

GH 1

GENOMIC INTEGRITY ANALYSIS IN HUMAN ADIPOSE-DERIVED MESENCHYMAL STEM CELLS CULTURED *IN VITRO*

Ribeiro-Paes J.T.¹, M.J. Malagutti-Ferreira¹, T. Stessuk¹, A.B. Grisólia², B.A. Crispim², S.S. Cardoso². ¹Laboratory of Genetics and Cell Therapy (GenTe Cel), São Paulo State University (UNESP), SP, Brazil. ²Mutagenesis Laboratory, Federal University of Grande Dourados (UFGD), MS, Brazil.
Email: jtrpaes@yahoo.com.br

Cell therapy with adult stem cells, particularly mesenchymal stem cells (MSC), has been progressively consolidated as a promising therapeutic approach for morphological and functional regeneration of tissues and organs affected by different diseases. To obtain an adequate amount of MSC for therapeutic approaches, *ex vivo* cell proliferation is required. Thus, it is essential to establish strict criteria for genotoxicity and mutagenicity analysis in order to evaluate the genetic integrity of MSC cultured *in vitro*. Considering these aspects, the present study aims to analyze, through the use of the comet assay and micronucleus test, the genetic integrity of human adipose-derived stem cells (hADSC) maintained in culture until the eleventh passage. Analyses were performed in hADSC of eight patients in the passages 1, 3, 5, 7, 9 and 11. The results showed genotoxic and mutagenic effects on hADSC maintained in culture. In the comet assay there was no statistically significant difference ($p > 0.05$) when it was compared the control and the cells maintained in culture until the eleventh passage. The micronucleus tests showed a statistically significant difference ($p < 0.05$) from the seventh passage. The obtained results indicate that there is a real risk of impairment of the genetic integrity, which should be considered in cell therapy. Thus, new methodological approaches are required in order to evaluate with greater consistency and accuracy the use of stem cells in long-term cultures, particularly in procedures which have as purpose the use of cell therapy in human patients.

GH 2

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LAS ALFA TALASEMIAS EN INDIVIDUOS CON MICROCITOSIS E HIPOCROMÍA SIN ANEMIA EN UNA POBLACIÓN URUGUAYA

Da Silveira L.¹, F. Sonati², J.A. Da Luz³. ¹Polo de Desarrollo Universitario Diversidad Genética Humana, Centro Universitario de Tacuarembó, UdelaR, Uruguay. ²Departamento de Patología Clínica de la Escuela de Ciencias Médicas de la Universidad de Campinas, UNICAMP, SP, Brasil. ³Laboratorio de Genética Molecular Humana, CENUR Litoral Norte, Sede Salto, UdelaR, Uruguay.
Email: loyl19@gmail.com

Las α -talamias son un tipo de hemoglobinopatías que se caracterizan por alteración en la síntesis de la cadena α de la hemoglobina. Esta proteína tetramérica está compuesta por dos cadenas de α - y dos de β -globina, y es la encargada del transporte de oxígeno en sangre mediante la unión reversible de átomos de hierro a cada una de las cadenas que la conforman. La microcitosis e hipocromía son el resultado de una síntesis deficiente de hemoglobina y pueden deberse a la presencia de α - o β -talamias, a anemia por falta de hierro u a otro tipo de anemia. El objetivo de este trabajo fue validar la contribución de α -talamias como causa de microcitosis e hipocromía en individuos uruguayos sin anemia. Para ello, en primer lugar, se descartaron los individuos con mutaciones de β -globina y luego, se utilizaron diversas técnicas moleculares para detectar mutaciones en el *cluster* de las α -globinas. Al no presentar anemia se espera que las mutaciones se encuentren en heterocigosis. Se analizaron 176 pacientes, encontrándose 4 con β -talasemia (1 IVS-I-5, 2 IVS-I-110 y 1 Cod 39) y 4 con alguna variante de β -globina (2 HbC, 1 HbS y 1 Hb J-Cairo). De los restantes, el 44 % presentaron algún tipo de mutación en las cadenas α que podrían explicar la microcitosis e hipocromía. De este 44 %, el 75,7 % presentaba α -talasemia (51 α 3,7; 1 α 4,2 y 4 HBA2:c.-59C>T). Estos resultados muestran que existe una alta incidencia de α -talasemia en este tipo de pacientes, confirmando la necesidad de implementación de técnicas de diagnóstico para estas patologías en la población uruguaya.

GH 3

PRESENCIA DE HAPLOTIPOS AMERINDIOS AUMENTA LA DIVERSIDAD GENÉTICA DE AFECTADOS CON ANEMIA FALCIFORME EN COLOMBIA

Rojas-Gallardo D.¹, C. Fong², G. Barreto¹. ¹Grupo de Genética Molecular Humana, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad del Valle, Cali Colombia. ²Grupo GIOD, Facultad de Odontología, Universidad Cooperativa de Colombia, Pasto, Colombia.
Email: cristian.fongr@campusucc.edu.co

La anemia falciforme (AF) es una enfermedad causada por la presencia de una variante de la hemoglobina, la hemoglobina S (HbS), sus principales síntomas son la anemia crónica, y frecuentes crisis vaso-oclusivas. La severidad de los síntomas es variable, siendo los haplotipos ligados a Beta-globina una de las razones. Hay 5 haplotipos principales y se han descrito otros haplotipos menos frecuentes llamados atípicos, producto de mutaciones de punto o conversión génica. Una posible causa de estos haplotipos en poblaciones mezcladas puede ser el mestizaje. El objetivo de este trabajo fue identificar haplotipos indígenas en pacientes con AF en Colombia; para ello se evaluaron 84 afectados genotipando 5 sitios polimórficos HincII-5'ε, HindIII-γG, HindIII-γA, HincII-Ψβ y HincIII-3'Ψβ por medio de RFLP-PCR para determinar los haplotipos. En esta población se encontró que el haplotipo Benin (28,5 %) es el más común seguido del Bantú (27,9 %). Los haplotipos atípicos representaron el 42,6 % de los haplotipos de este estudio, siendo los más frecuentes - + - - + y - - - - -, los cuales han sido reportados en indígenas de Colombia, en africanos de la tribu !Kung san, y en población indígena de Asia y Oceanía respectivamente. La presencia de haplotipos indígenas en esta población sugiere que el mestizaje puede estar implicado en el cambio del ambiente genético de HbS, pasando de un contexto genético totalmente africano a uno amerindio, aumentando la diversidad genética de estos pacientes. Entender qué implicaciones clínicas pueden ocasionar estos nuevos haplotipos queda aún por establecer.

GH 4

CELLULAR AND MOLECULAR ANALYSIS OF ANXA1Ac2-26 EFFECT IN CERVICAL SQUAMOUS CELL CARCINOMA

Moreira H.T.¹, L.T. Cardin¹, B.R. Cunha², E.H. Tajara², S.M. Oliani¹, F.C. Rodrigues-Lisoni³. ¹Departamento de Biologia, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas - IBILCE-UNESP, São José do Rio Preto, SP, Brazil. ²Departamento de Biologia Molecular, Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto - FAMERP, São José do Rio Preto, SP, Brazil. ³Departamento de Biologia e Zootecnia, Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - FEIS/UNESP, Ilha Solteira, SP, Brazil.
Email: flavialisoni@hotmail.com

Cervical cancer is the second most common cancer in women worldwide and is the fourth leading cause of cancer deaths in developing countries. Cervical carcinogenesis is related to genetic alterations, infection by the Human Papilloma virus (HPV) and increased angiogenesis and inflammation. Annexin-A1 (ANXA1), 37 kDa protein, which is expressed by tumor cells acts as a modulator of the inflammatory process. In the present study, we investigated the effect of the exogenous ANXA1 (peptide ANXA1Ac2-26) on cell morphology, proliferation and migration, pro-inflammatory cytokines and gene expression in cervical squamous cells carcinoma (SiHa) cell line. SiHa cell line was treated with ANXA1Ac2-26 at concentration of 3 μM for 2, 4, 24, 48 and 72 hours. Cell morphology was observed under an inverted microscope; proliferation was measured by growth curve and cell migration was assayed using a migration approach. Pro-inflammatory cytokine and COX-2, EP3, EP4, MMP2, MMP9, TIMP1 and TIMP2 gene expression in control and ANXA1Ac2-26 treated samples was evaluated by Multiplex Magpix analyzer and quantitative PCR, respectively. ANXA1Ac2-26 promoted a significant decrease of cell proliferation and migration, but no change in cell morphology. The expression of interleukin 6 (IL-6) and COX-2, TIMP2 and EP4 genes was also reduced after ANXA1Ac2-26 treatment. A better understanding of the regulatory mechanisms of ANXA1 may lead to future biological targets for the therapeutic intervention of human cervical cancer.

GH 5

PUESTA A PUNTO Y VALIDACIÓN DE SCREENING GENÉTICO PREIMPLANTACIONAL POR NEXT GENERATION SEQUENCING

Repetto L.¹, V. Russo¹, A. Torres¹, L. Guggeri^{1,2}, C. Azambuja¹, J.M. Marqués¹. ¹Laboratorio Genia Geo, Ruta 8 km 17500, Zonamérica, Biotec, oficina 12, Montevideo, Uruguay. ²Laboratorio Genia, Brd. Artigas 922, Montevideo, Uruguay.
Email: repetto@geniageo.com

Los tratamientos de Fertilización *in vitro* (FIV) en mujeres menores de 35 años, tienen una tasa de éxito de gestación de 45 % a 50 %. A mayor edad el éxito disminuye drásticamente. Durante las primeras divisiones del óvulo fecundado se pueden producir anomalías en el número de cromosomas, lo cual provoca un alto número de abortos espontáneos. Para evaluar la dotación cromosómica de estos embriones, se realizó la puesta a punto y validación del *Screening* Genético Preimplantacional (PGS) mediante la técnica de *Next Generation Sequencing* (NGS). Este estudio permite evaluar los 23 pares de cromosomas, deleciones y duplicaciones mayores a 45 Mb. Se analizaron 20 muestras de biopsias embrionarias previamente analizadas por la técnica de CGH-array, 10 muestras de ADN de vellosidades coriales tipificadas por cariotipo, y 13 muestras de ADN de material de legrados tipificados por análisis de microsátélites para trisomías más frecuentes. La concordancia con CGH-array fue de un 98 %, y de un 100 % con respecto a los resultados de cariotipo y análisis de microsátélites. Además, PGS-NGS permitió tipificar aquellas muestras que no pudieron ser analizadas por microsátélites para trisomías frecuentes. Concluimos que mediante PGS-NGS es posible determinar aneuploidías cromosómicas de manera rápida y eficiente a partir de una o más células del embrión y de ADN extraídos de distintos materiales biológicos, con un gran poder de resolución, permitiendo así, mejorar las tasas de implantación embrionaria en FIV.

