

limitados pelo baixo valor preditivo que podem resultar em diagnóstico incorreto. Logo, a descoberta de novos biomarcadores se faz necessária na área diagnóstica de PCa. Dados da literatura sugerem que os microRNAs (miRNAs) são moléculas consideradas potenciais biomarcadores para muitas doenças, incluindo o câncer, uma vez que aparecem frequentemente desregulados nos processos cancerígenos. A expressão dos miRNAs se encontra alterada em células tumorais, quando comparada às células saudáveis. Ademais, a descoberta da presença de miRNAs circulantes em diversos espécimes clínicos como sangue e urina, propiciou a investigação destas moléculas como biomarcadores não-invasivos de câncer na área diagnóstica. Sendo assim, este estudo tem por objetivo identificar miRNAs diferentemente expressos no plasma, urina e tecido prostático em pacientes com PCa. Trata-se de um estudo transversal, utilizando amostras clínicas de pacientes adultos do sexo masculino atendidos no Serviço de Urologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Foram coletadas amostras clínicas de sangue, urina e BP de 50 pacientes, e agrupadas, de acordo com o resultado da BP, em grupo de pacientes com PCa e grupo de pacientes saudáveis. As amostras foram submetidas às etapas de extração de RNA, transcrição, pré-amplificação e amplificação dos ácidos nucleicos com kits específicos (Invitrogen). A detecção e quantificação dos miRNAs foi realizada por PCR em tempo real quantitativa em equipamento Vii7 (Invitrogen), utilizando cartões comerciais que detectam até 384 tipos de miRNAs. Até o presente momento foi realizada a fase piloto do estudo, caracterizada como uma fase de descoberta dos miRNAs diferentemente expressos em uma amostra de BP com PCa e uma amostra de tecido saudável. Foram pesquisados 384 miRNAs em cada uma das amostras, de modo a selecionar os miRNAs mais diferentemente expressos. Dos 384 miRNAs pesquisados nesta primeira fase, 30 miRNAs foram selecionados como potenciais biomarcadores de diagnóstico. Estes 30 miRNAs irão compor os cartões customizados de miRNAs que serão utilizados nas demais amostras clínicas de ambos grupos de pesquisa, de modo a encontrar os miRNAs diferentemente expressos no PCa, de forma estatisticamente significativa. Unitermos: Microrna; Câncer de próstata; Biomarcadores.

### P1834

#### **Avaliação do papel da autofagia em células de adenocarcinoma durante o tratamento com gemcitabina**

Ronize Zeni da Silva, Paula Colonetti Ferst, Viviane Rosner de Almeida, Eduardo Cremonese Filippi-Chiela, Patrícia Luciana da Costa Lopez - UFRGS

**Introdução:** Os adenocarcinoma ductal pancreático (ADP) são tumores de pâncreas mais comuns, correspondendo a 90% dos casos diagnosticados. O ADP apresenta comportamento agressivo, de diagnóstico frequentemente tardio e que possui como primeira opção terapêutica a ressecção cirúrgica. Gemcitabina (GEM) é o quimioterápico de primeira escolha para o tratamento de ADP, porém ainda com baixa taxa de resposta terapêutica. A autofagia é um mecanismo fisiológico celular que elimina organelas e complexos proteicos, velhos ou danificados. Alterações ambientais ou celulares desencadeiam autofagia nas células como uma tentativa de adaptação ao estresse apresentado. Em ADP, a autofagia pode atuar como um mecanismo quimiopreventivo e também promover a manutenção e o crescimento tumoral, precisando ser investigada para elucidar mecanismos de resistência tumoral. **Objetivo:** O objetivo do presente estudo é avaliar alterações de autofagia em células de ADP expostas ao tratamento com GEM. **Métodos:** As linhagens de células de ADP, PANC-1 e CAPAN-2, foram tratadas com GEM (1  $\mu$ M, 10  $\mu$ M e 30  $\mu$ M) e analisadas após 24h e 48h. A autofagia e a viabilidade celular foram avaliadas por citometria de fluxo, com os corantes laranja de acridina e iodeto de propídeo respectivamente. **Resultados:** As linhagens Panc-1 e Capan-2 não indicaram redução na viabilidade celular em nenhum dos tratamentos com GEM. Apenas em 48h de tratamento com GEM ambas as linhagens apresentaram maior número de células em autofagia em todas as doses em relação ao controle. **Conclusões:** Os dados encontrados até o momento indicam que GEM não altera a autofagia em 24h nas doses testadas. Embora a viabilidade não tenha apresentado redução após os tratamentos, não podemos afirmar sobre a ocorrência de apoptose. Como perspectiva, experimentos de avaliação de apoptose precisam ser realizados, além de aumentar o tempo de tratamento. Os resultados poderão contribuir para o conhecimento dos mecanismos de autofagia frente à resistência tumoral de ADP e para desenvolvimento de estratégias mais eficazes da terapia desse tipo tumoral. Unitermos: Adenocarcinoma ductal pancreático; Autofagia; Gemcitabina.

