento GTG (Scheres, 1972). Foi realizada também análise molecular (PCR) para presença de genes exclusivos do cromossomo Y (SRY, DAZ e AMGY) em pacientes com cromossomo marcador ou que apresentavam sinais de virilização. A especialidade médica que solicitou o maior número de exames foi a Endocrinologia (67%), seguida pela Clínica Geral (14%). A principal indicação clínica foi baixa estatura e/ou hipogonadismo (88,6%) e amenorreia primária (7%). Dentre as 70 pacientes com suspeita clínica de Síndrome de Turner, 38 (54,3%) apresentaram o diagnóstico citogenético compatível com a suspeita diagnóstica. O cariótipo mais frequente foi o clássico 45,X (55,3%); seguido por mosaicos 45,X/46,XX (28,9%); 45,X/45,X+mar (2,6%); 45,X/46,X+mar (2,6%); 45,X/46,X+anel (2,6%) e três casos (7,9%) com isocromossomo de X. Análise molecular foi realizada em 32 pacientes, das quais 3 (9,4%) apresentaram amplificação para o gene SRY. As características clínicas e prognóstico dos indivíduos com ST variam consoante ao cariótipo apresentado e ao grau de mosaicismo. Além disso, a determinação da natureza dos cromossomos marcadores, e também da outra linhagem cromossômica além da clássica 45,X, é fundamental para a indicação de gonadectomia profilática para essas pacientes devido ao risco de malignidade nas gônadas disgenéticas em decorrência da presença de material do cromossomo Y. Cuidados multidisciplinares e terapêuticas adequadas, interferem na história natural da síndrome permitindo às pacientes com ST expectativa de vida maior associada à redução significativa de morbidade. Ressalta-se a importância da confirmação diagnóstica através da análise citogenética e molecular visando determinar o prognóstico e, conseqüentemente, a melhor terapêutica para a paciente.

Apoio financeiro: CNPq e da Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão - FAPEMA.

Polimorfismo do gene do Fator de Necrose Tumoral alfa (-308G/A) em pacientes com Doença Inflamatória Intestinal

Tavares, MCM¹; de Lima Júnior, SF¹; de Lima, CAD¹; Martinelli, VF²; de Lucena, MT³; Brandão, LAC⁴; de Melo Júnior MR⁴.

¹Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami, UFPE, PE; ²Departamento de Gastroenterologia, Hospital das Clínicas, UFPE, PE; ³Departamento de Proctologia, Hospital Barão de Lucena, PE; ⁴Departamento de Patologia, UFPE, PE ³Instituto de Biociências, USP, São Paulo, SP

sergioflimajr@hotmail.com

Palavras-chave: Fator de Necrose Tumoral, Retocolite Ulcerativa, Doença de Crohn, Polimorfismo de Única Base.

Doença Inflamatória Intestinal (DII) descreve um grupo de doenças distintas cuja manifestação mais comum é a inflamação do trato gastrointestinal. Os dois principais tipos de DII são a Doença de Crohn (DC) e a Retocolite Ulcerativa (RCUI). A patogênese é caracterizada pela inflamação persistente e agressiva no intestino, além de envolver uma interação entre fatores genéticos, ambientais e imunológicos. Fator de Necrose Tumoral (TNF) alfa é uma potente citocina imunomediadora e pró-inflamatória que foi associada na patogênese de uma ampla gama de doenças humanas. Estudos apontam que uma substituição (G/A) na posição -308 na região promotora do gene da *TNF-α* aumenta os níveis de transcrição. Este estudo teve como objetivo associar o polimorfismo do gene *TNF-α* (-308G/A; rs1800629) em pacientes brasileiros com Doença Inflamatória Intestinal. Cento e um pacientes foram atendidos no Hospital das Clínicas e no Hospital Barão de Lucena, Recife, Pernambuco apresentando DII. O grupo controle foi composto de cento e dezoito pacientes saudáveis. A genotipagem do *TNF-α* (-308G/A; rs1800629) foi realizada através da técnica de PCR-SSP e o produto de 233pb da reação foi separado utilizando um gel de agarose a 2% e visualizado após ser corado com brometo de etídio. A distribuição das formas anátomo-clínicas característica da Doença de Crohn foram: 29,31% fistulizante, seguida por 27,58% inflamatória e estenosante cada. As análises estatísticas foram feitas utilizando o programa R. A análise de polimorfismo do gene *TNF-α* (-308G/A) apresentou uma alta frequência do alelo A em RCUI quando comparado com o grupo controle (51% x 22%). Esta associação mostrou-se estatisticamente significativa (OR 3.62 (CI 95%); 2.15 – 6.1; p=0.00001365). Pacientes homocigotos AA tinham um aumento de 16,8 vezes do risco de desenvolver RCUI comparado com os controles (OR 16.8 (CI 95%); 3.77 – 74.84 / RCUI x controle p=0.000075978). Não foi verificada nenhuma associação estatisticamente significativa para a frequência dos genótipos e dos alelos no grupo de pacientes com DC quando associados com os controles (p=0.54; p=0.9, respectivamente) nem com as formas anátomo clínicas. No presente estudo verificamos relação estatisticamente significativa entre o polimorfismo da *TNF-α* e RCUI, sugerindo que este polimorfismo predispõe o desenvolvimento de RCUI, mas não de DC na população brasileira.

Apoio Financeiro: CNPq

Análise do microssatélite D14S616 localizado no gene receptor do hormônio receptor do hormônio estimulador da tireoide (TSHR) em pacientes com Hipotireoidismo Congênito da Paraíba

Oliveira, JMF¹; Oliveira, Y¹; Costa, AB¹; Rego-Silva, JH¹; Souza, LD¹; Barros, JAC¹; Nascimento, DQ¹; Rocha, AM²; Santos-Lopes, SS¹

¹Laboratório de Genética e Biologia Molecular-Departamento de Biologia, Universidade Estadual da Paraíba(UEPB);

²Hospital Universitário Alcides Carneiro da Universidade Federal de Campina Grande (HUAC/UFCG)

sisil.santos@gmail.com

Palavras-chave: Hipotireoidismo Congênito; Disormonogênese; Receptor TSH; Microssatélite; Frequência alélica.

O Hipotireoidismo Congênito (CH) é considerado um distúrbio endócrino, caracterizado pelos níveis reduzidos ou ausência de hormônios tireoidianos presentes no nascimento, que dificulta o neurodesenvolvimento. Esta endocrinopatia pode ser causada por alterações no desenvolvimento da glândula tireoide (disgenesia) ou defeitos na biossíntese hormonal (disormonogênese). Em regiões iodo-suficientes afeta cerca de 1:3000 a 1:4000 recém-nascidos e os programas de rastreio demonstram que esse distúrbio predomina no sexo feminino ocorrendo 2:1 em relação ao sexo masculino. O receptor do TSH localiza-se no cromossomo 14q31 e apresenta a função de regular a síntese e secreção dos hormônios tireoidianos (T3 e T4). Mutações inativadoras desse gene prejudicam as funções de intermediação das ações do TSH. Assim, mutações nesses elementos indispensáveis ao bom funcionamento da glândula tireoide permitiram compreender a patogênese molecular de algumas formas de HC esporádicas e familiares. Os microssatélites ou STRs são marcadores moleculares caracterizados pela presença de uma sequência repetitiva em tandem de 1 a 6 pb. O STR D14S616 é um tetranucleotídeo com repetições GATA_n e localiza-se próximo ao gene TSHR. Com finalidade de realizar a análise das frequências e padrões alélicos a partir de um microssatélite através de um grupo controle constituído por 22 indivíduos saudáveis para HC e 24 amostras de pacientes com diagnóstico clínico-laboratorial reconhecido para HC e que são assistidos no Hospital Universitário Alcides Carneiros- HUAC/UFCG no estado da Paraíba, permitindo a conferência da variabilidade genética encontradas nas amostras estudadas juntamente com a associação entre a disormonogênese e o microssatélite. A análise do marcador foi realizada em gel de poliacrilamida a 10%, visualizado em eletroforese corado com nitrato de prata. Foi detectado um total de cinco alelos para o microssatélite D14S616 através de contagem direta, com heterozigiosidade média de 0,24432. Não foi encontrada diferença significativa entre as frequências alélicas de pacientes e controles. Foram visualizados 7 genótipos nos pacientes com as respectivas frequências: 2/2(8%), 3/3(16%), 4/4(45%), 5/5(16%), 1/5(4%), 2/5(4%) e 2/1(4%). Nos controles foram identificados 9 genótipos com as seguintes frequências: 1/1(9%), 2/2 (27%), 3/3(4%), 4/4(22%), 3/5(13%), 1/5(4%), 3/4(4%), 4/5 (9%) e 2/4(4%). Dentre os genótipos encontrados, dois (2/5 e 2/1) estão presentes apenas em pacientes. O índice de diversidade genética é de 0,716 (+/- 0,0452), sendo este considerado baixo para tal loco. A população estudada encontra-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg, por não apresentar diferença significativa entre a heterozigiosidade observada e a heterozigiosidade esperada. Os dados obtidos das frequências alélicas serão utilizados para compreender a dinâmica populacional a partir da construção de um bloco haplotípico, utilizando o microssatélite estudado juntamente com outros marcadores polimórficos para verificar a relação com Hipotireoidismo Congênito.

Órgão financiador: CNPq

DISPONIBILIZAÇÃO DE EXAMES ESPECÍFICOS PARA ASSISTÊNCIA ÀS PESSOAS COM DOENÇAS GENÉTICAS NO ESTADO DO MARANHÃO.

Teixeira Júnior, AAL¹; De Jesus, LCL¹; Belfort, MRC¹; Rodrigues, IPR¹; Freitas, PL^{1,2}; Moreira, VR¹; Garcia, MRS¹; Monteles, KL⁴; Belfort, FRS¹; Rodovalho -Doriqui, MJ³; Viegas, MSP¹; Pereira, SRF¹.

¹Laboratório de Genética e Biologia Molecular- LabGeM, UFMA, São Luís, MA; ²Faculdade Estácio de São Luís, São Luís, MA; ³Complexo Hospitalar Materno Infantil do MA, São Luís, MA; ⁴Graduanda em Biomedicina, Faculdade Estácio de São Luís, MA.

aaltjr@yahoo.com.br

Palavras-chave: Cariótipo, Síndromes cromossômicas, Biologia molecular, Cromossomopatias, Monossomia sexual.

A caracterização citogenética e a classificação das aberrações cromossômicas têm desempenhado um papel essencial na compreensão dos mecanismos genéticos e na sua aplicação na genética clínica. Avaliação clínico-dismorfológica realizada em pacientes com sinais clínicos de cromossomopatias ou doenças gênicas, tem proporcionado o estabelecimento de diagnóstico etiológico preciso visando oferecer aconselhamento genético aos indivíduos portadores de doenças genéticas e aos familiares; e ainda, para melhor monitoração clínica dos afetados, oferecendo tratamento adequado para comorbidades. O presente trabalho é um estudo retrospectivo da análise citogenética e molecular de pacientes atendidos no Serviço de Citogenética Humana do Laboratório de Genética e Biologia Molecular (LabGeM) da Universidade Federal do Maranhão, no período de 2002 a junho de 2014. A análise citogenética foi realizada em cultura temporária de linfócitos de sangue periférico (Ford e Hamerton, 1956), utilizando-se técnica de bandamento GTG (Scheres, 1972) e a análise molecular para sequências Y-específicas foi conduzida por PCR, utilizando-se pares de primers para os genes SRY, DAZ e AMGY, além de β -Globina como controle positivo da reação. Foram atendidos 282 pacientes, dos quais 30,14% apresentaram alterações cromossômicas. Destes, a maioria (72,9%) apresentou alterações numéricas e 27,1% apresentaram alterações estruturais. A suspeita diagnóstica mais frequente foi Síndrome de Turner, com 38 casos (62,29%), sendo que 55,3% apresentou cariótipo 45,X, 34,21% mosaico, 10,52% com alteração estrutural. As principais alterações estruturais detectadas foram: deleção (20,8%), translocação (33,3%), isocromossomo (8,4%), cromossomo em anel (4,2%), marcador (33,3%). Foram atendidos 41 (14,5%) pacientes com distúrbio da diferenciação sexual, dos quais 8 apresentaram sexo cromossômico incompatível com sexo de registro civil. Análise molecular revelou presença de gene SRY em pacientes com sexo de criação feminino (4,9%) e ausência de SRY em pacientes com sexo masculino (7,3%). Exames complementares revelaram que 2 pacientes eram portadores de hiperplasia das adrenais congênita e uma paciente apresentava Deficiência de 17 β -Hidroxisteróide-desidrogenase tipo 3. Os resultados deste projeto mostram a necessidade da assistência laboratorial aos portadores de doenças genéticas para o diagnóstico etiológico, monitoração clínica e tratamento adequado aos afetados e seus familiares, oportunizando o aconselhamento genético como estratégia de prevenção primária no que diz respeito aos casos de doenças genéticas no estado no Maranhão.

Apoio financeiro: Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão – FAPEMA.

Influência da exposição solar no perfil de metilação de DNA no promotor dos genes *KRT14* e *KRT19* em células da pele

Barroso, H¹; Melo, ARS¹; Araújo, DU²; Pereira, FR³; de Oliveira, NFP^{1,2}.

¹Programa de Pós Graduação em Biologia Celular e Molecular, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba - UFPB; ²Departamento de Biologia Molecular, Centro de Ciências Exata e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba – UFPB; ³Departamento de Morfologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba – UFPB

haline.barroso@gmail.com

Palavras-chave: epigenética, metilação de DNA, radiação solar, pele, citoqueratinas.

Já está bem estabelecido como a radiação UV do sol pode causar mutações no DNA e aumentar o risco para o desenvolvimento de câncer de pele. Entretanto, ainda pouco se sabe sobre a capacidade da radiação UV em causar alterações epigenéticas na pele, e esse pode ser outro mecanismo pelo qual a exposição crônica ao sol leva a tumorigênese e ao envelhecimento. Epigenética é definida como o estudo das modificações do DNA e das histonas que são herdáveis e não alteram a sequência de bases do DNA. A metilação de DNA consiste em uma modificação covalente do DNA onde um grupamento metil (CH₃) é transferido da S-adenosilmetionina para o dinucleotídeo CpG, pela ação de uma família de enzimas denominadas de DNA-metiltransferase. A metilação tem uma importante função na regulação da expressão gênica e no silenciamento de elementos repetitivos no genoma. Proteínas do citoesqueleto, como as citoqueratinas (K) são proteínas pertencentes à família de filamentos intermediários as quais são predominantemente expressas em células epiteliais, e sua principal função é manter a integridade e estabilidade mecânica, através de contatos célula-célula do tecido epitelial. Neste trabalho investigamos se há diferenças no perfil de metilação de DNA nos genes das citoqueratinas 14 e 19 (*KRT14* e *KRT19*), em amostras de pele obtidas de área exposta (superfície extensora do braço) e não exposta ao sol (face interna do terço superior do braço). Para tanto, amostras de pele de 30 cadáveres foram coletadas por punch circular e DNA genômico foi extraído com o auxílio de um homogeneizador de tecidos utilizando-se Tri Reagente. A análise de metilação no éxon 1 do gene *KRT14* foi realizada pelo método de PCR Específica para Metilação (PCR-MSP), e para o promotor do gene *KRT19* foi realizado o método de Digestão Enzimática Sensível à Metilação (MSRE). Após amplificação do fragmento por PCR foi realizada eletroforese em gel de poliacrilamida seguido de coloração por nitrato de prata. A análise estatística revelou que não há diferenças significativas entre as regiões exposta e não exposta ao sol, sendo a condição metilada a mais frequente tanto para o gene *KRT14* (83,4% das amostras) quanto para o gene *KRT19* (66,6% das amostras) ($p > 0,05$; χ^2). Assim, concluímos que não há influência da exposição solar no perfil de metilação de DNA nos sítios CpG estudados.

Suporte Financeiro: Bolsa CAPES- Coordenação de Pessoal de Nível Superior

PREVALÊNCIA DA MUTAÇÃO C679X NO GENE *PCSK9* EM PACIENTES OBESOS COM BAIXOS NÍVEIS PLASMÁTICOS DE LIPOPROTEÍNAS DE BAIXA DENSIDADE (LDL)

Sousa, FL¹; Araújo, MLC¹; Meira, PHG¹; Ferreira, WR¹; Campos, AESP¹; Carneiro, JG¹; Chamber-Reis, BLF¹.

¹Faculdade de Ciências Médicas de Campina Grande, FCM, Campina Grande, PB

bruno.reis@fcm.edu.br

Palavras-chave: obesidade, mutação, LDL, *PCSK9*, C679X

INTRODUÇÃO: A prevalência de doenças cardiovasculares (DCVs) tem apresentado um crescimento elevado em países em desenvolvimento, incluindo o Brasil. O surgimento das DCVs geralmente está associado a fatores como obesidade e hipercolesterolemia familiar (HF). A HF é uma doença genética complexa, caracterizada pelo aumento dos níveis séricos de LDL-colesterol com consequente depósito desta lipoproteína nas camadas subendoteliais de vasos e artérias, o que eventualmente progride para o desenvolvimento de aterosclerose. Níveis elevados de LDL circulante são comumente observados em pacientes portadores de mutações já descritas nos genes que codificam o receptor de LDL extracelular (*LDLR*) e Apolipoproteína B-100 (ApoB-100), presente na superfície da lipoproteína. Artigos recentes têm evidenciado uma importância crescente para mutações de ganho e perda de função no gene *PCSK9* (do inglês proprotein convertase subtilisin/kexin type 9) no desenvolvimento das DCVs. Foi mostrado que este gene regula a disponibilidade de receptores para LDL-colesterol na superfície celular. Contudo, não está esclarecido o envolvimento de mutações no gene *PCSK9* em pacientes obesos que apresentam níveis baixos de LDL plasmáticos. É possível que mutações de ganho de função nestes pacientes sejam responsáveis por aumentar a internalização celular de LDL-colesterol e a diminuição plasmática dessa lipoproteína. **OBJETIVOS:** Validar a associação da mutação C679X, no gene *PCSK9*, com alterações protetoras no perfil lipídico de pacientes obesos adultos. **MÉTODOS:** De um total de 59 pacientes obesos, com faixa etária entre 18-50 anos e níveis de LDL menores que 100 mg/dL, foram obtidos dados relativos ao índice de massa corporal, circunferência abdominal e valores de perfil lipídico coletados de prontuários. Para a obtenção do DNA genômico total dos pacientes, o sangue foi coletado e o DNA foi extraído através de kit comercial. Foi adotada a técnica de PCR-RFLP (polimorfismo de comprimento de fragmentos de restrição) para a determinação do genótipo dos participantes da pesquisa (heterozigotos ou homozigotos para as mutações estudadas). **RESULTADOS:** Nossos resultados mostraram que todos os indivíduos testados foram homozigotos para o alelo normal. **CONCLUSÕES:** Conclui-se que esta mutação não contribui na diminuição dos níveis de LDL-colesterol na amostra analisada. Este dado sugere que outras mutações do tipo nonsense no gene *PCSK9* podem estar envolvidas na redução dos níveis plasmáticos de LDL-colesterol nos pacientes obesos estudados.

