

compartilhadas com TDGF1 e das SNVs, 4 estão em sítios de ligação de miRNAs ativos durante desenvolvimento embrionário. Dentre as variantes analisadas em CFC1, apenas uma apresentou ganho de ligação de miRNA, uma alterou uma ilha CpG e duas estão localizadas em sítios de interação com 5 diferentes FT.. A partir das predições determinamos pontuações para as variantes, que inferem quão relevantes as mesmas podem ser como marcadores para o estabelecimento do papel de EGF-CFC nas PGR. Encontramos uma variante na região promotora e uma no éxon 3 dos genes TDGF1 e CFC1, respectivamente. Como perspectiva pretende-se estudar a frequência dessas variantes em amostras de mulheres que apresentaram AR e comparar com controles. Unitermos: Perdas gestacionais recorrentes; TDGF1; CFC1.

### P1769

#### **Achados video-oculográficos em estágios pré-clínicos e clínicos da ataxia espinocerebelar do tipo 3/Doença de Machado-Joseph (SCA3/MJD): resultados preliminares do estudo BIGPRO**

Amanda Henz Cappelli, Camila Maria de Oliveira, Gabriela Bolzan, Anastácia Guimarães Rocha, Ana Cláudia Alves da Silva, Eduardo Preusser de Mattos, Nathália Kersting dos Santos, Gabriela Ecco, Maiara Kolbe Muszkopf, Laura Bannach Jardim - HCPA

A ataxia espinocerebelar do tipo 3/Doença de Machado-Joseph (SCA3/MJD) é uma ataxia cerebelar autossômica dominante causada por expansão anormal de uma sequência repetitiva de trinucleotídeos CAG no gene ATXN3. Sabe-se que a melhor maneira de medir a pro-gressão dos sintomas neurológicos é por meio da aplicação de escalas clínicas, as quais têm pequeno tamanho de efeito e são, portanto, desvantajosas para serem utilizadas como desfecho em ensaios clínicos. Essa desvantagem pode ser superada pelo descobrimento de bio-marcadores substitutos, tais como o reflexo vestibulo-ocular (VOR) e outros parâmetros do movimento ocular medidos por vídeo-oculografia (VOG). Indivíduos sintomáticos e em risco de 50% de herdarem a mutação, recrutados de famílias com diagnóstico molecular de SCA3. Aplicaram-se escalas clínicas NESSCA e SARA. Indivíduos em risco foram submetidos a análise molecular do ATXN3. Portadores da mutação foram considerados pré-sintomáticos se negassem sintomas, com escores de SARA < 3. O VOR e movimentos oculares foram avaliados por VOG. A previsão de idade de início para portadores pré-sintomáticos foi calculada por um modelo paramétrico de sobrevivência. Os parâmetros de duração da doença (DD) em sintomáticos e o de previsão do tempo para início da doença em pré-sintomáticos foram combinados na variável "tempo-versus-início de sintomas". Foram recrutados 6 controles, 7 portadores pré-sintomáticos e 21 portadores sintomáticos com, respectivamente, 31,6 (12,3), 23,9 (5,6) e 41,4 (8,5) anos de idade foram incluídos. Portadores pré-sintomáticos e sintomáticos tinham o tamanho da expansão de CAG similares (74). Portadores sintomáticos tiveram 5,6 (2,5) anos de duração de doença, sujeitos pré-sintomáticos estavam a 18,1 (6,8) anos para o início da doença. O ganho médio do VOR aos 60ms desde o início do movimento da cabeça (VOR60) foi em portadores sintomáticos, portadores pré-sintomáticos e controles, respectivamente, igual a 0,70 (0,21), 0,94 (0,13), 1,08 (0,06); a velocidade vertical de sacadas (VSV) com um alvo a 20° de distância para cima foi de 245,9°/s (65), 338,6°/s (51,8) e 387,5°/s (46,2) - resultados de portadores sintomáticos diferiram dos outros dois grupos (ANOVA/Tukey). SARA (r=0,707), NESSCA (r=0,776), VOR60L (r=-0,621) e VSV (r=-0,531) correlacionaram-se de maneira significativa com a variável "tempo-versus-início de sintomas". VOR60 e VSV correlacionaram-se bem com a NESSCA (r=-0,779 e r=- 0,671) e com a SARA (r=-0,789 e r=-0,590). Unitermos: Doença de Machado-Joseph; Biomarcadores; Reflexo vestibulo-ocular.

