

shRNAi) was also transfected. Cells were selected with Puromycin (0.8 µg/mL) for 21 days. Changes in cell morphology were observed macroscopically. During the initial 7 days of selection, the vast majority of cells died in both groups, probably due to the low efficiency of liposome transfection. After 14 days, differences in cell proliferation were observed between the groups, with control cells reaching confluence after 20 days. At this time point, pSUPER-TGFb1 transfected cells started to show changes in morphology, displaying a more polygonal phenotype and lipid droplets. This cell morphology is characteristic of inactive GRX. Studies evaluating lipid content, actin rearrangement and levels of TGFbeta1 mRNA are undergoing. Our preliminary results indicate the ability of pSUPER-TGFb1 for reversing the phenotype of activated hepatic stellate cells. Future studies will be performed in the animal model of liver fibrosis induced by Carbon Tetrachloride.

ANÁLISE DE MUTAÇÕES FREQUENTES EM PACIENTES LATINO AMERICANOS COM MUCOPOLISSACARIDOSE TIPO I

FRANCIELE DALL BELLO PESSUTTO; FERNANDA PEREIRA, URSULA MATTE, IDA SCHWARTZ, VERÔNICA MUÑOZ, ROBERTO GIUGLIANI

INTRODUÇÃO: A mucopolissacaridose tipo I (MPSI) é uma doença autossômica recessiva de depósito lisossômico, rara e é causada pela deficiência lisossômica α -L iduronidase, responsável pela degradação de glicosaminoglicanos (GAGs) dermatan sulfato e heparan sulfato. O acúmulo de GAGs leva a diferentes quadros clínicos, que vão desde a apresentação mais grave a Síndrome de Hurler (retardo mental e anormalidades esqueléticas), até a forma mais leve Síndrome de Scheie (inteligência normal). Até o momento, cerca de 108 mutações associadas a MPSI já foram descritas. A determinação genotípica de pacientes com MPS I é importante não só para a escolha de alternativas de tratamento, mas também para a avaliação de terapias experimentais. Além disso, pode fornecer um indicativo precoce do subtipo clínico da doença, o que de outra maneira só seria obtido após evolução dos sintomas. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Neste estudo, foram analisadas as frequências de seis mutações recorrentes no gene IDUA em pacientes diagnosticados bioquimicamente como portadores da MPSI. 35 pacientes, entre eles, 3 argentinos, 2 uruguaio, 2 chileno e 28 brasileiros, participaram da amostra. A detecção das mutações, usando DNA extraído de sangue periférico, foi realizada através de PCR seguida da digestão com enzimas de restrição e visualizadas após eletroforese em gel de agarose e/ou poliacrilamida. **RESULTADOS E DISCUSSÃO:** Foi observada a predominância alélica das mutações W402X e P533R, apresentando frequência de 23,6% e 19,4% respectivamente. Para as mutações R89Q e R383H foram determinadas as seguintes frequências alélicas respectivamente 1,4% e 4,2%. Já as mutações Q70X e A327P não foram encontradas em nenhum dos pacientes. Com a análise destas mutações, cerca de 48,6% dos genótipos foram determinados. **CONCLUSÃO:** Os dados obtidos até então vêm delineando o quadro de mutações na América Latina, demonstrando que as mutações W402X e P533R têm sido as mais comuns entre os pacientes latino-americanos.

DIAGNÓSTICOS DE ERROS INATOS DO METABOLISMO OBTIDOS EM 2006 COM O AUXÍLIO DO SISTEMA INFORMATIZADO

GABRIELA BROILO FERREIRA; MAIRA GRAEFF BURIN, KRISTIANE MICHELIN TIRELLI, MARLI VIAPIANA CAMELIER, REGIS GUIDOBONO, JUREMA DE MARI, FERNANDA BITENCOURT, BRUNA DOLEYS CARDOSO, JUARES MENDES HUVE, ROBERTO GIUGLIANI, JANICE CARNEIRO COELHO

Até o final de 2005, o Laboratório de Referência para Erros Inatos do Metabolismo (LREIM) do Serviço de Genética Médica (SGM) tinha o cadastramento de seus pacientes feito de forma manual. A partir de janeiro de 2006, iniciou-se a utilização de um Sistema Informatizado (SI) com o objetivo de agilizar o cadastramento e facilitar o acesso às informações sobre pacientes, amostras e exames solicitados. Este trabalho teve por objetivo analisar o desempenho do SI ao longo de 2006 e, a partir dos dados obtidos através de relatórios produzidos por este SI, fazer uma análise da importância do LREIM. Os relatórios de 2006 informaram que 2588 pacientes foram cadastrados e 229 diagnósticos foram obtidos. O SI foi uma forma rápida de obter informações além de ter mostrado facilidade em seu manuseio. O LREIM desempenhou um papel importante dentro do SI obtendo um grande número de diagnósticos (9,9% considerando as 2303 investigações concluídas), tanto por receber grande volume de amostras de todas as regiões do país e do exterior, quanto por ter condições de otimizar o diagnóstico, oferecendo um serviço rápido e de qualidade.

ANÁLISE GENÔMICA DO GENE GLA EM DUAS FAMÍLIAS COM DOENÇA DE FABRY

FERNANDA DOS SANTOS PEREIRA; CRISTINA NETTO; MAIRA GRAEFF BURIN; URSULA MATTE; ROBERTO GIUGLIANI; LAURA JARDIM

A Doença de Fabry (DF) é uma desordem lisossomal ligada ao X devido à deficiência da enzima α -galactosidase A, que causa o acúmulo do glicosfingolípido globotriaosilceramida (Gb3). Sua progressão pode levar à doença vascular, renal, cardíaca e ao envolvimento do sistema nervoso central. Detecção de mulheres portadoras baseada somente no ensaio enzimático é, muitas vezes, inconclusivo. Além disso, a análise de mutações é uma valiosa ferramenta para o diagnóstico e aconselhamento genético. O gene da alfa-galactosidase A humana (GLA) está localizado na posição Xq21.33–22 e contém 12kb divididos em sete éxons. Há grande variabilidade genética e a maioria das mutações são privadas. Duas famílias foram analisadas nesse estudo, cada uma com pelo menos um homem afetado. No total, quatro homens e oito mulheres foram investigados. Todos os sujeitos fizeram análise bioquímica da enzima alfa-galactosidase A no Serviço de Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Os sete éxons do gene GLA foram amplificadas por PCR. Os fragmentos obtidos foram analisados por seqüenciamento automatizado e comparados à seqüência referência NM000169 (www.ncbi.nlm.nih.gov). O seqüenciamento automatizado dos sete éxons revelou a presença de duas mutações diferentes: W47X (não descrita na literatura) e P259R (descrita por Ashley et al, 2001). Familiares mulheres também foram analisadas e oito foram identificadas como portadoras da mutação. Esse estudo confirma a heterogeneidade das mutações na DF e enfatiza a importância da análise molecular para detecção de portadoras e aconselhamento genético na DF. Apoio: FIPE/HCPA, CNPq