

APRESENTAÇÕES ORAIS

001 – ARRAY-CGH E OLIGO-ARRAY NO DIAGNÓSTICO GENÉTICO-CLÍNICO DE DESEQUILÍBRIOS CROMOSSÔMICOS

Kulikowski LD, Jehee FMS, Pellegrino R, Guilherme RS, Rosolen DCB, Antonangelo L, Burattini MN, Melaragno MI

Introdução: O aprimoramento da citogenética clássica pela introdução de técnicas moleculares de alta resolução com capacidade de análise do genoma completo, como a hibridação genômica comparativa baseada em microarranjos de DNA (array-CGH) e a técnica de genome-wide array utilizando sondas de SNPs, representam um grande avanço no estudo cromossômico. Esses métodos permitem identificar a origem do material extra de cromossomos marcadores (CMs), e detectar outras anormalidades genômicas imperceptíveis nas análises por bandamento G. **Objetivos:** Reavaliar, por meio de técnicas de array, três pacientes portadores de CMs e um paciente portador de uma duplicação de origem desconhecida. Estabelecer a correlação cariótipo-fenótipo e efetuar o aconselhamento genético. **Métodos:** Investigação molecular desses pacientes por meio de técnicas de array: a técnica de oligo array-CGH utilizando plataformas 244A e 2X105 (Agilent Technologies) ou a técnica de array utilizando a plataforma 100K (Affymetrix GeneChip human mapping). **Resultados:** Os resultados mostraram que dois dos pacientes são portadores de CMs derivados do braço longo do cromossomo 15, com duplicações de aproximadamente 10 Mb e de 13,8 Mb, respectivamente. Outro apresenta um derivado do cromossomo 19, com uma duplicação de cerca de 39,3 Mb. O paciente com material adicional em 21p apresenta um rearranjo complexo com uma duplicação do braço curto do cromossomo 9 de aproximadamente 19 Mb e uma deleção intersticial concomitante do braço curto do cromossomo 19 de 19,5 Mb. Ambas as técnicas de array permitiram refinar os pontos de quebra citogenéticos e revelaram que podem existir outras anormalidades genômicas associadas aos desequilíbrios previamente diagnosticados por bandamento G. **Conclusão:** A aplicação clínica das técnicas de array pode aprimorar a correlação genótipo-fenótipo em desequilíbrios cromossômicos e proporcionar um melhor entendimento dos mecanismos que desencadeiam essas anormalidades.

E-mail do autor: lesliekulik.morf@epm.br

002 – EFICÁCIA A LONGO PRAZO DA TERAPIA GÊNICA PARA MODELO ANIMAL DA DOENÇA DE POMPE USANDO LENTIVÍRUS COMO VETOR

Kyosen SO, D'almeida V, Martins AM, Eto Y, Ohashi T

Introdução: A Doença de Pompe resulta da atividade insuficiente da enzima alfa glicosidase ácida (GAA), levando ao acúmulo intra lisossômico de glicogênio. O quadro clínico é academicamente classificado em forma de início precoce e de início tardio. **Objetivos:** Gerar um novo vetor lentiviral e testar sua eficácia para terapia gênica em camundongo GAA knockout (Gaa^{-/-}). **Métodos:** O vetor foi gerado seguindo um protocolo de transfecção de 4 plasmídeos, sendo purificado e concentrado por ultracentrifugação. Camundongos Gaa^{-/-} foram tratados no período neonatal. A medida da atividade da GAA no soro e homogenatos teciduais, dosagem do glicogênio em homogenatos teciduais, PCR e RT-Q-PCR foram realizadas 4, 8, 12, 16 e 24 semanas pós tratamento. Resposta imune foi avaliada pela dosagem de anticorpos IgG contra a GAA e imunohistoquímica para linfócitos CD4⁺ e CD8⁺. Análise histopatológica foi feita em cortes histológicos de coração e quadríceps corados com ácido periódico de Schiff (PAS) para detecção de glicogênio. **Resultados:** Níveis de GAA humana foram detectados em soro de animais tratados durante as 24 semanas de duração do estudo. A atividade da GAA no coração teve um aumento significativo e atingiu níveis suprafisiológicos em todos os tempos avaliados. Os níveis de glicogênio (em µg/mg de tecido) no coração diminuíram significativamente 24 semanas após o tratamento, sendo a média±SEM no grupo tratado de 1230±181.5 (n=9), e nos Gaa^{-/-} não tratados de 3294±173.2 (n=7). Após 24 semanas de tratamento, a percentagem de grânulos PAS positivos em fibras de músculo cardíaco e esquelético era respectivamente de 22% e 8%, e no não tratado era de 99% no músculo cardíaco e 76% no músculo esquelético. Apenas 3 de 43 camundongos tratados apresentaram elevação de IgG e não foi detectada infiltração de linfócitos CD4⁺ e CD8⁺ na imuno-histoquímica. **Conclusão:** Nesta amostra o uso do lentivírus mostrou-se eficaz na correção das alterações bioquímicas e na expressão a longo prazo da GAA.