### P1788

#### **Caracterização da cognição e disfagia nas paraparesias espásticas hereditárias**

Daniela Burguêz, Laís Alves Jacinto Scudeiro, Marina Siebert; Carelis Del Valle González Salazar, Marcondes Cavalcante França Junior, Maira Rozenfeld Olchik, Jonas Alex Morales Saute - HCPA

Introdução: As Paraparesias Espásticas Hereditárias (PEH) são caracterizadas por espasticidade e fraqueza muscular em membros inferiores, acompanhadas ou não por achados neurológicos adicionais. Até hoje, poucos estudos avaliaram sistematicamente o comprometimento cognitivo e da deglutição nas PEH. Métodos: Estudo transversal descritivo e multicêntrico em que pacientes com diagnóstico molecular confirmado de PEH foram recrutados nos ambulatórios de Neurogenética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e da Universidade de Campinas. O perfil cognitivo e a deglutição dos pacientes foram avaliados por meio de uma bateria padronizada de testes e os sintomas depressivos foram avaliados pela Escala de Depressão de Beck (BDI). Resultados: Participaram do estudo cinquenta pacientes com PEH, SPG4 (n = 34), SPG11 (n = 5), SPG5 (n = 4), CTX (n = 4), SPG7 (n = 3) com média de idade de 45,32 (±16,90) anos e um período médio de escolaridade de 7,78 (±4,41) anos. Em relação ao perfil cognitivo, 73% dos pacientes com SPG4 (25/34), 75% com SPG5 e CTX (3/4), 66% com SPG7 (2/3) e 100% dos pacientes com SPG11 apresentaram desempenho abaixo do esperado para idade e escolaridade. Em relação aos sintomas depressivos, 17% (5/29) dos pacientes com SPG4 apresentaram escores de sintomas depressivos leves e 3% (1/29), moderados; todos os pacientes com SPG5 e SPG7 tiveram resultados normais no BDI; e 50% (2/4) com CTX não apresentaram depressão, mas a outra metade da amostra, juntamente com todos os pacientes com SPG11, não foram capazes de responder ao questionário. Em relação à avaliação da deglutição, apenas 2% (1/34) dos pacientes com SPG4 e 33% com SPG7 (1/3) apresentaram disfagia (grau leve). Todos os demais pacientes desses grupos e 100% com SPG5 apresentaram deglutição normal. Para os pacientes com formas complicadas, SPG11 e CTX, a disfagia foi observada em 80% (4/5) e 50% (2/4) dos casos, respectivamente. Conclusão: Diferentemente de estudos anteriores, constatamos consistentemente que pacientes com SPG4 (uma forma pura de PEH) exibem alterações cognitivas. O uso de uma série mais abrangente de testes pode ter influenciado nossos resultados. A baixa incidência de depressão na PEH sugere que esse sintoma não está atuando como um fator de confusão para as anormalidades do perfil cognitivo. Além disso, deve-se ter maior atenção a deglutição dos pacientes com SPG11 e CTX, uma vez que eles estão em maior risco de desenvolver disfagia orofaríngea. Unitermos: Paraparesias espásticas hereditárias; Cognição; Depressão.

### P1789

#### **Morte neuronal, astrogliose e desmielinização provocada por uma sobrecarga de lisina em camundongos com deficiência na glutaril-coa desidrogenase**

Kaleb Pinto Spannenberger, Alexandre Umpierrez Amaral, Bianca Seminotti, Janaína Camacho da Silva, Rafael Teixeira Ribeiro, Francine Hehn de Oliveira, Guilhian Leipnitz, Diogo Onofre Souza, Moacir Wajner - UFRGS