Prevalência dos tipos 11 e 45 do HPV em mulheres com Adenocarcinoma no Estado de Pernambuco.

Santos, EUD^{1,2}; Silva, AP^{1,2}; Duarte, EBC²; Cândido, SA²; Costa, TML³; Maia, MMD^{4,2}; Souza, PRE^{4,2}.

¹Programa de Pós Graduação em Ciência Animal Tropical (PGCAT- UFRPE), Recife, PE; ²Laboratório GENOMA (UFRPE), Recife, PE; ³Instituto Materno Infantil Prof. Fernando Figueira (IMIP-PE); ⁴Prof. Dr. da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE

santoserinaldobio@gmail.com

Palavras-chave: Adenocarcinoma, HPV, PCR, Infecção, Câncer Cervical.

O câncer cervical é uma das doenças mais comuns e malignas entre as mulheres. A neoplasia cervical está associada à infecção por um dos tipos do Papilomavírus Humano de alto risco oncogênico (HR-HPV). Adenocarcinoma do colo do útero surge dentro de glândulas localizadas na endocérvice, sendo o segundo tipo mais comum, acontecendo entre 15 a 20% de todos os cânceres cervicais. A identificação da ligação entre infecção por HPV 11 e 45 em adenocarcinoma pode resultar no estabelecimento bem sucedido de estratégias terapêuticas, tais como programas de vacinação, com a finalidade de prevenir esta patologia. Não se sabe exatamente a causa do adenocarcinoma cervical, entretanto, acredita-se que ele possa estar associado à infecção por HPV. O presente estudo visou detectar a prevalência dos tipos 11 e 45 do HPV em pacientes com adenocarcinoma no estado de Pernambuco. Foram analisadas 80 amostras de tecidos parafinizados de pacientes com adenocarcinoma comprovados pela citologia oncológica dos mesmos. A tipificação inicial para verificar a presença de HPV nas amostras, foi realizada através da técnica de PCR convencional, utilizando primers de detecção geral do tipo MY09/MY11 e GP5+/GP6+. A verificação da presença dos tipos 11 e 45 do HPV nas amostras, foi realizada também pela técnica de PCR convencional com primers tipo-específicos para os HPVs 11 e 45. Os resultados mostraram que todas as amostras foram positivas para pelo menos um dos primers de detecção geral. E que o HPV 11 estava frequente em 60% (48/80) e o HPV45 em 8,7% (7/80) das amostras avaliadas. Além, de coinfeção dos dois tipos virais em 5% (4/80) das amostras. Também, foi verificado que 36,2% (29/80) das amostras avaliadas não apresentaram resultado positivo para nenhum dos dois tipos de HPV avaliados. Esses resultados corroboram com alguns trabalhos onde destacam a alta prevalência do tipo HPV 11, em amostras de adenocarcinoma e a baixa prevalência do tipo HPV 45. Além de, ressaltar que a mesma amostra possa estar sendo acometido por mais de um tipo viral. As amostras nas quais não foram detectadas a presença do HPV 11 e ou 45, estão sendo acometidas por algum outro tipo viral. Visto que, elas foram positivas na utilização dos primers de detecção geral dos HPVs. Esse é o primeiro estudo que verifica a detecção dos tipos 11 e 45 do HPV em amostras de adenocarcinoma do estado de Pernambuco. Sugerindo que a infecção viral por HPV em adenocarcinoma possa favorecer ao desenvolvimento da progressão de neoplasia cervical na população em estudo.

Suporte Financeiro: Fundação de Amparo a Ciência e a Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE).

Associação do polimorfismo da região A-1082G do gene IL10 na susceptibilidade ao adenocarcinoma uterino em pacientes infectados por HPV

Silva, AP^{1,2}; Santos, EUD^{1,2}; Cândido, SA²; Duarte, EBC²; Costa, TML⁴; Maia, MMD^{2,3}; Souza, PRE^{1,2,3}.

¹Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical, UFRPE, Recife, PE; ²Laboratório de Genética, Bioquímica e Sequenciamento Tânia Falcão, UFRPE, Recife, PE; ³Departamento de Biologia – Área de Genética – UFRPE – Recife, PE; ⁴Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira - IMIP, Pernambuco, PE

alex_paulino21@yahoo.com.br

Palavras-chave: Biomarcador molecular, câncer uterino, displasia glandular endocervical, SNP, susceptibilidade.

O câncer do colo uterino (CC) é responsável, mundialmente, pelo óbito de 275 mil mulheres por ano, tendo a presença do HPV como fator crucial para o surgimento e progressão das lesões cervicais. O adenocarcinoma (AC) acomete cerca de 10-20% dos pacientes confirmados com CC, sendo originado a partir das células glandulares. Como o câncer é uma doença de caráter multifatorial, podem-se destacar mutações em genes ligados ao sistema imune, tais como a interleucina-10 (IL-10). Estudos têm mostrado que a variação de uma única base (SNP) na posição -1082 A/G do gene IL-10 possui influência na expressão da proteína codificada em diversas doenças inflamatórias e virais. O objetivo do presente estudo foi investigar uma possível associação do SNP -1082 (A/G) do gene IL10 com a predisposição ao AC. A população de estudo foi composta por 40 mulheres com AC, confirmadas pela citologia, e que estavam infectadas pelo HPV (grupo caso) provenientes de material parafinado e por 100 mulheres sem lesão cervical e HPV negativas (grupo controle) oriundas de material de secreção vaginal, ambas provenientes do ambulatório de Patologia do Trato inferior do Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira – IMIP/PE. A análise do polimorfismo foi realizada pela técnica de PCRc com *primers* alelo-específico. Para as análises estatística foi utilizado o programa BioEstat 5.0. Houve uma diferença significativa na distribuição do polimorfismo no gene IL-10 entre pacientes com neoplasia glandular e o grupo controle. Indivíduos carreadores do alelo G tiveram 2,96 vezes (95%IC 1,70-5,16) chance de risco para desenvolvimento de adenocarcinoma. Esse estudo apresenta uma evidência preliminar de associação entre o polimorfismo do gene IL-10 (-1082) com a susceptibilidade à displasia glandular endocervical na população de Pernambuco – Brasil.

Suporte Financeiro: Capes e Facepe (Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco).

INCIDÊNCIA DE CHLAMYDIA TRACHOMATIS EM MULHERES INFECTADAS POR HPV 16

Lima, GDC¹; Oliveira, RS²; Silva, IIFG²; Costa, VV²; Lima Júnior, SF³; Oliveira, ML⁴; Maia, MMD²; Souza, PRE^{1,2}.

¹Programa de Pós Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada da Universidade de Pernambuco (UPE), Recife, PE; ²Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife, PE; ³Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE; ⁴Instituto Materno Infantil Prof. Fernando Figueira (IMIP-PE)

gessica_cl@hotmail.com

Keywords: Câncer cervical, *Chlamydia Trachomatis*, HPV-16, Coinfecção, PCR.

No Brasil, o câncer cervical (CC) é o quarto tipo de câncer que causa mais mortes entre mulheres, estando a região Nordeste entre as quatro de maior incidência no País. A compreensão dos efeitos desreguladores do ciclo celular bem como a relação entre HR-HPV e este tipo de câncer já estão bem definida, sendo o genótipo 16 mais frequente em Pernambuco e de maior risco para o CC em todo o mundo. Dentre os diversos co-fatores que atuam na etiologia do CC encontra-se também a infecção por *Chlamydia trachomatis* (CT), uma vez que atua interferindo na diferenciação celular e prejudicando a adesão celular. A incidência de infecções por CT varia entre 12.2 e 22.2% quando se analisam doenças genitárias na população Brasileira. Porém a relação direta entre a infecção por HPV-16 e CT não está bem clara na literatura. Dessa forma, o presente trabalho tem por objetivo verificar a frequência da coinfecção por *Chlamydia trachomatis* e HPV16 em mulheres infectadas do Estado de Pernambuco. Para o estudo foram selecionadas 50 amostras de DNA de mulheres do Estado de Pernambuco, que foram previamente atendidas no Ambulatório do Instituto Materno Infantil Prof. Fernando Figueira. O estudo para diagnóstico do tipo viral HPV 16 e CT foram realizadas através da técnica molecular PCR e a análise das frequências de ambas as infecções e coinfecção na população em estudo foi efetuada pelo software BioEstat 5.0. As análises demonstraram que 66% das mulheres foram infectadas por HPV 16 e 12% apresentaram infecção por *Chlamydia trachomatis* das quais 6% possuíram coinfecção. Dessa forma nossos resultados sugerem uma associação entre a infecção por HPV16 e a etiologia da infecção por CT. Estando CT e HPV-16 envolvidos na indução de lesões e CC, os nossos achados contribuem para uma melhor compreensão do comportamento destes microrganismos no hospedeiro bem como para o melhoramento das vacinas, uma vez que fornece informações importantes, que corroboram com outros estudos, sobre a relação direta entre as infecções por HPV 16 e *Chlamydia trachomatis*.

Suporte financeiro: Fundação de Amparo a Ciência e a Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE).

Produção e Caracterização de Partículas Semelhantes a Vírus (VLPs), do Vírus da Hepatite A, para Fins Diagnósticos

Bruna Varginha Ramos Caiado¹; Renato Sousa²; Ernesto Marques^{2,3}; Rafael Dhalia²

¹Estudante do Curso de Doutorado (2012.¹) do PPG Genética / CCB / UFPE; ²Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães / LaViTE / CPqAM; ³University of Pittsburgh, PA, USA

brunacaiado@gmail.com

Palavras-chave: Partículas Semelhantes a Vírus-VLPs; Hepatite A; Diagnóstico.

As Partículas Semelhantes a Vírus (VLPs) são estruturas compostas por múltiplas cópias de uma ou mais proteínas estruturais que mimetizam a partícula viral sem, no entanto, carrear o material genético infeccioso do vírus. Elas surgiram como uma promissora estratégia para geração de antígenos destinados a aplicações diversas, como vacinas e testes diagnósticos. Sua geração pode ocorrer através de sistemas de expressão procarióticos ou eucarióticos e dentre eles, destaca-se o sistema de células insetos infectadas com baculovírus (contendo as sequências das proteínas de interesse). Esse sistema tem vantagens únicas como: o direcionamento da maquinaria celular para expressão das proteínas recombinantes, devido à infecção pelo vírus; a possibilidade de modificações pós-traducionais importantes para a estrutura de muitas proteínas; facilidade para expansão da cultura e consequente produção de grandes quantidades de proteínas. O vírus da Hepatite A (HAV) é um vírus de RNA, sendo responsável pela maioria dos casos das hepatites virais agudas. Já existem vacinas e kits diagnósticos para prevenção e detecção da doença, embora sejam produzidos a um custo relativamente alto devido a dificuldade do crescimento do vírus em meio de cultura. Outro aspecto negativo reside no fato destes produtos não serem fabricados no Brasil, o que eleva ainda mais o seu custo final. Diante destas limitações a obtenção de VLPs do HAV, com tecnologia 100% nacional, se torna uma alternativa atraente para geração de novos testes diagnósticos contra a Hepatite A. Neste trabalho visamos a obtenção de VLPs do HAV para o desenvolvimento de um kit diagnóstico, importante tanto para o monitoramento da prevalência da doença como para a definição das populações alvo para a vacinação. Através de sequências sintéticas com potencial de mimetizarem o vírus, formando suas VLPs, três estratégias distintas vem sendo padronizadas. Estas sequências foram otimizadas para expressão em células de inseto, sendo expressas em vetores monocitrônicos e bicitrônicos. Após as clonagens, as sequências foram transpostas em bacmídeos e confirmadas por PCR. Os bacmídeos foram utilizados para transfectar as células de insetos dando a origem a baculovírus recombinantes, carreando as proteínas de interesse. As células estão sendo infectadas com diferentes MOIs virais para análise da expressão de VLPs e sua consequente purificação.

Apoio Financeiro: CAPES, CNPQ, Fiocruz

Single nucleotide polymorphisms in *IFNG* and *PROX-1* genes are not associated with HIV-1 infection in a population of the state of Pernambuco

Celerino da Silva, R^{1,2}; Valeriano, JJ^{1,2}; Coelho, AVC^{1,2}; Crovella, S^{1,2}; Guimarães, R^{1,2}

¹Programa de Pós-graduação em Genética (PPGG), Departamento de Genética, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife - Brasil; ²Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA), Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, Brasil

ronaldocelerino@yahoo.com.br

Keywords: HIV-1, SNPs, *IFNG*, *PROX-1*, infection

Susceptibility and resistance to infections such as caused by the human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1), are related to a complex interaction between environmental, immunological and genetic factors, so multifactorial. Genetic polymorphisms related to the expression of genes encoding cytokines have been targeted numerous studies to determine the influence of such variations in response to pathogens, including HIV-1. The *IFNG* gene (located 12q14) encoding the interferon-gamma, a cytokine involved in innate and adaptive immunity against viral infections. This cytokine can directly inhibit viral replication. Other proteins such as PROX-1, encoded by the *PROX-1* gene (located at 1q41) has also its biological functions related to HIV-1, particularly as a negative regulator of the interferon-gamma expressed in T cells. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) in both genes has been associated with HIV-1 infection. In this sense, we propose to evaluate the possible association of SNPs in *IFNG* and *PROX-1* genes with the susceptibility modulation to infection by HIV-1. The study group was composed of 491 individuals (267 HIV-1⁺ patients and 224 healthy controls) from state of Pernambuco. Two SNPs were studied in *IFNG* (rs2069709) and *PROX-1* (rs17762192) genes. Genotyping was performed by real time PCR using allele-specific probes (TaqMan). Allele and genotype frequencies were estimated by direct counting. The Hardy-Weinberg and probable associations were determined by X² test and Fisher's exact test, using the program R. All SNPs were in Hardy-Weinberg equilibrium. For rs2069709 SNP of *IFNG* gene, we observed that the C allele was the most common in healthy controls (99.1%) and HIV-1⁺ patients (97.89%). Regarding genotypes, we found that the CC genotype was more frequent in healthy controls (98.19%) than in HIV-1⁺ (96.54%) patients. On the other hand, the AC genotype was more frequent in HIV-1⁺ patients (3.46%) than in healthy controls (1.81%). For rs17762192 SNP in *PROX-1* gene, we observed that the G allele was the most frequent among HIV-1⁺ patients (56.9%) and healthy controls (56.7%). The GG and CC genotype were, respectively, more frequent in HIV-1⁺ patients (33% and 19.1%) than in healthy controls (29.9% and 16.5%). Moreover, the CG genotype was more frequent in healthy controls (53.6%) than in HIV-1⁺ patients (47.9%). For both SNPs, no significant differences (p-value > 0.05) were observed between groups. Given the findings, we found that SNPs and IFNG in PROX-1 genes are not associated with the modulation of susceptibility to infection by HIV-1. However, we suggested that further studies be delivered in other populations, in order to understand what the real role these variations in HIV-1.

Financial Support: CAPES, CNPq, FACEPE

RFC1 80G>A genetic polymorphism and the risk of somatic non-disjunction in Turner syndrome

Bispo, AVS¹; Santos, LO¹; Resende, AD²; Araújo J³; Muniz, MTC^{4,5}; Santos, N¹.

¹Departamento de Genética/CCB/UFPE – Recife, PE; ²Serviço de Genética Médica, Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira – Recife, PE; ³Serviço de Endocrinologia Pediátrica, Hospital das Clínicas/UFPE – Recife, PE; ⁴Instituto de Ciências Biológicas/UPE – Recife, PE; ⁵Centro de Oncohematologia Pediátrica de Pernambuco/HUOC/UPE– Recife, PE

bispo_adriana@hotmail.com

Keywords: Aneuploidy; DNA hypomethylation; folates

Folates are essential micronutrients required for one-carbon biosynthetic metabolism, DNA synthesis and repair, and methylations processes. Disruptions of the homeostasis in cellular folates results in aberrant DNA methylation, chromosome breakage, increased frequency of micronuclei, point mutations, defective chromosome recombination and aneuploidy. Folates require several systems to enter the cell, although the cellular uptake of the predominant plasma folate is primarily mediated by the reduced folate carrier (*RFC1*). The *RFC1* gene encodes an enzyme that participates in folate absorption and the polymorphism 80G>A is associated with a reduction on protein affinity for substrates and its efficiency in transporting, resulting in impairments in folate metabolism. We performed a case-control study in patients with Turner syndrome (TS) to determine the effect of *RFC1* 80G>A genetic polymorphism, included in the folate pathway genes, as potential risk factors for somatic chromosomal non-disjunction. TS is an important model to investigated this association because these patients show a high frequency of chromosome mosaicism. This was an analytical cross-sectional study with a control group (144 health women) and 70 patients with TS diagnosed by clinical and karyotyping. All patients were attended in the Service of Medical Genetics at the Institute of Integral Medicine Professor Fernandes Figueira and in the Service of Pediatric Endocrinology at Clinics Hospital of the Federal University of Pernambuco. Genotyping was performed by the polymerase chain reaction (PCR), followed by *HhaI* enzymatic digestion. The results show that the allelic frequencies *RFC1* 80G were not significantly different between TS cases and controls. Concerning genotype frequency, the gene showed a higher frequency of individuals with homozygous *RFC1* 80AA among cases than controls associated with a 2.45-fold increase in the risk of non-disjunction (95% confidence interval (CI), 1.01 - 5.96), although this association did not reach statistical significance ($p = 0,1222$). Concluding, our study does not support a link between impaired folate metabolism caused by *RFC1* polymorphism and abnormal chromosome segregation leading to somatic non-disjunction in TS patients. The mechanisms responsible for aneuploidy seem to be influenced by multivariate factors, including genetic, environmental, epigenetic and stochastic. Therefore it may be difficult to measure the results of an individual effect.