E-mail do autor: skyosen@gmail.com

003 – IDENTIFICAÇÃO DE UM LOCUS EM 3P22 PARA O TRANSTORNO AFETIVO BIPOLAR

Cendes IL, Secolin R, Banzato CEM, Oliveira MCM, Santos ML, Bittar MFR, Dalgalarrodo P, Lopes-Cendes I
Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, Campinas, SP, Brasil

Introdução: Transtorno afetivo bipolar (TAB) é uma das doenças psiquiátricas mais freqüentes, cuja etiologia ainda não é conhecida. Um estudo de associação genômica recente resultou na identificação de 21 polimorfismos de base única (SNPs) em forte associação com o TAB em um grupo de pacientes de origem européia.

Objetivo: Verificar se algum dos 21 SNPs previamente apontados como associados com o TAB está associado à doença em um agregado familiar de TAB. **Métodos:** Nós incluímos nesse estudo 96 indivíduos com TAB identificados a partir de 75 famílias não relacionadas, perfazendo um total de 411 indivíduos. Os SNPs foram genotipados usando PCR em tempo real por meio do sistema TaqMan®. O processamento dos dados e o cálculo de freqüências alélicas foram realizados utilizando o programa LINKGEN. O equilíbrio de Hardy-Weinberg foi avaliado pelo programa HAPLOVIEW v4.1. Nós utilizamos o programa UNPHASED v3.0 para os testes de associação baseado em famílias e o ajuste para múltiplos testes foi realizado por meio da correção de Bonferroni. **Resultados:** Nós encontramos evidência de associação para os SNPs rs2989476 ($p = 0,0031$), rs7570682 ($p = 0,0407$), rs9834970 ($p = 0,00013$) e rs11622475 ($p = 0,0153$). No entanto, os resultados somente se mantiveram significativos para o SNP rs9834970 após a correção de Bonferroni ($pc = 0,0027$). **Conclusões:** Nós demonstramos que o SNP rs9834970, localizado em 3p22.3, parece estar associado com o fenótipo em nossa amostra de famílias segregando TAB. SNPs adicionais nesta região estão sendo genotipados na tentativa de identificação da variante funcional associada ao TAB em nossos pacientes.

Financiamento: FAPESP

E-mail do autor: icendes@unicamp.br

004 – ASSOCIAÇÃO ENTRE POLIMORFISMOS DA APOE E PREDISPOSIÇÃO AO AUTISMO

Giunco CT, Oliveira AB, Fett-Conte AC, Carvalho-Salles AB, Souza DSR, Silva AE

Estudos mostram relação entre algumas proteínas e autismo, incluindo apolipoproteína E (ApoE), mas os resultados são contraditórios. O objetivo deste estudo foi avaliar a relação entre as isoformas do gene APOE e autismo. Foram analisados 97 pacientes autistas de etnicidade variável, representativos da população brasileira, com idades de 4 a 33 anos. Os pacientes foram diagnosticados de acordo com o DSM-IV e submetidos à análise clínica, cariotípica e investigação molecular para o gene FMR1, e incluídos apenas os indivíduos sem alterações. O grupo controle foi formado por 67 indivíduos saudáveis da mesma região com idade média de 39.67 anos. O DNA obtido de amostras de sangue periférico foi submetido a PCR e o produto digerido com a enzima de restrição Hha1, caracterizados em $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ e $\epsilon 4$, e separados por eletroforese em gel de poliacrilamida. Os resultados mostram diferenças significantes na distribuição alélica e genotípica entre os dois grupos. O alelo $\epsilon 3$ foi o mais comum no grupo de autistas e no grupo controle (63.4% e 81.3%, respectivamente; $p=0.0000000517$), seguindo pelo alelo $\epsilon 4$ (22.3% e 14.9%, respectivamente; $p=0.0077074949$) e alelo $\epsilon 2$ (14.1% e 3.73%, respectivamente; $p=0.0000000001$). Não foram identificadas diferenças significativas na distribuição alélica com respeito a sexo e idade. Para os pacientes e controles, o genótipo mais comum foi $\epsilon 3/\epsilon 3$ (40.3% e 70.1%, respectivamente; $p=0.0000000531$) seguido por $\epsilon 3/\epsilon 4$ (31.3% e 17.9%, respectivamente; $p=0.0020684491$), $\epsilon 2/\epsilon 3$ (14.9% e 4.4%, respectivamente; $p=0.0000181382$) e $\epsilon 2/\epsilon 4$ (13.3% e 2.9%, respectivamente; $p=0.0000002597$). A distribuição dos alelos ($p=0.0014$) e dos genótipos ($p=0.0019$), exceto para $\epsilon 4/\epsilon 4$ e $\epsilon 2/\epsilon 2$ (não encontrados em autistas), também foram significativamente diferente entre os grupos. Este é o primeiro trabalho que descreve o polimorfismo da APOE em população autista brasileira, e o resultado sugere que APOE2 e APOE4 contribuem na complexidade etiológica que envolve a predisposição ao autismo

