

ANÁLISE DE MUTAÇÃO 431C > T (RS11542463) DO GENE IFRD1 EM PACIENTES COM FIBROSE CÍSTICA

ROCHA, Jean Carlos. (IC – Biomedicina/ UNIBRASIL)

MIKAMI, Liya Regina (UNIBRASIL)

A Fibrose Cística (FC) ou Mucoviscidose é uma doença genética autossômica recessiva causada por mutações no gene regulador de condutância transmembrana (CFTR). A Fibrose Cística é caracterizada por excesso de secreções nasais no paciente, causando inflamação nos pulmões devido à alta agregação de muco, essa inflamação causa estresse oxidativo de neutrófilos. O grau de intensidade dessa inflamação pode variar em crianças, mesmo sendo irmãos, isso pode estar relacionado com a ação do gene *IFRD1* que pode exercer na regulação da inflamação das vias aéreas. O gene *IFRD1* atua em neutrófilos maduros e tem capacidade de interagir com a enzima histona desacetilase, que funciona na diferenciação celular dos neutrófilos e no stress oxidativo, o polimorfismo 431C > T (rs11542463) do gene *IFRD1* pode estar relacionado com a função efetora dos neutrófilos e consequentemente podem influenciar na gravidade pulmonar da Fibrose Cística. O estudo vem tentar associar os quadros clínicos dos pacientes com FC e a genotipagem de *IFRD1*, observando se há relação com o comprometimento pulmonar. O objetivo foi relacionar a gravidade pulmonar em crianças com Fibrose Cística com mutação 431C > T (rs11542463) do gene *IFRD1*. As amostras que foram analisadas são de crianças de ambos os gêneros, pertencentes ao programa de triagem neonatal do Hospital de Clínicas do Paraná acompanhadas no ambulatório de Pneumologia Pediátrica do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (UFPR). A metodologia que foi aplicada para o estudo genético incluiu análise direta de DNA por meio de reação em cadeia da polimerase (PCR) e eletroforese em gel de poliacrilamida de 8%. As PCR foram realizadas para um volume final de 50 µl, contendo 45 µL de supermix, 2 µL primer sense (10 pmoles), 2 µL primer antisense (10 pmoles) e 1µL de DNA (cerca de 100ng). As PCRs foram realizadas no termociclador (Termociclador Biocycler), com o programa de amplificação: a) 80°C por 30 seg.; b) 94°C por 30 seg.; c) 48° por 30 seg.; d) 72°C por 30 seg.; e) repetição por 35 vezes dos passos b ao d; f) 72°C por 10 min. (extensão). Antes dos ciclos normais, foram acrescentados três ciclos repetidos com dois passos cada (um a 96°C e outro a 55°C, ambos de 3 minutos); foram colocado 2 µL de enzima Taq polimerase na etapa de 80°C (hot-start) por 1 minuto. Após obtenção dos resultados será feita análise estatísticas para ver se há influência do gene *IFRD1* em relação à gravidade da doença pulmonar em crianças com FC. Até o momento as amostras analisadas indicam alguma relação entre a gravidade pulmonar com o genótipo CT (heterozigoto) para o polimorfismo 431C > T (rs11542463), porém devido a poucas amostras analisadas, não pode se afirmar que realmente há relação entre o polimorfismo e a gravidade pulmonar.

Palavras-chave: Fibrose Cística, gene *IFRD1*, análise molecular, gravidade pulmonar.