

2171

MICRORNAS COMO BIOMARCADORES NO CARCINOMA PAPILÍFERO DE TIREOIDE: ASSOCIAÇÕES COM CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E ONCOLÓGICASANA PAULA PALAURO GOULARTE; VICENTE RODRIGUES MARCZYK; TAÍS SILVEIRA ASSMANN; RAFAEL SELBACH SCHEFFEL; LUCIELI CEOLIN; ANA LUIZA MAIA
UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Introdução: O carcinoma papilar de tireoide (CPT) é a neoplasia endócrina mais comum. Apesar do bom prognóstico, 10-15% dos casos de CPT apresentam um comportamento mais agressivo, com recidivas locais e/ou metástase à distância, requerendo intervenção cirúrgica diferenciada e o uso de terapias adjuvantes. Estudos recentes têm mostrado que os microRNAs (miRNAs) desempenham um papel fundamental na patogênese do câncer; no entanto, os resultados ainda são inconclusivos. Portanto, a identificação de miRNAs envolvidos no CPT pode contribuir na predição da evolução e desfecho da doença.

Objetivos: Avaliar a expressão dos miRNAs miR-21-3p e miR-146b-5p em amostras de tecido tireoidiano de pacientes com CPT e de tecido tireoidiano saudável adjacente.

Metodologia: As expressões dos miRNAs foram analisadas em 36 amostras (incluindo 30 amostras de CPT e 6 pares de tecido tireoidiano saudável) utilizando a técnica de RT-qPCR. As análises de bioinformática foram realizadas utilizando o miRWalk 3.0 e o PathDIP.

Resultados: A expressão do miR-21-3p foi diminuída em CPT clássico comparado com CPT variante folicular [0,66(0,34-1,27)vs.2,15(0,70-4,36),P=0,016]. Além disso, a expressão deste miRNA foi maior em pacientes com resposta excelente ao tratamento comparado com aqueles com resposta incompleta [2,15(0,72-4,36)vs.0,47 (0,17-1,02),P=0,015]. De forma similar, miR-21-3p também foi mais expresso em pacientes com ausência de invasão extratireoidiana [0,96(0,61-2,54)vs.0,34(0,20--)],P=0,045], e menores tamanhos tumorais [0,99(0,65-2,65)vs.0,34(0,26-0,57),P=0,006], sugerindo que esse miRNA pode ter papel importante para o prognóstico do CPT. A expressão do miR-146b-5p foi aumentada no tecido tumoral comparado com o tecido tireoidiano saudável [3,00(0,57-9,05)vs.0,07(0,03-0,14),P=0,003], não observamos associação desse miR com características clínicas ou oncológicas da doença. Análises de bioinformática indicam que o miR-21-3p e o miR-146b-5p regulam vários genes que participam de diversas vias relacionadas ao câncer, incluindo MAPK, PI3K-Akt, Wnt, Ras e vias de sinalização de mTOR.

Conclusões: Demonstramos um possível envolvimento do miR-21-3p e miR-146b-5p na patogênese do CPT, uma vez que o miR-21-3p está diminuído em pacientes com piores desfechos clínicos e o miR-146b-5p está aumentado no tecido tireoidiano de indivíduos com CPT. Além disso, esses miRNAs regulam genes diferentes em uma mesma via metabólica, demonstrando um possível efeito sinérgico dessas moléculas.