GH 6

UNA MUTACIÓN FUNDADORA DE ORIGEN MAYA ES LA CAUSA MÁS COMÚN DE SORDERA EN GUATEMALA

Carranza C.¹, I. Menéndez², M. Herrera¹, P. Castellanos³, C. Amado¹, F. Maldonado⁴, L. Rosales¹, N. Escobar¹, M. Guerra¹, D. Alvarez¹, J. Foster², S. Guo², S.H. Blanton², G. Bademci², M. Tekin². ¹Institute for Research on Genetic and Metabolic Diseases –INVEGEM–, Guatemala. ²T. Macdonald Foundation Department of Human Genetics and John P. Hussman, University of Miami, USA. ³Center for Hearing and Phonetic Training –CEDAF–, Guatemala. ⁴Therapeutic Center for Hearing and language –CEAL–, Guatemala.
Email: ccarranza@invegem.org

Más de un 5% de la población mundial tiene distintos grados de hipoacusias, siendo las mutaciones en gen GJB2, la causa más común de hipoacusias no sindrómicas autosómicas recesivas. La frecuencia y el tipo de mutaciones en este gen son influenciadas por la etnia. Guatemala es un país multi-étnico, con cuatro poblaciones mayores: Maya, Ladino, Xinca y Garifuna. Para determinar las mutaciones en el gen GJB2 en la población guatemalteca, se secuenció el gen en 133 familias no relacionadas. La frecuencia de mutaciones en el gen para la población guatemalteca es de un 12,7 %. Se detectaron un total de seis variantes patogénicas. La variante más común es c.131G>A (p.Trp44*), encontrándose en 21 de los 266 alelos estudiados. Esta variante resulta en un codón de *stop*. Se pudo observar que esta variante está asociada a un haplotipo conservado en Guatemala, sugiriendo que es una mutación fundadora. Es importante destacar que la mutación c.35delG, muy común en otras poblaciones, se encuentra ausente en Guatemala. Posteriormente se realizó un estudio de marcadores ancestrales, utilizando un análisis de *Genome-wide-variation* de los individuos que poseen esta mutación, comparándose con distintas etnias como: Nativos americanos, europeos y africanos; se pudo observar que los pacientes con la mutación c.131G>A (p.Trp44*), coinciden con los marcadores ancestrales de la población Maya. Además cabe resaltar que la mayoría de población maya en Guatemala, se encuentra ubicada en la región occidente del país, de donde procedían todos los pacientes que presentaron la mutación.

GH 7

DIFFERENTIAL EXPRESSION OF *PBRM1* SPLICING VARIANTS IN PROSTATE CANCER

Mota S.T.S.^{1,2}, A.T.F. Silva², M.A. Ribeiro¹, L. Vargas¹, A.F. Neves³, L.R. Goulart², T.A. Araújo^{1,2}. ¹Federal University of Uberlandia, Institute of Genetics and Biochemistry, Laboratory of Genetics and Biotechnology, Minas Gerais, Brazil. ²Federal University of Uberlandia, Institute of Genetics and Biochemistry, Laboratory of Nanobiotechnology, Minas Gerais, Brazil. ³Laboratory of Molecular Biology, Federal University of Goias, Goias, Brazil. Email: tgaraujo@ufu.br

PBRM1 encodes BAF180 protein which is responsible for critical events in oncogenic transformation once it participates to SWI/SNF complex in chromatin remodeling. *PBRM1* has been shown to be frequently mutated in cancer indicating its role as a tumor suppressor. In this study, we aimed to evaluate the transcriptional levels of *PBRM1* in 34 patients with prostate cancer and 32 with benign prostatic hyperplasia. RT-qPCR assays were performed using primers designed for exon 3 and exon 17, which encode two distinct bromodomains (BrD1 and BrD6) and are involved in splice variants events. In all cases, *PBRM1* transcripts were able to discriminate the groups but an inverse behavior was observed between exon 17 and exon 3. A significant moderate negative correlation between exon 17 and exon 3 transcripts was found in prostate samples ($r = -0.33$, $P = 0.01$). Relative quantification of exon 17 mRNA levels was 2.6-fold higher in BPH ($P = 0.009$) and, for exon 3 was 21.0-fold higher in PCa ($P = 0.0002$). exon 3 detection was correlated to PSA levels in a combined method for patients management. Our results provide the basis for a biologically meaningful and clinically relevant molecular genetics study that may influence strategies for improved to understand tumor biology and clinical practice. Finally, alternative splicing research in prostate tumors may reveal new events in malignant transformation with different clinical outcomes.

GH 8

DIAGNÓSTICO GENÉTICO DIRIGIDO EN PACIENTES CON ERRORES CONGÉNITOS DEL METABOLISMO MEDIANTE NEXT GENERATION SEQUENCING

Yubero D.¹, N. Brandi², O. Ormazábal^{1,3}, A. García-Cazorla^{3,4}, J. Campistol^{3,4}, A. Ribes^{3,5}, F. Palau^{2,3}, R. Artuch^{1,3}, J. Armstrong^{2,3}. ¹Departamento de Bioquímica Clínica, Institut d'Investigació Sanitària Sant Joan de Déu, Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona, España. ²Departamento de Medicina Genética y Molecular, Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona, España. ³Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Instituto de Salud Carlos III. ⁴Departamento de Neurología, Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona, España. ⁵Institut de Bioquímica Clínica, Hospital Clínic i Provincial, Barcelona, España. Email: jarmstrong@hsjdbcn.org

En los últimos años, las nuevas tecnologías de secuenciación masiva (NGS) han permitido propulsar el diagnóstico genético, convirtiéndolo en más asequible y más rápido. Se ha diseñado un panel de genes causantes de errores congénitos del metabolismo (ECM) con el objetivo de evaluar y comparar la efectividad diagnóstica de la NGS en pacientes con sospecha clínica y bioquímica de ECM respecto aquellos pacientes sin biomarcadores específicos de la enfermedad. Los pacientes estudiados ($n = 146$) se han clasificado en dos categorías: Grupo 1 ($n = 81$), pacientes con sospecha clínica y bioquímica de ECM; Grupo 2 ($n = 65$), casos con sospecha clínica de ECM pero con biomarcadores inespecíficos o negativos. Se han evaluado 171 genes (aminoacidopatías, acidurias orgánicas, defectos de la beta-oxidación de los ácidos grasos, defectos neurometabólicos y defectos del metabolismo de las moléculas complejas) mediante la tecnología HaloPlex Target Enrichment System, y posterior secuenciación con Illumina (MiSeq). El 50 % (73/146) de los pacientes se han diagnosticado genéticamente; en un 8,2 % (12/146) solamente se ha encontrado una mutación o variantes de significado incierto; y en un 41,8 % (61/146) no se encontraron mutaciones. Respecto el grupo 1, la tasa diagnóstica fue del 78 % (63/81), con un descenso al 15,4 % (10/65) para el grupo 2 ($X^2 = 76,171$; $p < 0,0001$). El diagnóstico genético en nuestra cohorte de pacientes ha sido ágil y efectivo, especialmente en grupos de pacientes con sospecha diagnóstica clínica y bioquímica.

GH 9

THE ROLE OF SEROTONERGIC POLYMORPHISMS ON FREQUENT COMORBIDITIES IN ADULTS WITH ATTENTION DEFICIT/HYPERACTIVITY DISORDER

Müller D.¹, R.B. Cupertino¹, J.B. Schuch¹, A.E. de Castro¹, B.S. da Silva¹, V. Contini², E.H. Grevet³, C.H.D. Bau^{1,3}. ¹Departamentos de Genética e de Psiquiatria, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). ²Programa de Pós Graduação em Biotecnologia, Centro Universitário Univates, Lajeado, Brazil. ³Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. Email: dianamuller14@gmail.com

Serotonergic genes have been implicated in several psychiatric disorders. The *SLC6A4* and *HTR1B* genes were previously associated with Attention Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD), Major Depressive Disorder (MDD) and Generalized Anxiety Disorder (GAD). Thus, we evaluated the effect of polymorphisms on serotonergic genes *HTR1B* (rs11568817, rs130058, rs6296 and rs13212041) and *SLC6A4* (STin2) on ADHD and its most frequent comorbidities. The sample comprised 564 adults with ADHD and 649 blood donors without ADHD. Two *HTR1B* SNPs were genotyped by real time PCR (rs11568817 and rs13212041), other two by RFLP (rs6296 and rs130058), while STin2 *SLC6A4*VNTR by PCR followed by gel electrophoresis. Case-control analysis did not reveal any significant association of the investigated polymorphisms with ADHD. Within the ADHD sample, we observed significant effects of *HTR1B* SNPs on MDD (rs11568817, $P=0.012$; rs130058, $P=0.05$; rs13212041, $P=0.045$) and GAD (rs6296, $P=0.035$). Analyzing only women with ADHD, we found association of STin2 ($P=0.028$) with MDD; of rs11568817 ($P=0.013$), and rs6296 ($P=0.033$) with GAD; and of rs11568817 ($P=0.031$) with presence of any mood disorder. Overall, our findings strengthen the evidence for a serotonergic role in ADHD comorbidities and corroborate previous findings of sex-specific effects of serotonergic genes on mood disorders. These results may help to explain part of the clinical heterogeneity of psychiatric disorders, especially concerning mood disorders.

GH 10

DETECCIÓN DE EXPRESIÓN GÉNICA DIFERENCIAL EN MEMBRANAS FETALES EN PARTO PREMATURO SEVERO

Pereyra S.¹, B. Bertoni¹, R. Sapiro². ¹Departamento de Genética, Facultad de Medicina, Universidad de la República. ²Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. Email: spereyra@fmed.edu.uy

El parto pretérmino (PPT) (<37 semanas de edad gestacional) es la mayor causa de morbilidad y mortalidad perinatal a nivel mundial. Es de causa multifactorial, con una importante susceptibilidad genética. En el PPT se han identificado variantes génicas, en su mayoría relacionadas con mecanismos de inflamación y remodelación de la matriz extracelular. Sin embargo, se desconocen las vías metabólicas exactas involucradas para actuar en su prevención. En este estudio se determina el perfil de expresión génica del PPT mediante un análisis transcriptómico de membranas corioamnióticas. Se comparó la expresión génica en el parto espontáneo desencadenado a término y pretérmino severo (<33 semanas). Se analizó una muestra de 4 membranas corioamnióticas de partos a término y 4 de PPT severo colectadas en el Centro Hospitalario Pereira Rossell. Se realizó un secuenciado masivo de ARN y se analizaron los transcriptomas buscando genes diferencialmente expresados (DE). Se detectó un perfil transcriptómico característico de cada grupo con 1449 genes DE ($\log_{2}FC > 1$, $p < 0,05$) entre casos y controles. En el análisis de vías metabólicas y de ontología génica, se encontraron diferencias significativas en vías inflamatorias, señalización celular, apoptosis, y respuesta inmune, entre otras. Los resultados obtenidos permiten conocer los procesos metabólicos de importancia en el PPT y confirman el rol de la inflamación en su desencadenamiento. Con estos resultados buscamos caracterizar un perfil de expresión génica que sea distintivo del PPT para poder generar estrategias de diagnóstico y prevención.