E-mail do autor: gitaca@bol.com.br

005 – IMPORTÂNCIA DA CITOGENÉTICA CLÁSSICA NO ESTUDO DE ANOMALIAS MENORES: RELATO DE DOIS CASOS

Middleton SR, Paiva CLA, Duarte EMM, Santos SR

Introdução: Apesar dos avanços na investigação de cromossomopatias, o cariótipo ainda é a ferramenta mais usada para identificar estas anomalias. Foram realizados 1059 exames, no Laboratório de Citogenética da UNIGEN-UNIRIO, entre 1996 e 2008. A maioria dos resultados anormais foi de síndromes genéticas conhecidas, mas nos casos inconclusivos, os achados clínicos ajudaram a elucidar alguns deles. **Objetivo:** Analisar e divulgar nossos dados, com ênfase em dois pacientes, onde histórico e exame físico orientaram a investigação. **Material e métodos:** Foram analisados os resultados e a indicação do cariótipo de pacientes do ambulatório de Genética do Hospital Universitário Gaffrée e Guinle. **Resultados:** Entre 1059 pacientes encontramos anomalias cromossômicas em 225 casos (21.25%), com 62 alterações estruturais (27.5%). Caso 1: VRA, 26 anos, 7ª filha de casal não consanguíneo, de idade avançada, que apresentou atraso psicomotor e evoluiu com amenorréia primária, baixa estatura, genitália feminina, hipoplásica, sem cliteromegalia. Cariótipo: 46,XX, add(X)(q21). Caso2: GSO, masculino, 3 anos, pais jovens, não consanguíneos. Apresentou hipotonia, baixa estatura e evoluiu com APM, convulsões, microcefalia, dismorfias faciais, pectus excavatum, testículos pequenos, criptorquidia direita, cicatriz retiniana similar à toxoplasmose, com sorologia negativa. Cariótipo: 46,XY/47,XY, + marker de novo. **Discussão:** No primeiro caso a semelhança com a síndrome de Turner, levou-nos a um cariótipo variante desta condição. O marker encontrado no segundo caso, necessita de outras técnicas moleculares, para elucidá-lo. Nem sempre os markers estão associados a alterações fenotípicas. **Conclusão:** Citogenética clássica deve ser complementada com outros exames quando baixo mosaicismos ou alterações estruturais sutis forem encontrados, sem desconsiderar a importância da história e exame físico, úteis na escolha dos métodos diagnósticos a serem empregados na definição do quadro.

E-mail do autor: soniamid@terra.com.br

006 – ACESSO A MEDICAMENTOS DE ALTO CUSTO PARA O TRATAMENTO DE DOENÇAS RARAS NO BRASIL: O EXEMPLO DA MUCOPOLISSACARIDOSE TIPO I

Boy R, Krug B, Gialdi O, Silva LCS, Steiner CE, Acosta AX, Ribeiro EM, Galera MF, Leivas PGC, Braz M, Schwartz IV

Introdução: A Mucopolissacaridose tipo I (MPSI) é uma doença lisossômica rara cujo tratamento se dá com laronidase, um medicamento de alto custo, aprovado pelas agências americana e canadense de regulação de fármacos (FDA e EMEA, respectivamente) em 2003 e pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), no Brasil, em 2005. Dados epidemiológicos e de tratamento da MPSI são escassos. **Objetivos:** Este trabalho tem como objetivos apresentar dados demográficos da MPSI, caracterizar as vias de acesso ao tratamento com laronidase no Brasil e descrever os conflitos éticos associados. **Material e Métodos:** Estudo transversal, observacional, aprovado pelas instâncias éticas competentes. Coletados dados de janeiro a setembro de 2008, obtidos de múltiplas fontes, utilizando-se instrumento específico e abrangendo todas as regiões do país. **Resultados:** Identificados 68 pacientes brasileiros vivos com MPSI, sendo 28 provenientes da região sudeste, 18 do sul, 14 do nordeste, 06 do centro-oeste e 02 da região norte. A maioria (69,8%) apresentava idade inferior a 15 anos e 88,2% se encontrava em tratamento com laronidase cuja via de acesso predominante era por ação judicial (86,6%). As outras vias de acesso observadas foram: uso expandido/caritativo (5/60); projeto de pesquisa (1/60); sistema público de saúde (1/60) e seguradora de saúde (1/60). Três pacientes que obtiveram o medicamento por via judicial não tiveram acesso ao tratamento por falta de local adequado para a infusão. **Conclusões:** De acordo com a Rede MPS Brasil, a amostra incluída neste estudo representa cerca de 90% (68/73) dos pacientes diagnosticados no período de abril/2004 a julho/2008 pela rede. A maioria dos pacientes têm acesso a laronidase por via judicial. Tal fato gera questões políticas complexas e conflitos éticos importantes acerca da aquisição de biotecnologias frente a recursos escassos. Protocolos clínicos baseados em evidências devem ser desenvolvidos no âmbito das políticas públicas em saúde.