2179

DIAGNÓSTICO MOLECULAR DAS NEUROPATIAS HEREDITÁRIAS: CHARCOT-MARIE-TOOTH E NEUROPATIA HEREDITÁRIA COM SUSCETIBILIDADE À PARALISIA POR PRESSÃOCAROLINA SERPA BRASIL; JANICE PACHECO DIAS PADILHA ; ALICE MARIA LUDERITZ HOEFEL; PABLO BREA WINCKLER; KARINA CARVALHO DONIS; JONAS ALEX MORALES SAUTE; ANA CAROLINA BRUSIUS FACCHIN
HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Introdução: As neuropatias hereditárias, em especial a doença de Charcot-Marie-Tooth (CMT), são um grupo de doenças com grande heterogeneidade genética. O rendimento diagnóstico de estudos genéticos para CMT é pouco conhecido. **Objetivo:** O objetivo do presente trabalho foi avaliar o rendimento de estratégia sequencial de diagnóstico molecular para casos com suspeita de formas desmielinizantes de CMT (CMTde) ou Neuropatia Hereditária com Suscetibilidade à Paralisia por Pressão (HNPP) e de painel de genes por sequenciamento de nova geração (NGS) para casos com suspeita de formas axonais de CMT (CMTax). Além disso, visamos gerar dados epidemiológicos, bem como caracterização clínica e neurofisiológica. **Métodos:** Foi realizado um estudo transversal em centro único, entre setembro de 2010 e agosto de 2019 no ambulatório de Genética Neuromuscular do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. **Resultados:** Foram avaliados 94 pacientes (55 famílias) com suspeita de CMT. O rendimento da estratégia combinada de Multiplex-Ligation-dependent-Probe-Amplification (MLPA) dos genes PMP22/GJB1/MPZ e de sequenciamento Sanger dos genes PMP22, GJB1 e MPZ foi de 63,6% (28/44) para casos-índice com CMTde. Cinco dos 11 casos-índice (45,4%) com suspeita de CMTax tiveram pelo menos um diagnóstico possível, utilizando painel de NGS. **Conclusão:** As estratégias sequenciais de diagnóstico molecular com MLPA e sequenciamento Sanger direcionado para CMTde apresentaram alto rendimento diagnóstico, e quase metade das famílias com CMTax tiveram pelo menos um diagnóstico possível com um painel de NGS abrangente. Os subtipos mais frequentes de CMT no sul do Brasil são CMT1A e CMTX1. Nossos resultados trouxeram benefícios propiciando diagnóstico e adequado aconselhamento genético.

2227

EIXO ZEB1-MICRORNAS E METÁSTASES: UMA ANÁLISE IN SILICO EM MEDULOBLASTOMALÍVIA FRATINI DUTRA; KENDI NISHINO MIYAMOTO; LAURO JOSÉ GREGIANIN; CAROLINE BRUNETTO DE FARIAS; MARIANE DA CUNHA JAEGER; RAFAEL ROESLER
HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Meduloblastoma (MB) é o tumor maligno do Sistema Nervoso Central que mais acomete crianças. O pior prognóstico para os pacientes diagnosticados está vinculado à presença de metástases. Além disso, pacientes de MB que recidivam

apresentam índices de sobrevivência menores que 10%, mesmo após altas doses de quimioterapia. Sabe-se que o fator de transcrição para indução de transição epitélio-mesenquimal ZEB1 é relacionado a pior prognóstico em diversos tumores e é necessário para a formação do cerebelo, regulando genes e microRNAs (miR). Para compreender a regulação de ZEB1 e miRs sobre a metástase e resistência de MB, análises *in silico* foram realizadas. Segundo análise de sobrevivência realizada no dataset GSE85217, na plataforma R2 (<https://r2.amc.nl/>), a expressão de ZEB1 é maior em pacientes pediátricos de MB que apresentam metástases ($p < 0.05$). Utilizando a ferramenta TransmiR v2.0 database (<http://cuilib.cn/transmir>), identificamos miR relacionados a ZEB1 experimentalmente. Dentre os 12 miRs diferencialmente expressos entre pacientes com e sem metástases identificados por Yang et al, dois deles se relacionam a ZEB1: miR-101-3p e miR-148-3p. Os genes alvo desses dois miRs foram prospectados pela plataforma miRNet 2.0 (<https://www.mirnet.ca/>) e utilizados para construção de uma rede de interação de proteínas, no software Cytoscape 3.8.0. Um enriquecimento funcional da rede foi realizado utilizando os bancos de dados KEGG e Reactome pela plataforma EnrichR (<https://amp.pharm.mssm.edu/Enrichr/>). Os processos celular e via de sinalização por neurotrofinas apareceram em ambos, ao passo que adesão focal, sinalização por MAPK, FoxO, mTOR e PI3K foram processos enriquecidos somente no KEGG. A análise de modularidade realizada por meio da extensão MCODE, no Cytoscape retornou 35 módulos, dos quais os módulos 2, 12 e 19 se destacaram por conter, respectivamente, miR-101-3p, ZEB1 e miR-148a. Uma análise de enriquecimento para esses clusters mostrou que o módulo 2 contém a maioria dos processos encontrados no enriquecimento da rede inteira, fortalecendo sua relevância biológica. Como perspectivas, a expressão do miR-101-3p e miR-148a-3p em linhagens celulares de MB será caracterizada antes e após o silenciamento de ZEB1, bem como a modulação de processos celulares importantes à metástase e quimiorresistência. O envolvimento da via de neurotrofinas com ZEB1 e miRs também poderá ser abordado experimentalmente.