Acidemia glutárica tipo I (AG I) é uma doença hereditária neurometabólica causada pela deficiência da glutaril-CoA desidrogenase (GCDH). Pacientes afetados por essa doença são suscetíveis a desenvolver degeneração aguda do estriado durante situações de estresse catabólico, principalmente entre os 3 e 48 meses de idade, apresentando após distonia e discinesia. Apesar dos

mecanismos do dano estriatal não estarem totalmente estabelecidos, provavelmente eles estão relacionados com o aumento das concentrações dos ácidos glutárico (AG) e 3-hidroxi-glutárico (3HG) no cérebro. No presente trabalho investigamos os efeitos da injeção aguda intraestriatal de Lis (1,5 e 2,5  $\mu\text{mol}$ ) em camundongos selvagens (WT) ou com deficiência da GCDH (Gcdh<sup>-/-</sup>) com 30 dias de vida que foram sacrificados 48 horas após a injeção, no intuito de mimetizar uma situação de descompensação metabólica com altas concentrações do AG e 3HG. Foram avaliadas a reatividade astrocitária e a viabilidade neuronal através de imunohistoquímica da proteína glial fibrilar ácida (GFAP), proteína ligadora de cálcio S100b e do núcleo neuronal (NeuN), respectivamente, além da mielinização por imunohistoquímica da proteína básica de mielina (MBP). Também determinamos a expressão proteica da sinaptofisina e heme oxigenase I por western blotting. A administração de Lis provocou um aumento de marcação com GFAP, sugerindo reatividade astrocitária. Além disso, a marcação por NeuN e a expressão de sinaptofisina estavam reduzidas nos estriados dos camundongos Gcdh<sup>-/-</sup>, mas não dos WT submetidos ao tratamento com Lis, indicando morte neuronal. Também foi observado que a injeção intraestriatal de Lis provocou uma diminuição da expressão da heme oxigenase I seletivamente nos camundongos Gcdh<sup>-/-</sup>. Por outro lado, a mielinização estriatal estava reduzida em ambos os camundongos, Gcdh<sup>-/-</sup> ou WT, injetados com Lis. Conclui-se que os estriados de camundongos Gcdh<sup>-/-</sup>, em comparação aos WT, foram severamente comprometidos, apresentando astrogliose, morte neuronal e desmielinização quando injetados com uma sobrecarga de Lis que é convertida em AG e 3HG no cérebro desses animais. O presente resultado reforça a hipótese de que concentrações cerebrais elevadas desses ácidos orgânicos estão envolvidas no dano estriatal que ocorre nos pacientes com AG I durante episódios de descompensação metabólica. Unitermos: Acidemia glutárica tipo I; Astrogliose; Morte neuronal.

### P1839

#### **Procura por novas assinaturas moleculares no adenocarcinoma de pulmão: análise da expressão diferencial em tabagistas e indivíduos não-tabagistas**

Bruno da Silveira Corrêa, Tiago Finger Andreis, Ivaine Taís Sauthier Sartor, Patricia Ashton-Prolla, Gabriel de Souza Macedo - UFRGS

Todos os anos neoplasias de traqueia, brônquio e pulmão são responsáveis por 1,7 milhões de mortes no mundo todo. O biomarcador PD-L1, quando altamente expresso, possibilita o uso da droga imunoterápica Pembrolizumab. No entanto, uma resposta efetiva é observada apenas em pacientes com expressão de PD-L1 >50% e, mais recentemente, em tumores com alta carga mutacional, independente da expressão de PD-L1. Ademais, um maior número de substituições de ponto é observada em tumores de tabagistas, com um alto número de substituições em regiões codificantes. A efetividade do tratamento com Pembrolizumab tem sido descrita como maior em tabagistas, provavelmente devido a sua alta carga mutacional. Sendo assim, o presente estudo tem como objetivo identificar genes diferencialmente expressos em tumores de pacientes tabagistas e não-tabagistas, buscando novos biomarcadores relacionados a resposta imune e inflamatória. A análise foi realizada utilizando dados de microarranjo obtidos do repositório público do GEO. O conjunto de dados GSE10072 foi escolhido, o qual contém dados de expressão gênica de tumores e tecido adjacente em grupos de pacientes tabagistas e não-tabagistas. A análise de expressão diferencial e enriquecimento funcional foi realizada usando o pacote R. A análise das interações proteína-proteína foi desempenhada utilizando a ferramenta STRING. Constataram-se 102 genes diferencialmente expressos apenas em fumantes e 72 em não-fumantes. A regulação da resposta imune e inflamatória estava enriquecida apenas em fumantes. Destacamos três genes diferencialmente expressos relacionados a essas vias, com maior expressão no tecido adjacente ao tumor: VSIG4, FCER1A e C4BPA. VSIG4 é relacionado à família B7 e atua como um regulador negativo da ativação de células T. O produto de FCER1A é um receptor de IgE de alta afinidade, responsável pela resposta alérgica e defesa antitumoral. Por último, C4BPA age na regulação do sistema complemento, incluindo a indução da proliferação de células B e a ativação de CD40, podendo reverter a supressão imune e levar a resposta antitumoral. Os resultados evidenciam que a expressão dos genes descritos acima podem ser potencialmente usadas na predição de resposta à imunoterapia. No intuito de confirmar estes achados, a análise será expandida para uma coorte maior de casos provenientes do TCGA, e que também permitirá a identificação de outros potenciais biomarcadores preditivos de resposta ao Pembrolizumab. Unitermos: Câncer de pulmão; Imunoterapia; Biomarcadores.

