

GH 1

COMPARACIÓN DE PCR-ASO Y EL MÉTODO TETRA PRIMER ARMS-PCR PARA IDENTIFICAR EL RS4731702 (C/T) DEL GEN KRÜPPEL-LIKE FACTOR 14

Alvarez M.F.¹, S.E. Siewert¹, I.I. González¹, G. Fernández¹, M.S. Ojeda¹. ¹Universidad Nacional de San Luis.
E-mail: micaalvarez925@gmail.com

El factor de transcripción Krüppel-like factor 14 (KLF14) ejerce un efecto pleiotrópico sobre 10 genes asociados a una cascada de eventos en el metabolismo lipídico. Diversos estudios han demostrado su relación con los niveles de HDL-c en suero y con la predisposición a la Diabetes Mellitus Tipo 2. Entre los SNPs identificado se encuentra el rs 4731702 (C/T) a ~14kb *upstream* de KLF14, que podría actuar en cis influyendo en la expresión del gen. Las metodologías comúnmente utilizadas para detectar SNPs son la PCR-ASO, PCR-RLFP y la secuenciación, las cuales demandan mayores tiempos y costos onerosos. Objetivo: Utilizar un método rápido, sensible, confiable y de bajo costo para detectar el rs4731702 (C/T) en pacientes Diabéticos Tipo 2 y no diabéticos (Co). Métodos: Se estudiaron 12 Co y 11 Diabéticos Tipo 2. El ADN genómico se extrajo con el kit QIAmp DNA Blood Mini Spin. Los genotipos se determinaron mediante PCR-ASO y la técnica tetra-primers ARMS-PCR, para lo cual se diseñaron dos set de *primers*. Los productos de PCR se separaron mediante electroforesis en agarosa al 2%. Resultados: La determinación de los genotipos (C/C, C/T, T/T) del rs 4731702 en diabéticos *vs.* Co, arrojó los siguientes porcentajes: 54,5 % *vs.* 41,7%; 36,4 % *vs.* 50%; 9,1 % *vs.* 8,3 % respectivamente. Conclusión: Los resultados mostraron una concordancia del 100 % entre ambas metodologías de genotificación del rs4731702(C/T) del gen KLF14, por lo que podemos inferir que la técnica tetra-primers ARMS-PCR constituye un método recomendable para una rápida y segura genotificación de SNPs.

GH 2

APLICACIÓN DE LA TÉCNICA DE HIGH RESOLUTION MELTING PARA EL SCREENING GENÉTICO EN CASCADA FAMILIAR EN CASOS DE HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR

Quintana S.¹, V. Di Gerónimo¹, Y. Videla^{1,2}, J. Pérez Maturó^{1,2}, V. Bañares^{3,6}, L. Schreier^{4,6}, P. Corral^{5,6}. ¹Laboratorio de Biología Molecular, Fares Taie Instituto de Análisis, Mar del Plata.

²FCEyN, Universidad Nacional de Mar del Plata. ³Centro Nacional de Genética Médica (CENAGEM), ANLIS. ⁴Laboratorio de Lípidos y Aterosclerosis, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. ⁵Facultad de Medicina, Universidad FASTA, Mar del Plata. ⁶Red Iberoamericana de Hipercolesterolemia Familiar. E-mail: biologiamolecular@farestaie.com.ar