E-mail do autor: raquelboy@ig.com.br

007 – AVALIAÇÃO GENÉTICO-CLÍNICA DE ESTUDANTES DO ENSINO FUNDAMENTAL COM DIFICULDADE DE APRENDIZAGEM: UMA PROPOSTA DE INTERVENÇÃO COMUNITÁRIA

Faria APM, Neri JICF, Magna LA

Introdução: A dificuldade de aprendizagem surge em decorrência de inúmeros fatores intrínsecos e extrínsecos a cada indivíduo e com a universalização do acesso à escola, a observação e a compreensão de condições genéticas associadas à redução da capacidade intelectual mental têm contribuído para um melhor desempenho dos profissionais de ensino na abordagem a estudantes com essas condições. **Objetivos:** Tentar identificar, entre alunos do ensino fundamental encaminhados para avaliação multidisciplinar por dificuldade de aprendizagem, a presença de condições genéticas associadas à deficiência mental, com perspectiva de intervenção no âmbito da genética comunitária. **Método:** Triagem genético-clínica de crianças entre seis e 13 anos de idade, estudantes do ensino público fundamental do município de Parnamirim/RN, sem qualquer condição clínica significativa, como epilepsia ou anomalia física grave, encaminhados ao Centro Avançado de Saúde Escolar (CASE) durante o segundo semestre de 2008, para avaliação multidisciplinar por dificuldade de aprendizagem. **Resultados:** Apesar das evidências de origem ambiental em 57 (56,4%) das 101 crianças examinadas, 21 (20,8%) tinham sinais sugestivos de síndromes genéticas, como as de Sotos e do cromossomo X frágil, e em 18 (17,8%) o quadro sugeria mecanismo multifatorial. **Conclusões:** A presença de um geneticista clínico que atue de forma integrada com profissionais de outras áreas, incluindo as de educação e psicologia, pode ser fundamental para promover um intercâmbio de conhecimentos, auxiliando na identificação de indivíduos com necessidades educativas especiais que se beneficiariam com uma avaliação genética, assim como na orientação adequada de suas famílias, além de aperfeiçoar os recursos disponíveis e colaborar na elaboração de programas governamentais de atenção a esse grupo da população.

E-mail do autor: apmfaria@fcm.unicamp.br

008 – ESTRATÉGIA PARA INCREMENTO DA ATENÇÃO A PORTADORES DE FENDAS OROFACIAIS TÍPICAS: PROPOSTA DO PROJETO CRÂNIO-FACE BRASIL

Lopes VLGS, Mossey PA, Monlleó IL

Departamento de Genética Médica, FCM/Universidade Estadual De Campinas; University of Dundee, Dental School, UK; Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas/Universidade Federal de Alagoas

O estabelecimento de políticas de saúde regionais ou nacionais está associado, entre outros fatores, ao reconhecimento das características populacionais e de infra-estrutura. As primeiras ações para inclusão da atenção a pessoas com anomalias craniofaciais (ACF) no Sistema Único de Saúde (SUS) ocorreram na década de 1990, culminando com a criação da Rede de Referência no Tratamento de Deformidades Craniofaciais (RRTDCF). Entretanto, não foi prevista a participação de geneticista clínico na sua equipe. A participação do geneticista envolve diagnóstico, aconselhamento genético, caracterização etiopatogênica, vigilância epidemiológica e orientações de condutas antecipatórias. Neste sentido, o Projeto Crânio-face Brasil elaborou uma proposta para o incremento da política de atenção a portadores de Fendas orofaciais típicas (FOT). **Objetivos:** 1). Apresentar os resultados preliminares de validação de uma base de dados de registro clínico e familiar de pessoas com FOT; 2). Descrever uma proposta de metas para incremento da atenção a indivíduos com FOT nas esferas de média e alta complexidade. **Métodos:** A Base de Dados Brasileira de Registro Clínico e Familiar de FOT e outras cinco propostas a ela vinculadas foram desenvolvidas, de acordo com recomendações da OMS. **Resultados:** No período de novembro de 2008 a março de 2009, sete geneticistas clínicos de diferentes centros iniciaram a validação da base de dados, em que já existem 90 casos registrados. As metas de médio e longo prazo incluem banco de DNA, avaliação da organização interna das unidades, banco de profissionais de saúde e de protocolos de tratamento, estudos de seguimento pós-cirúrgico, morbidade e mortalidade e avaliação de satisfação dos usuários. Estes estudos já se encontram desenhados. **Conclusões:** O banco de dados poderá fornecer subsídios para avaliação contínua dos serviços e para a reformulação da política de saúde para FOT no SUS. Existem propostas para atuação na atenção básica.