### P1850

#### **A Cofilina-1 oxidada desempenha um papel fundamental no processo patológico da Doença de Parkinson**

Maria Eulália Vinadé, Fernanda Lopes, Cássio Loss, Marco Antônio de Bastiani, Geancarlo Zanatta, Richard B. Parsons, Fabio Klamt - UFRGS

A doença de Parkinson (DP) é uma desordem neurodegenerativa, crônica e progressiva, caracterizada pela morte de neurônios dopaminérgicos na via nigroestriatal e pela presença de Corpos de Lewy, tendo como seu principal conteúdo a alfa-sinucleína ( $\alpha$ -SIN). A morte dos neurônios dopaminérgicos tem sido relacionada com a disfunção mitocondrial e com o estresse oxidativo. Estudos anteriores do nosso grupo mostraram que, em câncer de pulmão, a disfunção mitocondrial é mediada pelo ganho de função tóxica da cofilina-1 quando oxidada. Portanto nosso objetivo foi investigar se a cofilina-1 quando oxidada contribui para a morte celular na DP. Para isso utilizando a linhagem celular de neuroblastoma humano SH-SY5Y diferenciadas com ácido retinóico em células tipo-neuronios catecolaminérgicas, as quais foram tratadas com 6 hidroxidopamina (6-OHDA), uma toxina amplamente utilizada para causar morte de neurônios dopaminérgicos. Além disso avaliamos, em um sistema livre de células, se o perfil de agregação da  $\alpha$ -SIN é alterado na presença da cofilina-1 (nativa e oxidada). Inicialmente demonstramos por imunoblot e por análises densitométricas que a cofilina-1 endógena transloca para a mitocôndria das células SH-SY5Y antes de ocorrer o potencial de membrana mitocondrial causado pela 6-OHDA (n=3, por análise). Posteriormente, através de superexpressão transiente de cofilina-1 não oxidável (CFL1-NOX), verificamos a diminuição da citotoxicidade da 6-OHDA nas células SH-SY5Y, demonstrando que a oxidação da cofilina-1 é necessária para o processo de morte celular (n=3, por análise). No sistema livre de células, após incubarmos o monômero de  $\alpha$ -SIN na presença de cofilina-1 nativa e oxidada (n=4, por análise), observamos que a fibrilação da  $\alpha$ -SIN é acelerada quando a cofilina-1 (oxidada ou não) está presente. Nossos resultados sugerem que a cofilina-1 em uma etapa inicial da DP pode ter um papel neuroprotetor, uma vez que acelera a fibrilação da  $\alpha$ -SIN em um produto menos tóxico, enquanto que em estágios mais avançados a oxidação da cofilina-1 causa dano mitocondrial e leva a morte celular por apoptose. Unitermos: SH-SY5Y; Alfa-Sinucleína.