La Hipercolesterolemia Familiar (HF) heterocigota presenta un patrón de herencia autosómica dominante con penetrancia cercana al 100 %, por lo cual es imperativo el *screening* en cascada familiar a partir de un caso índice (CI) detectado. El presente trabajo tiene como objetivo describir la aplicación de la técnica de *High Resolution Melting* (HRM) para el cribado en cascada familiar para la detección de casos de HF heterocigotas. Se estudiaron dos familias, la familia 1 con un CI donde se detectó la variante c.2043C>A y la familia 2 en la cual el CI presentó la variante 1003G>A, ambas en heterocigosis. Los CI fueron estudiados por secuenciación del gen del receptor de la lipoproteína de baja densidad (RLDL). Se estudiaron en forma fenotípica 16 familiares con lazo sanguíneo en la familia 1, y 4 en la familia 2. Se rastreó la herencia de las mutaciones en cada familia en forma puntual con la técnica HRM. El análisis por HRM se llevó a cabo con Evagreen como intercalante fluorescente. En la familia 1 se detectaron 9 casos por la técnica HRM y la correlación entre el fenotipo presentado por los pacientes y el genotipo fue del 100 %. En la familia 2 se detectaron 3 casos, en uno de los casos no existió correlación entre el fenotipo y genotipo. El análisis por HRM es un método no destructivo para detección de mutaciones en el gen RLDL con alta sensibilidad y rapidez (<1,5 horas). La implementación de una estrategia de *screening* en cascada genética permite detectar certeramente nuevos pacientes, evaluarlos, estudiarlos cardiológicamente y actuar en forma preventiva.

GH 3

DIAGNÓSTICO FAMILIAR DE SÍNDROME DE FRAGILIDAD DEL CROMOSOMA X A PARTIR DE UN ABUELO ASINTOMÁTICO

Flores R.C.¹, L. Espeche², M. Ludokoski¹, A. Soto¹, C. Cheroki¹, R. Espindola¹, G. Cribb Libardi¹, M.E. Heis¹. ¹Hospital Escuela de Agudos Ramón Madariaga, Posadas, Misiones. ²Centro Nacional de Genética Médica "Dr. Eduardo Castilla", CABA.
E-mail: rominaflores@gmail.com

El Síndrome de X frágil (FRAX) es la causa más frecuente de retardo mental (RM) heredado por expansión del triplete CGG en promotor del gen FMR1 (Xq27.3). Según la expansión genera pre-mutación (52 a 200 repeticiones) con expresión parcial de proteína FMRP o mutación completa (más de 200 repeticiones) con ausencia de FMRP. La mutación completa define en varones un fenotipo típico, no en mujeres. La pre-mutación puede expresarse como Síndrome de tremor/ataxia (FXTAS) o falla ovárica precoz (FOP). El objetivo es la descripción de un *pedigree* con individuos afectados por FRAX a raíz de la consulta de una mujer con tres hijos con trastorno de espectro autista (TEA). Se realizó evaluación clínica y estudio molecular del gen FMR1 a uno de los hijos (A1) y madre (C1). Se detectó mutación completa en A1 y pre-mutación en C1, confirmándose el diagnóstico de FRAX en sus tres hijos. Ya que hermanas y medio hermanas de C1 vía paterna (sin relación de parentesco entre abuelas de los niños) tenían hijos con RM, solicitamos estudio molecular al abuelo (F1) de 70 años asintomático detectándose pre-mutación. El diagnóstico molecular y el *pedigree* de tres generaciones permitieron identificar el estado del gen FMR1 (pre-mutado o mutado) en tres individuos del grupo familiar que posibilitaron el diagnóstico y asesoramiento de dos familias cuyas mujeres, a partir del mismo progenitor masculino, presentaban hijos e hijas con diagnóstico de RM. Se pudo confirmar el estado de portadoras obligadas de todas las hijas mujeres de F1 y, en consecuencia, diagnóstico de FRAX en todos sus nietos con RM.

GH 4

ASOCIACIÓN DEL POLIMORFISMO GENÉTICO TLR2 DEL -196 PARA -174 Y LA CARCINOGENÉISIS GÁSTRICA

Oliveira J.G.¹, L.R. Trevizani², W. Orcini¹, M.D. Susi¹, S.L.M. Payão^{1,2}, G.M. Bovolini¹. ¹Universidade do Sagrado Coração. ²Faculdade de Medicina de Marília.
E-mail: juliana.usc2012@yahoo.com.br