Apoio: CNPq, Fapesp, CAPES

E-mail do autor: vlopes@fcm.unicamp.br

009 – PROGRAMA GENÉTICA MÉDICA ITINERANTE: INTEGRANDO A GENÉTICA AO SUS

Fonseca GGG, Schmidt CB, Portela WS, Seroa CLC, Esposito AC, Oliveira VG, Lima MAFD, Costa AT, Santos ACE, Magalhães TSPC, Bastos E, Mello MHS, Villar MAM, Horovitz DDG, Llerena Jr JC, Vieira DKR

Introdução: A genética clínica está em processo de integração à estrutura do SUS, através de programas ministeriais. Em 2005, iniciamos uma parceria com a Estratégia Saúde da Família (ESF) de Angra dos Reis, para realização de consultas de triagem da genética. O município foi escolhido por sua rede de serviços de saúde capilarizada, cobrindo 60% da população com equipes de ESF, tendo coleta sistematizada de dados sobre agravos a saúde, incluindo deficiências. **Objetivos:** Utilizar uma estrutura local, de baixo custo, prevista pelo SUS para cobertura de todo o território nacional, como sentinela para doenças genéticas; Testar a triagem descentralizada; Reduzir custo do município com Tratamento Fora de Domicílio, sem prejudicar o acesso da população ao atendimento; Avaliar a necessidade e adequação da interiorização do serviço de genética, e qual o melhor meio para concretizá-la. **Material e métodos:** Através da busca ativa de deficiências pelos agentes comunitários, da parceria com a ESF e com a educação especial e serviços de reabilitação de Angra, selecionamos 324 famílias para avaliação pela equipe do IFF. Foi utilizada uma ficha para rastreio de deficiências e defeitos congênitos para preenchimento pelos agentes da ESF. Os responsáveis passaram por orientação com assistente social e consulta com geneticista, sendo, quando necessário, encaminhados ao IFF ou outros serviços. Na consulta, era preenchida uma ficha padronizada, com dados de história gestacional, familiar, de desenvolvimento, antropometria e exame físico. **Resultados e conclusões:** A etiologia da deficiência foi definida como genética em 38% e ambiental em 32,7% dos casos. A realização de atendimento com geneticista “itinerante” possibilitou a ampliação do acesso à saúde a pessoas com doenças genéticas, defeitos congênitos e deficiências, além de aprimorar o aconselhamento genético para as famílias. As ações reforçam a importância da implementação da política do Ministério da Saúde para a genética clínica.

E-mail do autor: gguida@gmail.com

010 – TRIAGEM DE MICRODELEÇÕES E ALTERAÇÕES SUBTELOMÉRICAS POR MLPA AUMENTA EM 20% A DETECÇÃO DE ANOMALIAS CROMOSSÔMICAS EM PACIENTES COM MALFORMAÇÕES CONGÊNITAS

Jehee F, Jehee FS, Bertola DR, Kim CA, Lucatelli JF, Passos-Bueno MR

Centro de Estudos do Genoma Humano, IB-USP, SP; Instituto da Criança, FM-USP, SP

Introdução: Anomalias cromossômicas não equilibradas são associadas a malformações congênitas (MC), atraso de desenvolvimento e déficit cognitivo. Estas anomalias podem ser detectadas por técnicas de citogenética, mas são frequentemente menores do que a resolução do cariótipo convencional, caracterizando as síndromes de microdeleções, como Velocardiofacial e Williams-Beuren. Os subtelômeros são regiões ricas em genes e estão deletados ou duplicados em 5-10% dos pacientes com MC e cariótipo previamente normal. As síndromes associadas a MC podem ser diagnosticadas clinicamente, mas devido à grande variabilidade clínica seu reconhecimento é dificultado, principalmente em recém-nascidos e lactentes. **Objetivos:** Comparar o número e tipo de anomalias cromossômicas em pacientes com MC detectadas por cariótipo convencional e técnicas moleculares. **Pacientes e Métodos:** Analisamos 64 pacientes de 0-2 anos por cariótipo e MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification). Foram utilizados dois kits subteloméricos e um específico para síndromes de microdeleções. **Resultados:** Um total de 20 anomalias foi encontrado (31,3%), sendo que sete (10,9%) foram detectadas por cariótipo e 17 (16,6%) por MLPA. Quinze por cento (3/20) das alterações foram observadas somente por cariótipo e 65% (13/20) apenas por MLPA. **Conclusões:** A inclusão do MLPA na triagem de alterações cromossômicas aumentou a taxa de detecção em ~20%, mostrando ser esta uma ferramenta importante na elucidação da etiologia das MC e no aconselhamento genético das famílias. O uso de MLPA como teste inicial de triagem deve ser avaliado considerando-se os custos do mesmo em relação à citogenética convencional. FAPESP CNPq.