GH 11

INTEGRACIÓN DE DATOS GENÓMICOS Y EPIGENÓMICOS EN LA DESCRIPCIÓN DE BIOMARCADORES DE RIESGO EN CÁNCER DE MAMA ESPORÁDICO

Brignoni L.¹, M. Cappetta¹, N. Artagaveytia², C. Bonilla³, B. Bertoni¹. ¹Departamento de Genética, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. ²Departamento Básico de Medicina, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. ³School of Social and Community Medicine, University of Bristol, Oakfield House, Oakfield Grove, Bristol BS8 2BN, UK. Email: luciabrignoni@gmail.com

El cáncer de mama en el Uruguay presenta la tasa de incidencia más alta de Latinoamérica. Los estudios realizados en nuestro país describen la variante familiar, que da cuenta solamente del 10 % de los casos. Al ser una enfermedad compleja, el abordaje de estudio debe considerar múltiples factores. Los CNVs han tomado cada vez mayor relevancia por presentar variantes estructurales patogénicas asociadas a diferentes tipos de enfermedad. Con el objetivo de determinar nuevos biomarcadores de riesgo, el presente estudio integra los datos obtenidos a partir de trabajos previos, corregidos por ancestría considerando la condición tri-híbrida de la población uruguaya. Se analizaron las muestras de 205 mujeres afectadas por cáncer de mama esporádico y 216 mujeres sanas para 141 SNPs en 98 genes candidatos. Utilizando una técnica de remuestreo *in silico*, corrigiendo por edad, sexo y estatus socioeconómico de manera independiente, se eliminó el sesgo presente en la muestra obtenida y se hallaron variantes para los genes *BRCA2*, *CCND3*, *CNTNAP2*, *ESR1*, *FGF2*, *VDR*, y la región 21q11.2 asociadas a cáncer de mama. Mediante análisis bioinformático de los resultados del microarreglo HumanMethylation450K BeadChip de las muestras de 24 pacientes y 11 controles utilizando el paquete ChAMP de R obtuvimos 1.187 CNVs diferenciales. Estos genes han sido descritos en la bibliografía, pero en conjunto con los datos de CNVs indican una estructura genómica de las pacientes propia de la población uruguaya.

GH 12

PADRÃO DE INATIVAÇÃO DO CROMOSSOMO X EM PACIENTES COM SÍNDROME DE TURNER E CROMOSSOMO X EM ANEL OU MARCADOR

Ruiz Lara G.V.¹, H.R. Luchiani¹, M.V. Galerani¹, J. Huber², F.B. Machado³, E.S. Ramos¹. ¹Departamento de Genética, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil. ²Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil. ³Laboratório de Biotecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Rio de Janeiro, Brasil. Email: gvruizlara@gmail.com

A inativação do cromossomo X ocorre ao acaso, nas mulheres, atingindo o cromossomo X paterno e materno em igual proporção. Na síndrome de Turner (ST), associada originalmente com o cariótipo 45,X, as pacientes podem apresentar outra linhagem celular contendo um segundo cromossomo X normal ou com alteração estrutural. Variações no padrão da inativação do X podem trazer consequências clínicas. O objetivo deste trabalho foi avaliar o padrão de inativação do cromossomo X em pacientes com ST e mosaicismos cromossômicos, contendo um cromossomo X em anel ou marcador. A análise citogenética foi realizada em 100 metafases e a presença de cromossomo Y foi excluída por PCR convencional. Foram analisados DNA de 10 mulheres com ST e duas sem a doença (controles). Foi realizado o ensaio de HUMARA, baseado na amplificação da região polimórfica (CAG) do gene *Receptor de Andrógeno (AR)* e de sítios reconhecidos pela enzima de restrição HpaII. Os resultados foram visualizados por eletroforese capilar para análise semi-quantitativa dos fragmentos amplificados. Seis (60 %) pacientes apresentaram valores acima de 80 % de metilação para um dos alelos, indicando a inativação preferencial de um dos cromossomos X. Nos controles e pacientes restantes (40 %) a metilação foi considerada normal (inativação ao acaso). Esta caracterização molecular traz contribuições para o entendimento sobre a inativação do cromossomo X com alterações estruturais bem como pode auxiliar em correlações clínicas.

GH 13

POSIBLE ROL DEL CO-REPRESOR TRANSCRIPCIONAL SKI EN LA REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE GENES RIBOSOMALES

Carrero D.¹, V. Pola¹, M. Meruane², K. Marcelain^{1,3}. ¹Programa de Genética Humana, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

²División de Cirugía Reconstructiva y Plástica, Clínica Tabancura.

³Centro de Investigación y Tratamiento del Cáncer, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Chile.

Email: dcarrero.bio@gmail.com

El co-represor Ski regula negativamente la expresión génica en diversas vías de señalización. Estudios previos muestran que en fibroblastos humanos (MRC5), Ski se localiza con un patrón distintivo en los brazos cortos de algunos cromosomas acrocéntricos. Con el objetivo de investigar si la localización de esta proteína se relaciona con una función reguladora de la expresión de los genes ribosomales. En este trabajo se evaluó mediante inmunofluorescencia indirecta la localización de esta proteína en las regiones NOR y en nucléolos. Las células estudiadas fueron fibroblastos de cultivo primario y de línea celular MRC5, además de células epiteliales de mama no transformadas y tumorales (MCF10a y MCF7 respectivamente). La localización de Ski en los promotores de los genes ribosomales fue evaluada mediante inmunoprecipitación de cromatina (ChIP). En todos los tipos celulares encontramos que, durante mitosis, Ski permanece asociado tanto a cromosomas con NOR que estuvieron activos en la interfase previa, como a aquellos NOR que no lo estuvieron. Sin embargo, en interfase, Ski permanece asociada un 52,7 % a nucléolos sólo en células no transformadas, mientras que no se encontró Ski en nucléolos de células transformadas. Estos resultados concuerdan con los ensayos de ChIP, los que muestran una asociación de Ski con el promotor de genes ribosomales sólo durante mitosis en células MCF7. Estos resultados sugieren un posible rol de Ski en la regulación transcripcional de los genes ribosomales, función que podría estar alterada en células transformadas.

GH 14

IDENTIFICACIÓN DE POLIMORFISMOS DE NUCLEÓTIDO ÚNICO EN GENES DE microRNA EN PACIENTES CHILENOS CON CÁNCER DE MAMA FAMILIAR

Landeros N.¹, P. Gonzalez¹, J. Tapia¹, L. Jara. ¹Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad Medicina, Universidad de Chile, Chile.

Email: natalialanderos@udec.cl

El cáncer de mama (CM) en Chile es la primera causa de muerte por cáncer en mujeres con una tasa de mortalidad de 15,5/100.000 mujeres. Pese a los esfuerzos por encontrar nuevos genes de susceptibilidad a CM todavía existe una gran parte de la etiología genética que permanece sin ser identificada. Se postula que una combinación desfavorable de alelos de moderada a baja penetrancia estarían dando cuenta del riesgo aumentado en CM en familias BRCA negativas. Los genes que codifican microRNAs (miRNAs) son considerados genes de baja penetrancia que regulan la expresión de una gran cantidad de genes relacionados con cáncer. El objetivo de este trabajo es identificar SNPs en genes miRNAs que se encuentran desregulados en CM. Se secuenciaron 8 pre-miRNAs y sus regiones flanqueantes: miR-10b, miR-125a, miR-145, miR-155, miR-195, miR-221, miR-335, miR-497 en 100 casos con CM pertenecientes a familias de alto riesgo y BRCA negativo. Encontramos 12 SNPs presentes en las regiones flanqueantes, 5 de los cuales presentan frecuencias alélicas mayores a las registradas en Hapmap para la población general. Se analizó *in silico* el efecto de los SNPs y 8 de ellos modifican la estructura secundaria de los pri-miRs, lo que podría alterar el procesamiento o la estabilidad del pri-miR. Estos resultados indican que estas variantes son buenos candidatos para ser evaluados en un estudio de asociación y posterior análisis funcional *in vitro* para evaluar el efecto de estos SNPs sobre la expresión del miRNA y sus dianas.

GH 15

ANÁLISIS CLÍNICO-RADIOGRÁFICO Y GENÉTICO-MOLECULAR DE FAMILIAS CHILENAS AFECTADAS CON AMELOGÉNESIS IMPERFECTA HIPOMADURA

Salazar A.^{1,3}, A. Ortega², D. Adorno², I. Morales¹, B. Urzúa¹.

¹Instituto de Investigaciones en Ciencias Odontológicas (ICOD), Facultad de Odontología, Universidad de Chile. ²Departamento de Patología y Medicina Oral, Facultad de Odontología, Universidad de Chile. ³Departamento de Patología y Diagnóstico, Facultad de Odontología, Universidad de Concepción, Chile.
Email: asalazar.roa@gmail.com

Las Amelogenesis Imperfecta (AI) son condiciones de origen genético que alteran el proceso de formación del esmalte, causando alteraciones en la estructura y apariencia clínica del tejido. Se agrupan clínicamente en 3 categorías: hipoplásicas, hipocalcificadas e hipomaduras. El objetivo fue analizar clínico-radiográfica y molecularmente probandos afectados con AI Hipomadura en 6 familias chilenas. Se examinaron intra y extraoralmente probandos y voluntarios de 6 familias chilenas. Se realizó un registro fotográfico y radiográfico. Además, mediante reacción en cadena de la polimerasa y secuenciación directa se analizaron los genes candidatos *WDR72* y *KLK-4*. Clínicamente, hubo un defecto generalizado de opacidad y transparencia del esmalte en los individuos afectados, con decoloraciones blancas, amarillentas y café en el esmalte. Radiográficamente, en todos los probandos el contraste entre dentina y esmalte se observó disminuido. Las características clínicas más frecuentes fueron: paladar ojival, maloclusiones, alteraciones de forma, caries y gingivitis. Hasta ahora, el análisis de las secuencias obtenidas indicó que los probandos no presentaban mutaciones descritas previamente ni tampoco nuevas variantes de secuencia en los genes analizados. Las características clínicas observadas corroboran el diagnóstico de AI Hipomadura en las familias analizadas. El análisis molecular sugiere que otros factores genéticos podrían ser responsables de AI Hipomadura en estas familias.