Financial Support: FACEPE

Influência do tabagismo sobre o perfil de metilação de DNA e na expressão do gene da citoqueratina 14 em células bucais

Silva, ICB¹; Mariz, BALA²; Pereira, AMBC³; Ribeiro, GMF⁴; Oliveira, NFP⁴.

¹Graduanda em Enfermagem, Universidade Federal da Paraíba, UFPB, João Pessoa, PB; ²Graduando em Odontologia, Universidade Federal da Paraíba, UFPB, João Pessoa, PB; ³Profa Dra Departamento de Morfologia, Universidade Federal da Paraíba, UFPB, João Pessoa, PB; ⁴Profa Dra Departamento de Biologia Molecular, Universidade Federal da Paraíba, UFPB, João Pessoa, PB

isabelleborba8@gmail.com

Palavras-chave: Epigenética, metilação de DNA, fumo, queratina, mucosa oral

O tabagismo é considerado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) a principal causa de morte evitável e um dos principais problemas de saúde pública em todo o mundo. A fumaça do cigarro é uma mistura química complexa a qual contém mais de 400 diferentes compostos, sendo que em torno de 69 deles são muitos estudados e altamente associados a doenças cardiovasculares, pulmonares e vários tipos de câncer, especialmente de pulmão e de boca. Alguns estudos têm mostrado que a fumaça do cigarro, particularmente a nicotina pode diretamente induzir alterações no perfil de metilação de DNA. Metilação de DNA é um mecanismo crucial no controle da expressão gênica. A adição de radical metil nos resíduos de citosina nos dinucleotídeos CpG na região promotora pode regular os níveis de transcrição e até silenciar o gene. As citoqueratinas formam uma família de mais de 20 proteínas as quais compreendem os filamentos intermediários do citoesqueleto de células epiteliais. O gene da citoqueratina 14 (*KRT14*) codifica a queratina 14 (K14) que é usualmente encontrada como um heterodímero com a queratina 5. Estudos têm mostrado associação entre perfil alterado de expressão de citoqueratinas e o hábito de fumar, bem como em vários tipos de câncer. O objetivo desse estudo foi investigar a influência do fumo sobre o perfil de metilação de DNA no gene *KRT14*, bem como na expressão da proteína codificada por esse gene em células bucais. Amostras de epitélio bucal foram coletadas por bochecho de 12 indivíduos não fumantes, 12 fumantes e 11 ex-fumantes. Parte de cada amostra teve DNA genômico extraído e o restante foi utilizado para confecção do esfregaço. A análise de metilação de DNA no gene *KRT14* foi realizada a partir da técnica de PCR Específica para Metilação (MSP) e a análise de expressão da K14 foi realizada por Imunoistoquímica. A maioria das amostras apresentou-se metilada no gene *KRT14* e não foram encontradas diferenças entre os grupos ($p > 0,05$; χ^2). A média das células marcadas para K14 para os grupos não fumante, fumante e ex-fumante foi de 42%, 45% e 48% respectivamente, não sendo encontradas diferenças entre os grupos ($p > 0,05$; ANOVA). Conclui-se que o tabagismo não influencia no perfil de metilação de DNA do gene *KRT14* nem na expressão proteica do gene supracitado.

Suporte Financeiro: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico- CNPq

Polimorfismo de heterocromatina constitutiva no cromossomo 16: três relatos de casos

Barros, JV¹; Santos, LO¹; Bispo, AVS¹; Silva, IKL¹; Laranjeira, RSM¹; Duarte, AR²; Araújo J³; Santos, N¹.

¹Departamento de Genética/CCB/UFPE – Recife, PE; ²Serviço de Genética Médica, Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira – Recife, PE; ³Serviço de Endocrinologia Pediátrica, Hospital das Clínicas/UFPE – Recife, PE

juhdebarros@hotmail.com

Palavras-chave: Heterocromatina constitutiva, cromossomo 16, polimorfismo, citogenética, alterações fenotípicas

A heterocromatina constitutiva (HC) pode ser considerada um segmento cromossômico que se apresenta permanentemente condensado; geneticamente inativo; composto por DNA altamente repetitivo que se replica tardiamente na fase S; possui características de corar diferencialmente quando submetida a determinados tratamentos e é considerada como um material extremamente complexo e difícil de ser definido. Os polimorfismos cromossômicos das regiões de HC são considerados variações normais na população, porém estudos indicam que estes polimorfismos podem causar alguns efeitos clínicos, como infertilidade e aborto de repetição. No presente trabalho reportamos três casos de adição da HC no braço longo do cromossomo 16. As três pacientes foram provenientes de três serviços médicos do estado de Pernambuco. As pacientes 1 e 2 foram encaminhadas com suspeita clínica de síndrome de Turner apresentando, entre outros estigmas, a baixa estatura e o hipodesenvolvimento. Além desses estigmas, a paciente 2 também apresentou dados clínicos como: útero diminuído para a faixa etária, hipertelorismo ocular, lábio leporino + fenda palatina e aparente retardo mental. A terceira paciente foi encaminhada por seu histórico de abortos recorrentes. Cerca de 25 metáfases mitóticas, obtidas através da cultura de linfócitos de sangue periférico, foram analisadas através do bandeamento G para cada paciente, o cariótipo descrito foi 46,XX,16qh+. A adição de heterocromatina no 16qh+ tem sido associado a vários estigmas, entre eles ao dismorfismo craniofacial e ao retardo mental, sendo este último observado na paciente 2. Existem, ainda, diversos relatos em que o polimorfismo das regiões de HC poderia aumentar o risco de progênie com alterações cromossômicas, uma vez que o aumento da heterocromatina poderia acarretar problemas no pareamento e não-disjunção dos cromossomos na meiose. Apesar de ainda não haver consenso científico acerca de sua repercussão fenotípica, os polimorfismos tem sido um achado frequente nos serviços de Citogenética Humana. Por serem considerados normais na população, existe uma sugestão da Sociedade Brasileira de Genética que estes polimorfismos não precisam ser incluídos na descrição do resultado, e quando forem, que seus significados estejam descritos claramente nos comentários dos laudos afim de se evitar falsas interpretações por médicos não geneticistas. Essa falta de normatização com relação à descrição desses polimorfismos em laudos pode subestimar resultados e dificultar a associação dos mesmos com possíveis achados fenotípicos. Este trabalho ressalta a importância da descrição da adição de heterocromatina nos laudos citogenéticos e enfatiza que o estudo detalhado dessa região pode contribuir para a relação desses achados cariotípicos com possíveis características fenotípicas.

Apoio financeiro: CNPq e FACEPE

Evaluation of testosterone influence on promoter differential methylation of reelin gene

Silva, VAM¹; Dantas, MS¹; Carneiro, JG¹; Schamber-Reis, BLF¹

¹Faculdade de Ciências Médicas de Campina Grande (FCM), Campina Grande, PB

bruno.reis@fcm.edu.br

Keywords: *schizophrenia*, reelin, methylation, testosterone, flutamide

Schizophrenia (SZ) is a human psychiatric disorder characterized by delusions and hallucinations, cognitive impairment and negative symptoms. Among several factors, SZ is caused by deficient secretion of the glycoprotein *reelin* (*RELN*) by GABAergic neurons during central nervous system development, regulating microtubule function in neuron migration and synaptic plasticity. Human *RELN* gene, localized at 7q22 on chromosome 7, shows an identity of 87,2% with its ortholog in mice. Molecular data suggests that reelin deficiency observed in SZ patients is dependent on extensive *RELN* promoter hypermethylation, although precise CpG sites involved in this control were not completely identified. Additional experimental evidences also strongly suggest that testosterone can affect *Reln* promoter methylation and gene expression, although scientific literature lacks solid demonstrations that this hormone can modulate methylation of *RELN* promoter during SZ pathogenesis. The objective of this work is to evaluate methylation status of reelin gene promoter after treatment with anti-androgen flutamide, which is proved to downregulate testosterone levels. Two groups of five male swiss mice (8-10 week old) were daily injected intraperitoneally with flutamide (25 µg/g and 50 µg/g) during 30 days (control group received DMSO 10% as vehicle). After treatment, animals were euthanized and had their cerebellum and blood harvested and genomic DNA was extracted. To verify the methylation pattern in reelin promoter, six CpG residues located at *Reln* promoter were screened by using methylation specific-PCR (MSP). This technique permits discrimination between methylated from non-methylated cytosines in selected CpG sites after treating DNA with sodium bisulfite, which converts only non-methylated cytosines to thymine. We tested a primer pair with forward primers showing full 3' complementarity relative to unmethylated cytosine residues located at -860 and -863 relative to initial ATG. Our results showed amplification of the expected band of 105bp for mice treated with 50 µg/g. A low signal of amplification was seen for mice from control group. In addition, DNA samples extracted from treated mice and incubated with CpG methyltransferase showed no bands and were used as negative controls, as well for dsDNA from the same animals. These results suggest that testosterone is a potential candidate somewhat involved in inducing reelin promoter demethylation, although additional molecular approaches are necessary to better unveil this hypothesis.

Descrição clínico-genética de uma família consanguínea com hipopituitarismo do nordeste brasileiro.

Pequeno, TA¹; Figueiredo, TC^{2,3}; Oliveira, VG⁴; Jorge, AAL⁵; Santos, S³.

¹Pós-Graduação em Saúde Pública, Universidade Estadual da Paraíba (UEPB); ²Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal da Paraíba (UFPB); ³Núcleo de Estudos em Genética e Educação, Universidade Estadual da Paraíba (UEPB); ⁴Departamento de Endocrinologia, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG); ⁵Departamento de Endocrinologia, Universidade de São Paulo (USP)

thiagomeida23@hotmail.com

Palavras-chave: Consanguinidade, *cluster*, hipopituitarismo genético, sequenciamento, *PROPI*.

A Deficiência Múltipla de Hormônios Hipofisários (DMHH) caracteriza-se pela perda da ação de dois ou mais hormônios da pituitária, tendo prevalência de 300 a 455 afetados por milhão de habitantes, e pode ser adquirida ou genética. Mutações no gene *PROPI* são a principal causa genética do hipopituitarismo (13,3%), exibindo maior prevalência na Europa e levando a deterioração da hipófise anterior. Neste trabalho, realizado em um município do nordeste brasileiro, com 13676 habitantes, foi feita a avaliação clínico-genética de quatro indivíduos de uma família consanguínea com hipopituitarismo, sendo três do sexo masculino com as idades de 10, 14 e 62 anos e uma do sexo feminino com 16 anos. Os exons 1 a 3 do gene *PROPI*, compreendendo toda a região codificante, foram amplificados por PCR utilizando *primers* intrônicos e sequenciamentos pelo método de Sanger. No exon 2 do gene *PROPI* foi identificado, nos quatro afetados, a deleção de dois nucleotídeos (AG) na posição 296 do cDNA em homozigose (c.296delAG, previamente referido como c.301_302delAG) que gera uma mutação tipo *frameshift* [p.(Leu102Cysfs*8)]. Os exames hormonais para avaliação das trofinas revelaram deficiência de hormônio do crescimento (GH) e do fator de crescimento semelhante à insulina (IGF1) em todos os pacientes. Em três deles foi confirmado o hipogonadismo hipogonadotrófico; e um não atingiu idade para avaliação. Os três pacientes do sexo masculino apresentavam distúrbio da função tireoidiana, e apenas um deles tinha hipocortisolismo, sugerindo insuficiência adrenal. Estes resultados evidenciam a existência de um *cluster* da mutação c.296delAG do gene *PROPI* em uma população do nordeste brasileiro, o que sugere a necessidade de ampliar a investigação genética na região a fim de ofertar aconselhamento genético e tratamento adequado aos pacientes. A reposição hormonal pode ampliar a sobrevida e as condições de saúde dos afetados.

Associação do polimorfismo $TNF\alpha$ -308 (G/A) (rs1800629) com Artrite Reumatoide

Silva, IIFG¹; Angelo, HD^{2,3}; Lima, GDC⁴; Maia, MMD¹; Souza, PRE¹; Sandrin-Garcia, P².

¹Universidade Federal Rural de Pernambuco, UFRPE, Recife, PE; ²Programa de Pós-graduação em Genética da Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, PE; ³Instituto Federal de Pernambuco (IFPE - Garanhuns), Garanhuns, PE; ⁴Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular da Universidade de Pernambuco, UPE, Recife, PE

iisauragomes@gmail.com

Keywords: artrite reumatoide, citocinas, polimorfismos

A Artrite Reumatóide (AR) é uma doença autoimune crônica caracterizada por causar inflamação nos tecidos sinoviais, podendo estar associada a efeitos sistêmicos como febre, perda de peso e anemia. A doença afeta cerca de 1% da população mundial, enquanto que na população brasileira varia de 0.2% a 1%, apresentando uma taxa de 3:1 entre mulheres e homens, respectivamente. A destruição do tecido cartilaginoso e ósseo compromete significativamente a qualidade de vida do paciente com AR, podendo gerar fortes dores e deformidades que impedem a execução de tarefas do cotidiano. A etiologia da AR não é claramente definida, mas sabe-se que fatores genéticos e ambientais podem influenciar na predisposição, desenvolvimento e atividade da doença. Dentre os fatores genéticos, polimorfismos de citocinas desempenham um importante papel na patogênese da AR, e o $TNF\alpha$ é uma importante molécula pró-inflamatória que pode estar relacionada ao desenvolvimento da doença. Sendo assim, o presente estudo analisou a associação do polimorfismo -308 G/A do gene $TNF\alpha$ (rs1800629) em pacientes do sudeste brasileiro com AR. Foi realizado um estudo caso-controle com 90 pacientes com AR e 100 controles saudáveis, sendo utilizada a metodologia de PCR-RFLP com a enzima de restrição NcoI para a detecção do polimorfismo. As análises estatísticas foram realizadas pelo software BioEstat 5.0. Nossos resultados não encontram diferenças significativas na distribuição genotípica e alélica entre pacientes e controles para o polimorfismo -308 G/A do gene $TNF\alpha$. Novas pesquisas são necessárias para explorar a complexa interação entre polimorfismos neste gene e o risco para AR, particularmente em diferentes populações. Com isso, neste trabalho observamos que o polimorfismo $TNF\alpha$ -308G/A não está contribuindo com o desenvolvimento de AR na população de Ribeirão Preto, Sudeste do Brasil.

Suporte Financeiro: CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior).

Electrochemical DNA biosensor for human papillomavirus 18 detection by using multi-walled carbon nanotubes

Freitas, TA¹; Silva, IIFG²; Pimentel, ENA¹; Dutra, RF¹; Maia, MMD²

¹Laboratory of Biomedical Engineer, UFPE, Recife, PE; ²Department of Biology, UFRPE, Recife, PE

tatiannyassis@yahoo.com.br

Keywords: electroanalysis, carbon nanotubes, human papillomavirus 18

Several methods have been studied to increase the surface area of electrodes and enhance their sensitivity for electrochemical detection of different biomolecules, including the application of nanomaterials. Carbon nanotubes (CNTs) have attracted the interest of researchers in the last years. These nanomaterials specially combine several properties that improve the electrochemical performance, such as easy surface functionalization and increase in the amount of immobilized biomolecules and in the electron transfer charge on the electrode surface. Carboxyl-terminated nanotubes have been also explored as essential functionalization strategy for covalent linkage of antibodies, proteins and DNA or RNA structures. The CNTs can amplify DNA recognition and transduction events, which may be used as an ultrasensitive method for biosensing. DNA biosensors are analytical devices designed to detect a specific sequence of DNA by hybridization with complementary probes immobilized on a solid substrate. Thus, the development of a rapid and practical biosensor for the detection of human papillomavirus (HPV) 18 has been developed. For this proposal, a film of COOH-functionalized multiwalled carbon nanotubes (COOH-MWCNTs) was adsorbed on gold electrode surface and submitted by differential pulse voltammetry (DPV) technique. All DPV measurements were carried out in the same support electrolyte. Subsequently, NH₂-functionalized HPV-18-specific probe was immobilized on the electrode surface modified with COOH-MWCNTs. The measurement was based on the current reduction after hybridization with complementary probe of HPV-18. The scanning electron microscopy was employed to morphologically characterize the surface modification with the film. Studies of repeatability and reproducibility showed that the biosensor was stable during ten measurements and reproducible in ten different electrodes. The hybridization detection presented good sensitivity and broad linear response to the complementary DNA probe at the concentration range between 25 pM and 100 pM. The initial results showed that the work will allow the possibility of developing a simple system of detecting HPV-18 in serum human.

Financial support: CAPES, Brazil.

Incidência dos tipos 6 e 56 do Papilomavírus humano em Pacientes com Adenocarcinoma no estado de Pernambuco.

Duarte, EBC²; Silva, AP^{1,2}; Santos, EUD^{1,2}; Cândido, SA²; Costa, TML³; Maia, MMD^{2,4}; Souza, PRE^{2,4}.

¹Programa de Pós Graduação em Ciência Animal Tropical (PGCAT- UFRPE), Recife, PE; ²Laboratório GENOMA (UFRPE), Recife, PE; ³Instituto Materno Infantil Prof. Fernando Figueira (IMIP-PE); ⁴Prof. Dr. da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE

elayne_duarte22@hotmail.com

Palavras-chave: Adenocarcinoma, HPV, PCR, neoplasia cervical, endocérvice.

As neoplasias intraepiteliais cervicais são lesões proliferativas com maturação anormal e atípica de graus variáveis, substituindo parte ou toda a espessura do epitélio escamoso cervical. Com uma incidência de cerca de meio milhão de casos por ano em todo o mundo, essa neoplasia pode ser classificada de duas formas: Carcinoma de células escamosas e Adenocarcinoma. Este último compreende o segundo tipo de tumor mais comum do colo de útero -aproximadamente 20%- e se origina de células da parte mais interna do colo do útero chamada endocérvice. A infecção pelo HPV é apontada como importante fator causal das neoplasias intraepiteliais do trato genital inferior. Dentre os mais de 40 tipos que infectam o colo uterino, destacamos os HPVs 6 e 56, que são considerados, respectivamente, de baixo e alto risco oncogênico. A proposta desse estudo foi detectar a presença destes dois tipos do HPV em pacientes com adenocarcinoma no estado de Pernambuco. Para tal, foram analisadas 50 amostras de tecido parafinado de pacientes positivos para esta neoplasia. A verificação da presença de HPV nas amostras foi realizada através da técnica de PCR convencional, utilizando primers de detecção geral do tipo MY09/MY11 e GP5+/GP6+. A tipificação dos HPV's 6 e 56 nas amostras positivas, também foi realizada pela técnica de PCR convencional, utilizando primers tipo-específicos para os mesmos. A análise dos resultados mostrou que todas as amostras foram positivas para um dos primers de detecção geral, estando o HPV 6 presente em 18% destas amostras (9/50) e o HPV 56 em 32% das mesmas (16/50). Foi verificado também que 10% (5/50) das amostras apresentaram coinfeção. Portanto, este estudo demonstra que para os tipos virais analisados, há uma maior ocorrência do HPV 56, considerado de alto risco oncogênico, sobre o tipo 6 do HPV. Estes resultados corroboram com alguns artigos publicados que abordam a frequência destes tipos virais no desenvolvimento do adenocarcinoma. Bem como reforça o fato de que o HPV pode ser um fator determinante no desenvolvimento do adenocarcinoma e que a detecção deste vírus, de forma precoce, pode contribuir para a não progressão deste câncer, além de auxiliar na construção de medidas terapêuticas contra esta neoplasia.

