

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.