GH 16

REGIONES GENÓMICAS ASOCIADAS A CÁNCER DE COLON EN LA POBLACIÓN MEXICANA

Colistro V.C.^{1,2}, M.S. Sans². ¹Facultad de Medicina, UdelaR.

²Facultad de Humanidades y Ciencias de la Educación, UdelaR, Mnteviseo, Uruguay.

Email: valentinacolistro@gmail.com

Cáncer colorrectal (CRC) es común en ambos sexos y su incidencia ha aumentado en Latinoamérica en las últimas dos décadas. Estudios recientes han mostrado que polimorfismos de un único nucleótido (SNPs) pueden incrementar el factor de riesgo. Se ha demostrado la asociación del CRC con las regiones genómicas 8q23.3, 8q24.21, 10p14, 11q23.1, 15q14 y 18q21; si bien éstas explican <5 % del riesgo genético a CRC, su efecto combinado con otras variantes aún no detectadas puede ser mayor. Estudios de asociación de todo el genoma (GWAs), basados en poblaciones europeas, identificaron regiones genómicas asociadas a CRC pero estos estudios pueden no haber sido lo suficientemente amplios para detectar SNPs asociados a un riesgo relativo bajo o moderado. Las poblaciones mestizadas latinoamericanas son una buena oportunidad de identificar SNPs asociados a CRC no detectables en otras poblaciones. Nuestro objetivo es identificar SNPs asociados en genomas de individuos mestizados mexicanos y testear los SNPs previamente identificados. En el marco del proyecto CHIBCHA se colectaron muestras de 2.049 individuos (1.041 casos y 1.008 controles) de tres ciudades mexicanas, y se genotiparon 1.114.890 SNPs. El GWAS detectó 12 SNPs no previamente identificados. Se consideró el sesgo generado por la estructuración poblacional debida a la ancestría para evitar detectar asociaciones espúreas y se detectaron desvíos de lo esperado en las estimaciones de individuos emparentados.

GH 17

GLUCOCORTICOID RECEPTOR GENE AND DEPRESSION IN COCAINE ADDICTION

Rovaris D.L.^{1,3}, A.P. Aroche¹, B.S. da Silva¹, D.B. Kappel¹, J.C. Pezzi², M.L. Levandowski³, A.R.B. Hess⁴, J.B. Schuch¹, R.M.M. de Almeida⁴, R. Grassi-Oliveira³, C.H.D. Bau¹. ¹Department of Genetics, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil. ²Postgraduate Program in Health Sciences, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Brazil. ³Developmental Cognitive Neuroscience Research Group (GNCD), Biomedical Research Institute (IPB), Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul, Brazil. ⁴Institute of Psychology, Laboratory of Experimental Psychology, Neuroscience and Behavior (LPNeC), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.
Email: rovaris.diego@gmail.com

Crack cocaine addicted in patients that present more severe withdrawal symptoms also exhibit higher rates of depressive symptoms. Since depression has been associated to dysregulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, this study evaluated the effects of SNPs in stress-related genes on depressive symptoms of crack cocaine addicts at early abstinence and over the detoxification treatment (4th, 11th and 18th day post admission). Also, the role of these SNPs on the re-hospitalization rates after 2.5 years of follow-up was studied. One hundred eight-two women were enrolled and eight SNPs in four genes (*NR3C2*, *NR3C1*, *FKBP5* and *CRHR1*) were genotyped. A significant main effect of *NR3C1*-rs41423247 was found, where the minor G-allele increased depressive symptoms at early abstinence. This effect remained significant after 10,000 permutations to account for multiple SNPs tested ($P=0.0077$). There was no effect of rs41423247 on detoxification treatment, but a slight effect of rs41423247 at late abstinence was detected ($P=0.0463$). This analysis suggests that the effect of the CG genotype can be worse at early abstinence, while only GG genotype appears to increase depressive symptoms at late abstinence. Also, a slight effect of rs41423247 G-allele increasing the number of re-hospitalizations after 2.5 years was found ($P=0.0413$). These findings are in agreement with previous studies reporting an influence of rs41423247 on sensitivity to glucocorticoids and further elucidate its resulting effects on depressive-related traits.

GH 18

DIFERENCIAS DE INTERLEUCINA 6 EN LA PATOGENESIS DE LA ESTEATOSIS HEPÁTICA NO ALCOHÓLICA

Beloso C.¹, G. Romanelli¹, M. Pintos², S. Olivera³, M. Perendones², A. Mimbacas¹. ¹Genética Humana, Departamento Biodiversidad y Genética. ²Clínica Médica, Hospital Pasteur. ³Neurobiología Celular y Molecular, IIBCE, Montevideo, Uruguay.
Email: carobeloso@gmail.com

La esteatosis hepática no alcohólica es una enfermedad metabólica multifactorial caracterizada por la acumulación de grasa en el hígado en ausencia de consumo de alcohol. Actualmente, es considerada como una manifestación hepática del síndrome metabólico. Su prevalencia aumenta junto con la epidemia de obesidad. En su patogénesis se la puede clasificar desde estadios leves como esteatosis simple (ES) hasta estadios más graves como esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) y cirrosis. La citoquina IL-6 está involucrada en procesos de inflamación y respuesta inmune y participa en el proceso patogénico de la enfermedad. El alelo G del SNP-174G/C en el gen de la IL-6 se asocia con estadios más graves de la enfermedad. El objetivo de este trabajo es analizar los niveles de IL-6 en nuestra población realizando un estudio de casos y controles para comprobar si existe relación de los genotipos de IL-6 en la EHNA. Las medidas de IL-6 se evaluaron en sueros de 35 casos y 21 controles mediante ELISA y la genotipificación del SNP con Sondas Taqman®. Las medidas de IL-6 determinadas fueron: 25,4 pg/ml \pm 7,8 para los pacientes y 3,4 pg/ml \pm 1,2 para los controles, p valor $\leq 0,02$. Los genotipos encontrados en los pacientes con EHNA *vs.* ES fueron: 5 G/G+G/C y 1 C/C *vs.* 24 G/G+G/C y 5 C/C. Este estudio refleja que existen diferencias estadísticamente significativas entre ambas poblaciones en los niveles de IL-6 determinando la existencia de un proceso inflamatorio patogénico y a su vez en los pacientes con EHNA existe una tendencia a perder el alelo minoritario (alelo C).

GH 19

INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS EN LA PREVALENCIA DE ANEMIA EN NIÑOS DE SALTO

Russo S.¹, J. da Luz¹. ¹Laboratorio de Genética Molecular Humana, CENUR Litoral Norte-sede Salto, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.
Email: jdal@fmed.edu.uy

La anemia es la disminución de la concentración de hemoglobina en los glóbulos rojos. Aproximadamente un 25 % de la población mundial está afectada de esta condición. Mujeres embarazadas y niños son los más vulnerables debido al alto requerimiento de hierro vinculado. La anemia puede ser producida por factores ambientales, genéticos y la interacción entre ambos. Las principales causas de anemia son: 1) deficiencia de hierro; 2) enfermedades crónicas; 3) deficiencias en otros micronutrientes; y 4) enfermedades hereditarias del glóbulo rojo. Aunque más del 50 % de las anemias pueden explicarse por déficit de hierro, variantes en los genes involucrados en el metabolismo del hierro (TMPRSS6, TF, RfT2, HFE) y las alfa y beta talasemias pueden explicar un porcentaje de las anemias. Nuestro objetivo es analizar la relación entre variantes en los genes previamente mencionados, con la prevalencia de anemia y déficit de hierro en niños de entre 6 meses y 4 años de Salto. La prevalencia de anemia observada en una muestra de 240 niños fue de 22,5 % determinada por punción del pulgar. En una muestra de ADN de 142 niños con y sin anemia, 5,2 % presentaron alfa talasemia, mientras que en la muestra con anemia, el 8,3 %. Las frecuencias de portadores de las variantes H63D y C282Y fueron 3,5 % y 22,4 % respectivamente en toda la muestra y de 0 y 10 % en la muestra con anemia. Al momento estamos analizando las variantes en los restantes genes. Los resultados preliminares indican que las variantes genéticas analizadas tienen un rol importante en la presencia-ausencia de anemia en esta población.

GH 20

EFFECTO DE LA ACUMULACIÓN DE PRODUCTOS FINALES DE GLICACIÓN AVANZADA (AGES) EN LA MEMBRANA BASAL SOBRE LOS ACINOS PROSTÁTICOS GLANDULARES

Chiale C.¹, G. Etchandy¹, M. Rodríguez-Teja¹. ¹Facultad de Medicina, UdelAR, Montevideo, Uruguay.
Email: mercedesrodriguez@fmed.edu.uy

El cáncer de próstata es el tumor con mayor incidencia en hombres mayores de 65 años, siendo la edad el principal factor de riesgo para desarrollar esta enfermedad. A lo largo de la vida, el tejido prostático sufre un progresivo crecimiento y endurecimiento, variando las propiedades visco-elásticas de la matriz que contiene al acino glandular. Se ha visto que la pérdida de elasticidad del tejido prostático se debe a la acumulación de productos finales de glicación avanzada (AGEs) en la membrana basal de los acinos glandulares. La acumulación de estos productos genera fuerzas tensionales sobre la superficie de la célula epitelial, desencadenando una transición de un fenotipo epitelial a uno mesenquimal con características pro-tumorigénicas. En este trabajo nos planteamos determinar si las señales activadas por la acumulación de AGEs en la membrana basal modulan la expresión de genes esenciales para la adhesión célula-célula (por ejemplo: E-cadherina), célula-membrana basal (por ejemplo: integrina $\beta 1$) y contractilidad celular (por ejemplo: cadena liviana de miosina). Para ello utilizamos un modelo de cultivo en 3D de acinos glandulares prostáticos, los cuales se generan sobre una membrana basal nativa o rica en AGEs. Luego de la extracción del ARN mensajero de los cultivos, los cambios en la expresión génica serán determinados mediante una retro transcripción-PCR cuantitativo. Conocer como el ambiente envejecido rico en AGEs regula estos genes es importante para comprender las causas que contribuyen con el inicio del cáncer prostático.