Suporte Financeiro: Fundação de apoio à ciência e tecnologia do estado de Pernambuco (FACEPE).

Associação do polimorfismo *IL-23R* +2199 A/C (rs10889677) com Artrite Reumatoide

Angelo, HD^{1,2}; Silva, IIFG³; Lima, GDC⁴; Souza, PRE³; Garcia, PS¹.

¹Programa de Pós-graduação em Genética da Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, PE; ²Instituto Federal de Pernambuco (IFPE - Garanhuns), Garanhuns, PE; ³Universidade Federal Rural de Pernambuco, UFRPE, Recife, PE; ⁴Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular da Universidade de Pernambuco, UPE, Recife, PE

hildsonangelo@hotmail.com

Keywords: artrite reumatoide, citocinas, polimorfismos, interleucina, IL23

A artrite reumatoide (AR) é uma doença autoimune sistêmica crônica caracterizada pela presença de processo inflamatório nas articulações. AR como problema de saúde pública, já atinge cerca de 1% da população mundial, afetando cerca de 3 mulheres para cada homem, com idade de surgimento entre 20 a 60 anos. No Brasil a prevalência da doença varia de 0,2% a 1,0%, dependendo da região geográfica. Embora a etiologia da AR seja desconhecida, muitos estudos sugerem que uma combinação de fatores ambientais e genéticos são responsáveis pelo desenvolvimento da doença. Dentre os fatores genéticos, polimorfismos funcionais no gene *IL23R*, que alteram a expressão do principal receptor da citocina IL23, poderiam estar relacionados com a alteração no eixo inflamatório IL17/IL23 e assim influenciar na susceptibilidade à AR. Este estudo foi realizado em 190 indivíduos, entre os quais 90 pacientes portadores de AR e 100 indivíduos saudáveis com o objetivo de verificar a associação do polimorfismo *IL-23R* +2199 A/C (rs10889677) com o desenvolvimento de AR. O DNA genômico foi extraído pelo método de Salting out e a genotipagem foi realizada por PCR-RFLP. Os produtos amplificados foram digeridos com enzima de restrição (MnLI) e posteriormente separadas utilizando um gel de agarose a 3%, corado com brometo de etídio. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software BioEstat 5.0. Nossos resultados mostraram que os indivíduos portadores do A alelo (A/A + A/C) na posição +2199 no gene *IL23R* tiveram um risco aumentado em 3,41 vezes para o desenvolvimento da AR. Nosso estudo mostrou uma evidência da associação entre o polimorfismo *IL-23R* (+2199 A/C) e a susceptibilidade para AR na população de Ribeirão Preto, Sudeste do Brasil.

Suporte Financeiro: CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Estado de São Paulo (FAPESP).

DETECÇÃO DOS HPVS 31 E 33 EM AMOSTRAS DE MULHERES COM LESÃO INTRAEPITELIAL ANAL EM PERNAMBUCO.

Costa, VV¹; Silva, IIFG¹; Lima, GDC²; Heráclio, SA³; Amorim, MMR³; Maia, MMD¹; Souza, PRE¹

¹Departamento de Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco,(UFRPE),Recife, Pernambuco;

²Departamento de Biologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco,(UFRPE),Recife, Pernambuco; ³Departamento de Saúde Materno Infantil- Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira (IMIP),Recife,Pernambuco

Victor_cvasconcelos@hotmail.com

Palavras-chave: Human Papillomavirus, NIA, Alto risco oncogênico, PCR, Secreção Anal

O Papiloma vírus humano (HPV) é um vírus pequeno, não envelopado e com DNA de fita dupla circular com aproximadamente 8000 pares de base, pertencente à família *Papillomaviridae*. Existem mais de 100 subtipos de HPV, destes apenas 40 infectam a região anogenital. Sendo classificados de acordo com o risco oncogênico em baixo (LR) e alto risco (HR), dentre eles o 31 e 33 estão entre os mais frequentes no mundo. A Neoplasia Intraepitelial Anal (NIA) é uma condição pré-maligna que pode evoluir para carcinoma invasivo. O objetivo do nosso estudo é estimar a incidência dos subtipos do HPV 31 e 33 em mulheres acometidas por lesão intraepitelial anal em Pernambuco. Foram selecionadas 50 amostras de secreção anal de mulheres com NIA do banco de amostras de DNA genômico do laboratório GENOMA da UFRPE. A detecção da infecção pelo HPV foi realizada através da metodologia da PCR convencional usando os primers universais (MY09/11 e GP05+/06+) e na subtipagem foram utilizados primers específicos para HPV31 e HPV33. Os resultados mostraram uma prevalência total do HPV de 70% (35/50) na nossa população de estudo. Das amostras positivas para o HPV, 20% (7/35) foram positivas para o genótipo HPV31 e 5,71% (2/35) para o genótipo HPV33. Desta forma, as infecções pelo HPV anal no Nordeste brasileiro sugere a necessidade de uma vacinação que abranja estes genótipos virais.

Apoio financeiro: FACEPE, CNPq e UFRPE.

Associação entre polimorfismo na região promotora do gene TNF-alfa na susceptibilidade de adenocarcinoma no estado de Pernambuco.

Almeida, DSF³; Silva, AP^{1,3}; Santos, EUD^{1,3}; Lima Júnior, SF^{2,3}; Costa, TML⁵; Maia, MMD^{3,4}; Souza, PRE^{1,3,4}.

¹Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical, UFRPE, Recife, PE; ²Programa de Pós-Graduação em Biologia Aplicada à Saúde, UFPE, Recife, PE; ³Laboratório de Genética, Bioquímica e Sequenciamento de DNA Prof^a. Tânia Falcão, UFRPE, Recife, PE; ⁴Departamento de Biologia – Área de Genética – UFRPE – Recife, PE; ⁵Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira – IMIP, Pernambuco, PE

deniise_almeida@hotmail.com

Palavras-chave: Polimorfismo, câncer, lesões glandulares endocervicais, SNP, HPV.

O adenocarcinoma da cérvix uterina é um tumor maligno proveniente de células glandulares epiteliais secretoras. As causas das neoplasias intra-epiteliais glandulares cervicais são desconhecidas, assim como de outros cânceres, contudo, a infecção do *Papilomavírus* humano (HPV) é um fator de risco fundamental para o desenvolvimento de lesões glandulares endocervicais, precursoras do adenocarcinoma uterino. Além disso, mutações em genes associados ao sistema imune contribuem com o desenvolvimento de adenocarcinomas, como é o caso do Fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa), considerado como uma das principais citocinas relacionadas aos procedimentos inflamatórios e imunes. Vários estudos mostraram que o SNP (-308, rs1800629) no gene TNF-alfa promove uma potencialização na susceptibilidade a várias doenças inclusive ao desenvolvimento do câncer cervical. O presente estudo teve como objetivo investigar se a presença do SNP -308 no gene TNF-alfa está associado com o aparecimento do adenocarcinoma da cérvix uterina. A pesquisa foi realizada com 150 amostras provenientes do Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP) – PE, sendo 50 amostras de pacientes positivos para o adenocarcinoma, comprovado citologicamente, e infectadas por HPV; e 100 amostras de mulheres sem lesão cervical e negativas para qualquer tipo de HPV. Para a genotipagem dos pacientes utilizou-se a técnica de PCR-SSP. As análises estatísticas foram realizadas através do programa Bioestat 5.0. Os resultados mostraram que este polimorfismo provoca um risco aumentado de aproximadamente 2,4 vezes maior para o desenvolvimento de adenocarcinoma ($p = 0,0179$; OR = 2,38; 95%IC = 1,20 - 4,70). Estes dados preliminares sugerem que o SNP -308 no gene TNF-alfa como fator de risco para o desenvolvimento de adenocarcinoma na população de estudo.

Suporte Financeiro: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) e Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE).

Etiologia da deficiência física em uma população consanguínea do nordeste brasileiro

Monteiro, KS¹; Lopes, FRL¹; Wanderley, TC¹; Figueiredo, TC^{1,2}; Lima, SOA¹, Pequeno, TA¹; Santos, S¹.

¹Núcleo de Estudos em Genética e Educação, Universidade Estadual da Paraíba (UEPB); ²Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

karolsm@r7.com

Palavras-chave: Etiologia, genética, deficiência, consangüinidade, prevalência.

O nordeste lidera o *ranking* de pessoas com deficiências e incapacidades do país, tendo 25% de sua população acometida; e também possui as mais elevadas frequências de consanguinidade: de 9% a 32% das uniões, em municípios do sertão do Rio Grande do Norte e da Paraíba, ocorrem entre pessoas aparentadas. A consanguinidade pode aumentar o risco de nascimento de crianças com doenças genéticas recessiva, que causam diferentes formas de deficiências. Neste estudo de base populacional, envolvendo 6198 habitantes de um município do nordeste brasileiro com coeficiente de endocruzamento de 0,008, utilizou-se o método do informante para investigar a prevalência e a etiologia das deficiências físicas. Ao todo, 75 pessoas foram indicadas para avaliação clínica e genética. A prevalência de indivíduos com deficiência física foi de 1,2%, sendo 51,5% do sexo masculino, com idade média de $47,2 \pm 24,3$. Desse total, 25,3% teve uma causa externa identificada, sendo 14,7% por acidentes de trânsito e 10,6% por poliomielite; 22,7% das deficiências foram causadas por patologias associadas ao envelhecimento, como acidente vascular encefálico (10,6%), Parkinson (4%), Alzheimer (4%) e amputação por Diabetes Mellitus (2,7%); 16% de afecções tinham etiologia multifatorial, como malformações congênitas (9,3%), pé torto congênito (4%) e cifoescoliose (2,7%); 13,3% de origem genética; e 4% da amostra teve paralisia cerebral. Este estudo mostrou que os fatores genéticos, associados ou não ao envelhecimento, são responsáveis por um quarto das deficiências físicas na população estudada, o que aponta a necessidade de estabelecimento de políticas e serviços de genética médica na região.

Investigação de deleções do gene *SHOX* em pacientes com baixa estatura associada ou não a malformações esqueléticas

Santos, LO¹; Barros, JV¹; Liberal, ATS¹; Bispo, AVS¹; Leal, GF²; Duarte, AR²; Araújo J³; Muniz, MTC⁴; Santos, N¹.

¹Departamento de Genética/CCB/UFPE – Recife, PE; ²Serviço de Genética Médica, Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira – Recife, PE; ³Serviço de Endocrinologia Pediátrica, Hospital das Clínicas/UFPE – Recife, PE; ⁴Instituto de Ciências Biológicas/UPE – Recife, PE

luana.oliveira_250@hotmail.com

Palavras-chave: baixa estatura, alterações esqueléticas, gene *SHOX*, microssatélites, deleções

A baixa estatura é uma das maiores causas de encaminhamento de pacientes à uma unidade pediátrica, sendo uma indicação comum para avaliação genética. Um dos mais importantes genes analisados em pacientes com déficit estatural é o *SHOX* (*Short stature Homeobox-cotainig gene*), relacionado com a baixa estatura e deformidades esqueléticas. Este estudo teve como objetivo investigar a presença de deleções do gene *SHOX* em pacientes com cariótipo normal (46,XX) que apresentaram sinais clínicos de baixa estatura associada ou não a malformações esqueléticas. As pacientes foram encaminhadas com suspeita clínica de Síndrome de Turner dos serviços de Genética Médica do IMIP e de Endocrinologia Pediátrica do HC. A análise citogenética foi realizada em linfócitos de sangue periférico e a investigação de deleções foi realizada em 28 pacientes através da análise, em sequenciador automático, dos marcadores de microssatélites Repetições CA, DXYS10092 e DXYS10093 localizados no gene *SHOX*. Pacientes com baixa estatura que apresentaram hipotireoidismo, desnutrição, patologias cardiovasculares, patologias renais, doença celíaca, deficiência de hormônio do crescimento foram excluídas do estudo. A análise molecular permitiu descartar deleções do gene *SHOX* em 13 pacientes 46,XX (46,43% da amostra). Duas pacientes apresentaram dois alelos para o marcador de Repetições CA, entretanto os mesmos se mostraram desbalanceados. Esta desproporção entre a altura dos picos pode ser um indicativo da presença de mosaicismo críptico. O estudo molecular não se mostrou informativo em duas pacientes, mesmo após o estudo parental, uma vez que, as mesmas revelaram um alelo que estava presente em ambos os pais, não sendo possível confirmar a hemizigose, em que há deleção de um dos alelos, ou se as pacientes eram homozigotas, em que revelam dois alelos idênticos. Duas pacientes apresentaram um único alelo para 2 marcadores moleculares, entretanto, a análise dos genitores não foi possível uma vez que os mesmos não concordaram em participar do estudo, impossibilitando a confirmação da hemizigose. Em seis pacientes houve a presença de um único alelo, entretanto, não foi possível determinar a homozigose ou hemizigose. Três pacientes revelaram resultados insatisfatórios, uma vez que não foi possível a amplificação com boa reprodutibilidade. A baixa estatura foi o principal sinal clínico entre as pacientes 46,XX. O exame clínico também revelou malformações esqueléticas como: cúbito valgo bilateral, palato um pouco alto e estreito, encurtamento de 4º e 5º pododáctilo, tórax escavatum, encurtamento dos 4ºs quirodáctilos, genu valgo. A ausência de deleções do gene *SHOX* em 46,43% da amostra descarta a possibilidade de indicação à uma terapia de reposição hormonal, levando em consideração os marcadores de microssatélites utilizados neste estudo. Entretanto, o monitoramento destas pacientes deve continuar sendo realizado através de exames regulares. Assim, a baixa estatura nestas pacientes não possui etiologia genética para os marcadores moleculares utilizados no presente estudo.

Suporte financeiro: CNPq e FACEPE.

ANCESTRALIDADE PATERNA AFRICANA DE PACIENTES COM HIPOTIREOIDISMO CONGÊNITO DO ESTADO DA PARAÍBA

Farias, MJ¹; Silva, EF¹; Dantas, MAA¹; Eulálio, MMC¹; Rocha, PKL¹; Oliveira, Y¹; Lopes, SSS¹; Mota, AR².

¹Departamento de biologia da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB); ²Hospital Universitário Alcides Carneiro (HUAC/UFCEG)

Mayara_jf1@hotmail.com

Palavras-chave: Ancestralidade, Hipotireoidismo congênito, África, Yap, Paraíba

A população brasileira é bastante heterogênea considerada a mais miscigenada do mundo, devido a sua formação a partir da contribuição de três grupos étnicos distintos, os ameríndios, europeus e africanos. Saíram da África cerca de 15 milhões de homens e mulheres com destino as Américas; o Brasil teria recebido cerca de 40% desse total. Para verificar a contribuição africana para ancestralidade paterna dos pacientes com hipotireoidismo congênito por disormonogênese acompanhados no Hospital Universitário Alcides Carneiro (HUAC) localizado em Campina Grande-PB. Analisamos o marcador YAP, um polimorfismo de inserção Alu no cromossomo Y, a presença da inserção indica ancestralidade paterna dos haplogrupos D* e E* que são mais frequentes na África subsahariana, enquanto que a ausência da inserção pode representar asiáticas e Oceania. O Hipotireoidismo Congênito (HC) é um dos distúrbios endócrinos pediátricos mais comuns, ocorrendo em aproximadamente 1/3000-4000 nascimentos, sendo a causa mais comum de retardo mental prevenível. O HC é ocasionado pela deficiência ou ausência dos hormônios tireoideanos (HTs). O HC encontra-se associado ao defeito na formação dos hormônios tireoideanos (disormonogênese) em 10-15% dos pacientes. Os outros 85% dos casos estão associados a problemas no desenvolvimento da glândula (disgenesia). Foram analisadas amostras de DNA de 13 pacientes homens com diagnóstico clínico-laboratorial confirmado para Hipotireoidismo Congênito por disormonogênese e 12 amostras de controles (indivíduos saudáveis e não aparentados). O DNA das amostras foram obtidos por extração orgânica. O marcador YAP foi amplificado utilizando a técnica da PCR e analisado em eletroforese com gel de poliacrilamida 8%. A frequência de pacientes YAP positivo foi de 15,3%, enquanto que nos indivíduos controles a frequência foi de 25%. A literatura descreve que HC está relacionado a uma herança caucasiana, no entanto nenhum estudo molecular foi realizado para confirmar a presença desta contribuição e/ou definir os haplogrupos específicos das linhagens paternas e maternas. Os dados aqui apresentados demonstram uma contribuição paterna africana semelhante à encontrada nos dados do cromossomo Y para brasileiros, que reportam uma contribuição paterna africana de apenas de 10%. Entretanto, os indivíduos controles tiveram uma contribuição africana paterna maior, demonstrando a necessidade de um controle genômico em estudos de caso-controle, para equalizar os efeitos e permitir análises no mesmo grupo populacional. Estes resultados demonstram a pequena contribuição paterna africana encontrada nos pacientes com HC, no entanto a análise de outros marcadores será necessária para definir os haplogrupos do cromossomo Y dos pacientes YAP negativos.

Análise da associação do polimorfismo do códon 72 no gene p53 com o desenvolvimento de lesões pré-cancerosas induzidas por HPV

Oliveira, RS^{1,2}; Ribeiro, MCS^{1,2}; Silva, AP^{2,3}; Lima Junior, SF^{2,4}; Oliveira, ML⁶; Heráclio, SA⁶; Amorim, MMR⁶; Souza, PRE^{2,3,5}, Maia, MMD^{2,5}

¹Graduação em Bacharelado em Ciências Biológicas, UFRPE, Recife, PE; ²Laboratório de Genética, Bioquímica e Sequenciamento Tânia Falcão, UFRPE, Recife, PE; ³Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical, UFRPE, Recife, PE; ⁴Programa de Pós-Graduação em Biologia Aplicada à Saúde, UFPE, Recife, PE; ⁵Departamento de Biologia – Área de Genética – UFRPE – Recife, PE; ⁶Instituto de Medicina Integrada Prof. Fernando Figueira - IMIP, Pernambuco, PE

renata.so.oliveira@gmail.com

Palavras-chave: susceptibilidade, câncer cervical, arginina, prolina, cofatores.