### P1872

#### **Modelo de esferoide: uma abordagem tridimensional para triagem de drogas antitumorais in vitro**

Luiza Deitos Menti, Paloma Santos de Campos, Luise Pazzuti, Lisiani Bernardi, Marcelo Lazzaron Lamers - UFRGS

O câncer é um problema de saúde pública no mundo todo e é a segunda maior causa de morte no Brasil. A maioria dos

pesquisadores visam encontrar drogas que possuam ação antitumoral com mínimos efeitos em células normais do organismo. Sendo assim, a triagem de drogas pode ser realizada utilizando a cultura tridimensional, como o ensaio de esferoides. Esse ensaio 3D mostra-se mais representativo e vantajoso quando comparado à cultura 2D, pois é capaz de mimetizar condições de adesão célula-célula, hipóxia, morfologia celular (modelo mimético) e gradiente de penetração de drogas que ocorrem in vivo e pode ser usada como suporte antes da utilização de pesquisas em animais. O objetivo desse estudo foi realizar um modelo de esferoide com células de carcinoma espinocelular oral para triagem de substâncias antitumorais e assim, comparar seus efeitos em células normais. O ensaio de esferoides foi realizado plaqueando  $1 \times 10^4$  células em uma placa de 96 poços com superfície de baixa adesão, o que induziu as células a formarem uma esfera. As células utilizadas nesse trabalho foram fibroblastos, queratinócitos (HACAT), células endoteliais (HUVEC) e de carcinoma espinocelular oral (SCC9, SCC25 e CA27). Após 24h, os esferoides foram tratados com diferentes concentrações de potenciais formulações antitumorais e seus efeitos foram analisados qualitativamente e quantitativamente. Desta forma, foram realizadas fotos em microscópio invertido após 24h, 48h e 72h do início do tratamento. A análise das imagens foi realizada medindo perímetro e a área das esferas por meio do software ImageJ. Foi observado que, os esferoides tratados apresentaram maior área externa – correspondente ao espalhamento das células – quando comparado aos controles, indicando a capacidade de penetração das drogas e mostrando a dispersão devido à redução da adesão celular. Unitermos: Esferoides; Carcinoma espinocelular oral; Modelo 3D.

### P1882

#### **Análise da expressão de ENTPD5 e genes correlacionados em gliomas**

Rafael Paschoal de Campos, Liziane Raquel Beckenkamp, Guido Lenz, Márcia Rosângela Wink - UFCSPA

Gliomas são os tumores mais frequentes que acometem o sistema nervoso central. Dentre esses, destaca-se o glioblastoma que representa o mais comum e agressivo tumor maligno cerebral com sobrevida média após o diagnóstico de aproximadamente 14 meses. Esse prognóstico bastante desfavorável torna necessária a melhor caracterização dos processos biológicos envolvidos na progressão dessa neoplasia a fim de desenvolver novas estratégias terapêuticas. A NTPDase5, uma ectonucleotidase ancorada a membrana do retículo endoplasmático que pode ser secretada na forma de uma proteína solúvel, está desregulada em muitos tumores, estando envolvida na expressão de receptores de crescimento, invasividade, desregulação metabólica e resistência a apoptose. Pouco se sabe, no entanto, sobre o papel dessa enzima na progressão de gliomas. Dessa forma, o objetivo desse projeto foi caracterizar e investigar os papéis da NTPDase5 nesse tipo tumoral. Análises de expressão gênica foram realizadas a fim de avaliar a relação do gene da NTPDase5 (ENTPD5) com o prognóstico de pacientes com diferentes graus de glioma. A partir de dados de redes de interação proteína-proteína, processos biológicos que essa enzima pode estar envolvida foram identificados. Os resultados obtidos indicam que os gliomas mais agressivos apresentam expressão aumentada de ENTPD5. Ainda, as curvas de sobrevida para gliomas de baixo e alto grau demonstram que pacientes com alta expressão de ENTPD5 apresentam menor sobrevida do que os pacientes com baixa expressão independentemente do tipo histológico. A análise dos processos biológicos envolvidos sugere que a NTPDase5 participa de mecanismos conhecidos de expressão sustentada de proteínas de membrana e desregulação metabólica em glioblastomas, além de mecanismos ainda não estudados como regulação da ubiquitinação de proteínas. Esses resultados apontam que a NTPDase5 provavelmente está envolvida na progressão de gliomas e indica potenciais mecanismos a serem investigados. Unitermos: Glioma; Glioblastoma; Sinalização celular.