Actualmente el cáncer gástrico representa el cuarto tumor maligno más frecuente en el mundo. Polimorfismos génicos de factores involucrados en el proceso inflamatorio pueden modular el patrón de respuesta inmune del hospedero. Así, el objetivo de este estudio fue evaluar la asociación de los polimorfismos TLR2 del -196 para -174 en el riesgo de la carcinogénesis gástrica. En este estudio, el polimorfismo fue genotipado por las técnicas de PCR-alelo específico en 326 muestras de biopsias gástricas, habiendo 21 pacientes con cáncer gástrico-CG; 233 pacientes con gastritis crónica-GC y 72 pacientes control-C. Las frecuencias genotípicas en el grupo de GC para D/D (delección/delección), I/D (inserción/delección) y I/I (inserción/ inserción) fueron de 2 %, 20 % y 78 %, respectivamente, en cuanto las frecuencias alélicas para I y D fueron de 0,88 y 0,12, respectivamente. En el grupo de CG las frecuencias genotípicas para D/D, I/D y I/I fueron de 0 %, 14 % y 86 %, respectivamente, en cuanto las frecuencias alélicas para I y D de 0,93 y 0,07, respectivamente. En el grupo C se obtuvo una frecuencia genotípica para D/D, I/D, I/I de 3 %, 28 % y 69 % respectivamente, y frecuencia alélica para I y D de 0,83 y 0,17, respectivamente. En el modelo codominante fue observado el efecto protector del genotipo I/D entre los grupos GC y C, diferencia estadísticamente significativa (OR=0,44, 95 % IC=0,20-0,95, p=0,04). Nuestros datos indican que el genotipo heterocigoto para el polimorfismo TLR2 I/D puede estar asociado en el proceso de carcinogénesis gástrica.

GH 5

ROL DE NRF2 EN LA REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE SCARB1 EN PACIENTES DIABÉTICOS TIPO 2

Siewert S.¹, G.V. Mendoza¹, I.I. Gonzalez¹, M.S. Ojeda¹. ¹Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional de San Luis.

E-mail: msojeda@unsl.edu.ar

El factor de transcripción Nrf2 regula la expresión de numerosos genes de enzimas antioxidantes mediante su unión a una secuencia específica del ADN conocida como ARE. Estudios recientes proveen evidencias que Nrf2 estaría involucrado en la modulación de la homeostasis lipídica hepática, a través de la expresión de genes lipogénicos. Hemos identificado dos secuencias ARE-like en la zona promotora y una secuencia ARE en el primer intrón del Receptor Scavenger Clase B tipo I (SCARB1) primer receptor descrito de las HDL-c. El objetivo del trabajo es analizar la correlación entre las expresiones de SCARB1 y de Nrf2 en pacientes diabéticos tipo 2 y controles. Se determinaron parámetros bioquímicos y niveles de TBAR'S en suero de ambos grupos. La RT se realizó con AMV transcriptasa reversa y hexámeros. Para la PCR se diseñaron *primers* específicos para SCARB1 y para Nrf2. Los productos de PCR se separaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 2 %. La expresión de SCARB1 y de Nrf2 fue mayor en Co respecto DT2 ($p < 0,0001$ y $p = 0,0041$, respectivamente). La expresión de SCARB1 se correlacionó negativamente con Glucemia ($r = -0,54$; $p < 0,0001$) y con los niveles de TBAR'S ($-0,81$; $p < 0,0001$); y positivamente con niveles de expresión de Nrf2 ($0,31$; $p = 0,03$). En la bibliografía consultada no se encontraron resultados que demuestren que Nrf2 podría estar involucrado como una nueva vía de señalización en la regulación de la expresión de SCARB1. Se requieren estudios posteriores para identificar la interacción funcional de Nrf2 con las secuencias ARE identificadas.

GH 6

ANÁLISIS DE HAPLOTIPOS DE LOS GENES FABP-2 Y CETP AJUSTADOS A LA DISLIPIDEMIA EN PACIENTES DIABÉTICOS TIPO 2

Gonzalez I.I.¹, S. Siewert¹, G. Fernandez¹, L. Correa¹, M.S. Ojeda¹. ¹Universidad Nacional de San Luis.