A infecção por um dos subtipos do papilomavírus humano de alto risco oncogênico (HR-HPV) está fortemente associada com o desenvolvimento de câncer cervical (CC), o segundo tipo de câncer mais frequente na população feminina no mundo. Porém, a infecção sozinha não é suficiente para o desenvolvimento da doença, uma vez que apenas um pequeno número de mulheres expostas irão desenvolver infecção persistente e progredir para o CC. Vários co-fatores genéticos e ambientais podem estar associados com esta progressão. Entre os fatores genéticos do hospedeiro podemos destacar a importância de proteínas que atuam no controle do ciclo celular, as quais influenciam na resposta imune contra a infecção viral, podendo determinar se o indivíduo terá um maior ou menor risco de desenvolver lesões cervicais e ou CC. O gene TP53 é um gene supressor tumoral, cujo produto de transcrição é a proteína p53 que atua na detecção de danos no DNA, auxiliando o sistema de reparo do DNA alterado. Polimorfismos de base única (SNP) no códon 72 do gene TP53 (Arg/Pro) tem demonstrado estar associado com a susceptibilidade a diversas doenças com resultados contraditórios. Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar se existe relação do SNP (Arg/Pro) no códon 72 do gene TP53 com a susceptibilidade ao desenvolvimento de Lesão intraepitelial cervical numa população de Pernambuco. Neste estudo foram selecionadas 100 pacientes atendidas no Centro de Saúde da Mulher do Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira – IMIP – PE, sendo 50 pacientes infectadas pelo HPV e com lesão cervical, compondo o grupo de casos, e 50 pacientes infectadas por HPV e sem lesão cervical compondo o grupo controle. Foi utilizada a técnica de PCR-RFLP para detecção do polimorfismo da p53. As amostras foram tratadas estatisticamente utilizando-se a ferramenta on-line SNPStats. As duas populações encontravam-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg. Os resultados mostraram que houve uma chance de risco de 8.61 vezes maior das pacientes portadoras do genótipo arg/arg desenvolvam lesões pré-cancerosas (IC 95%: 3.11 – 23.83; $p < 0,05$). Desta forma, podemos sugerir que o SNP no códon 72 do gene TP53 poderia ajudar a monitorar a progressão de lesões pré-cancerosas induzidas pelo HPV na população de Pernambuco.

Suporte Financeiro: FACEPE e CNPq

ACHADOS CITOGENÉTICOS E MOLECULARES EM PACIENTES COM AMBIGUIDADE GENITAL EM SÃO LUÍS-MA (2002-2014).

Belfort, MRC¹; De Jesus, LCL¹; Teixeira Júnior, AAL¹; Belfort, FRS¹; Monteles, KL³; Oliveira, AC¹; Moreira, VR¹; Garcia, MRS¹; Freitas, PL¹; Viegas, MSP¹; Doriqui, MJR²; Pereira, SRF¹

¹Laboratório de Genética e Biologia Molecular - LabGeM, UFMA, São Luís, MA; ²Complexo Hospitalar Materno Infantil do MA, São Luís, MA; ³Faculdade Estácio de São Luís, São Luís, MA

Marta.belfort@yahoo.com.br

Palavras-chave: Citogenética, Genitália Ambígua, Sexo Cromossômico, SRY, Aconselhamento Genético

Distúrbios da diferenciação sexual (DDS) apresentam-se tipicamente no recém-nascido, sob a forma de ambigüidade da genitália externa, ou então no adolescente, especialmente sob a forma de atraso puberal, mas também sob a forma de características puberais heterossexuais. O presente trabalho é um estudo retrospectivo da análise citogenética e molecular de pacientes com DDS atendidos no Serviço de Citogenética Humana do Laboratório de Genética e Biologia Molecular da Universidade Federal do Maranhão, no período de 2002 a junho de 2014. A análise citogenética foi realizada em cultura temporária de linfócitos de sangue periférico, utilizando-se técnica de bandamento GTG e a análise molecular para seqüências Y-específicas foi conduzida por PCR, utilizando-se pares de primers para os genes SRY, DAZ e AMGY, além de β -Globina como controle positivo da reação. Os exames genéticos foram realizados em 41 pacientes, dos quais 16 (39%) tinham sexo de criação masculino e 21 (51,2%), feminino. O cariótipo de maior frequência foi 46,XX (41,5%), seguido por 46,XY (34,1%). Sete pacientes (17,1%) apresentaram cariótipos em mosaico e três pacientes (7,3%) apresentaram cariótipo 45,X, compatível com síndrome de Turner. Dentre os pacientes avaliados, 9 (22%) apresentaram sexo cromossômico discordante do sexo de criação. Dentre os pacientes com sexo de criação masculino, 5 apresentaram cariótipo 46,XX e análise molecular negativa para SRY. Dentre os pacientes com sexo de criação feminino, 3 apresentaram cariótipo compatível com o sexo masculino tendo análise molecular positiva para SRY, DAZ e AMGY e uma paciente apresentou cariótipo mos45,X[7]/46,X,iso(Y)[93] e análise molecular positiva para genes Y-específicos. O teste do pezinho revelou que 2 pacientes (4,9%) eram portadores de hiperplasia das adrenais congênita (HAC). Este estudo reforça que, frente a um paciente com DDS, principalmente as crianças com ambigüidade genital, é imperativo o diagnóstico preciso de sua etiologia. Na grande maioria dos casos, esse diagnóstico permitirá que sejam tomadas decisões com maior segurança, como a definição do sexo, o aconselhamento genético do indivíduo e da família, e, dependendo do caso, a estimativa do risco de malignização gonadal e da época adequada para a realização da gonadectomia.

Apoio Financeiro: CNPq e Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão - FAPEMA

COMORBIDADE DO TRANSTORNO DE ESPECTRO AUTISTA COM SÍNDROMES GENÉTICAS E AGENTES TERATOGENICOS

Borges, VM^{1,2}; Moreira, LMA^{1,2}.

¹Laboratório de Genética Humana e Mutagênese, UFBA, Salvador, BA; ²Instituto de Biologia, UFBA, Salvador, BA
vinyborges@gmail.com

Palavras-chave: TEA, comorbidade, síndromes genéticas

A etiologia do autismo e do Transtorno de Espectro Autista (TEA), ainda é uma questão pouco conhecida, não obstante o fato da herdabilidade elevada do distúrbio. Os avanços nos estudos genômicos indicam uma complexidade genética na manifestação da condição, ainda sem marcadores biológicos confiáveis. O presente estudo, de natureza descritiva, propõe trazer uma contribuição ao tema, investigando aspectos do diagnóstico do autismo e comorbidades de natureza genética e ambiental, em escola e centro terapêutico para indivíduos com transtorno autista e psicoses infantis em uma instituição especializada em Salvador, Bahia, Brasil. O grupo amostral foi composto de 67 estudantes. Foram pesquisados prontuários, realizadas entrevistas com as famílias e análise de cariótipos. Verificou-se que estes transtornos são de base multifatorial, com associação com diferentes fatores genéticos e ambientais. Ocorreram casos de autismo “puro”, assim como casos de transtorno autista associados a condições genéticas como as síndromes de Rubinstein-Taybi e de Prader-Willi. Houve também registro de fatores ambientais associados à ocorrência de transtorno autista, como idade parental avançada e uso de abortivos na gestação, como exemplificado pela seqüência de Moebius, apresentada por aluna com Transtorno do Espectro Autista associado ao uso materno gestacional do Misoprostol. Pesquisas atuais com metodologias distintas mostram uma clara associação da região cromossômica 15q11-13 com o autismo não apenas pela presença de possível gene candidato, mas também pela manifestação deste transtorno em pacientes com a S. Prader-Willi, como verificado no presente estudo, sugerindo que o distúrbio de espectro autista possa ocorrer como característica secundária e que as mutações genéticas tornam os seus portadores mais susceptíveis a agravos neuropsiquiátricos desta natureza. A continuidade destes estudos poderá trazer novas informações e contribuir para o entendimento da etiologia do transtorno de espectro autista.

Apoio Financeiro: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia, FAPESB.

Geno valgo de mucopolissacaridose IVA é mais grave em pacientes do sexo masculino?

Silva, TO²; Nepomuceno, FG²; Eufrazino, CSS¹; Alves, AF¹; Moreira, ADA¹; Ortega, AL²; Medeiros, PFV¹.

¹Hospital Universitário Alcides Carneiro, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, PB; ²Departamento de Ciências da Saúde, Universidade Cruzeiro do Sul, São Paulo, SP

paulafvmedeiros@gmail.com

Palavras-chave: mucopolysaccharidosis IVA, genu valgum, knee, geno valgo, joelho

Introdução: a mucopolissacaridose (MPS) IVA é uma doença rara, de herança autossômica recessiva, causada por mutações no gene da enzima N-acetilgalactosamina-6-sulfato sulfatase, levando ao acúmulo progressivo do glicosaminoglicano queratan sulfato nas células de indivíduos afetados. O aparelho osteolocomotor é severamente acometido, sendo o geno valgo uma das principais alterações. Objetivos: avaliar a angulação do joelho e a força do músculo quadríceps femoral em pacientes com MPS IVA assistidos pelo Hospital Universitário Alcides Carneiro, UFCG. Metodologia: 21 pacientes com MPS IVA foram incluídos, sendo 9 mulheres e 12 homens, com idades variando de 7 a 44 anos. A angulação de cada joelho (valor normal: 7 a 9 graus) foi mensurada através de estudo radiológico em filme único com um goniômetro. A força do músculo quadríceps femoral de cada membro inferior foi estimada com um dinamômetro digital, com os joelhos em flexão de 45 graus, em newtons (N). Sexo, história prévia de cirurgia corretiva do joelho e capacidade de deambulação também foram analisados. Resultados: dos 21 pacientes, 14 não foram submetidos a algum tipo de cirurgia corretiva dos joelhos. Eles apresentaram geno valgo médio de 26,5 graus no joelho direito e de 23 graus no joelho esquerdo, com força média de 17,62 N no membro inferior direito e de 20,82 N no esquerdo. Sete pacientes – todos do sexo masculino – tem histórico de cirurgia no joelho e apresentaram geno valgo médio de 9,57 graus no joelho direito e de 8,14 no joelho esquerdo, com força média de 30,42 N no membro inferior direito e de 26,14 N no esquerdo. Observamos que 71,43% dos pacientes operados são capazes de andar, enquanto 64,29% dos não-operados também preservam essa capacidade. Dentre os pacientes do sexo masculino, 58,33% são capazes de andar. Também 58,33% dos homens foram submetidos à cirurgia corretiva dos joelhos. Dentre as mulheres, 77,78% são capazes de andar, embora nenhuma delas tenha histórico de cirurgia. Este índice é superior ao de homens operados capazes de andar (71,43%) e ao de homens não-operados capazes de andar (40%). Três irmãos apresentaram significativa variação fenotípica: 2 homens são incapazes de andar, com geno valgo severo (40 graus no joelho direito e 34 graus no esquerdo e 55 graus no joelho direito e 25 graus no esquerdo, respectivamente), enquanto a irmã é capaz de andar, com geno valgo de 10 graus no joelho direito e 18 graus no esquerdo. Conclusões: o estudo observou geno valgo severo e déficit de força nos musculo quadríceps femoral nos pacientes com MPS IV-A não-operados. Esses parâmetros são piores nos pacientes do sexo masculino. A capacidade de deambulação mostrou-se mais preservada entre as mulheres.

Prevalência de mucopolissacaridose IVA na Paraíba: um Efeito Fundador?

Silva, TO¹; Eufrazino, CSS¹; Charara, GCN¹; Gurjão, MM¹; Melo, HA¹; Nascimento, DQ²; Leister-Segal, S³; Kubaski, F³; Lopes, SSS²; Medeiros, PFV¹.

¹Hospital Universitário Alcides Carneiro, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, PB; ²Departamento de Biologia, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, PB; ³Genetics Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS

paulafvmedeiros@gmail.com

Palavras-chave: mucopolysaccharidosis IVA, prevalence, distribution, prevalência, Paraíba

Introdução: a mucopolissacaridose (MPS) IVA ou Síndrome de Morquio é uma doença rara, de herança autossômica recessiva, causada por mutações no gene da enzima *N*-acetilgalactosamina-6-sulfato sulfatase, levando ao acúmulo multissistêmico e progressivo do glicosaminoglicanos. Os dados epidemiológicos precisos da síndrome são escassos. A distribuição da síndrome no mundo é muito variável, com a incidência oscilando de 1 para 76.000 nascidos vivos na Irlanda do Norte até de 1 para 450.000 em Portugal. A frequência da MPS IVA no Brasil é desconhecida. Um efeito fundador pode explicar a discrepância da incidência em diferentes populações étnicas. Objetivos: determinar a prevalência de MPS IVA no estado da Paraíba, Brasil, e a distribuição dos pacientes nas mesorregiões. Metodologia: os últimos dados populacionais foram coletados do censo 2010 do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) e dos registros de pacientes do Hospital Universitário Alcides Carneiro, da Universidade Federal de Campina Grande, um centro de referência para MPS na Paraíba. Resultados: O estado da Paraíba tem 3.766.528 habitantes e é dividido em quatro mesorregiões – no sentido litoral-interior: Mata, Agreste, Borborema e Sertão. Atualmente, existem 22 pacientes com MPS IVA (12 homens e 10 mulheres) na Paraíba, o que corresponde à prevalência de 1 para 171.205 habitantes. Dos 22 pacientes, 17 vieram da mesorregião da Borborema, com 44 municípios e 298.263 habitantes. A prevalência de MPS IVA nesta mesorregião é de 1 para 18.641 habitantes. Dos 22 pacientes, 10 tem consanguinidade parental. A existência de altas taxas de endogamia na Paraíba, com a frequência de uniões consanguíneas variando de 6% a 41%, já foi reportada em estudo prévio. Em um total de 15 pacientes foi realizado o estudo genético do gene da enzima *N*-acetilgalactosamina-6-sulfato sulfatase. Dentre os 15, foi observada uma frequência alélica de 70% para uma mutação específica (p.S341R) em 10 pacientes. De acordo com a história da ocupação populacional da Paraíba, famílias portuguesas com forte tradição de uniões consanguíneas foram as principais colonizadoras da região. A análise dos sobrenomes dos pacientes revelou que 6 dos 22 tem um sobrenome comum, embora desconheçam grau de parentesco. Destes 6, 5 pacientes se originam da mesorregião da Borborema. Os primeiros habitantes com este sobrenome comum vieram de Viena de Castelo, uma cidade do norte de Portugal, chegando à Paraíba em 1630. Paradoxalmente, Portugal tem umas das mais baixas frequências de MPS IVA da Europa. Conclusão: a alta prevalência de MPS IVA na mesorregião da Borborema, a alta frequência da mesma mutação e a alta taxa de consanguinidade parental são fortes evidências para a hipótese de um efeito fundador. Um estudo genético está em curso para comprovar essa hipótese.

Immunogenetic profile of *BST2* polymorphisms in HIV-1 vertical transmission and AIDS progression in adults.

Kamada, AJ¹; Zupin, L²; Girardelli, M²; Medeiros, RM³; Matte, MCC³; Almeida, SEM⁴; Segat, L²; Kuhn, L⁵; Chies, JAB³; Crovella, S^{1,2}.

¹Department of Genetics, Federal University of Pernambuco, Recife, Brazil; ²Institute for Maternal and Child Health, Istituto Di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico “Burlo Garofolo,” Trieste, Italy, ³Department of Genetics, Federal University of Pernambuco, Porto Alegre – Rio Grande do Sul, Brazil; ⁴Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde, Porto Alegre, Brazil; ⁵Columbia University, New York, USA.

anselmojiro@gmail.com

Keywords: Restriction factor, Innate immunity, SNPs, viral load, CD4+ cells.

Innate immunity restrains the initial phase of Human Immunodeficiency virus 1 (HIV-1) infection through recognition of viral molecular patterns by immune cells, such as dendritic cells, macrophages and residential lymphocytes at the mucosa and also as a activator of the adaptive immunity at lymphoid organs. The contribution of restriction factors in the innate immune response to HIV-1 have been recently discovered, in which a novel interferon-inducible protein called “tetherin” was shown to trap HIV-1 particles at the surface of infected cells, preventing cell-to-cell spread and inducing a lysosomal-dependent degradation of the virions. Thus, the aim of our study was to evaluate the risk conferred by single nucleotide polymorphisms (SNPs) located at the tetherin coding gene (*BST2*) in the vertical transmission of HIV-1 and AIDS progression. Our study screened three single nucleotide polymorphisms (SNPs; rs919266, rs9192677 and rs9576) of *BST2* gene in different cohorts to evaluate the risk conferred in HIV-1 vertical transmission, AIDS progression in adults and children respectively from Zambia, Brazil and Italy. One hundred and one HAART-naïve mothers living with HIV-1 and their children (85 infected and 246 uninfected) were recruited in Zambia to evaluate the role of *BST2* SNPs in mother-to-child HIV-1 transmission, with intrauterine, intrapartum and postpartum transmission rates also included in the analysis. A prospective cohort of treatment-naïve adults with distinct clinical characteristics of AIDS progression (37 rapid and 58 slow progressors) from Porto Alegre (Brazil) were also screened for the same SNPs. The three SNPs were determined by TaqMan genotyping assay (Applied Biosystems) on the ABI7500 Real Time PCR platform (Applied Biosystems). Logistic regression analysis controlling for mother's age, viral load and CD4+ cell count did neither reveal any influence of maternal *BST2* SNPs in vertical transmission nor the mode of transmission of HIV-1 ($p > 0.05$). Despite that, the presence of rs919266T allele conferred protection from AIDS progression (Estimate: CT=11.65 years, CC=7.63 years; $p=0.022$). Theterin constitutive expression among B-cells, T-cells, macrophages and plasmacytoid dendritic cells is well described, in which rs919266 may provide a greater impact during AIDS progression. Despite the role of rs919266 SNP remains unknown, the SNP conferred protection from AIDS progression but was not involved in the susceptibility to mother to child vertical transmission.