E-mail do autor: jehee@uol.com.br

011 – ANÁLISE DA CASUÍSTICA DE CÂNCER COLORRETAL SEM POLIPOSE DO AMBULATÓRIO DE ACONSELHAMENTO GENÉTICO EM CÂNCER DO HC-FMRP-USP

Garcia DF, Baratela WAR, Ferraz VEF, Valentin MD, Gomy I

A incidência mundial de carcinoma colorretal (CCR) é superior a um milhão por ano. Cerca de 5% são devidos a mutações que causam síndromes hereditárias autossômicas dominantes. A síndrome de Lynch (SL) também conhecida por câncer colorretal hereditário sem polipose (HNPCC) é caracterizada pela predisposição hereditária ao CCR, endometrial e outros. A síndrome é responsável por 2-5% dos tumores colorretais e é causada, na maioria dos casos, por mutações germinativas heterozigotas em um dos genes de reparo de mal-pareamento (MMR): MLH1, MSH2, MSH6 e PMS2. O objetivo deste trabalho é apresentar dados clínicos e laboratoriais, incluindo imuno-histoquímica (IHQ) para as proteínas MLH1 MSH2 e MSH6, e análise molecular dos genes MLH1 e MSH2, referentes a 25 indivíduos com diagnóstico de câncer colorretal sem polipose de 20 famílias acompanhadas no ambulatório de Aconselhamento Genético em Câncer do HC-FMRP-USP. Resultados: Dos 25 indivíduos, 12 preencheram apenas os critérios revisados de Bethesda para análise tumoral. Os critérios clínicos de Amsterdã I foram preenchidos em 7 pacientes de 4 famílias, Amsterdã II em 5 pacientes de 3 famílias e um indivíduo apresentou a síndrome de Muir Torre, uma variante da SL. Em nossa amostra a média de idade ao diagnóstico do CCR foi de 36 anos. Em relação ao estudo IHQ foram analisados 10 indivíduos de 10 famílias diferentes, sendo que 80% dos testes apresentaram pelo menos uma proteína MMR ausente. Destes, MLH1 esteve ausente em 60%, MSH2 em 10%, e MSH6 em 10%. A análise molecular revelou mutações patogênicas de MLH1 e MSH2 em 5 indivíduos de 4 famílias com critérios de Amsterdã I. A importância do diagnóstico desta síndrome se deve à detecção de indivíduos que estão em risco de desenvolver câncer e a adoção de protocolos padronizados de screening, visando melhorar a qualidade e expectativa de vida destes indivíduos.

E-mail do autor: danielfantozzi@gmail.com

012 – EFEITO DA FORTIFICAÇÃO DAS FARINHAS DE TRIGO E MILHO COM ÁCIDO FÓLICO NA INCIDÊNCIA DE DEFEITOS DE FECHAMENTO DO TUBO NEURAL EM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE MINAS GERAIS

Galvão HCR, Gomes SA, Cambraia NV, Guimarães FAM, Aguiar RALP, Aguiar MJB

Introdução: A fortificação da farinha de trigo com ácido fólico é considerada uma estratégia para a redução da ocorrência de defeitos de fechamento do tubo neural (DFTN), tendo sido testada com sucesso no Chile. No Brasil, a ANVISA regulamentou a fortificação da farinhas de trigo e milho a partir de junho de 2004. Essa política nacional tem sido questionada por alguns especialistas que consideram que a dose estabelecida é baixa e que o consumo de derivados das farinhas no Brasil é baixo, podendo comprometer os efeitos da fortificação. **Objetivos:** avaliar, preliminarmente, o impacto da fortificação de farinhas com ácido fólico na prevalência de DFTN em recém-nascidos vivos (RNV) e natimortos (NM), na Maternidade do Hospital das Clínicas da UFMG (HC-UFMG). **Materiais e Métodos:** trabalho descritivo baseado em banco de dados do Estudo Colaborativo Latino-Americano de Malformações Congênitas (ECLAMC), que registra todos os RNV e NM com anomalias congênitas, com descrição morfológica, resultados de necropsia, exames complementares e outros dados clínicos. Foram selecionados para o estudo os RNV e NM que apresentaram DFTN como anomalia isolada, separados em dois períodos: antes (agosto de 1990 a julho de 2000) e no período iniciado um ano após a regulamentação de fortificação de farinha (junho de 2005 a maio de 2008). Para a análise estatística utilizou-se o programa Epi-Info 6.0, calculando-se o Risco Relativo. **Resultados:** a incidência de DFTN isolado foi de 3,14:1.000 partos (59:18.807) entre agosto de 1990 e julho de 2000 e de 1,48:1.000 partos (14:9.459) de junho de 2005 a maio de 2008, $p < 0,02$; $RR = 0,47$ (IC a 95% 0,26 - 0,84). **Conclusão:** embora o período estudado tenha sido reduzido e não se tenha feito um estudo de tendência, houve redução na incidência de DFTN como anomalia isolada, no HC-UFMG, comparando-se as incidências em períodos anterior e posterior à regulamentação de fortificação de farinha de trigo e milho com ácido fólico no Brasil.

