



Evento	Salão UFRGS 2015: SIC - XXVII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2015
Local	Porto Alegre - RS
Título	IDENTIFICAÇÃO DE ALVOS MOLECULARES DE TERATOGENICIDADE DA TALIDOMIDA EM HUMANOS
Autor	LUÍSA GRAVE GROSS
Orientador	FERNANDA SALES LUIZ VIANNA
Instituição	Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Título: IDENTIFICAÇÃO DE ALVOS MOLECULARES DE TERATOGENICIDADE DA TALIDOMIDA EM HUMANOS

Autor: Luísa Grave Gross Orientador: Fernanda Sales Luiz Vianna Instituição: HCPA

INTRODUÇÃO: Muitos aspectos da embriopatia da talidomida (TE) foram estudados ao longo das últimas décadas. Entretanto, seu mecanismo molecular continua por ser completamente compreendido. A importância do óxido nítrico na ocorrência de TE foi relatada em estudos que avaliaram o potencial teratogênico e a propriedade antiangiogênica do fármaco em modelos *in vitro* e estudos em animais experimentais. Recentemente, nosso grupo publicou o primeiro estudo molecular de TE em seres humanos, em que relatamos que os alelos -786C (rs2070744) e 894T (rs1799983) – que reduzem a expressão e a atividade da enzima óxido nítrico sintase endotelial (codificada pelo gene *NOS3*)– foram associados com a TE. A fim de continuar a explorar a hipótese de que variantes polimórficas no gene *NOS3* geram suscetibilidade à TE, nesse trabalho investigamos o número variável de repetições em *tandem* (VNTR) do íntron 4 (rs61722009) no gene *NOS3*, uma vez que este polimorfismo tem papel funcional na regulação da expressão gênica dessa enzima.

METODOLOGIA: Indivíduos com TE (38) e sem anomalias congênitas (136, grupo controle) foram recrutados e amostras de DNA de saliva dos dois grupos coletadas. Foram genotipados os 27 pares de base do VNTR através de análise de fragmento, e os polimorfismos -786T> C e 894G> através de PCR em tempo real. O desequilíbrio de ligação entre as variantes foi estimado utilizando o programa MLocus, e os haplótipos derivados através do software PHASE v.2.1. As frequências alélicas e genotípicas foram comparadas por qui-quadrado e análise de modelos lineares generalizados foi utilizada para estimar a magnitude da associação entre os alelos de risco.

RESULTADOS: A frequência dos alelos C e T do polimorfismo -786T> C foi estatisticamente diferente entre os dois grupos de amostras ($p = 0,022$). No entanto, não houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo caso e controle para o VNTR do íntron 4 e o polimorfismo 894G> T. A análise de haplótipos entre os dois grupos revelou uma diferença estatisticamente significativa para a presença do haplótipo (-786T/4b/894G) no grupo controle ($p = 0,007$). A fim de determinar um possível efeito de risco cumulativo dos alelos, foi realizada uma análise de regressão logística considerando os alelos de risco aqueles que reduzem a expressão do gene *NOS3* ou a atividade da enzima eNOS. Os indivíduos com pelo menos uma cópia dos alelos C do polimorfismo -786T>C, o alelo 4b do VNTR e o alelo T do polimorfismo 894G>T foram agrupados como “presença de alelos de risco”. Associação estatisticamente significativa foi identificada apenas com os polimorfismos (-786C e VNTR4b) (odds ratio (OR) = 2,57; $p = 0,018$).

CONCLUSÃO: Os resultados obtidos aqui mostraram que as variantes -786C e VNTR4b no gene *NOS3* estão associadas aos indivíduos com TE, sugerindo serem estes genótipos de suscetibilidade. Evidências experimentais sugerem que o polimorfismo 894G> T influencia a atividade enzimática da eNOS, modificando a produção de óxido nítrico, enquanto os polimorfismos 786T> C e o polimorfismo 4a/4b VNTR regulam a atividade de óxido nítrico no nível de expressão gênica. A presença de alelos que resultam em expressão reduzida de *NOS3* em indivíduos com TE, bem como em outros membros da população, resulta em um risco aumentado de pobre angiogênese comparado aos outros alelos. No contexto de exposição à talidomida, um potente antiangiogênico, pessoas com alelos de risco estariam num patamar de maior risco de angiogênese prejudicada, o que seria salientado pela exposição ao fármaco. Finalmente, nossos dados suportam que o efeito de suscetibilidade através do gene *NOS3* é mais fortemente influenciado pela regulação da expressão gênica durante a etapa pré-transcricional.