Financial Support: CAPES/CNPq (Casadinho 06/2011), IRCSS Burlo Garofolo (RC13/12), NIH (HD57617).

A RELAÇÃO ENTRE INFLAMAÇÕES CRÔNICAS E O DESENVOLVIMENTO DE CÂNCER: A REPLICAÇÃO CELULAR NO FOCO DA TRANSFORMAÇÃO NEOPLÁSICA

MELO, QMRS¹; ALVES, HB¹; PEREIRA, FRA¹; PEIXOTO, MSRM¹.

FACULDADE MAURÍCIO DE NASSAU, FMN, CAMPINA GRANDE, PB

queonidas_jp@hotmail.com

Palavras-chave: Inflamação crônica; eventos proliferativos; mediadores químicos; mutações; câncer.

Inflamação crônica corresponde ao quadro inflamatório de duração prolongada, caracterizada pela participação de células mononucleadas (linfócitos, plasmócitos e macrófagos) e eventos proliferativos (fibrogênese e angiogênese), havendo concomitantemente fenômenos de inflamação aguda (destruição), de reparação (tecido de granulação e fibrose), de resposta imune, mantendo-se equilíbrio entre hospedeiro e agente agressor. Pode ser precedida por fase aguda, ou ter desenvolvimento insidioso, surgindo em casos de infecções persistentes por microrganismos difíceis de erradicar, doenças inflamatórias imunomediadas e exposição prolongada a agentes potencialmente tóxicos. A destruição tecidual e as tentativas de cura pela substituição do tecido danificado por tecido conjuntivo são características da inflamação crônica passíveis de originar e propagar mutações, levando ao câncer. Nesse contexto, objetivou-se expor os aspectos celulares intrínsecos ao processo da inflamação crônica associados ao desenvolvimento do câncer, bem como exemplificar casos de tal evolução. Para tal, fez-se uma revisão sistemática a partir livros e artigos nas bases de dados LILACS, SCIELO, MEDLINE/PUBMED, sem restrição de data, utilizando-se os seguintes descritores: Inflamação crônica; Progressão da inflamação crônica; Inflamação crônica e câncer. Entre 19 artigos encontrados, 8 foram utilizados. Como ocorre com qualquer fator etiológico de injúria tecidual, há uma proliferação compensatória de células de forma a reparar o dano. Esse processo regenerativo inclui fatores de crescimento, citocinas, quimiocinas e outras substâncias bioativas produzidas por células imunes ativadas que promovem a sobrevivência celular, o remodelamento tecidual e a angiogênese, podendo causar estresse genômico e mutações. Em curto prazo, os mediadores químicos promovem a sobrevivência celular mesmo em face do dano genômico, entretanto, na inflamação crônica, este comportamento permite a criação e permanência de mutações, eventualmente levando ao câncer. Estudos da mucosa gástrica em populações de alto risco têm revelado uma série de lesões que, sequencialmente, evoluiriam da condição normal para gastrite crônica não-atrótica, conduzindo para a gastrite atrófica e metaplasia intestinal e, finalmente, para displasia e adenocarcinoma. No caso da esofagite, quando persistente, a mucosa do esôfago tende a passar por modificações para uma melhor adaptação à presença contínua do ácido estomacal, sofrendo metaplasia, originando o esôfago de Barret, um tecido pré-maligno que pode evoluir para o câncer de esôfago caso nenhum tratamento seja instituído e o refluxo persista. O câncer na colite ulcerativa pode aparecer sob a forma de lesão plana, polipoide, ou numa área de estenose. A grande maioria dos casos surge a partir de pólipos, os quais sofrem fenômenos displásicos. A tumorigênese inclui várias etapas que, clinicamente, pode manifestar-se como gastrite, ulcerações, metaplasia intestinal, displasia e, então, como neoplasia maligna. O diagnóstico precoce mostra-se imprescindível ao êxito do tratamento, cujo prognóstico depende da extensão da invasão do câncer, do comprometimento das estruturas adjacentes e da presença ou ausência de metástases.

Hemoglobinopatias: triagem neonatal em um município da região sudoeste da Bahia

Barboza, VP¹; Oliveira, JS²; Barbosa, AAL¹

¹Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB; ²Faculdades Unidas de Pesquisa, Ciências e Saúde

vilmara.barboza@gmail.com

Palavras-chave: Recém-nascidos, hemoglobina S, hemoglobina C, heterozigoto, Ministério da Saúde

As hemoglobinopatias são doenças hematológicas caracterizadas pela expressão de moléculas de hemoglobina variantes. Essas alterações moleculares podem ser estruturais ou por deficiência de síntese (talassemias). No Brasil ocorrem, com maior frequência, duas variantes estruturais, a hemoglobina S e a hemoglobina C. Essas doenças são hereditárias e monogênicas, e possuem uma frequência na população brasileira de 6% e 1% entre os afrodescendentes, para Hb S e Hb C respectivamente. As variantes estruturais apresentam origem no continente africano, e como a Bahia possui um contingente elevado de indivíduos afrodescendentes (77%), o Estado é considerado aquele com maior prevalência de doenças falciformes, havendo a necessidade de uma triagem neonatal (TN) eficiente. A TN é um método de diagnóstico precoce de diferentes doenças congênitas assintomáticas no período neonatal, com intuito de intervir no seu curso natural, impedindo que os sintomas dessas se instalem. O diagnóstico neonatal das doenças falciformes é de suma importância, pois reduz a morbidade e mortalidade entre os recém-nascidos e lhes assegura também um acompanhamento clínico, tratamento e aconselhamento genético de portadores dessas síndromes. Para a avaliação da TN, foram obtidos dados junto a Secretaria Municipal de Saúde de Jequié, sendo analisados os testes realizados no município, durante os anos de 2011 e 2012, que foram comparados com o número de nascidos vivos de acordo com o Sistema Nacional de Nascidos Vivos (SINASC). Foi avaliada ainda a idade de coleta dos indivíduos e a percentagem de reconvocação em caso de alteração no teste. Nossa análise mostrou que nos anos de 2011 e 2012 foram triados 3.456 recém-nascidos (RN) do município de Jequié, com abrangência média de 47,8% (49,83% em 2011 e 45,7% em 2012). Observamos que a frequência média dos heterozigotos para o traço S foi de 6,45%, traço C de 2,9% e 0,12% para a doença falciforme SC entre os recém-nascidos triados durante os dois anos. Com referência a idade de coleta dos RN no teste do pezinho, a idade média foi de 23 ($\pm 22,92$) dias. Aqueles que a realizaram até o 7º dia de vida, como pede o Ministério da Saúde, obtiveram um percentual de 17,5%, entre o 8º e o 15º dia de vida foi de 36% e após o 15º dia de vida foi de 46,5% da amostra analisada. No caso da reconvocação para o teste, ocorreu somente em 21,1% da amostra no ano de 2011 e ocorreu um aumento para 41,1% em 2012 dos RN triados. Esses resultados implicam na ineficiência da TN do município. Isso acarreta consequências graves, como o aumento da mortalidade infantil, a descoberta tardia de doenças como as DF, podendo o indivíduo chegar a óbito nos primeiros 05 anos de vida.

A polymorphism in FCN1 gene is associated with an earlier onset of type 1 diabetes

Javorski, N.R.^{1,2}; Anjos, Z.P.²; Tavares, N.A.C.² Lacerda, G.A.N.²; Souza, A.P.O.^{1,2}; Brandão, L.A.C.^{1,2,3}; Guimarães, R. L.^{1,2,4}.

¹Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, PE; ²Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA), Recife, PE; ³Departamento de Patologia CCS/UFPE, Recife, PE; ⁴Departamento de Genética CCS/UFPE, Recife, PE

javorski.natassia13@gmail.com

Keywords: Type 1 diabetes, age at diagnosis, SNP, rs1071583 and FCN1.

The Complement System (SC) plays a role in the elimination of pathogens and in the inflammatory process through phagocytosis and inflammation, respectively. Two forms can activate the tracks of lectins, Mannose-binding Lectin (MBL) and Ficolins (FCN). Ficolins are proteins for patterns recognition that connect the molecular patterns associated with specific pathogens (PAMPs) on the surface of microorganisms, by promoting the activation of the complement cascade through lectin contributing to the resolution of inflammation through removal of apoptotic cells and complexes, triggering the innate immune response. Until the moment were identified three ficolins in humans: M-Ficolin (ficolin-1), L-Ficolin (ficolin-2) and H-ficolin (ficolin-3), encoded by the genes FCN1, FCN2 and FCN3, respectively. The objective of this study was to investigate the association between SNPs rs2989727 in the promoter region and the rs1071583 in exon 9 of FCN1 gene in children and adolescent who developed type 1 diabetes (T1D). For this purpose, we analyzed 204 patients with prior diagnosis of T1D, with median age of 13.5 years, a protocol was filled in and the blood samples were taken. Genomic DNA was extracted from peripheral blood using Wizard Genomic DNA purification kit (Promega) according to the standard laboratory protocols. The SNPs rs2989727 and rs1071583 both characterized by being a variation C>T of FCN1 gene were selected for this study, genotyping was performed by commercially available TaqMan probes (Applied Biosystem) and TaqMan reactions were set up based on manufacturer's protocol and the samples were run at 7500 Real-Time PCR instrument (Applied Biosystem). Statistical analyses were performed using the Fisher exact test and chi-square using the program R. The association with age of T1D onset was performed using the package SNPAssoc, implemented in statistical software R (version 3.0.0 <http://www.r-project.org>). One of the two susceptibility loci tested were associated with age-at-diagnosis, the rs1071583 at FCN1 gene (p -value=0.01648; OR: -2,20; 95%CI: -3.997 - -0.41934). This association suggests that allele T confers a major susceptibility to the patient development an earlier diagnosis for the disease with age-at-diagnosis of 7.47 years. In conclusion, we analyzed the two polymorphisms in FCN1 gene, and found that the rs1071583*T allele was statistically significant associated with early onset T1D patients, since deficiency of mannose-binding lectin has already been reported with development of T1D, probably, the ficolin pathway may also be related with the disease. We did not see an effect on age at diagnosis of the other polymorphism studied.

Financial Support: UFPE/CNPq and CAPES/FACEPE.

Análise do perfil de segregação da variante alélica T235M no gene *AGT* em famílias com histórico de hipertensão arterial

Melo, AKS¹; Macêdo, DC¹; Andrade, JSS¹; Souza, MM¹; Schamber-Reis, BLF¹; Carneiro, JG¹.

¹Faculdade de Ciências Médicas de Campina Grande (FCM) – Campina Grande/PB

anne_ksales@hotmail.com

Palavras-chave: polimorfismo, *AGT*, Hipertensão, Angiotensinogênio, T235M

INTRODUÇÃO: Doenças cardiovasculares (DCVs) são um dos principais quadros relacionados a alta mortalidade em todo o mundo. A hipertensão arterial configura um importante fator de risco para as DCVs. Cerca de 30 em cada 100 adultos brasileiros possui algum grau de hipertensão e este número dobra em indivíduos acima dos cinquenta anos de idade. A hipertensão é uma doença multifatorial, envolvendo estilo de vida que apresenta comportamentos de risco, além de fatores genéticos. O sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAS) regula a homeostase cardiovascular, controlando a pressão sanguínea. O angiotensinogênio (*AGT*) é convertido em angiotensina I e II, determinando a contração e dilatação vascular. O polimorfismo T4072C leva à troca de uma treonina por metionina no resíduo 235 da proteína *AGT* (T235M) e foi previamente associado a maiores níveis de angiotensinogênio em diversas populações, o que acarretaria um consequente aumento da pressão arterial. A partir de um estudo prévio a nível regional, encontrou-se uma alta frequência da variante entre hipertensos e normotensos. Ademais, notou-se uma marcante presença do polimorfismo em indivíduos pertencentes a famílias com histórico de hipertensão.

OBJETIVOS: Este estudo tem como objetivo caracterizar o perfil de segregação das variantes T4072C no gene *AGT* em 3 famílias com histórico de hipertensão no município de Campina Grande, Paraíba, e verificar uma possível associação do genótipo com o fenótipo observado.

MÉTODOS: Foram selecionadas três famílias compostas por parentes de primeiro e segundo graus, triados de acordo com os critérios da Sociedade Brasileira de Cardiologia. Participantes com pressão arterial acima de 140/90mmHg ou os que utilizavam medicações para manter os índices pressóricos abaixo dessa faixa, foram classificados como hipertensos. Aqueles com pressão abaixo deste valor foram classificados como normotensos. A extração de DNA genômico foi feita a partir do sangue total, e a genotipagem foi realizada pelo método de reação em cadeia da polimerase seguida por restrição enzimática (PCR-RFLP). Os resultados foram observados em gel de acrilamida, corados por solução de nitrato de prata.

RESULTADOS: os heredogramas das três famílias indicaram a presença de indivíduos hipertensos em todas as gerações. As análises feitas até o momento mostraram que todos os indivíduos analisados na família 1 apresentam o alelo C, com segregação entre as gerações. Análises preliminares das famílias 2 e 3 indicaram a presença da variante de risco nos indivíduos hipertensos. Ainda, a família 3 apresenta um alto grau de consanguinidade.

CONCLUSÃO: As análises sugerem uma alta frequência do alelo C, responsável pela variante alterada, segregando entre as famílias analisadas. Estudos adicionais estão sendo realizados para determinar os genótipos de todos os indivíduos das famílias e avaliar se o perfil de segregação do alelo C está relacionado ao fenótipo de hipertensão observado a cada geração.

ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO DOS POLIMORFISMOS DO GENE *SLC30A8* EM DIABÉTICOS DO ESTADO DE PERNAMBUCO

Lucena, BFF¹; Balbino, VQ¹.

¹Programa de Pós-Graduação em Genética, UFPE, Recife, PE

brunofeitosafi@gmail.com

Palavras-chave: Diabetes *mellitus* tipo 2, *SLC30A8*, SNP, ZNT8, transportador de zinco

A diabetes *mellitus* é uma doença na qual o metabolismo dos carboidratos está comprometido pela falta ou inação da insulina resultando na hiperglicemia. A diabetes *mellitus* tipo 2 é o tipo com maior ocorrência mundial, sendo influenciada tanto por fatores genéticos como por ambientais. Polimorfismos são alterações nos nucleotídeos em uma determinada sequência de DNA como SNPs ou Indels. O gene *SLC30A8* (ZNT8 ou ZnT-8) codifica uma proteína transportadora de efluxo de zinco envolvido na acumulação de zinco em vesículas intracelulares. Está localizado no cromossomo 8 e é altamente expresso no pâncreas, especialmente nas ilhotas de Langherans. Será realizado estudo caso controle para 5 polimorfismos, buscando associação propensão ou proteção à diabetes *mellitus* tipo 2, na população do distrito sanitário IV Recife – PE e pacientes atendidos no Centro Médico Senador José Ermírio de Moraes, sendo de referência em Recife - PE. Foi realizado recrutamento de 209 voluntários diabéticos, 282 indivíduos não diabéticos de um grupo controle onde ambos foram previamente submetidos a um questionário socioeconômico-epidemiológico, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido segundo normas do comitê de ética. O DNA foi extraído de sangue venoso coletado, através da técnica rápida de *Mini Salting Out*, diluído e quantificado com espectrofotômetro. A detecção das mutações do gene *SLC30A8* que serão amplificadas pela técnica de Reação em Cadeia de Polimerase. Para isso serão utilizados *primers* *rs2237892*, *rs4402960*, *rs10811661*, *rs12779790* e *rs10876423* para detecção dos polimorfismos desse gene. A leitura será realizada em gel de poliacrilamida e foto-documentada. A análise estatística das frequências das mutações, será determinada por contagem direta e verificada sua associação com a diabetes através do teste exato de Fisher. As correlações devidas serão avaliadas em termos dos parâmetros populacionais e dos conceitos da genética de populações (frequências alélicas, genóticas, heterozigidade). Todos os dados associados com hábitos e intercorrências relacionadas à diabetes serão analisados com os processos estatísticos em Voga (EPIINFO; Statgraphics). A análise de predição das variantes será realizada utilizando as ferramentas: SIFT dbSNP rsIDs; i-mutant; PolyPhen-2 e PMut.

Apoio: FACEPE, PPGG-UFPE.

Avaliação de polimorfismos do *IL4R* na susceptibilidade ao Diabetes mellitus tipo 1

Santos, MMS¹; Brandão, LAC²; Crovella, S^{3,4}; Tavares, NAC³

1Estudante do Curso de Doutorado 2014.2 do PPG Genética / UFPE; 2UFPE/ Departamento de Patologia; 3 UFPE/ Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA); 4UFPE / Departamento de Genética

silvasantos.mm@gmail.com

Palavras-chave: Autoimunidade; Diabetes; Receptor da interleucina 4, Síndrome poliglandular autoimune; polimorfismos

O Diabetes mellitus tipo 1 (DM1) é uma desordem autoimune, órgão específica, desencadeada pela destruição das células β pancreáticas, através da infiltração de linfócitos T autorreativos e apresenta uma importante susceptibilidade genética. Em alguns casos, o ataque autoimune não é limitado às células β , expandindo-se para outros órgãos, o que explica a maior propensão dos portadores de DM1 desenvolverem outras doenças autoimunes órgão-específicas. A coexistência de manifestações clínicas autoimunes é definida como Síndrome Poliglandular Autoimune (SPA). Um significativo gatilho na patogênese da doença é a desregulação no mecanismo de tolerância imunológica com a participação dos linfócitos T helper (Th). A diferenciação desses linfócitos tem a participação da proteína transmembrana codificada pelo gene *IL4R* (Receptor da interleucina 4), que medeia a resposta inflamatória autoimune em conjunto com a interleucina 4. De acordo com seu papel associado a outras doenças autoimunes como asma e dermatite atópica, variações genéticas na *IL4R* sugerem ser boas candidatas para estudos de associação com o DM1. Nosso objetivo foi avaliar a associação dos polimorfismos rs1805016, rs1805015, rs1805013, rs1805011, rs1805010, rs1801275 em pacientes com DM1. Neste estudo foram incluídos 352 participantes, sendo 171 pacientes diagnosticados com DM1, provenientes do Hospital das Clínicas, Recife-PE, e 181 indivíduos saudáveis (controles) da mesma região geográfica. Após a coleta de sangue periférico, as amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami da Universidade Federal de Pernambuco (LIKA/UFPE) para extração do DNA genômico, seguida da genotipagem através da técnica de RT-PCRq. As frequências alélicas e genotípicas, assim como o *chi* quadrado, foram calculadas utilizando o software Genotype Transposer, o teste de Fisher para avaliar a associação pelo software R (versão 2.14.2: www.r-project.org), e o desequilíbrio de ligação e haplótipos foram computados usando o Haploview 4.2 e o SNPstats (<http://bioinfo.iconcologia.net/SNPstats>). De acordo com as análises, os grupos estudados estavam em equilíbrio de Hardy-Weinberg e não foram encontradas diferenças significativas nas frequências alélicas e genotípicas entre pacientes e controles. O haplótipo G/C/C/C/T/G estava diferentemente distribuído quando comparamos pacientes e controles ($p=0,0085$; $OR=3,25$). Os pacientes foram estratificados de acordo com a presença de outras doenças autoimune (doença celíaca e tireoidite autoimune) e avaliamos a susceptibilidade de DM1 em concomitância com essas doenças, contudo, nenhuma associação significativa foi verificada. Diante da falta de associação entre os polimorfismos do *IL4R* e o DM1, devemos destacar que esses não são os únicos fatores atrelados ao desenvolvimento do DM1, já que esta é uma doença complexa, e uma grande variedade de moléculas e células está envolvida. Entretanto, estudos de associação demonstram a importância de compreender o mecanismo complexo de doenças autoimunes como o Diabetes Mellitus Tipo 1.

