

2505

BIOMARCADORES DE RESPOSTA A INIBIDORES DE CHECKPOINT EM ADENOCARCINOMA DE PULMÃO: UMA ANÁLISE DO THE CANCER GENOME ATLAS

GUILHERME DANIELSKI VIOLA; TIAGO FINGER ANDREIS; PATRICIA ASHTON-PROLLA; GABRIEL DE SOUZA MACEDO

HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Introdução: Até o momento poucos biomarcadores foram incorporados clinicamente para seleção de pacientes com maior probabilidade de resposta a drogas imunoterápicas em câncer de pulmão. Pacientes com tumores hipermutados - alto TMB (Tumor Mutational Burden) - apresentam maior chance de resposta à inibidores de checkpoint imunológico (ICI). No entanto, a análise de hipermutação requer uma abordagem genômica de alto custo, limitando seu uso na prática clínica. **Objetivo:** O objetivo deste estudo é a busca de novos biomarcadores associados ao status de hipermutação e que poderiam ser utilizados como “surrogate markers” na seleção de pacientes candidatos ao uso de ICI’s. **Métodos:** Dados genômicos de amostras de adenocarcinoma de pulmão disponíveis no repositório The Cancer Genome Atlas foram utilizados (n=515). Dados normalizados de sequenciamento de RNA foram adquiridos pela plataforma R (TCGAbiolinks package) para análise de expressão gênica. Mutações em genes drivers e perfil inflamatório tumoral foram analisados e comparados conforme status de hipermutação (<10 mut/Mb = não-hipermutado versus ≥10 mut/Mb = hipermutado), hábito tabagista e alteração em TP53. **Resultados:** Dos tumores analisadas, 154 (30%) foram hipermutados. Mutações nos genes PTEN, STAT3 e NRAS (em concomitância com TP53 mutado) foram associadas a maior mediana de TMB. Também observou-se uma correlação positiva entre carga tabágica e aumento do TMB, independente da idade ao diagnóstico. A expressão de genes associados à ativação linfocitária, como CD274, HLA-DRA, IFNG foi maior no grupo de pacientes hipermutados, tabagistas e com mutação em TP53. Mutações somáticas em JAK2, associadas à diminuição da apresentação de neoantígenos tumorais, foram associadas à baixa expressão de IFN-γ (p=0,0095), ambos determinantes de menor sensibilidade à imunoterapia. Alterações no gene ARID1A, em 4% dos casos, foram associadas a um aumento na expressão de CTLA4 (p=0,0059), um receptor alvo de ICI’s. Por fim, alterações em STK11 foram identificadas em 81 tumores (15%). Nesse grupo, houve uma redução na expressão de PD-L1 e CTLA4, ambos alvos diretos de ICI’s. **Conclusão:** O status de hipermutação, alterações em TP53 e hábito tabagista estão independentemente associados a um perfil de expressão imunogênico. Complementarmente, alterações nos genes ARID1A, JAK2 e STK11 geraram alterações na expressão de moléculas alvo de checkpoint imunológico, podendo interferir na resposta satisfatória ao tratamento imunoterápico.

2560

INVESTIGAÇÃO DA SINALIZAÇÃO DE TLR4 EM MACRÓFAGOS ASSOCIADOS AO GLIOBLASTOMA

MARIANA RAUBACK AUBIN; LORRAYNNE LETYCIA PRADO DA CRUZ; PRISCILA OLIVEIRA DE SOUZA; ANA CAROLINA HENZEL RAYMUNDO; ANA HELENA DA ROSA PAZ; ELIZANDRA BRAGANHOL; ANELISE BERGMANN ARAÚJO

HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Introdução: O glioblastoma (GB) representa a forma mais comum e devastadora de tumor cerebral primário. A retirada do tumor é o tratamento de escolha, seguido de radio/quimioterapia com temozolomida (TMZ). O sucesso do tratamento é prejudicado pelo desenvolvimento de quimiorresistência. Há indícios da relação do câncer com um microambiente inflamatório, citocinas e ligantes de Toll-like receptors (TLRs). Apresentamos a hipótese de que a morte celular resultante da quimioterapia modularia os TLRs positivamente, tanto nas células tumorais, como nos macrófagos associados ao tumor (TAM), favorecendo a progressão tumoral. Assim, a caracterização da sinalização dos TLRs como mecanismo de quimiorresistência nos gliomas representa uma proposta terapêutica para GB. **Objetivo:** Avaliar a expressão e funcionalidade do TLR4 em macrófagos associados a GB sensíveis ou resistentes a TMZ. **Métodos:** O protocolo de quimiorresistência foi previamente realizado em linhagens de GB humano (U87MG) e de camundongo (GL261), gerando as células U87TMZ e GLTMZ resistentes. Macrófagos humanos e de camundongo C57/BL-6 foram obtidos a partir de diferenciação de monócitos ou de lavado peritoneal, respectivamente, e foram co-cultivadas com U87/U87TMZ ou GL/GLTMZ. Células cultivadas isoladamente foram consideradas controle. A expressão de TLR4 foi determinada por qPCR; a funcionalidade de TLR4 e a produção de citocinas foi determinada por citometria de fluxo utilizando marcação do complexo TLR4-MD2 e kit comercial, respectivamente, na ausência e na presença de LPS (10 ng/mL), agonista de TLR4. **Resultados:** Os resultados indicam decréscimo de 60-70% da expressão de TLR4 em TAMs, quando comparado com macrófagos cultivados isoladamente, o que foi acompanhado por uma redução paralela da funcionalidade desse receptor, especificamente nos macrófagos. Além disso, foi verificado um aumento da produção das citocinas IL-6, IL-10, MCP-1 e TNF em TAMs. O tratamento das culturas com LPS não foi capaz de restaurar a funcionalidade do receptor nos TAMs. **Conclusões:** Ao contrário da hipótese, não houve diferença significativa na expressão e funcionalidade de TLR4 em macrófagos expostos a GB sensíveis ou resistentes a TMZ. Em conjunto, esses dados apontam a supressão da sinalização de TLR4 em TAMs como um mecanismo fundamental da progressão tumoral. Assim, estratégias para seletivamente ativar TLR4 em TAM poderiam induzir uma resposta de ataque ao tumor com conseqüente redução da progressão tumoral.