### P1889

#### **Avaliação de softwares de predição através de mutações no gene IDS descritas na literatura**

Matheus Raposo Pereira Martins de Almeida, Rowena Rubim da Silva Couto, Diana Elizabeth Rojas Málaga, Ana Carolina Brusius-Facchin, Sandra Leistner-Segal - HCPA

A síndrome de Hunter ou Mucopolissacaridose II (MPS II), é uma doença recessiva ligada ao X com uma incidência mundial estimada de 1,3 a cada 10.000 nascidos vivos. A MPS II é causada pela deficiência ou ausência da enzima iduronato-2-sulfatase, ocasionando a falha da degradação de dois glicosaminoglicanos (GAGs): dermatan-sulfato e heparan-sulfato. O fenótipo da doença pode variar desde uma forma mais branda na qual a disfunção neurológica é mínima e os pacientes tem inteligência normal a mais severa na qual o envolvimento neurológico é proeminente e a deficiência intelectual é acentuada. O gene IDS está localizado no cromossomo X e está dividido em 9 exons com 24Kb de DNA genômico. Até o momento, 317 mutações diferentes foram identificadas no gene IDS. Métodos computacionais in silico são utilizados para simular modelos de situações reais que são construídos e testados para prever o efeito da mutação na proteína. O objetivo deste trabalho é determinar a acurácia de diferentes preditores de acordo com mutações já definidas pela literatura. Foram avaliados 49 pacientes com fenótipos variáveis, 25 mutações, sendo 18 missenses e 7 nosenses. Para mutações com troca de aminoácidos foi utilizada a plataforma PREDICTSNP, que engloba os softwares: MAPP (avalia as variações físico-químicas em cada alinhamento da sequência), PhD-SNP (conservação evolucionária), PolyPhen-1 (predições baseadas na conservação, dobramento da proteína e estrutura do cristal), PolyPhen-2 (avalia estrutura proteica e conservação evolucionária), SIFT (utiliza homologia de sequência), SNAP (estrutura secundária da proteína, acessibilidade solvente e conservação). Na análise de mutações de ponto, foram utilizados os softwares: CADD, DANN, FATHMM, FunSeq2, GWAVA, que avaliam por diferentes formas as variantes de um único nucleotídeo. A análise apresentou 72,22% de acurácia pelo MAPP, PhD-SNP, PolyPhen-2, SIFT obtiveram 100%, 77,77% no PolyPhen-1 e 66,66% no SNAP. Já na análise das 7 mutações de stop codon 6 foram preditas como mutações neutras. Os preditores mostraram resultados satisfatórios nas variantes missenses, com troca de aminoácidos, entretanto, nas variantes nosenses com códon de parada o índice de acerto diminuiu para 14,29%. Os resultados obtidos pelos softwares indicam grandes avanços e utilidade na predição de mutações, contudo a análise de variantes do tipo nonsense, devem levar em consideração outras ferramentas de predição para uma melhor caracterização dessas variantes. Unitermos: Síndrome de Hunter; MPS II; IDS.

### P1995

#### **O consumo gestacional de suco de uva tinto sobre atividade antioxidante enzimática e não enzimática em fígado de ratas wistar**

Malena Rostirola Miri, Isabel Cristina Teixeira Proença, Jéssica Pereira Marinho, Tamires Marques de Abreu, Gustavo Fernandes Vasques, Amanda Stolzenberg Blemeel, Claudia Funchal, Daniela Pochmann, Caroline Dani - IPA

Introdução: O período gestacional é um processo fisiológico, onde ocorrem mudanças do metabolismo materno, aumentando os