Apoio Financeiro : FACEPE; CNPq

Avaliação do polimorfismo no gene da Interleucina-1 na Síndrome Coronariana Aguda

Carvalho, V C V¹; Silva, L C A^{1,2}; Soares, F C S¹; Montenegro, S T³; Almeida, M C³; Werkhauser, R P¹; Tashiro, T⁴; Moraes, C N L¹; Silva, C G R⁵; Vasconcelos, A V M⁶; Montenegro, S M L¹.

¹Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (CPqAM), Recife, PE; ²Faculdade Frassinetti do Recife (FAFIRE), Recife, PE; ³Real Hospital Português de Beneficência (RHP), Recife, PE; ⁴Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE; ⁵Centro de Pesquisas Gonçalo-Moniz (CPqGM), Salvador, BA; ⁶Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco (HEMOPE), Recife, PE

vivicarvalho@gmail.com

Palavras-chave: SCA; IL-1; polimorfismo; associação, doenças coronarianas

A Síndrome Coronariana Aguda (SCA) é considerada a principal causa de morte cardiovascular e engloba o Infarto Agudo do Miocárdio e a Angina Instável. A SCA é caracterizada pela obstrução das artérias coronárias por placas ateromatosas, levando à isquemia miocárdica. Além dos fatores de risco clássicos para o desenvolvimento de doenças coronarianas, como a hipertensão arterial, tabagismo, dislipidemia, stress entre outros, a predisposição genética de cada indivíduo deve ser considerada. O polimorfismo de um único nucleotídeo na região promotora da interleucina 1 (*IL-1*; rs16944) foi associado a um elevado risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares já que ela é uma citocina inflamatória e pode contribuir para a formação da placa ateromatosa. Porém, devido à complexidade dessas associações, estudos devem ser realizados no sentido de contribuir para estabelecer a utilização ou não desses marcadores no prognóstico da doença. O presente trabalho é um estudo de corte transversal com comparação entre grupos com graus diferentes de gravidade de SCA, que tem por objetivo analisar a relação entre o polimorfismo no gene *IL-1* (rs16944) e o risco de desenvolvimento da SCA. O estudo está sendo realizado com pacientes (n = 193) portadores da SCA internados no Real Hospital do Coração em Recife – PE e com indivíduos (n = 300) doadores do banco de sangue considerados saudáveis que foram recrutados do HEMOPE. As amostras de sangue foram coletadas em tubo com EDTA (5 ml) e o DNA foi extraído utilizando o kit comercial “Illustra blood genomicPrep Mini Spin Kit (GE Healthcare, USA)” de acordo com as instruções do fabricante. Em seguida, foi realizada a técnica da Reação em Cadeia da Polimerase e posterior sequenciamento genético para a identificação dos polimorfismos. Os dados foram analisados estatisticamente através do teste do Qui-quadrado, utilizando o programa BioEstat 5.3, sendo considerados significativos os resultados com $p < 0,05$. Nossos resultados parciais demonstram que há uma prevalência de indivíduos com genótipo CC tanto nos pacientes (28,0%), quanto no grupo de indivíduos saudáveis (32,0%), seguido pelo heterozigoto CT (54,4% e 45%, respectivamente) e por último, pelo genótipo homozigoto TT (17,61% e 23%, respectivamente). De acordo com nossos resultados preliminares, não há uma diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos estudados ($p = 0,11$) e o polimorfismo rs16944 na *IL-1* parece não influenciar o desenvolvimento da SCA. O número amostral de pacientes será amplificado para confirmação dos dados e a comparação com os grupos de diferentes graus de gravidade ainda serão realizados. Além disso, outros polimorfismos estão sendo estudados para encontrar um possível marcador genético que possa estabelecer uma predisposição ao desenvolvimento da SCA.

Suporte Financeiro: Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães.

Avaliação dos polimorfismos nos genes *IL-6* e *LEPR* na Síndrome Coronariana Aguda

Silva, L C A^{1,2}; Carvalho, V C V¹; Soares, F C S¹; Montenegro, S T³; Almeida, M C³; Werkhauser, R P¹; Tashiro, T⁴; Moraes, C N L¹; Silva, C G R³; Vasconcelos, A V M⁶; Montenegro, S M L¹.

¹Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (CPqAM), Recife, PE; ²Faculdade Frassinetti do Recife (FAFIRE), Recife, PE; ³Real Hospital Português de Beneficência (RHP), Recife, PE; ⁴Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE; ⁵Centro de Pesquisas Gonçalo-Moniz (CPqGM), Salvador, BA; ⁶Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco (HEMOPE), Recife, PE

liliancaroli_ny@hotmail.com

Palavras-chave: SCA, *IL-6*, *LEPR*, polimorfismos, associação.

A Síndrome Coronariana Aguda (SCA) é uma doença cardiovascular que inclui o infarto agudo do miocárdio e a angina instável e é a causa mais comum de internações hospitalares por doenças do coração no mundo desenvolvido. As interleucinas ou citocinas são proteínas de baixo peso molecular relacionadas com o processo de inflamação e angiogênese. A interleucina 6 (*IL-6*) constitui uma citocina pleiotrópica, que pode induzir um estado inflamatório em muitos órgãos, levando ao desenvolvimento de doenças. Vários estudos sugerem que o polimorfismo no gene *IL-6* (rs 1800795) está envolvido no processo da aterosclerose, que é precursora da SCA. A leptina é um hormônio que atua no sistema nervoso central promovendo a sensação de saciedade e aumentando o gasto energético. Sua ação fisiológica ocorre através do receptor de leptina (*LEPR*), cujo polimorfismo (rs 6700896) já foi associado ao aumento do risco de desenvolvimento de doenças coronarianas. Estão sendo estudados 134 pacientes com SCA, internados no Real Hospital Português, situado em Recife - PE, além de 134 indivíduos saudáveis para o grupo controle, recrutados no HEMOPE. Todos os participantes tem idade acima de 18 anos. O presente estudo tem por objetivo analisar a relação entre os polimorfismos nos genes *IL-6* e *LEPR* e o risco de desenvolvimento da SCA. São coletados 5ml de sangue em tubo contendo EDTA para análise dos polimorfismos genéticos. O DNA obtido está sendo amplificado pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) com os primers específicos para os polimorfismos de interesse. Os fragmentos obtidos são analisados em gel de agarose a 1% e o produto de PCR submetido ao sequenciamento de DNA. A análise estatística utilizada foi o Qui quadrado, através do programa Bioestat, v5.3, sendo considerados resultados significativos os dados com valor de $p < 0,05$. Nossos resultados parciais demonstram que para o gene *LEPR*, houve uma prevalência dos heterozigotos CT, tanto para os pacientes (45,5%), quanto para os indivíduos controle (52,3%), seguido pelos homozigotos selvagem CC (40,3% e 29,1%, respectivamente), e por fim os homozigotos mutantes (14,2% e 18,7%, respectivamente). Com relação ao polimorfismo no gene *IL-6*, foi encontrada uma prevalência de homozigotos selvagens GG para os pacientes (56,7%) e controles (59,4%) seguido pelos heterozigotos GC (36,6% e 35,1%, respectivamente), e finalmente os indivíduos homozigotos mutantes CC (6,7% e 5,5%, respectivamente). Os resultados parciais obtidos não mostraram diferença significativa entre o grupo de pacientes e o de controles ($p > 0,05$) para ambos os polimorfismos, evidenciando que os polimorfismos estudados parecem não influenciar o desenvolvimento da SCA. Porém o aumento do número amostral e a comparação com os grupos de diferentes graus de gravidade ainda serão realizados.

Suporte Financeiro: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (CPqAM).

Correlação de alterações cromossômicas com a gravidade fenotípica de acordo com escore de Auerbach em indivíduos com Anemia de Fanconi

Pimenta, RML¹; Borges, VM¹; Souza, LS³; Rocha, LC²; Streva, ASC²; Espírito Santo, LD¹; Moreira, LMA¹.

¹Universidade Federal da Bahia, Laboratório de Genética Humana e Mutagênese, LGHM, Salvador, BA; ²Fundação de Hematologia e Hemoterapia da Bahia, HEMOBA, Salvador, BA; ³Universidade Federal da Bahia, NuEVo-Núcleo de Etologia e Evolução, Salvador, BA.

rafaela.marocci@hotmail.com

Palavras-chave: Anemia de Fanconi, alterações cromossômicas, gravidade fenotípica, escore de Auerbach, teste do DEB

A Anemia de Fanconi (AF) é uma síndrome genética associada à instabilidade genômica, com cromossomos predispostos a formar rearranjos ou apresentar outras alterações citogenéticas, por sensibilidade aumentada a agentes mutagênicos, como o Diepoxibutano (DEB). Este estudo buscou avaliar a correlação entre a sensibilidade ao DEB e a gravidade fenotípica, o que pode funcionar como um fator adicional na detecção e manejo terapêutico na Anemia de Fanconi. Para isso, foram analisados quatro indivíduos com diagnóstico de AF, acompanhados pela Fundação de Hematologia e Hemoterapia da Bahia (HEMOBA). Nestes, foi correlacionada a quantidade de alterações cromossômicas (quebras, fragmentos, figuras e porcentagem de células afetadas) a partir do Teste do DEB, principal exame laboratorial para o diagnóstico da AF, com a gravidade fenotípica, avaliada pela aplicação do escore para diagnóstico clínico proposto por Auerbach. Foi calculado o Coeficiente de Correlação de Spearman e o p-valor para cada uma das análises. Todos os indivíduos apresentaram escore igual ou inferior a +3, o que confirma o diagnóstico de Anemia de Fanconi. Foi observada correlação negativa entre os sinais clínicos e as quantidades de quebras, fragmentos e células afetadas no Teste do DEB, o que ilustra uma associação entre o escore e a gravidade do fenótipo. As diferenças nas anomalias associadas à doença nos casos apresentados ilustram a heterogeneidade clínica da Anemia de Fanconi. Observa-se ainda que o valor do escore é bem preciso, considerando a diversidade de sinais da AF, o que reafirma o seu valor na avaliação do diagnóstico e da gravidade fenotípica. Apesar do reduzido número amostral, devido à baixa incidência da AF, não permitir uma inferência populacional, o trabalho é uma importante contribuição por estudar pacientes do estado da Bahia, onde informações e estudos sobre a Anemia de Fanconi são escassos.

Suporte financeiro: Programa Institucional de Bolsas Científicas – PIBIC Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia - FAPESB

Avaliação do polimorfismo C677T no gene MTHFR em células epiteliais bucais em indivíduos expostos ao benzeno

Farias, N.C.¹; Lira, W.M.¹; Rocha, P.K.L.¹; Lima, A.F.¹; Santos-Lopes, S.S.¹

¹Universidade Estadual da Paraíba, UEPB

na.thalyacarvalho@hotmail.com

Palavras-chave: exposição ocupacional, benzeno, polimorfismo, metilação, MTHFR

O benzeno (C₆H₆) é um composto orgânico volátil constituinte do petróleo bastante utilizado no setor laboratorial e industrial, porém, pode ser encontrado disperso na atmosfera. Recentemente, a exposição ocupacional tem representado uma preocupação constante e de interesse populacional, uma vez que os trabalhadores são continuamente expostos a uma ampla gama de agentes potencialmente genotóxicos que, a longo prazo podem acarretar problemas ao sistema biológico. A metilenotetrahydrofolato redutase (MTHFR) é uma enzima regulatória central na via do folato codificada por um gene de mesmo nome, que atua na conversão (metilação) de homocisteína em metionina, além de ser importante na regulação de genes e na diferenciação celular. Genes que são codificados por enzimas que participam das vias de metilação, como a MTHFR, por exemplo, estão sujeitos a polimorfismos que podem acarretar no aumento, diminuição ou perda de funções enzimáticas, e, conseqüentemente podem ser a causa direta de alguma anormalidade ou resultar na probabilidade de gerar uma doença. Mais de dez tipos de polimorfismos já foram descritos no gene MTHFR, sendo o C677T o mais prevalente e estudado. Sua distribuição apresenta uma grande variabilidade étnica e geográfica em todo o mundo sendo mais frequente em caucasoides com descendência europeia (36,2%), asiáticos (40%), negros americanos (5,2%), índios brasileiros (24%) e negros brasileiros (12%). O principal objetivo deste trabalho foi verificar a frequência do polimorfismo C677T no gene MTHFR em indivíduos expostos e não expostos ao benzeno. Foram coletados dados através de um questionário e amostras do “swab” bucal de 35 indivíduos com uma média de idade de 32,6 anos, sendo estes divididos em dois grupos: controle (n=18) e casos de exposição (n=17). O estudo molecular para a investigação do polimorfismo utilizou a técnica de PCR seguida pela digestão com a enzima de restrição *HinfI* (RFLP), acompanhado de eletroforese em gel de poliácridamida 12%, corado com nitrato de prata. Conforme os resultados obtidos dos indivíduos do grupo controle, 16 apresentaram genótipo CC (90%), enquanto 1 foi genotipado para homozigose TT (5%) e 1 para heterozigose CT (5%). O grupo de exposição por sua vez, apresentou resultados relativamente consideráveis para heterozigose CT (47%) e para homozigose CC (53%), entretanto, nenhum homozigoto para a mutação foi encontrado. A maioria dos indivíduos no grupo de exposição ao benzeno, afirmaram ter mais de 2,5 anos exercendo a função como frentista em postos de combustíveis, desta forma, tal contato com o composto mais a alta ingestão de bebida alcohólica e hábitos tabagistas, também relatados, podem ter influência sobre a atividade da enzima MTHFR.

Prevalência das infecções por HPV 16 e 18 e *Chlamydia trachomatis* em mulheres do estado de Pernambuco diagnosticadas com adenocarcinoma do colo uterino.

Cândido, SA¹; Silva, AP^{1,2}; Santos, EUD^{1,2}; Duarte, EBC¹; Costa, TML³; Maia, MMD^{4,2}; Souza, PRE^{4,2}.

¹Laboratório de Genética, Bioquímica e Sequenciamento - LGBS, UFRPE, Pernambuco, PE; ²Programa de Pós Graduação em Ciência Animal Tropical - PGCAT, UFRPE, Pernambuco, PE; ³Instituto Materno Infantil Prof. Fernando Figueira - IMIP, Pernambuco, PE; ⁴Prof. Dr. Da Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE, Pernambuco, PE

samanthamorim@gmail.com

Palavras-chave: HPV, Adenocarcinoma, *C. trachomatis*, PCR, Coinfecção.

O adenocarcinoma uterino é, atualmente, o segundo tipo mais comum de câncer do colo do útero totalizando cerca de 15 a 20% de todos os cânceres cervicais. Essa neoplasia apresenta o seu desenvolvimento a partir de células glandulares localizadas na endocérvice e sua etiologia ainda não foi totalmente esclarecida. Contudo, estudos sugerem que o HPV possui importante papel para o seu surgimento, principalmente os tipos 16 e 18. Somado a infecção viral, destaca-se também a coinfecção por *Chlamydia trachomatis* a qual possui como principal sítio de infecção a endocérvice, além de induzir a progressão do adenocarcinoma *in situ* para o adenocarcinoma invasivo devido a respostas inflamatórias que danificam a barreira da mucosa. Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo analisar a prevalência do HPV 16 e 18 e *Chlamydia trachomatis* em amostras de adenocarcinoma. Para isto foram utilizadas 50 amostras de tecido parafinizado, provenientes do ambulatório de Patologia do Trato inferior do Hospital Materno Infantil de Pernambuco - Professor Fernando Figueiras, de pacientes diagnosticadas através de citologia oncótica com o adenocarcinoma cervical. A detecção do HPV foi realizada pela técnica de PCR convencional utilizando dois conjuntos de *primers* consensus, MY09/MY11 e GP5⁺/GP6⁺, assim como *primers* específicos para genotipagem dos HPV 16 e 18 e detecção de *C. trachomatis*. Os resultados obtidos demonstraram que 94% (47/50) das amostras analisadas foram positivas para HPV em geral, sendo 56% (28/50) positivas para HPV 16, 24% (12/50) para HPV 18 e 22% (11/50) positivas para *C. trachomatis*. Das positivas para *C. trachomatis*, 54,54% (6/11) também apresentaram positividade para HPV 16 e 9,1% (1/11) tanto para o HPV 16 quanto para o 18. Nenhuma amostra apresentou positividade exclusiva para *C. trachomatis* e HPV 18 ao mesmo tempo. Os resultados corroboram com estudos que enfatizam a presença do HPV em adenocarcinoma cervical, visto que apenas três amostras das 50 analisadas foram totalmente negativas para algum tipo de HPV, demonstrando neste estudo a maior prevalência para o HPV do tipo 16. Além disto, a infecção por *Chlamydia trachomatis* presente em cerca de 20% das amostras, além de sua ligação com o HPV, remete a sua importância como cofator para a persistência da infecção, assim como para a progressão da lesão.

Suporte financeiro: Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE); Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Sequenciamento de genes associados à predisposição de câncer de mama hereditário

Timoteo, ARS¹; Agnez-Lima, LF¹; King, MC³; Walsh, T³; Lajus TBP^{1,2}.

¹Universidade Federal do Rio Grande do Norte, UFRN. Natal, RN; ²Liga Norte-Riograndense Contra o Câncer. Natal, RN; ³University of Washington, School of Medicine, Seattle, USA

arstimoteo@yahoo.com.br

Palavras-chave: Câncer de mama, BROCA test, mutações germinativas.