GH 21

ASOCIACIÓN ENTRE ANCESTRÍA Y MORBI-MORTALIDAD EN LA POBLACIÓN CHILENA

Canals A.¹, S. Alvarado¹, R. Verdugo², L. Herrera², E. Barozet³, A. Blanco², A. Cortez⁴, L. Cifuentes². ¹Programa de Salud Ambiental, Escuela de Salud Pública, Universidad de Chile. ²Programa de Genética Humana, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ³Departamento de Sociología, Facultad de Ciencias Sociales, Universidad de Chile. ⁴Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Chile.
Email: andreacanals@gmail.com

El estudio de la relación entre la ancestría y la morbi-mortalidad de la población chilena permite la identificación de poblaciones de riesgo y factores etiológicos genéticos y ambientales de las enfermedades. El objetivo de este estudio es evaluar la relación entre la ancestría de subpoblaciones chilenas y sus tasas de mortalidad y egresos hospitalarios por cáncer de estómago, vesícula biliar, mama, colon, próstata y diabetes mellitus tipo II. Se realizó un estudio ecológico de la relación entre la ancestría amerindia (completa y separada en Mapuche y Aymara), obtenida de información de 2.796 chilenos que participaron en el Proyecto ChileGenómico, y las tasas de mortalidad y de egresos hospitalarios por 100.000 habitantes, en distintas regiones de Chile. Se utilizaron modelos de Poisson y se ajustó por el nivel socioeconómico. Se encontró un efecto protector de la ancestría amerindia en los egresos por cáncer de mama, colon y próstata. La ancestría amerindia demostró ser un factor de riesgo para la diabetes mellitus tipo II, con un aumento de al menos 57,6 % en la tasa de egresos por cada unidad de aumento en la mediana de la ancestría amerindia de la región. Para los egresos por cáncer de vesícula, se encontró un efecto protector del componente Aymara. Existe un efecto importante de la ancestría amerindia en la población chilena en la morbilidad por diabetes mellitus tipo II, cáncer de estómago, vesícula biliar, mama, colon y próstata, aún ajustando por el efecto del nivel socioeconómico.

GH 22

EFFECTS OF THE SEROTONIN TRANSPORTER STIN2 VNTR ON ALCOHOL DEPENDENCE SUSCEPTIBILITY

de Castro A.E.¹, R.B. Cupertino¹, C.E. Bandeira¹, D. Müller¹, J.B. Schuch¹, N.R. Mota¹, E.H. Grevet², C.H.D. Bau^{1,2}. ¹Departamento de Genética, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil. ²Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brazil.
Email: alana.castro@ufrgs.br

The serotonin system is associated with mood disorders and impulsivity. The serotonin transporter is encoded by *SLC6A4* gene and may influence alcohol intake. Along this gene, STin2 is described as a functional VNTR polymorphism of 17 bp, in intron 2, with three main alleles (9, 10 and 12 repeats); 9 repeats is the less frequent among these (<1 %). This polymorphism acts as transcriptional regulator, thus might be associated with psychiatric disorders by signaling alteration. The study's aim is to evaluate the effects of STin2 in Alcohol Dependence (AD) susceptibility and personality. The sample comprised 113 adult men with AD and 286 blood donors. STin2 was genotyped by PCR followed by agarose gel electrophoresis. Personality scores were assigned from Tri-Dimensional Personality Questionnaire (TPQ) and Sensation Seeking Scale (SSS). Case-control analysis showed that the 12/12 genotype ($p = 0.006$; OR = 1.863) confers increased risk for AD when compared to 10 carriers. Furthermore, alcohol dependents with STin2 12/12 genotype showed increased scores on the Sensation Seeking ($p = 0.001$), Experience Seeking ($p = 0.001$) and Thrill and Adventure Seeking ($p = 0.016$) scales from SSS and also on Novelty Seeking scale ($p = 0.024$) from TPQ. Results corroborate previous findings indicating an important role of STin2 on behavior phenotypes. Furthermore, the effects of STin2 on personality measures observed might indicate an underlying mechanism whereby STin2 could influence psychiatric disorders or, at least, to AD in men. Further studies are needed, in order to explore such perspective.

GH 23

FARMACOGENÉTICA DE LA TOXICIDAD PRODUCIDA POR 6-MP Y MTX EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA

Soler A.M.¹, A. Giletti², P. Esperón², J.A. da Luz¹. ¹Laboratorio de Genética Molecular Humana, CENUR Litoral Norte-Sede Salto, Universidad de la República, Salto, Uruguay. ²Departamento de Biología Molecular, Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.
Email: anamasoler@gmail.com

En Uruguay, cerca del 80 % de los pacientes con leucemia linfoblástica aguda (LLA) del Servicio de Hemato-Oncología Pediátrica (SHOP) del Centro Hospitalario Pereira Rosell alcanzan la remisión completa con la poliquimioterapia convencional. Debido al estrecho rango farmacológico y a la acción inespecífica de los fármacos utilizados, un porcentaje importante de los pacientes presentan efectos adversos, que obligan a suspender o reducir la dosis. Las variantes génicas de las enzimas involucradas en la distribución y el metabolismo de la 6-mercaptopurina y del metotrexato, fármacos de la fase de mantenimiento de la terapia anti-LLA, juegan un rol importante en los efectos adversos. El objetivo de este trabajo fue analizar variantes de los genes TPMT, ITPA, MTHFR, TYMS y RFC, y determinar su relación con la toxicidad. Para ello, se utilizaron técnicas de PCR, PCR-RFLP y secuenciación en un total de 100 pacientes. La toxicidad se evaluó durante la fase de mantenimiento, mediante la cantidad de eventos de toxicidad hematológica, el número de semanas de reducción y suspensión de dosis, y la dosis acumulada. Aproximadamente, el 14 % de los pacientes fueron heterocigotos para alguno de los alelos de deficiencia del gen TPMT. Los análisis indican una asociación significativa ($p < 0,05$) entre la presencia de variantes de este gen y los eventos de leucopenia y las semanas de suspensión del tratamiento. Esta asociación se mantiene incluso luego de excluir de la muestra a los pacientes con Síndrome de Down, generalmente asociado a una mayor toxicidad hematológica.

GH 24

EFFECTS OF SNARE COMPLEX POLYMORPHISMS ON ALCOHOL DEPENDENCE SUSCEPTIBILITY

Bandeira C.E.¹, R.B. Cupertino¹, A.E. de Castro¹, J.B. Shuch¹, B.S. da Silva¹, D. Müller¹, D.B. Kappel¹, C. Winkler¹, N.R. Mota¹, E.H. Grevet², C.H.D. Bau¹. ¹Departamento de Genética da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil. ²Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil.
Email: cibeledom@gmail.com

Proteins forming the SNARE (Soluble NSF-Attachment Protein Receptors) complex are essential for adequate neurotransmitter release, and polymorphisms in the genes coding for such proteins have been studied regarding psychiatric disorders, as Alcohol Dependence (AD). We aim to test main effects and interactions of polymorphisms in genes encoding SNARE complex – SNAP25 (rs6108461 and rs8636); STX1A (rs2228607); VAMP2 (26 bp Ins/Del) – and its regulatory protein – SYT1 (rs1880867 and rs2251214) on AD. The sample comprised 115 adult men with AD and 308 controls. Major findings were further assessed through a replication sample of 278 men with Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD), screened for AD. All individuals were of European descent. SNPs were genotyped by real time PCR, while VAMP2 26 bp Ins/Del was genotyped by PCR followed by agarose gel electrophoresis. Case-control analyses were performed using binary logistic regression applying a backward stepwise elimination procedure in order to obtain a final model only with significant variables, considering age as covariate. A significant effect on AD was observed for VAMP2 26 bp Ins/Del ($p = 0.029$), as well as an interaction effect of STX1A rs2228607 and SNAP25 rs8636 SNPs ($p = 0.018$). These results were replicated in the ADHD sample ($p = 0.009$ for VAMP2 26 bp Ins/Del and $p = 0.037$ for STX1A/SNAP25 interaction effect). Our findings support previous associations of SNARE complex on psychiatric disorders and highlight the importance of considering potential epistasis on AD susceptibility.

GH 25

ASSOCIATION OF CR1 POLYMORPHISMS, SERUM LEVELS OF CR1 PROTEIN AND MRNA EXPRESSION WITH ENDEMIC PEMPHIGUS FOLIACEOUS

Oliveira L.C.¹, G.C. Kretzschmar¹, R.M. Nishihara², D.G. Augusto¹, M.L. Petzl-Erler¹, A.B.W. Boldt^{1,2}. ¹Laboratório de Genética Molecular Humana, Departamento de Genética, UFPR. ²Laboratório de Imunopatologia Molecular, Hospital de Clínicas, UFPR, Brazil.
Email: luanacaroline.oliveira@hotmail.com

Pemphigus foliaceus (EPF) is an autoimmune disease endemic in Brazil, characterized by epidermal blisters and autoantibodies against desmoglein-1. Complement receptor 1 (CR1) regulates the complement system by destabilizing C3 and C5 convertases, preventing tissue injury. In order to evaluate if there is an association between common *CR1* polymorphisms (SNPs) and the susceptibility to EPF, we developed multiplex sequence-specific PCR assays and simultaneously haplotyped nine SNPs including rs2274567 (p.His1208Arg) in exon 22, rs3737002 (p.Thr1408Met) in exon 26, and rs17047660 (p.Lys1590Glu) in exon 29. We also measured the expression of soluble CR1 (sCR1) in 27 controls and 53 EPF patients and mRNA levels in 63 controls. We identified 13 haplotypes. Genotype distribution was in Hardy and Weinberg (HW) equilibrium in both groups. The *GTATCTACA* haplotype may have a protective effect against development of the disease ($P=0.02$, $OR=0.66$). Among patients with active disease, those under treatment had higher sCR1 serum levels than those prior to treatment ($P=0.02$). Among patients under treatment, those with localized lesions had higher sCR1 levels than those having generalized disease ($P=0.0004$). Carriers of the *GCATCTACA* haplotype allele presented lower mRNA expression ($p=0.02$). The results lead us to suggest that *CR1* haplotypes may modulate gene expression and susceptibility to EPF. Furthermore, corticoid treatment seems to increase sCR1 serum level, and higher sCR1 levels may play a protective role in individuals with EPF.