E-mail do autor: henriquecamposgalvao@hotmail.com

013 – A INFLUÊNCIA DO ALELO - 260T (SNP -260C>T) DO GENE CD14 E A SOBREVIVÊNCIA EM PACIENTES CRÍTICOS AVALIADOS EM PORTO ALEGRE, RS, BRASIL

Fallavena PRV, Goetze TB, Borges TJ, Paskulin DD, Paludo FJ, Oliviera JR, Nobrega OT, Dias FS, Alho CS

Sabe-se que a susceptibilidade à infecção é geneticamente controlada, sendo o risco de morte por infecção cinco vezes maior em indivíduos cujos progenitores também morreram por infecção. O CD14 é um receptor de uma ampla gama de microorganismos que inicia toda a resposta à infecção. Indivíduos -260TT para o SNP -260C>T, possuem níveis mais elevados de CD14 no plasma, levando o sistema imune a uma resposta alterada frente à infecção, o que poderia modificar o risco à sepse, choque séptico ou morte. Verificar a influência de uma maior sobrevivência em pacientes portadores do alelo -260T. Foi feito um acompanhamento diário de 514 pacientes internados na UTI do HSL-PUCRS. A genotipagem foi feita através da técnica PCR-RFLP. Comparando os genótipos separadamente, encontramos maior frequência entre sobreviventes -260TT ($P=0,002$), e ao analisamos a sobrevivência entre -260TT e os não -260TT (-260CC+260CT), os pacientes -260TT sobreviveram mais, que os não -260TT ($P<0,001$, $OR=2,52$, $IC95\%=1,43-4,46$). Foi realizada regressão logística, incorporando os genótipos do CD14 e os principais preditores clínicos para excluir outros fatores de risco que possam influenciar o desfecho. Observou-se que idade avançada, APACHE II, tempo de permanência na UTI ou Hospital, ocorrência de sepse e choque séptico foram fator de risco para mortalidade dos pacientes, mas o -260TT foi fator protetor para a sobrevivência ($P=0,001$, $OR=3,08$ $IC95\%=1,54-5,98$). Entre os pacientes sépticos e com choque séptico, o -260TT mostrou-se também fator protetor para a sobrevivência [$P=0,001$, $OR=3,11$ $IC95\%=1,63-6,66$], ($P=0,001$, $OR=3,80$ $IC95\%=1,68-8,58$) respectivamente. Mostramos que o SNP -260C> T do CD14 foi um fator protetor para a sobrevivência em pacientes criticamente doentes, com maior frequência de sobreviventes entre os -260TT homocigotos. Nossos resultados sugerem que a alta frequência do genótipo -260TT em pacientes sobrevivente da UTI é possivelmente explicada por um efeito sobre a sinalização da imunidade inata.

E-mail do autor: paulinhoevilemperor@yahoo.com.br

014 – DESENVOLVIMENTO DE UM TESTE RÁPIDO E ALTAMENTE INFORMATIVO PARA O DIAGNÓSTICO INDIRETO DE PORTADORES DE MUTAÇÕES NO GENE CODIFICADOR DO FATOR VIII DE COAGULAÇÃO SANGUÍNEA

Machado FB, Silva AFA

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Hospital Escola Álvaro Alvim, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy

Introdução: Em países com recursos limitados, a detecção direta de mutações no gene codificador do fator VIII de coagulação sanguínea (F8) em famílias de hemofílicos é inviabilizada pelo alto custo. Um método indireto baseado na genotipagem de marcadores microssatélites no F8 e em regiões adjacentes é uma alternativa eficiente. Nos ensaios existentes são genotipados marcadores extragênicos do tipo dinucleotídeos, que apresentam perfis eletroforéticos de difícil interpretação devido à formação de “stutters”. Ensaios multiplex têm sido desenvolvidos com marcadores que se distanciam até 3,22 cM. Recentemente, construímos um mapa físico-genético mostrando polimorfismo in silico de novos microssatélites que flanqueiam o F8. Objetivo: Desenvolver um sistema de genotipagem em tubo único com sete marcadores (heptaplex), com baixa taxa de recombinação, para o diagnóstico indireto de portadores de mutações no gene F8. Material e Métodos: O heptaplex é composto por quatro marcadores tetranucleotídeos e pentanucleotídeos com distância < 0,15 cM do gene F8, e três marcadores dinucleotídeos intrônicos do F8. Para determinar heterozigose e frequência alélica, foram genotipadas 100 mulheres saudáveis não relacionadas. Para investigar a estabilidade da segregação alélica, foram testados 50 trios (mãe, filha e pai) e 50 duplas (mãe e filho) da população geral e 5 duplas com filho hemofílico. Resultados: A heterozigose observada entre os marcadores foi de 0,49-0,79. Não foi observada mutação alélica em 155 meioses investigadas. O novo sistema apresentou uma heterozigose acumulada de 0,89 para pelo menos dois marcadores com no mínimo um intragênico. Conclusões: O novo teste apresenta, em média, 13 vezes menos chance de recombinação entre marcadores, comparado a outros ensaios. A genotipagem com marcadores do tipo tetranucleotídeos e pentanucleotídeos possibilitou a designação alélica precisa. Os resultados podem ser obtidos em até 24 horas.