O câncer de mama pode ser hereditário ou esporádico, sendo, aproximadamente, 15% dos casos diagnosticados em todo mundo, considerados hereditários. A presença de um histórico familiar para câncer de mama é um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento da doença que pode ser ocasionado por mutações germinativas em um ou mais dos diversos genes supressores de tumor. A maioria das mutações germinativas que aumentam o risco de desenvolvimento do câncer de mama ocorre nos genes *BRCA1* e *BRCA2* (Breast Cancer 1 ou 2). Entretanto, com o advento de novas tecnologias de sequenciamento e plataformas de análises das sequências, novos genes foram associados à predisposição ao câncer de mama e/ou ovário. Atualmente, o *BROCA Test* (Walsh et. al., 2011) sequencia 33 genes utilizando next-generation sequencing (NGS). Desta forma, o presente estudo teve como objetivo identificar pacientes com histórico familiar de câncer de mama e/ou ovário e identificar mutações genômicas nos pacientes e em seus familiares. Os critérios de inclusão para a escolha dos indivíduos foram baseados no guia do NCCN (*National Comprehensive Cancer Network*) 2013 e do INCA (Instituto Nacional de Câncer). Realizaram-se a coleta de sangue periférico dos indivíduos (3 mL), a extração de DNA genômico e, posteriormente, o sequenciamento genômico foi feito utilizando-se a metodologia do *BROCA test*. Foram analisados 73 indivíduos, dos quais 10 (14%) não tiveram câncer. A partir do sequenciamento, foram identificadas mutações no DNA genômico de 15 indivíduos (21%), sendo 12 mutações em 5 genes, *BRCA1*, *BRCA2*, *ATR*, *ATM* e *MSH2*, 8/12 (66%) mutações ocorrendo em *BRCA1* e *BRCA2*. Estas mutações induzem mudanças na síntese proteica por serem deleções, inserções e trocas de nucleotídeos e a, maioria delas, resulta em proteínas truncadas que apresentam perda de função. Das mutações identificadas, 6 (50%) já foram descritas na literatura e publicadas no banco de dados BIC (Breast Cancer Information Core) com relevância clínica comprovada. As outras 6 mutações (50%) ainda não foram descritas como relacionadas ao desenvolvimento de câncer de mama e/ou ovário e seus efeitos estão sendo analisados em laboratório. Em conclusão, foi observado que a população estudada apresenta um perfil genético diferente do observado em outros estudos, demonstrando a importância de identificar e analisar outros alvos genéticos envolvidos no desenvolvimento do câncer de mama e/ou ovário.

Apoio financeiro: CAPES e FAPERN

A single nucleotide polymorphism in interleukin 18 gene is associated with a higher disease activity in rheumatoid arthritis brazilian patients.

Adelino, JES¹; Addobbati, CJC^{1,2}; Pontillo, A³; de Azevêdo-Silva¹, J; Fragoso, TS⁴; Duarte, ALBP⁴; Crovella, S^{1,2}; Sandrin-Garcia, P.^{1,2}

¹Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami - Universidade Federal de Pernambuco; ²Departamento de Genética - Universidade Federal de Pernambuco; ³Departamento de Imunologia - Universidade de São Paulo; ⁴Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco

eduardoadelino@hotmail.com

Keywords: Rheumatoid Arthritis, IL18, IL1 β , SNP

Rheumatoid Arthritis (RA) is a systemic, inflammatory and autoimmune disease, characterized by chronic inflammation, joint destruction and extra-articular manifestations. High levels of the pro-inflammatory cytokines IL-18 (interleukin 18) and IL-1 β (*interleukin 1 β*) has been involved in inflammatory process in RA patient's joint, through the activation of *vascular endothelial growth factor* (VEGF), vascular cell adhesion molecule (VCAM), intercellular adhesion molecule (ICAM), collagenases and matrix metalloproteinases. These molecules are responsible for neovascularization and leukocyte adhesion in synovium leading to pannus proliferation, which is a destructive tissue that contributes to bone erosion and cartilage destruction. Even though RA etiology remains unclear it is known to be under influence of genetic and environmental factors. Since Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) in *IL-18* and *IL-1 β* genes can alter the expression or function of the protein and then contribute to RA development and severity, we assess the possible association between rs1946519 [A/C], rs1143643 [C/T], rs1143634 [G/A] SNPs and the development of RA, as well as clinical features. Genotyping was performed using fluorogenic allele specific probes on Real Time PCR ABI 7500 (Applied Biosystems) in 128 RA patients and 143 healthy controls from State of Pernambuco. The vast majority of the patients were evaluated for the presence of Rheumatoid Factor (RF) and bone erosions. DAS28 (Disease activity score in 28 joints) and HAQ (Health Assessment Questionnaire) were applied to patients as a measurement of disease activity and functional disability, respectively. Genotype frequencies were compared for Hardy-Weinberg expectations using Genotype Transposer. The statistical analyses were performed using SNPAssoc package in R software (p-value < 0.05). All genotype frequencies were in Hardy-Weinberg equilibrium for patients and controls groups. No significant differences were found between allele and genotype frequencies for patients and controls in the tested SNPs. Regarding RA clinical features, we found the association between the SNP rs1946519 and a higher disease activity (DAS28). Since the SNP rs1946519 is located in the promoter region of *IL18* gene, it may alter the IL-18 expression and then contribute to the inflammation process and consequently to RA severity.

Financial support: CNPq and FACEPE

development and evaluation of a *wuchereria bancrofti* lymphatic filariasis based diagnostic kit.

Pastor, A.F.^{1,2}; Rêgo, T.^{1,2}; Santos, A.^{1,2}; Melo, K.¹; Tenório, M.¹; Rezende, A.¹; Pompilio, O.^{1,2}; Marques, E.¹; Rocha, A.¹; Dhalia, R.^{1,2}.

¹Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ, PE; ²Universidade Federal de Pernambuco – UFPE.

andrefilipe.pastor@gmail.com

Keywords: *Wuchereria bancrofti*, Filariasis, Antigen expression, Immunodiagnostic, Validation.

Lymphatic filariasis is an endemic disease in tropical/subtropical regions of the world and *Wuchereria bancrofti* (*Wb*) is the major etiological agent in Brazil. Human transmission occurs during blood feeding of *Culex quinquefasciatus* female vector. Infection is difficult to control due to highly adapted population of vectors, lack of sanitary barriers and neglected/inaccurate diagnosis. Available ICT card and OG4C3 capture monoclonal antibodies based commercial kits, used to detect filariasis, are mostly worldwide used despite the fact that they are raised to detect different *Wb*-related species. Both kits have reproducibility problems, are considered expensive as gold standard and are not produced in our country. At this scenario, the main goal of this work is the development and evaluation of a diagnostic kit able to detect *Wb* with highly specific and sensitive performances and 100% of national technology. Antigens targeted were screened in the literature based on previously preliminary results, obtained from other *Wb*-related nematodes. Aiming to improve heterologous expression, the DNA coding sequences from selected antigens (wb123, wb14 and wb33) were optimized and commercially acquired. Synthetic genes were subcloned into a bacterial expression vector and we are currently expressing all cloned antigens. For while we were able to establish the best conditions to express *Wb*14 antigen, that is going to be validated as diagnostic input using a human *Wb* reference serum panel. In parallel to the other antigens expression optimization, we are currently preparing purified *Wb*14 antigen to immunize mice in order to raise specific monoclonal antibodies, against this antigen, using a hybridoma-immortalized cell system. *Wb* Antigens and all specific monoclonals will be further validated aiming to develop the diagnostic kit. If we succeed the diagnostic test, here proposed, will be the first one specifically developed against *Wb* worldwide.

Financial Support: FACEPE.

Vitamin D receptor polymorphisms and expression profile in rheumatoid arthritis Brazilian patients

Addobbati, CJC¹; de Azevêdo Silva, J²; Pita, WB³; Veit, TD⁴; Monticielo, O⁵; Xavier, RM⁵; Brenol, JCT⁵; Fragoso, TS⁶; Domingues, A⁷; Duarte, ALBP⁷; Oliveira, RDR⁸; Louzada-Júnior, P⁸; Donadi, EA⁸; Crovella, S^{1,2}; Chies, AJB⁴; Sandrin-Garcia, P^{1,2}.

¹Departamento de Genética, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil. ²Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA), Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil; ³Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil; ⁴Departamento de Genética, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil; ⁵Serviço de Reumatologia, Hospital de Clínicas, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil; ⁶Serviço de Reumatologia, Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, Alagoas, Brasil; ⁷Divisão de Reumatologia, Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil; ⁸Divisão de Imunologia Clínica, Departamento de Medicina, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil.

catarinaaddobbati@hotmail.com

Keywords: VDR, Rheumatoid Arthritis, SNPs, Autoimmunity and mRNA.

Rheumatoid Arthritis (RA) is an autoimmune disease characterized by chronic inflammation and important joint commitment, being the most common systemic autoimmune disease worldwide. RA displays an important genetic background with a variety of genes contributing to the immune balance breakdown. Vitamin D has arisen in the past years as an important immune regulator and its receptor (VDR) has been found in nearly all cells of the immune system. Recent studies have demonstrated that vitamin D, through VDR, is able to regulate the immune balance and suppress autoimmunity process, being a potential target in autoimmune diseases. In the present genetic association study, we assessed 5 Tag SNPs (rs11168268, rs2248098, rs1540339, rs4760648 and rs3890733), which cover most of the *VDR* gene, in three different Brazilian populations (from Northeast, Southeast and South Brazil) including RA patients (n=428) and healthy controls (n=616). We also evaluated the *VDR* expression profile in whole blood and monocytes from RA patients. Our results showed that SNPs rs4760648 and rs3890733 are associated to RA susceptibility (p-value=0.0026, OR=1.31 and p-value=0.0091, OR=1.28 with statistical power=0.999 and 0.993, respectively). Regarding RA clinical features, the studied SNPs did not show significant associations. The gene expression assays showed that *VDR* mRNA levels were down regulated in both whole blood (-3.3 fold) and monocytes (-3.2 fold) of RA patients when comparing with healthy controls. When we evaluated the correlation of VDR mRNA levels in monocytes and whole blood with DAS28, RA patients with high disease activity showed VDR down regulation (-9.3- and -12.5 folds, respectively) in relation to patients with disease in remission. In conclusion, our results support a role of VDR gene in the susceptibility to RA. To the best of our knowledge, this is the first association study between VDR SNPs and RA in the Brazilian population and also the first to assess the differential expression between RA patients and healthy individuals.

Financial Support: CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), FAPESP (Fundação Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo), FAPERGS (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul) and FACEPE (Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco).

Novo gene associado à deficiência intelectual síndrômica em família consanguínea do sertão paraibano

Figueiredo, TC^{1,2}; Melo, US³; Pessoa, ALS⁴; Nobrega, PR⁴; Kok, F⁴; Zatz, Mayana³; Santos, S².

¹Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal da Paraíba (UFPB); ²Núcleo de Estudos em Genética e Educação, Universidade Estadual da Paraíba (UEPB); ³Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo (USP); ⁴Departamento de Neurologia, Universidade de São Paulo (USP)

thalita.figueiredo87@gmail.com

Palavras-chave: consanguinidade, deficiência intelectual, *linkage*, exoma, *MED25*.

A deficiência intelectual (DI), caracterizada por desenvolvimento intelectual abaixo da média acompanhado por limitações significativas nas habilidades adaptativas, afeta cerca de 3% da população mundial, tendo etiologia genética e ambiental. A base genética da deficiência intelectual autossômica recessiva é extremamente heterogênea e suspeita-se que o número de genes envolvidos nessa condição ultrapasse a marca dos 1000 genes. Neste trabalho, realizado em municípios do sertão paraibano com alta taxa de consanguinidade, encontramos uma família com sete adultos afetados por uma forma de DI síndrômica. O ensaio de microarray, utilizando chips Genome-Wide Human SNP Array 6.0 (Affymetrix), foi realizado para determinar regiões em homozigose, posteriormente, foi feito o sequenciamento completo do exoma (WES) de um indivíduo afetado usando Nextera Rapid-Captura exome e Illumina HiSeq2500. O estudo de ligação apontou duas regiões com LOD scores máximas = 3,234, uma região de 26 Mb no cromossomo 2 (2p12 - q11.2) e uma região de 4,0 Mb no cromossomo 19 (19q13.32 - q13.33). O sequenciamento do exoma obteve uma cobertura horizontal de 99,18%, com leituras médias de 158 para cada base. Todos os genes das regiões em ligação foram investigados. Encontramos uma única variante predita como deletéria por diferentes softwares (Polyphen, Provean, Mutation Taster e SIFT) que co-segrega com o fenótipo na família. A mutação foi encontrada no gene *MED25*, componente do complexo mediador (MED), co-ativador necessário para a regulação da transcrição de quase todos os genes dependentes da RNA polimerase II. Mutações deletérias nos genes *MED12*, *MED17* e *MED23* já foram associadas como causa de deficiência intelectual. Este resultado demonstra que a combinação de investigação de campo de famílias consanguíneas com tecnologias modernas é uma forma eficaz de identificar novos genes associados à ID.

Influência da exposição solar no perfil de metilação de DNA dos genes *MMP9* e *MIR137* em células da pele

Melo, ARS¹; Barroso, H¹; Araújo, DU²; Pereira, FR³; Oliveira, NFP^{1,2}.

¹Programa de Pós Graduação em Biologia Celular e Molecular, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba - UFPB; ²Departamento de Biologia Molecular, Centro de Ciências Exata e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba – UFPB; ³Departamento de Morfologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba – UFPB

rayssa.biologia@hotmail.com

Palavras-chave: epigenética, metilação de DNA, radiação solar, *MMP9*, *MIR137*

A metilação do DNA constitui um dos principais processos para a regulação da expressão proteica através da inativação reversível dos genes. Durante esse processo, um grupamento metil (CH₃) é adicionado a uma citosina precedida de guanina, impedindo o acesso das proteínas que iniciam a transcrição. Mudanças no padrão de metilação podem levar a ativação de oncogenes e inativação de genes protetores podendo gerar diversas doenças. Fatores ambientais, tais como, a radiação solar, podem alterar o perfil de metilação de DNA. A proteína MMP-9 faz parte de uma família de colagenases cuja função é a remodelação da matriz extracelular. Em fases iniciais do câncer e do fotoenvelhecimento, esse gene apresenta-se muito ativo. Os microRNAs (MIR) são moléculas de RNA com cerca de 22 nucleotídeos não codificantes, incorporados ao complexo proteico RISC que agem como importantes reguladores pós-transcricionais da expressão gênica através da degradação ou repressão do RNA mensageiro alvo. Estima-se que cerca de 10% da expressão de microRNAs é controlada via metilação de DNA. Estudos tem demonstrado que o *MIR137* possui função de supressor tumoral em vários tipos de câncer, incluindo o carcinoma espinocelular e melanoma, através do controle do ciclo celular. O objetivo do trabalho foi analisar a influência da radiação solar sobre o perfil de metilação dos genes *MMP9* e *MIR137* em células da pele. Para isso, foram analisadas amostras de pele obtidas de uma área exposta e não exposta ao sol de 30 cadáveres do Serviço de Verificação de Óbito (SVO) do Hospital Universitário Lauro Wanderley da UFPB. O DNA genômico foi extraído utilizando-se Trizol. A análise de metilação dos genes *MMP9* e *MIR137* foi realizada pela técnica de PCR Específica para Metilação (MSP), através da prévia modificação do DNA com bissulfato de sódio. As amostras amplificadas foram submetidas à eletroforese em gel de poliacrilamida e coloração por nitrato de prata. A análise estatística revelou que não há diferença significativa entre as regiões exposta e não exposta ao sol, sendo a condição parcialmente metilada a mais frequente para ambos os genes *MMP9* (96,7% das amostras) e *MIR137* (59,6% das amostras) ($p > 0,05$; McNemar). Assim, concluímos que não há influência da exposição solar no perfil de metilação de DNA nos sítios CpG estudados.

Suporte Financeiro: Bolsa CAPES- Coordenação de Pessoal de Nível Superior

Genetic admixture in the Silk Road: isolation by distance partially explains the genetic differentiation.

Kamada, AJ¹; Rodrigues, RM¹; Campos AV¹; Gandin, I^{2,3}; d'Adamo, P^{2,3}; Gasparini, P^{2,3}; Brandão, LAC¹; Crovella, S^{1,2}.

¹Department of Genetics, Federal University of Pernambuco, Recife, Brazil; ²Institute for Maternal and Child Health, Istituto Di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico "Burlo Garofolo," Trieste, Italy, ³Department of Medical, Surgical and Health Sciences, University of Trieste, Trieste, Italy.

anselmojiro@gmail.com

Keywords: Ancestry Informative Markers, Central Asia, genetic flow.

The Silk Road was an important route of commercial and cultural trades, connecting countries along Mediterranean Basin and Eastern Asia during 16 centuries (200 B.C. to 1400 A.D.). This historical event may shaped the genetic background of the populations distributed through this route. Thus, this study evaluated the genetic structure of the populations along the Silk Road with autosomal markers. We recruited 735 individuals from seven countries (Georgia, Armenia, Crimea, Azerbaijan, Uzbekistan, Kazakhstan, Tajikistan) along the ancient Silk Road and also established two populations from HapMap Project as references for an European (TSI) and Asian (CHB) ancestors. We wrote a Python code to filter the Ancestry Informative Markers (AIMs) from 624,851 variants based on the two reference populations using the informativeness for assignment (In) algorithm. The filtering criteria were the following: biallelic markers; non-monomorphic for all superpopulations; being autosomal; 1 MB apart from each other; unambiguous (AC, AG, TC or TG) and; presence in the HapMap database and Illumina Omni Express Beadchip v.1.1. The ancestral proportions were inferred using Structure assuming $K = 2$. We also made the Mantel test for matrix correlation between F_{ST} and geographical distance. From the total variants analyzed, 179 AIMs were selected based on the criteria mentioned previously (Median In = 0.20, ± 0.07). The European contribution ranged from 0.55 (Kazakhstan) to 0.99 (Armenia). A moderate correlation between genetic and geographic distance ($r = 0.74$) was found, in which geographic distance explains 54.52% of the genetic differences between the groups. In conclusion, the 179 selected AIMs were capable to estimate the genetic contribution of European and Asian populations showing that genetic admixture along the Silk Road are partially correlated with a geographic gradient.

Financial Support: FACEPE and CAPES/CNPq