2251

ANÁLISE ESTRUTURAL, PAPEL BIOLÓGICO E PERFIL DE MUTAÇÕES DOS GENES ATG EM CÂNCERES HUMANOSNATHÁLIA ALVES BORGES; RODRIGO LIGABUE BRAUN; EDUARDO CREMONESE FILIPPI CHIELA
UFCSPA - Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

A autofagia é um processo biológico de degradação de componentes intracelulares envelhecidos ou danificados através da via lisossomal. Esse processo possibilita, ainda, a adaptação celular ao estresse, fornecendo à célula substratos energéticos e estruturais capazes de restaurar a homeostase celular. O processo autofágico é dirigido por proteínas da família ATG, envolvidas desde o isolamento da membrana do fagoforo até o fechamento do autofagossomo. Alterações no mecanismo da autofagia têm sido associadas ao desenvolvimento de diferentes tipos tumorais tais como melanoma, câncer de mama, próstata, leucemias e gliomas. Entretanto, apesar de diversos estudos relacionarem alterações nos níveis de autofagia em diversos cânceres, pouco se sabe sobre o papel e o perfil de mutações somáticas dos genes ATG. METODOLOGIA: utilizando a base de dados online COSMIC (Catalogue Of Somatic Mutations In Cancer) foi realizado a triagem de mutações genéticas presentes nos principais genes ATG nos cânceres humanos mais frequentes e agressivos. A partir desta análise, os genes ATG com alta prevalência de mutações e as mutações mais frequentes nesses genes foram analisadas *in silico*. RESULTADOS: a triagem inicial revelou uma frequência elevada de mutações recorrentes no gene ATG2A. A análise do perfil genético do gene ATG2A revelou que 90% das mutações neste gene ocorrem em 3 aminoácidos vizinho. Nas três mutações, ocorre a mudança do aminoácido original para o aminoácido prolina e mais de 70% destas mutações foram encontradas em amostras de câncer de cabeça e pescoço (HNSCC). Análises *in silico* para a proteína Atg2A estão em andamento, focando em aspectos estruturais, filogenéticos, de previsão de função, interações moleculares e predição de desordem. PERSPECTIVA: avaliar a consequência das mutações mais frequentes na estrutura da proteína e testar o impacto das mutações na modulação de autofagia em linhagens celulares contendo as mutações mais frequentes em Atg2A.

2262

INIBIÇÃO COMBINADA DE EGFR E TRKB EM MEDULOBLASTOMANATÁLIA HOGETOP FREIRE; BRUNA ALMEIDA DOS SANTOS; ANDRÉ TESAINER BRUNETTO; CAROLINE BRUNETTO DE FARIAS; MARIANE DA CUNHA JAEGER; RAFAEL ROESLER
UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Meduloblastoma (MB) é o segundo tumor maligno mais frequente em pacientes pediátricos, sendo responsável por 10% dos óbitos relacionados a câncer nessa população. Em tumores de sistema nervoso central, como MB, já foi observado a presença de uma população de células menos diferenciadas e com característica de células tronco, que seriam responsáveis pela resistência ao tratamento e recidiva desses tumores. Estudos recentes demonstram que receptores de tirosina kinase estão envolvidos no crescimento tumoral e diferenciação celular. Entre esses receptores, podemos destacar Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico (EGFR) e o Receptor de Tropomiosina Quinase B (TrkB) e seu ligante Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF), que contribuem para crescimento das células tumorais. Além disso, as vias ativadas por TrkB e EGFR parecem se compensar, apontando uma relação funcional entre as vias. Dessa forma, torna-se relevante investigar o efeito de uma terapia que combine a inibição dos receptores de EGFR e TrkB em MB. Para esse trabalho, foram avaliados os efeitos do tratamento combinado do inibidor seletivo do EGFR (AG-1478) com o antagonista seletivo de TrkB (ANA-12) sobre a viabilidade das linhagens D283 e Daoy e o efeito durante a formação de células tronco tumorais de MB. Para analisar a viabilidade, foi utilizado o método de exclusão com azul de Tripán e realizado curvas de dose com os inibidores. A partir desses resultados foi determinado o IC50 dos inibidores e verificado a viabilidade das células combinando os inibidores. Para verificar o efeito sobre células tronco tumorais de MB, foi realizado o ensaio de formação de esferas, em que as células são cultivadas na presença de DMEM/F12 suplementado com EGF, FGFb, B27, N-2 e albumina. Os inibidores e suas combinações foram adicionados no primeiro dia afim de avaliar o efeito na formação das esferas. Foi verificado número e