

Archives of Endocrinology and Metabolism

OFFICIAL JOURNAL OF THE BRAZILIAN SOCIETY OF ENDOCRINOLOGY AND METABOLISM

Vol. 63 • Supplement 01 – May 2019

16 a 18 de maio

Centro de convenções Frei Caneca
São Paulo-SP

13° COPem 2019

Congresso Paulista de Endocrinologia
e Metabologia



Sociedade Brasileira de
Endocrinologia e Metabologia
REGIONAL - SÃO PAULO



Sociedade Brasileira de
Endocrinologia e Metabologia

TL.13 RETROTRANSPOSABLE ELEMENTS IN ENDOCRINE DISEASES AND ENDOCRINE-RELATED CANCER: MOBILE DNA AT WORK

Batista RL¹, Yamaguchi K², Goodier J², Domenice S¹, Costa EMF¹, Kazazian Jr HH², Mendonça BB¹

¹ Universidade de São Paulo – Endocrinologia do Desenvolvimento. ² Johns Hopkins School of Medicine – Genetic Medicine

Introduction: Transposable elements (TE) are DNA sequences capable of moving in genomes. They compose almost 50% of human DNA and they copy and paste themselves in new genomic loci using and RNA as intermediate. Their mobility have structural and functional impact on genes and can cause human disease. **Objectives:** To analyse the role of TE in inherited endocrine condition (androgen Insensitivity Syndrome; AIS) and in endocrine related-cancer (Seminoma from testes and prostate cancer). **Methods:** We sequenced whole exonic region and 5'UTR region of the AR gene in 6 AIS families. We used specific primers for TE LINE-1 sequencing (L1Hs). AR expression was assessed by RT-PCR. Methylation analyses was performed through bisulfite modification of the 5' end promoter CpG islands of the main PIWI genes (PIWI1,2 and 4) and of the TE LINE-1 in gonads with seminoma in 2 AIS patients (c.2521C>G and c.384_385delGA). As control, we used the contralateral normal gonad. In prostate cancer, we performed a L1-seq using a vector-ette PCR with DNA from single cell isolation. The L1 were annotated and the frequency was compared between 3 groups: stage 1 (n = 8), stage 2 and 3 (n = 8) and stage 4 (n = 7). All L1 were confirmed by Sanger. **Results:** We identified a large insertion in the 5'UTR region of the AR gene in a large AIS family which was 99.7% similar to hot TE LINE-1 present in the X chromosome (AC002980). The AR expression was lower in affected AIS than in controls (p = .03). In the seminoma, there was PIWI genes hypermethylation (1, 2 and 4; p = 0.03, 0.001, and 0.01). PIWI expression by RT-PCR was low in tumoral samples (1, 2, and 4; 0.03, 0.02, and 0.005) whereas hypomethylation occurred in the LINE-1 in tumours (p < 0.001). In prostate cancer, there was a correlation between the LINE-1 frequency identified in each subgroup (12 x 26 x 57; p < .001). **Conclusions:** LINE-1 insertion in the 5'UTR of AR gene disrupted AR expression leading to AIS. In prostate cancer, the frequency of LINE-1 elements is increased according to cancer evolution suggesting that TE are related with prostate cancer progression. In seminoma, there was LINE-1 hypomethylation which was associated with high LINE-1 expression. This was accompanied by PIWI genes hypermethylation and low expression. In these tumors, PIWI proteins probably work as TE repressor promoting 5'UTR LINE mutilation. As that discrepancy between PIWI and LINE-1 methylation was not observed in normal testes, TE derepression is a mechanism for gonadal tumours. In summary, we demonstrated that TE elements play a role either in inherited and in endocrine-related cancer.

TL.14 AMPLO ESPECTRO FENOTÍPICO DO DDS DISGENÉTICO 46,XY CAUSADO POR VARIANTES DELETÉRIAS NO DEAH-BOX HELICASE 37 (DHX37)

Gomes NL^{1,2}, Silva TE¹, Lerario AM^{3,4}, Nishi MY^{1,3}, Carvalho⁵, Paula LCP⁶, Carvalho LR¹, Costa EMF¹, Mendonça BB^{1,2}, Domenice S¹

¹ Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP) – Unidade de Endocrinologia do Desenvolvimento, Laboratório de Hormônios e Genética Molecular (LIM/42), Disciplina de Endocrinologia e Metabologia do. ² Santa Casa de Belo Horizonte – Unidade de Adrenal e Gônadas, Serviço de Endocrinologia e Metabologia. ³ FMUSP – Laboratório de Sequenciamento em Larga Escala (SELA). ⁴ University of Michigan, Ann Arbor, MI, USA – Division of Metabolism, Endocrinology and Diabetes, Department of Internal Medicine. ⁵ HCFMUSP – Departamento de Patologia. ⁶ Hospital de Clínicas de Porto Alegre – Programa de Atendimento às Desordens do Desenvolvimento Sexual (PADS)

Introdução: O espectro fenotípico da disgenesia gonadal (DG) 46,XY é amplo, indo desde a forma completa até a síndrome de regressão testicular embrionária (SRTE), que é caracterizada pela presença de micropênis, ausência de derivados mullerianos e ausência de pelo menos um dos testículos. A maior parte dos pacientes com DG 46,XY permanece sem diagnóstico molecular, especialmente aqueles com a SRTE. **Objetivos:** Relatar a variação fenotípica da DG causada por um novo gene, o DEAH-box helicase 37 (*DHX37*), que codifica uma RNA helicase envolvida na embriogênese, espermatogênese, crescimento e divisão celular. **Pacientes e métodos:** Foram estudados 88 pacientes, sendo 17 casos familiares (8 famílias não consanguíneas) e 71 casos esporádicos, sendo 56 pacientes com DG (20 com SRTE) e 32 pacientes classificados como DDS de etiologia indeterminada (DDSI). A maior parte da casuística é brasileira, à exceção de um caso esporádico (chinês-americano) e duas famílias (uma argentina e outra chilena). A maioria dos pacientes (90%) foi estudada por sequenciamento paralelo em larga escala na plataforma Illumina, por um painel de 63 genes relacionados aos DDS ou por exoma. Os dados brutos foram analisados utilizando um pipeline desenvolvido neste laboratório. **Resultados:** Quatro variantes distintas raras em heterozigose foram identificadas no *DHX37* em 11 pacientes de 5 famílias e em 6 casos esporádicos. As variantes estão localizadas nos dois domínios conservados da proteína (ligação ao ATP e helicase C-terminal) e foram classificadas como patogênicas/ possivelmente patogênicas: a p.R308Q (identificada em 2 famílias e 3 casos esporádicos, incluindo o paciente Chinês-Americano); a p.R674W (identificada nas famílias argentina e chilena e em um caso esporádico), a p.S595F (em um caso familiar) e a p.T304M (em um caso esporádico). Doze pacientes têm SRTE e 5 têm DG parcial; em 4 destes os derivados mullerianos estão ausentes. A frequência de variantes raras no *DHX37*, preditas como deletérias em nossa coorte (14%) foi superior àquela observada no gnomAD (0,004%; p < 0,001) indicando uma associação entre as variantes e o fenótipo. Entre os pacientes com SRTE, 50% possuem uma variante deletéria no *DHX37*. **Conclusão:** Variantes deletérias no *DHX37* foram identificadas em todo o espectro fenotípico da disgenesia gonadal 46,XY, em expressiva frequência (14%), especialmente naqueles com SRTE, indicando ter esse gene um importante papel no desenvolvimento e manutenção testicular.