E-mail: irmacarlini@yahoo.com.ar

La Diabetes Mellitus Tipo 2 (DMT2) es una enfermedad compleja en donde los factores genéticos desempeñan un rol importante en la homeostasis lipídica. Entre los genes involucrados en el metabolismo lipídico se pueden mencionar *Fatty Acid Binding Protein 2* (FABP-2) que interviene en la transferencia de ácidos grasos en el intestino delgado, y *Cholesterol Ester Transfer Protein* (CETP) que participa en el transporte reverso de colesterol. El objetivo es evaluar la asociación de haplotipos de los SNPs rs708272 y rs1799883 de los genes FABP-2 y CETP con el perfil lipídico en pacientes Diabéticos Tipo 2. Se estudiaron individuos controles (Co) y DMT2. Los polimorfismos de los genes CETP (rs708272-B1/B2) y de FABP-2 (rs1799883-A/T) fueron genotipificados mediante PCR-RLFP. Parámetros lipídicos se relacionaron con los haplotipos correspondientes mediante el estadístico SNPStats. No se observaron diferencias significativas en las frecuencias alélicas de CETP y FABP-2 entre Co y DMT2. Los modelos de herencia fueron ajustados por dislipemia y género, estableciéndose un modelo de herencia dominante para CETP [OR = 2,78; IC 95 % (1,06-7,32); $p = 0,035$] y recesivo para FABP-2 [diferencia = 0,18; IC 95 % (0,03-1,03); $p = 0,04$]. Se obtuvieron cuatro haplotipos, siendo B1-A el más frecuente (0,42). Sólo el haplotipo B1-T se asoció con la dislipemia [OR = 0,518; IC 95 % (0,296-0,907); $p = 0,02$]. Los resultados del análisis de haplotipos demuestran que las combinaciones genéticas de los alelos de CETP y de FABP-2 podrían contribuir en la susceptibilidad de desarrollar dislipidemia en pacientes DMT2.

GH 7

ANÁLISIS DEL SNP G399A DEL GEN XRCC1 EN RELACIÓN A LA RADIODERMITIS DESARROLLADA EN PACIENTES SOMETIDOS A TRATAMIENTOS RADIANTES CONVENCIONALES

Córdoba E.E.^{1,2}, M.C. Abba³, E. Lacunza³, A.M. Güerci^{1,2}. ¹Instituto de Genética Veterinaria, IGEVET-CONICET-UNLP. ²Centro Integrado de Oncología, CIO La Plata Terapia Radiante. ³Centro de Investigaciones Inmunológicas Básicas y Aplicadas, CINIBA. E-mail: allycordoba@hotmail.com

Las reacciones adversas en el tejido normal que acompañan a la Radioterapia (RT) varían considerablemente entre los pacientes y constituyen la limitante del tratamiento en ≥ 10 % de los casos. La radiodermatitis es el efecto más común en pacientes con cáncer de mama. La variabilidad de este rasgo se debe en un 80 % a genes que participan en vías radioinducidas como las de reparación del ADN. En consecuencia, este estudio persiguió evaluar la asociación entre el SNP G399A de XRCC1 y radiodermatitis en pacientes con cáncer de mama sometidas a RT. El trabajo incluyó 70 pacientes tratadas con una dosis total de 50G y tratamiento 3D. Las extracciones de ADN genómico se realizaron a partir de muestras de sangre e hisopado bucal y el genotipado mediante PCR- RFLP. La radiotoxicidad fue evaluada por el *score* del *Radiation Therapy Oncology Group*. Además, se realizó una entrevista de anamnesis y se tomó consentimiento informado. Se estimaron las frecuencias génicas y genotípicas, equilibrio de Hardy-Weinberg y se realizó un análisis multivariado con SPSS (v.19). El 63 % de las pacientes presentó radiodermatitis de grado ≥ 2 . No se observaron diferencias significativas entre las frecuencias genotípicas de G399A- XRCC1 y radiodermatitis ($p > 0,05$). Sin embargo, se encontró que pacientes con IMC 25 presentaron menor toxicidad ($p = 0,03$) y que aquellas con un tamaño de mama mediana y grande manifestaron mayor grado de radiodermatitis ($p = 0,02$). Si bien la eficacia de la reparación del ADN es esencial en este fenotipo, factores extrínsecos inherentes al paciente deben ser necesariamente considerados.