E-mail do autor: filipebma@yahoo.com.br

015 – AVALIAÇÃO DA INSTABILIDADE DE MICROSSATÉLITES EM PACIENTES COM CÂNCER COLORETAL

Almeida VCO, Leite SMO, Gomes KB, Pardini VC, Ferreira ACS, Andrade FC, Cruz GMG

Introdução: O câncer colorretal (CCR) é a segunda maior causa de morte devido ao câncer. A presença de mutações nos genes de reparo do DNA como hMLH1, hMSH2 e hMSH6, relacionadas aos erros de replicação (RER), pode ser medida pela instabilidade de microssatélites (MSI), a qual tem se tornado uma ferramenta importante para o diagnóstico e prognóstico do Câncer Colorretal Hereditário Não-Polipose (HNPCC). **Objetivo:** Investigar a MSI em pacientes brasileiros apresentando CCR, bem como relacioná-la aos achados clínicos destes pacientes. **Material e métodos:** Foram estudados 66 indivíduos submetidos à cirurgia para CCR, os quais foram classificados clinicamente segundo os critérios de Amsterdam II e Bethesda. Foram coletadas amostras de tecido normal e tumoral de cada paciente e avaliado o grau de MSI, por Reação em Cadeia da Polimerase, utilizando-se o painel de marcadores microssatélites BAT25, BAT26, BAT40, APC-D5S346, D2S123 e D17S250. **Resultados:** Segundo os critérios de Amsterdam II e de Bethesda, 12,1% e 22,7% dos pacientes foram classificados como HNPCC, respectivamente. Todos os marcadores apresentaram especificidade \geq 90%, sendo o BAT25 o mais sensível (86,7%) em detectar a presença de RER. Utilizando todo o painel, 22,7% dos pacientes apresentaram MSI elevada e, portanto, RER+; enquanto 77,3% dos pacientes foram classificados como RER-. Os tumores proximais foram significativamente predominantes entre pacientes que apresentaram RER+. Não foi encontrada relação entre a presença de RER, o gênero ou idade dos pacientes, bem como com os critérios clínicos de Bethesda e Amsterdam II. **Conclusão:** O painel de microssatélites utilizados neste estudo e recomendado internacionalmente mostrou sensibilidade e especificidade suficientes para a pesquisa de MSI. Pacientes com histórico familiar de CCR e alterações no cólon proximal devem tão logo se submeter ao estudo de MSI a fim de se avaliar o risco

E-mail do autor: vanessa.oliveira@labhpardini.com.br

016 – VALIDAÇÃO DO CAMPO 34 DA DNV COMO FONTE DE NOTIFICAÇÃO DOS DISTÚRBIOS CONGÊNTOS NAS MATERNIDADES-ESCOLA DE ALAGOAS

Ferro GBR, França LKL, Jacó MB, Porciúncula CGG

Introdução: No Brasil, existem dois métodos de rastreio de distúrbios congênitos (DC): o Estudo Colaborativo Latino-Americano de Malformações Congênicas (ECLAMC) e o campo 34 (C34) da Declaração de Nascido Vivo (DNV). Em Alagoas, o ECLAMC foi implantado na Maternidade Escola Santa Mônica (MESM) e no Hospital Universitário (HU-UFAL) em fevereiro de 2007. **Objetivos:** Avaliar o preenchimento do C34 nas maternidades supracitadas em dois momentos: 10 meses antes da introdução do ECLAMC em Alagoas e 10 meses após esse acontecimento. **Material e métodos:** Foram colhidos os dados de 8894 DNVs referentes às maternidades-escola de Alagoas entre Mai/06 e Dez/07 na Secretaria Municipal de Saúde de Maceió. Os dados avaliados foram: maternidade, função do responsável pelo preenchimento, se o C34 estava preenchido, e em caso afirmativo, se o mesmo fora assinalado com “Sim”, “Não” ou “Ignorado”. **Resultados:** No HU-UFAL, até fev/07, o C34 não foi preenchido em 23,5% das DNVs, atingindo 3,8% no período posterior. Já na MESM, esses índices foram de 0,4% e passaram a 0,0% no período subsequente. A frequência de DC no HU-UFAL até fev/07 foi 0,12%, aumentando para 0,55% nos 10 meses seguintes; enquanto na MESM foi de 3,07% nos meses iniciais, e 3,57% no último período. O assistente administrativo foi o responsável pelo preenchimento de 64,7% DNVs no HU-UFAL; na MESM 99,1% das DNVs foram preenchidas pela equipe de enfermagem. **Conclusão:** Criado há 9 anos para traçar o perfil dos DC, e então direcionar ações de saúde pública, o C34 ainda não cumpre o seu papel. A implantação do ECLAMC nessas maternidades parece ter surtido efeitos diferentes: a MESM manteve seus índices estáveis, condizentes com o esperado; o HU-UFAL melhorou sua taxa de preenchimento, embora a frequência de DC tenha permanecido baixa.

E-mail do autor: gabriela_brf@hotmail.com