

**863****CARACTERIZAÇÃO FUNCIONAL DE MUTAÇÕES GERMINATIVAS NO GENE TP53 IDENTIFICADAS EM FAMÍLIAS BRASILEIRAS COM FENÓTIPO CLÁSSICO E VARIANTE DA SÍNDROME DE LI-FRAUMENI**

Gabriel de Souza Macedo, Igor Araujo Vieira, Michele da Silva Alves, Ivi Juliana Bristot, Cristina Brinckmann Netto, Juliana Giacomazzi, Maria Isabel Alves de Souza Waddington Achatz, Sylvie Sauvaigo, Fabio Klamt, Patricia Ashton-Prolla. Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA)

A proteína supressora de tumor p53 apresenta funções relacionadas a mecanismos de homeostase metabólica e respostas ao estresse celular. Mutações germinativas no gene TP53 estão associadas à síndrome de Li-Fraumeni (SLF) e sua variante, Li-Fraumeni-like (LFL), doenças autossômicas dominantes caracterizadas pela predisposição a múltiplos tumores em idade jovem. Ao contrário da maioria das mutações de TP53 que são localizadas no domínio de ligação ao DNA (DLD), estudos em famílias brasileiras encontraram uma mutação germinativa no domínio de oligomerização da proteína, p.R337H, em alta prevalência populacional (~0.3%) no Sul e Sudeste do Brasil. Mais recentemente, nosso grupo de pesquisa identificou uma nova variante germinativa rara, a rs78378222 (A>C), em 7/130 pacientes com fenótipo SLF/LFL que foram negativos para mutações em regiões codificadoras de TP53. Apesar do crescente conhecimento acerca dos aspectos clínicos e genéticos da SLF/LFL, poucos estudos avaliaram as consequências funcionais de mutações germinativas no gene TP53. O objetivo geral deste estudo foi caracterizar funcionalmente a mutação p.R337H e a variante rs78378222 (A>C). Para tanto, foram estabelecidas culturas primárias de pacientes portadores destas mutações, de paciente com uma mutação no DLD (p.G245S) e de indivíduos sem mutações no gene (WT). Para avaliar resposta a dano de DNA, os fibroblastos foram expostos a UVB (0.2W/m<sup>2</sup>) e radiação ionizante (RI) (1 Gy). Após 24 horas, reparo de DNA e expressão de proteínas foram avaliados por um teste baseado em biochip enzimático e western blot, respectivamente. Nossos resultados demonstraram altos índices de reparo em células p.R337H/p.R337H, comparado aos demais fibroblastos, embora tenha sido observado aumento nos níveis de expressão proteica de p53 após o dano em todas linhagens. Posteriormente, respirometria de alta resolução foi utilizada para caracterização metabólica. Fibroblastos com genótipo heterozigoto p.G245S/WT e p.R377H/WT demonstraram aumento significativo na respiração basal, total e extra-mitocondrial, comparados as demais linhagens. Por outro lado, produção de espécies reativas de oxigênio parece estar aumentada em fibroblastos com genótipo p.R337H/p.R337H e e portadoras do alelo rs78378222[C]. Nossos resultados preliminares demonstram que as diferentes mutações estão relacionadas a diferentes fenótipos celulares. Estes resultados podem explicar, pelo menos em parte, a variabilidade na expressão da doença nas diferentes famílias. Palavra-chave: Síndrome de Li-Fraumeni; p53; mutações. Projeto 10-0405