### P1893

#### **Análise in silico de ferramentas e variantes sinônimas para genes de predisposição ao câncer hereditário**

Marina Roberta Scheid, Martiela Freitas, Gabriel S. Macedo, Patricia Ashton-Prolla - UFRGS

Introdução. Com a introdução do sequenciamento de nova geração nos testes de diagnóstico molecular e o uso de painéis para genes de predisposição ao câncer hereditário (GPCH) houve um aumento no número de variantes detectadas. Destas, uma parcela significativa são variantes sinônimas (VS), e a maioria infere-se serem benignas, sem passar por uma avaliação de patogenicidade. Contudo, evidências indicam que uma parcela das VS é capaz de alterar a estrutura secundária (ES) do mRNA ou a expressão gênica se estiverem inseridas em regiões conservadas. Objetivo. Nesse trabalho, foi avaliada a acurácia de ferramentas in silico (FIS) que analisam VS. Ademais, foram avaliadas VS extraídas do banco de dados ExAC e de indivíduos com suspeita de câncer hereditário associado aos genes BRCA1, BRCA2 e TP53. Metodologia. As FIS selecionadas para as análises foram: PredictSNP, CADD, DANN, FATHAMM, FUNSEQ2, GWAVA e o software Silent Variant Analyzer (SiVA). Para os testes de sensibilidade-especificidade (SE) foi realizada uma curva-ROC para cada FIS e os dados do ClinVar como padrão-ouro. VS do ExAC e de indivíduos não-relacionados com critérios clínicos para as síndromes de Li-Fraumeni e de predisposição hereditária ao câncer de mama e ovário foram avaliadas no SiVA. Análise da ES e diferença da energia de dobramento ( $\Delta\text{MEF}$ ) do mRNA foram realizadas através do software RNAfold. Resultados. 32 VS classificadas como patogênicas e 187 VS benignas foram extraídas do ClinVar e testadas pelas FIS. As FIS SiVA, DANN, PredictSNP, CAAD e FATHAMM apresentaram valores significativos da relação SE ( $p < 0,001$ ), sendo que o SiVA foi a única que teve um valor excelente de área abaixo da curva, 0,937 (0,855 – 0,989 95%CI,  $p = 2,97\text{E-}15$ ). Após a análise de SE de diferentes algoritmos, foram selecionadas no ExAC mais de 4000 VS de 25 GPCH para análise no SiVA. Destas, 1,01% foram classificadas como patogênicas. Posteriormente, foram revisados sequenciamentos dos genes BRCA1/BRCA2 e TP53 de 82 e 280 indivíduos, respectivamente, todos consentidos através do projeto 10/0521. Após a exclusão das VS com frequência menor que 0,05%, observou-se que nenhuma VS apresentou potencial patogênico. No entanto, a variante c.66A>G em TP53 apresentou predição de alteração na ES do mRNA e TP53 c.108G>A apresentou  $\Delta\text{MEF} = 5,2\text{Kcal/mol}$ . Conclusão. FIS se mostram acessíveis, e podem direcionar futuros estudos funcionais. Contudo, análises adicionais são necessárias para estabelecer a patogenicidade de VS em GPCH. Unitermos: Câncer hereditário; Variantes sinônimas; Ferramentas in silico.