GH 26

LACK OF ASSOCIATION BETWEEN TCF7L2 GENE VARIANTS AND TYPE 2 DIABETES MELLITUS IN A BRAZILIAN SAMPLE OF PATIENTS WITH CARDIOVASCULAR DISEASE

Dornelles T.F.¹, C. Wünsch², P. Girardi², M.E. Arndt³, J.P. Genro^{2,4}, V. Contini^{1,2}. ¹Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Centro Universitário UNIVATES, Lajeado, RS, Brasil. ²Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Centro Universitário UNIVATES, Lajeado, RS, Brasil. ³Serviço de Hemodinâmica, Hospital Bruno Born, Lajeado, RS, Brasil. ⁴Programa de Pós-Graduação em Biociências, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil.
Email: veronica.contini@gmail.com

Genetic variants in the transcription factor 7-like 2 (*TCF7L2*) gene, particularly rs7903146 (C/T) and rs12255372 (G/T), have been described as the most noteworthy ones regarding type 2 diabetes mellitus (T2DM) susceptibility. The aim of this work was to evaluate the association between rs7903146 and rs12255372 polymorphisms and T2DM in a sample of patients with cardiovascular disease (CAD) risk. Six hundred and forty-seven unrelated patients that underwent cardiac catheterization were recruited in the Cardiac Catheterization Lab of the Hospital Bruno Born, Lajeado, RS, Brazil. All participants included in this study signed an informed consent form. Peripheral blood was drawn for biochemical analysis and DNA extraction. Patients were investigated for the presence of T2DM, coronary stenosis and were classified in a global risk score for CAD. The *TCF7L2* polymorphisms were genotyped by real time PCR and the haplotype analysis was performed using the MLOCUS software. All genetic analyses were carried out considering the haplotype combinations, so the patients were distributed in three groups: 0 - absence of risk alleles, 1 - carriers of one or two risk alleles and 2 - carriers of three or four risk alleles. No significant associations between *TCF7L2* risk haplotypes and the presence of T2DM or CAD were detected. Altogether, our results suggest that the *TCF7L2* rs7903146 and rs12255372 polymorphisms are not associated with the presence of T2DM in Brazilian patients with CAD.

GH 27

TENASCIN MAY PLAY A ROLE IN ANTERIOR CRUCIATE LIGAMENT TEARS

Loyola L.C.^{1,2}, M.F. Leal^{1,2}, G. Arliani², D. Astur², C. Franciozi², P. Debieux², M. Smith¹, A. Pochini², C. Andreoli², B. Ejnisman², C. Cohen². ¹Morfología e Genética, Universidade Federal de São Paulo, Brazil. ²Ortopedia e Traumatologia, Universidade Federal de São Paulo, Brazil.

Email: loyolaleoysa@gmail.com

Anterior cruciate ligament (ACL) and medial meniscus (MM) injuries are common knee disorders in young and athletic population. Recent studies suggested that these injuries may be considered multifactorial diseases. The extracellular matrix homeostasis is critical to the maintenance of joint tissues structural and function. TNC and TNXB, are important extracellular matrix proteins in ACL and MM. Thus, we aimed to evaluate whether the rs2104772 (*TNC*), rs185819 and rs1009382 (*TNXB*) DNA polymorphisms were associated with the risk of ACL and MM tears. Additionally, we evaluated the mRNA expression of *TNC* and *TNXB* genes in injured and non-injured knee tissue samples. We analyzed DNA samples of 209 individuals with ACL tear and paired 351 controls, 153 individuals with MM tear and paired 247 controls. *TNC* and *TNXB* expression were evaluated in 43 tissue samples of ACL tear, 16 control samples, 43 samples of MM tear and 15 control samples. The frequencies of genotypes were in Hardy-Weinberg equilibrium. The CT genotype in rs1009382 was a protect factor to ACL injury ($p=0.045$). Individuals with TT genotype in rs185819 had reduced risk to ACL tears ($p=0.005$) and to MM injury ($p=0.038$). However, we did not observed a significant association between the rs185819 and the risk of MM lesions when we included only MM tears patients without combined ACL injury in the statistical analysis. Moreover, *TNXB* expression was reduced in injured ACL compared to control samples ($p<0.001$). Thus, *TNXB* genetic variants and its deregulated expression may play a role in ACL tears.

GH 28

FRECUENCIA DE POLIMORFISMOS EN GENES IMPLICADOS EN DETOXIFICACIÓN DE CARCINÓGENOS DEL TABACO EN UNA POBLACIÓN COLOMBIANA

Paz-Egas C.¹, C. Fong¹, L. Cifuentes-C¹. ¹Grupo GIOD, Universidad Cooperativa de Colombia (UCC), Sede Pasto, Colombia.

Email: laura.cifuentesc@campusucc.edu.co

El tabaquismo es responsable de al menos 30 % de todas las muertes por cáncer. Fumar aumenta el riesgo de cáncer de cavidad oral, faringe, laringe, pulmón, entre otros. De los fumadores sólo una parte desarrolla cáncer, lo cual sugiere que la susceptibilidad a esta enfermedad puede deberse a variaciones en la habilidad para metabolizar procarcinógenos del tabaco. El metabolismo de carcinógenos implica una variedad de enzimas, entre ellas Citocromo P450 (CYP) y glutatión S-transferasa (GSTs); polimorfismos en los genes que las codifican parecen ser responsables de diferencias en susceptibilidad individual a cáncer. En este trabajo evaluamos en 100 individuos del Sur-Occidente Colombiano los polimorfismos CYP1A-*mspI* y CYP2E1-*PstI* por PCR-RFLP, y los polimorfismos correspondientes a la delección del gen GSTM1 y del gen GSTT1 por PCR. Encontrando para esta población una alta frecuencia del genotipo *m1m1* para CYP1A1 y del genotipo *c1c1* para CYP2E1. Se evidenció una frecuencia importante de alelos asociados con una mayor actividad enzimática (CYP1A1-*m2* y CYP2E1-*c2*) y de alelos nulos que conllevan a pérdida total de la actividad enzimática (GSTM1*0 y GSTT1*0), estos alelos pueden alterar la susceptibilidad al desarrollo de cánceres asociados al consumo de tabaco. Este trabajo contribuye a entender la susceptibilidad genética de la población colombiana al desarrollo de cánceres mediados por exposición a tabaquismo, el conocimiento de la estructura genética de la población es de suma importancia para la generación de estudios de asociación en individuos con este tipo de neoplasias.

GH 29

EVALUACIÓN GENÉTICA DE PACIENTES CON ATROFIA MUSCULAR ESPINAL EN EL NORTE DE ARGENTINA

Visich A.A.¹, P.C. Guzmán¹, M.A. Plaza², M. Marchese^{1,2}, M.A. Echalar¹, J. Dipierrri¹. ¹Fundación de Genética Biogen, Salta, Salta, Argentina. ²HPMI.
Email: avisich@biogen.org.ar

La Atrofia Muscular Espinal (AME) es una enfermedad neuromuscular, autosómica recesiva letal (incidencia: 1/10.000 nacidos vivos y frecuencia de portadores: 1/50). El gen responsable “Survival Motor Neuron” (5q11.1-13.3), está presente en múltiples copias: una telomérica (SMN1) y varias centroméricas (SMN2). El 95 % de los afectados evidencian delección homocigota del SMN1. Objetivos: Comunicar los resultados del estudio molecular de AME del norte de Argentina. Destacar la trascendencia de los estudios moleculares y la importancia del trabajo multidisciplinario para el diagnóstico precoz. Metodología: Estudio directo de SMN1 y SMN2 por PCR-RFLP y análisis indirecto de marcadores C212 y C272. Resultados: Analizamos 15 familias con AME (6 afectados femeninos y 9 masculinos). La edad al diagnóstico fue 1 mes a 12 años. Las características clínicas coincidieron con la bibliografía. En 12 (80 %) pacientes se confirmó la delección homocigota (exón 7 y 8) del SMN1 y en 3 (20 %) delección (exón 7) del SMN1. El haplotipo C212 y C272, permitió detectar 2 hermanos portadores, 1 sano y en una familia el diagnóstico prenatal de un feto sano. Conclusiones: Este trabajo representa el 1er análisis de las bases moleculares de la AME en el norte de Argentina. El estudio genético resulta un excelente método para confirmar con certeza el diagnóstico de AME por su alta sensibilidad (95 %) y especificidad (99 %), evitando métodos cruentos (biopsia muscular). La combinación de métodos directos e indirectos permiten el correcto asesoramiento familiar, la identificación de portadores y el diagnóstico prenatal.

GH 30

ANÁLISIS DEL NÚMERO DE REPETIDOS CGG EN EL GEN FMR1 (CAUSANTE DEL SÍNDROME DE X FRÁGIL) Y SUS FENOTIPOS ASOCIADOS EN FAMILIAS URUGUAYAS

Pi-Denis N.¹, M. Boidi¹, L. Pastro¹, I. Amorín², A. Tapié¹, R. Buzó², A. Lescano², V. Raggio¹, L. Roche¹. ¹Departamento de Genética, Facultad de Medicina. ²Instituto de Neurología, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina. ³Laboratorio de Interacciones Moleculares, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Uruguay.
Email: natalia.pidenis@gmail.com

Se estima que entre 1-3 % de la población mundial presenta discapacidad intelectual (DI), siendo el síndrome de X frágil (SXF) la causa más frecuente de DI hereditaria en varones y la principal enfermedad monogénica asociada al autismo. El SXF tiene una incidencia de 1 en 5.000 varones y 1 en 2.500-8.000 mujeres y es causado por la expansión de una secuencia repetida CGG en la región no traducida del exón 1 del gen FMR1, localizado en el cromosoma X. El número de repetidos es altamente polimórfico en la población y se clasifican en 3 variantes alélicas: i) Alelos normales entre 6 y 44 repetidos CGG; ii) Alelos premutados entre 52 y 200 repetidos CGG, iii) Alelos con mutación completa, más de 200 repetidos CGG. Este alto número de repetidos se asocia con la metilación de la isla CpG en la región 5' UTR de FMR1, lo que reprime su transcripción y resulta en la ausencia de la proteína FMRP. En el presente estudio analizamos cuatro familias con historia familiar de retardo mental ligado al X y adultos mayores con clínica de temblor y ataxia. El número de repetidos se determinó por PCR largo modificado, que permite discriminar a los varones premutados y mujeres heterocigotas normales y premutadas; complementándose con secuenciación en las mujeres aparentemente homocigotas. Para determinar expansiones mayores se realiza un PCR con cebadores fluorescentes y electroforesis capilar y/o Southern Blot. Los resultados de este proyecto permitirán correlacionar el fenotipo-genotipo en individuos afectados y premutados. Asesoramiento genético y el diagnóstico precoz en las familias afectadas.

