

**990**

INVESTIGAÇÃO DAS MUTAÇÕES C282Y E H63D DA HEMOCROMATOSE EM PACIENTES COM SÍNDROME METABÓLICA  
Daiane Keller Cecconello, Mariana Reis Rauber, Gustavo Adolpho Moreira Faulhaber, Diogo André Pilger. Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Introdução: Hemocromatose é uma doença caracterizada pelo acúmulo de ferro, que se deposita nos tecidos e órgãos prejudicando seu funcionamento ou permanecendo na forma livre induzindo a formação de radicais livres. Pode ser classificada como hereditária, devido a mutação genética, ou secundária, devido a outras condições que levem ao acúmulo. A Hemocromatose Hereditária é causada por diversas mutações, entre elas as que acontecem no gene HFE, codificador da proteína HFE, reguladora do metabolismo do ferro. As mutações mais expressivas são C282Y e H63D. Já a Síndrome Metabólica é outra causa de acúmulo de ferro com causas distintas. É importante investigar a frequência de HH em pacientes com SM, na tentativa de excluir causas de acúmulo de ferro não relacionadas à HH. Objetivos: padronizar e validar a identificação das mutações C282Y e H63D em pacientes portadores de SM. Metodologia: foram avaliadas 55 amostras de pacientes com diagnóstico de SM. Inicialmente, realizou-se extração do DNA a partir de amostras de sangue coletadas em EDTA. Para avaliação da presença das mutações, o material foi submetido à amplificação gênica através da PCR utilizando primers específicos para as regiões. Realizaram-se variações nas concentrações de tampão, dNTPs, H<sub>2</sub>O, primers, Taq DNA polimerase e DNA até uma proporção ideal. As amplificações foram realizadas no termociclador Veriti com temperatura de anelamento de 63°C para C282Y e 50°C para H63D. Os produtos foram analisados por eletroforese em gel de agarose 1,5%. Foi realizada digestão utilizando enzimas de restrição, SnaBI para C282Y e BclI para H63D. Realizou-se a análise dos fragmentos por eletroforese em gel de agarose 3,0%. Como controles positivos utilizaram-se amostras heterozigotas para as mutações. Resultados: Verificou-se a formação de bandas alinhadas no tamanho dos fragmentos esperados. Não foram visualizadas bandas nos controles negativos bem como a formação de dímeros de primers. Das 55 amostras, 4 (7,3%) apresentaram padrão heterozigoto para C282Y e 13 (23,7%) para H63D. Discussão: Foi possível padronizar e validar a técnica de investigação molecular destas mutações. Observou-se que as frequências das mutações no gene HFE em pacientes com SM estão dentro do esperado, sugerindo que o acúmulo de ferro seja resultado de outros mecanismos. Palavra-chave: Hemocromatose; Síndrome metabólica; PCR. Projeto 80094 e 182.301