GH 31

ANCESTRÍA E INFERTILIDAD: ASOCIACIÓN ENTRE HAPLOGRUPOS DEL CROMOSOMA Y Y PARÁMETROS ESPERMÁTICOS EN HOMBRES CON INFERTILIDAD IDIOPÁTICA

Mut P.^{1,2}, F. Skowronek³, T. Velazquez¹, G. Figueiro², M. Sans², B. Bertoni¹, R. Sapiro³. ¹Laboratorio de Epidemiología Genética, Facultad de Medicina, Universidad de la República. ²Departamento de Antropología Biológica, Facultad de Humanidades y Ciencias de la Educación, Universidad de la República. ³Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Uruguay. Email: mut.patricia@gmail.com

La infertilidad es considerada una enfermedad compleja en aumento en las sociedades desarrolladas. Dada la importancia de la estructura del cromosoma Y en el desarrollo gonadal masculino y en la espermatogénesis se han llevado a cabo estudios de la misma como posible determinante de la infertilidad en el varón. Estos estudios han encontrado asociación entre haplogrupos del cromosoma Y y diferentes fenotipos de infertilidad. Con el objetivo de estudiar la contribución de la ancestría en la infertilidad masculina se llevó a cabo un estudio exploratorio de caso-control para 120 hombres infértiles y 154 fértiles de la población uruguaya. Se analizó la distribución de los haplogrupos del cromosoma Y y del ADN mitocondrial en ambos grupos y su asociación con los parámetros espermáticos. No se observaron diferencias en la distribución de haplogrupos del cromosoma Y entre casos y controles. Ambos grupos están representados por un fuerte componente europeo y se destaca la ausencia de haplogrupos nativo-americanos en ambos grupos. Tampoco se encontraron diferencias en la distribución de haplogrupos mitocondriales entre casos y controles, y sus frecuencias coinciden con las reportadas previamente para Uruguay. Con respecto al estudio de los parámetros espermáticos, se observó una asociación entre morfología espermática anormal y hombres pertenecientes al haplogrupo F (xK) del cromosoma Y. Algunos SNPs que caracterizan el haplogrupo F se encuentran cercanos a genes candidatos de infertilidad, por lo que su herencia conjunta se plantea como una posibilidad a explorar en el futuro.

GH 32

A VITAMIN D PATHWAY GENE-GENE INTERACTION AFFECTS LDL CHOLESTEROL LEVELS

Grave N.¹, L. Tovo-Rodrigues², J. Silveira¹, D.L. Rovariz³, S.M. Dal Bosco¹, V. Contini¹, J.P. Genro^{1,4}. ¹Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Centro Universitário UNIVATES. ²Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia, Universidade Federal de Pelotas. ³Departamento de Genética, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. ⁴Programa de Pós-Graduação em Biociências, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Brazil. Email: juliag@ufcsa.edu.br

Much evidence suggests an association between vitamin D deficiency and chronic diseases such as obesity and dyslipidemia. Although genetic factors play an important role in the etiology of these diseases, only a few studies have investigated the relationship between vitamin D related-genes and anthropometric and lipid profiles. The aim of this study was to investigate the association of three vitamin D-related genes *VDR* (rs2228570), *RXRG* (rs2134095), and *GC* (rs7041) with anthropometric and lipid parameters in adult individuals. Anthropometric (body mass index, waist-to-hip ratio, and body fat) and lipid (total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, and triglycerides) parameters were evaluated in 542 individuals. Polymorphisms were genotyped by TaqMan™ allelic discrimination. Gene-gene interactions were evaluated by the generalized linear model. We identified a significant effect of the interaction between *RXRG* (rs2134095) and *GC* (rs7041) on LDL cholesterol levels ($P=0.005$). Furthermore, our *in silico* analysis suggested a functional role for both variants in the regulation of the gene products. Our results suggest that the vitamin D related-genes, *RXRG* and *GC*, affect LDL cholesterol levels. These findings are in agreement with other studies that consistently associate vitamin D and lipid profile. Taken together our results corroborate the idea that gene-gene interaction would be helpful to clarify the genetic component of lipid profile.

GH 33

DISCOVERY OF GENE NETWORKS IN MONOCYTES RESPONDING TO CHANGES IN BLOOD LEVELS OF HDL CHOLESTEROL AND TO SMOKING BEHAVIOR

López P.A.¹, F.A. Medina¹, A. Sepulveda¹, K. Orostica¹, H. Weidmann^{2,7}, T. Zeller², M. Rotival³, P.S. Wild^{4,5}, T. Münzel⁴, K.J. Lackner⁶, E. Ninio⁷, D.A. Trégouët⁷, F. Cambien⁷, S. Blankenberg², L. Tiret⁷, R.A. Verdugo¹. ¹Programa de Genética Humana, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Chile. ²Department of General and Interventional Cardiology, University Heart Center Hamburg, Germany. ³Hammersmith Hospital, Imperial College London, UK. ⁴Department of Medicine II, University Medical Center Mainz, Germany. ⁵Center for Thrombosis and Haemostasis, Clinical Epidemiology, University Medical Center Mainz, Germany. ⁶Institute for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, University Medical Center Mainz, Germany. ⁷INSERM UMR_S 937, Pierre and Marie Curie, Paris, France. Email: plopez13@ug.uchile.cl

Smoking behavior is one of the main risk factors on atherosclerosis development, and it has been associated with atherogenic changes in HDL levels. The aim of this study is to identify gene networks in monocytes, whose expression may explain the effects of HDL levels, smoking behavior or their interaction. We tested graphical models of causality on 17,186 genes expressed in monocytes from 1,466 participants of the Gutenberg Health Study. There were 3,725 genes was associated with either HDL, 4,002 with smoking and 1,314 to both (FDR<0.1). In this sample, HDL levels were lower in males and in smokers. Independent component analysis (ICA) identified 44 components high stability across in 500 runs. Of these 8 independent patterns of expression were directly connected to HDL cholesterol levels and/or smoking behavior in a Bayesian Network analysis. The gene pattern 31 stands out as the only pattern mediating effects from smoking to HDL. The gene module associated to pattern 31 contained five genes directly connected to smoking: COL8A2, FPR3, NOTCH1, PPARG and WWC3. COL8A2 gene is expressed in monocytes in endothelium or within mural thrombi and is associated with anti-atherogenic effects and PPARG gene has been associated with regulation of cholesterol uptake and efflux and smoking behavior. We have tested the effects of exposure to Cd, a mayor toxic component of cigarette smoke, on the expression of PPARG and COL8A2 genes in cell cultures of primary macrophages, showing significant changes in the expression of COL8A2 gene.

GH 34

INFLUENCE OF HAPLOTYPE AND MUTATION OF HB S/BETA THALASSEMIA IN HEMOLYSIS MARKERS

Chaves N.A.¹, L.S. Torres¹, P.P. Nascimento¹, J.V. Okumura¹, E. Belini-Junior¹, C.L.C. Lobo², C.R. Bonini-Domingos¹. ¹Department of Biology, Hemoglobin and Hematological Genetic Diseases Laboratory, Sao Paulo State University (UNESP), Sao Paulo, Brazil. ²Institute of Hematology, Rio de Janeiro, RJ, Brazil. Email: nayara.chaves13@gmail.com

The combination of the sickle cell mutation and beta-thalassemia (β -tal) mutation gives rise to a compound heterozygous condition known as HbS β -tal. This association produces a spectrum of phenotypes, in which S β 0 individuals have more severe clinical manifestations than S β +tal. Clinical variation can be estimated using markers for hemolysis and haplotypes, both crucial for clinical of subjects with S β -tal. The objective is to relate the presence of mutations and haplotypes with hemolysis markers. Were analyzed eight samples of blood of subjects HbS β -tal, which were submitted to the genetic screening of the four mutations of β -tal: two mutations featuring β 0-tal (CD39 and IVS-I-I) and two mutations for β +tal (IVS-I-6 and IVS-I-110). We conducted the investigation of haplotypes of β globin these individuals and hemolysis markers, of which were used Reticulocytes, Lactate dehydrogenase (LDH), Aspartate Aminotransferase (AST) and Bilirrubina indirect. Of the eight individuals analyzed, four presented the S β 0-tal genotype (all with CD39) and four carried the S β +tal (three with the IVS-I-6 and one for IVS-I-110). All individuals had haplotype β S type Bantu, and the haplotype β TAL were found variation of types I, II, V and VII. Among the analyzes conducted for hemolysis markers was found difference only for the AST and that were related to the haplotypes Bantu/V and Bantu/VII. Of these, Bantu/VII presented twice levels high of AST than Bantu/V. It can be inferred that these haplotypes Bantu/V and Bantu/VII have more intense hemolysis than other haplotypes based on AST levels.

GH 35

BRCA1 AND BRCA2 NEXT GENERATION SEQUENCING WITH METHODOLOGICAL IMPROVEMENTS IN HBOC URUGUAYAN FAMILIES

Marqués J.M.¹, L. Repetto¹, L. Guggeri¹, E. García¹, M. Sapone², P. Esperon², A. Della Valle², C. Acevedo², F. Cardoso³, A. Solano³, C. Azambuja¹, A. Torres¹, F. Neffa^{2,4}. ¹GeniaGeo Biotecplaza Zonamérica Ruta 8, Km 17.500 Montevideo, Uruguay. ²Uruguayan Collaborative Group Montevideo, Uruguay. ³CEMIC, Departamento de Análisis Clínicos, Buenos Aires, Argentina. ⁴Genia, Bv Artigas 922, Montevideo, Uruguay.
Email: marques@geniageo.com

Among hereditary breast and ovarian cancer syndrome (HBOC), mutations in *BRCA1* or *BRCA2* genes, are considered the most prevalent cause. Probands from 50 families met 2015 NCCN high risk HBOC Testing Criteria. DNA samples were amplified using the BRCA1/2 Ampliseq Community Panel by multiplex PCR and libraries were sequenced on an Ion Torrent PGM. Standard Bioinformatics pipeline was modified with a different alignment argument to allow more accurate detection of small deletions next to the amplicons ends. Rearrangements were first analyzed by normalizing the coverage per amplicon and by comparing among samples of the same NGS run. We performed MLPA to all NGS negative samples. We registered classified pathogenic mutations in 12 samples (24 %): 7 in *BRCA1* and 5 in *BRCA2*. We observed only one exon deletion in exon 14 of *BRCA1* gen. The change in alignment arguments shows effectiveness in detecting heterozygous and homozygous polymorphic 4 bp deletion in intron 11 of *BRCA2* present at the end of an amplicon. NGS allows us to determine large rearrangements but has limitations to detect short deletions, while MLPA is able to robustly detect one short exon deletion. Finally, improvements had been made regarding a more comprehensive protocol to diagnose germline mutations. We had characterized 12 pathogenic mutations and interesting VUS, but the number of families waiting for molecular diagnose is still high. These non-mutated samples can be included in a panel with extended cancer related genes to try to resolve more cases.

GH 36

ESTUDIO DE ASOCIACIÓN DE LOS POLIMORFISMOS RS2383206, RS10757274 Y RS10757278 DE LA REGIÓN CROMOSÓMICA 9P21 EN INDIVIDUOS DEL ORIENTE DE VENEZUELA

Jimenez Y.¹, S. Flores-Gutierrez¹, M. Vivenes de Lugo², D. Castro de Guerra¹. ¹Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Centro de Medicina Experimental, Laboratorio de Genética Humana, Venezuela. ²Universidad de Oriente, Núcleo Sucre, Departamento de Bioanálisis. Cumaná, estado Sucre, Venezuela.
Email: dinorah_castro@hotmail.com

Estudios han revelado la asociación de un locus en el cromosoma 9p21 con trombosis arterial (TA). Objetivo: evaluar la asociación de 3 SNP en 9p21 (rs2383206, rs10757274, rs10757278) con TA, en una muestra poblacional de la región oriental (RO) de Venezuela. Se estudiaron 162 pacientes con TA y 151 individuos sin la patología, ambos grupos con padres y abuelos nacidos en la RO del país: estado Sucre (n= 75) y Anzoátegui (n= 238). La genotificación se realizó con sondas TaqMan y PCRtr, se calcularon las frecuencias alélicas, genotípicas y equilibrio HW con el programa Maxlik, se hizo análisis de riesgo y regresión logística multivariada utilizando el programa MedCalc versión 11.6.1.0. Las poblaciones estudiadas (Sucre y Anzoátegui) no mostraron diferencias significativas entre ellas y fueron analizadas como una sola (RO). No hubo diferencias significativas en las frecuencias alélicas para los 3 SNPs entre casos y controles. Se observó mayor frecuencia de los genotipos GG+AG para rs10757278 en los pacientes con respecto a los controles (p= 0,026), sugiriendo un modelo de herencia dominante para este SNP. El análisis de la interacción de los 3 SNPs conjuntamente con factores de riesgo no genéticos (edad y sexo), se encontró que poseer el alelo G para rs10757278 confiere un riesgo de 1,61 (p= 0,002) veces más de padecer trombosis y aumenta (OR= 3,19) cuando se es del sexo masculino. Se concluye que existe una asociación entre rs10757278 y la aparición de TA, la cual se ve aumentada en el sexo masculino en la población estudiada.

GH 37

CELL-FREE miRNA AND RNA AS MOLECULAR MARKERS FOR PROSTATE CANCER SCREENING

Souza M.F.¹, H. Kuasne², F. Barros², H.L. Cilião¹, F.A. Marchi², P.E. Fuganti³, L.R. Cavalli⁴, S.R. Rogatto², I.M.S. Cólus¹.

¹Department of General Biology, State University of Londrina, Londrina, Parana, Brazil. ²AC Camargo Cancer Center, Sao Paulo, Brazil. ³Cancer Hospital of Londrina, Londrina, Parana, Brazil. ⁴Lombardi Comprehensive Cancer Center, Georgetown University, Washington, District of Columbia, United States. Email: marilesiah@hotmail.com

Prostate cancer is the second most commonly diagnosed neoplasia in men. The use of the current screening methods for this disease remains a controversial issue, considering its limitation in accuracy and early detection. Non-invasive and target screening methods based on molecular markers have been investigated; cell-free nucleic acid in plasma have been indicated as one of the promising tools for prostate cancer screening. The aim of this study was to identify novel free miRNA and mRNA markers with potential for prostate cancer screening. *In silico* analysis using TCGA data (The Cancer Genome Atlas) was performed to identify the most frequently reported miRNA and mRNA involved in prostate cancer; subsequent validation of a subset of these RNA molecules were validated by RT-PCR in plasma specimens from 102 prostate cancer patients and 50 health controls. Eleven genes and 10 miRNA were found with deregulated expression in the TCGA search; two of these genes and one miRNA were found significantly upregulated in our patients plasma specimens, the OR51E2 ($p=0.001$), SIM2 ($p=0.02$) and miR-200c ($p=0.04$). The ROC analysis of these three molecular markers combined showed a good power in discriminating cancer patients and health controls individuals (miR-200c+OR51E2+SIM2, AUC= 0.69). These markers were not previously evaluated in relation to its screening potential in prostate cancer. In conclusion, we identified a novel combined signature of cell-free miRNA and RNA markers that could be used, together with other screening methods, to augment the early detection of prostate cancer.

GH 38

DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE POLIMORFISMOS ASOCIADOS AL DESARROLLO DE CÁNCER GÁSTRICO

Rosero C.Y.¹, L.G. Mejía¹, M. Corredor^{2,3}. ¹Grupo Interdisciplinario de investigación Salud-Enfermedad (GIISE), Facultad de Medicina, Universidad Cooperativa de Colombia, Colombia. ²Grupo Genética, Regeneración y Cáncer (CRC), Instituto de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Antioquia, Colombia. ³Grupo Genética y Bioquímica de Microorganismos (GEBIOMIC), Instituto de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Antioquia, Colombia. Email: carol.roserog@campusucc.edu.co

El cáncer gástrico (CG) es una de las principales causas de mortalidad por cáncer en el mundo, resultado de un proceso multifactorial desarrollado en distintas etapas y en el que intervienen un elevado número de factores ambientales, infecciosos y genéticos. Para determinar la frecuencia de polimorfismos en los genes IL-1B-511 (C/T), TP53-Arg/Pro (G/C), E-cadherina (A/T/G), ERBB1-R21K (G/A) y evaluar su relación con factores de riesgo sociodemográficos, 225 biopsias fueron usadas en un estudio de casos y controles en una muestra pareada de 1:2 respectivamente. Los polimorfismos genéticos se determinaron por PCR y secuenciación en un equipo ABI 3130 y se usó el modelo de regresión logística para evaluar la relación entre polimorfismos, variables sociodemográficas e infección por *Helicobacter pylori*. En ésta investigación, no se encontraron diferencias significativas en las frecuencias alélicas de los polimorfismos presentes en los genes IL-1B, TP53 y ERBB1. Para el gen E-cadherina se reporta un nuevo SNP en la posición 76604 (A/G) en el 84 % de los casos, con un p -valor $<0,05$. Por último, se evidenció asociación significativa a CG entre el sexo masculino con los polimorfismos de los genes de E-cadherina, TP53 y ERBB1. Se concluye que las variantes alélicas G y T en el gen E-cadherina, estarían involucradas en una susceptibilidad al riesgo de cáncer, explicado por la influencia en la función sobre el mantenimiento de la adhesión intercelular y la arquitectura de los epitelios.

GH 39

MICROARRAYS CROMOSÓMICO: CLASIFICACIÓN DE HALLAZGOS EN EL DIAGNÓSTICO DE ANOMALÍAS CONGÉNITAS CON DISCAPACIDAD INTELLECTUAL Y SIN ELLA

Cantarella F.¹, M. Samara¹, N. Loreti¹, M. Capelli¹, G. Moya¹, V. Ferreiro¹. ¹GENOS S.A, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.
Email: labmol@genos.com.ar

Las anomalías congénitas representan del 1 al 3 % de los recién nacidos, y constituyen en Argentina la primera y segunda causa de mortalidad infantil según región. Las anomalías cromosómicas contribuyen a un porcentaje importante (4-35 %) de defectos congénitos y discapacidad intelectual. El análisis de Microarray cromosómico (CMA) es un test molecular, por técnica de hibridación genómica comparativa (CGH), que detecta pérdidas y ganancias de regiones clínicamente significativas del genoma humano. Este estudio permite a su vez poner en evidencia cambios en el número de copias mayores a 100 Kb y cambios exónicos en genes seleccionados del genoma nuclear, detectar deleciones en el genoma mitocondrial y analizar hasta 120 K de SNPs. Con el objeto de detectar un defecto genético en pacientes con anomalías congénitas sin estudios concluyentes previos, se analizaron 238 muestras de ADN. Para el análisis se utilizó el test desarrollado por el Kleberg Cytogenetics Laboratory del Baylor College of Medicine, utilizando los *slides* v8.1.1.4x180K y v8.3.2x400K+SNPs manufacturados por Agilent Technologies. El análisis de resultados fue asesorado por las autoridades del Baylor Miraca Genetics Laboratory. Se hallaron un total de 115 alteraciones: 53 deleciones, 51 duplicaciones, cuatro posibles cromosomas derivados, cuatro del/dup, dos mutaciones génicas y un cromosoma marcador. La técnica de CMA permitió detectar y caracterizar alteraciones genéticas en un gran número de casos con anomalías congénitas, lo que tiene gran relevancia en el diagnóstico y asesoramiento genético de las familias implicadas.

GH 40

EFECTO DE LA EXPOSICIÓN A AGROQUÍMICOS EN LA METILACIÓN GLOBAL DEL ADN EN TRABAJADORES DE PLANTACIONES DE SOJA Y TABACO

Cappetta M.¹, L. Fernández¹, V. Silva Kahl², D. Benedetti², J. Alves², B. Bertoni¹, J. Da Silva². ¹Departamento de Genética, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. ²Laboratorio de Genética Toxicológica, ULBRA, Brazil.
Email: monicac@fmed.edu.uy

Las modificaciones epigenéticas, como la metilación del ADN, están involucradas en la regulación de la proliferación celular, la expresión génica y el mantenimiento de la estabilidad genómica. Debido a que son reversibles, son susceptibles a modificaciones por estímulos ambientales pudiendo ser marcadores de daño frente a contaminación ambiental y ocupacional. La combinación de pesticidas en la industria agrícola es muy utilizada para el tratamiento de plagas. Estos mix de compuestos pueden ocasionar genotoxicidad, pudiendo implicar cambios en el largo de los telómeros, hipometilación global del ADN y cambios en la metilación de promotores específicos. Esto podría asociarse al desarrollo de enfermedades como cáncer, infertilidad, etc. El objetivo de este trabajo es analizar si existe asociación entre el nivel de metilación global del ADN y la exposición prolongada a agroquímicos en trabajadores de plantaciones de tabaco y soja de Río Grande do Sul, Brasil. Para ello se realizó un estudio caso-control entre trabajadores expuestos y no expuestos a agroquímicos. Se midió la metilación genómica global en leucocitos mediante cuantificación relativa de 5mdC por HPLC, y se evaluaron variables epidemiológicas de los individuos. Con los datos analizados hasta el momento no se identifican diferencias significativas en los niveles de metilación del ADN entre expuestos y controles en ambos muestreos. Por lo tanto, no detectamos asociación entre la exposición a agroquímicos y los niveles de metilación genómica global. Es necesario corroborar estos resultados con un muestreo mayor.