

eutanasiados por sobredose de isoflurano e foram coletados fígado, baço, pulmão, rim, coração, sangue e tecidos visivelmente anormais para posterior análise histológica. A análise estatística foi realizada utilizando teste Qui-quadrado. Não houve diferença na sobrevivência dos animais tratados, comparados aos animais não tratados. Ao longo dos 2 anos, tampouco foram observadas alterações importantes em parâmetros como peso dos animais. Dos 15 animais tratados, no momento da eutanásia, foi encontrado apenas 1 animal com tumor glandular. Nos animais não tratados foi encontrado 1 animal com um osteosarcoma e 1 com tumor epitelial. A presença de tumores em fígado, baço, pulmão, rim e coração foi muito rara e não foi diferente entre os 2 grupos ($p > 0,05$). Como conclusão, não foi observado um aumento na frequência de tumores em animais tratados com o sistema CRISPR-Cas9, o que evidencia um baixo potencial de mutagênese insercional do sistema, sugerindo segurança do mesmo.

eP2208

Identification of tumor-specific differential methylation profile in periampullary carcinomas

Cleandra Gregório; Sheila Coelho Soares Lima; Fazlur Rahman Talukdar; Ivaine Taís Sauthier Sartor; Raquel Camara Rivero; Simone Márcia dos Santos Machado; Alessandro Bersch Osvaldt; Patricia Ashton-Prolla; Zdenko Herceg; Luis Felipe Ribeiro Pinto
UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Periampullary carcinomas (PACs) are rare neoplasms arising from pancreatic head, ampulla of Vater, distal biliary duct and proximal duodenum. PACs exhibit high mortality due to the lack of efficient therapy and the molecular mechanism underlying the development of these cancers is poorly understood as well as aberrant DNA methylation. We hypothesized that aberrant DNA methylation may be an important event in the tumorigenesis of PACs. To test this hypothesis, we aimed to conduct genome-wide methylation analysis of PACs comparing the methylome profiles of PAC tumors with the adjacent normal tissue (NT). Methylation profiles were investigated using Illumina's Infinium Human Methylation 450 BeadChip array in 17 PAC and 14 NT samples. Differential methylation among the samples was analyzed by robust regression. PAC exhibit distinct global methylation profiles in comparison to their NT. We identified a total of 5622 differentially methylated positions (DMPs) and 1056 differentially methylated regions (DMR) corresponding to 789 genes ($FDR \leq 0.05$, $\Delta\beta > 0.2$). Among PAC-specific DMRs, we found 14.2% (112 genes) were hypomethylated and 85.8% (671 genes) were hypermethylated. Some of the identified DMR-associated genes (ZSCAN18, CDH13, RUNX3, DCLK1, CCND2, SLIT2 and TWIST1) were reported in previous studies on PAC, supporting the notion that specific genes may be consistently targeted by differential methylation. To further determine the potential biological relevance of the identified DMRs, pathway analyses were performed using Enrichr that revealed dysregulation in calcium signaling and signaling pathways regulating pluripotency. The present study identified specific differentially methylated genes underscoring the potential role of distinct pathways involved in the development and progression of PAC. These deregulated genes and pathways might be potentially exploited in the development of epigenetics-based strategies for biomarker discovery and therapeutic intervention.

eP2222

Hiper-homocisteinemia leve altera status redox e enzimas mitocondriais do estriado de ratos

Tiago Marcon dos Santos; Giancarlo Tomazzoni de Oliveira; Cassiana Siebert; Angela T. S. Wyse
UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Elevados níveis de homocisteína (HCY) estão correlacionados com neurodegeneração e com o comprometimento de estruturas cerebrais, tais como o estriado, que pode levar a danos na coordenação motora. O objetivo do trabalho foi avaliar parâmetros de estresse oxidativo [produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), níveis de nitritos, dano a lipídeos e proteínas, e atividades antioxidantes – conteúdo de glutatona reduzida (GSH), glutatona peroxidase (GPx), superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e a razão SOD/CAT] no estriado de ratos submetidos à hiper-homocisteinemia (HHCY) leve crônica. O metabolismo energético [succinato desidrogenase (SDH), complexos II e IV] e a atividade da Na^+, K^+ -ATPase foram também investigados. Vinte ratos Wistar foram randomizados em grupo controle e HCY. O grupo HCY recebeu uma administração de HCY (0,03 μ mol/L por g de peso corporal), duas vezes ao dia, dos 30 aos 60 dias de vida. O grupo controle recebeu igual volume de salina. Aproximadamente 12h após a última injeção os ratos foram eutanasiados e o estriado dissecado para análise ($n=8$ animais/grupo). O projeto foi aprovado pelo CEU/UFRGS #33.301. A análise estatística foi realizada pelo teste t de Student considerando $p < 0,05$. A HHCY leve aumentou a produção de EROs ($p < 0,01$) e as atividades da GPx e CAT (ambas $p < 0,05$). O conteúdo total de sulfidrilas (que avalia danos a proteínas) tendeu a estar aumentado ($p = 0,0734$). Outros parâmetros medidos não foram alterados pelo tratamento (ambos $p > 0,05$): níveis de TBARS (que avalia danos a lipídios de membrana), níveis de nitritos, conteúdo de GSH, atividade de SOD e razão SOD/CAT. A HHCY leve crônica aumentou a atividade da SDH e do complexo II (ambas $p < 0,05$) e mostrou uma tendência em reduzir a atividade do complexo IV ($p = 0,1025$). A atividade da Na^+, K^+ -ATPase não foi significativamente alterada ($p = 0,1250$). Os ratos submetidos à HHCY leve crônica apresentaram variações nos parâmetros de estresse oxidativo, demonstrando que a exposição crônica à HCY modifica o status redox no estriado dos ratos. Essas modificações promoveram a formação de EROs e alterações nos complexos da cadeia respiratória, o que pode comprometer o metabolismo energético e levar a alterações na produção de ATP. Essas mudanças podem alterar o funcionamento do estriado levando à danificação da estrutura caso a HCY continue elevada e comprometer a função cerebral e motora. Apoio Financeiro: CNPq e BIC/UFRGS.

eP2227

Comparação de três metodologias distintas para o diagnóstico laboratorial da Síndrome do X-Frágil

Juliana Cristine Fontana; Raíssa Borges Monteiro; Franciele Barbosa Trapp; Bruna Serrão de Oliveira; Temis Félix; Sandra Leistner-Segal
HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Introdução A Síndrome do X-Frágil (SXF) é uma doença monogênica do neurodesenvolvimento atribuída a ausência da proteína FMRP (Fragile X Mental Retardation Protein), causada pelo silenciamento epigenético do gene FMR1, e acompanhada pela metilação do promotor e expansão de mais de 200 repetições de trinucleotídeos CGG na região 5' UTR deste gene. Esta alteração é denominada de mutação plena (MP). O limite normal é de 45 repetições. Gray zone (45-54 repetições) e pré-mutação (PM) 50-200 repetições. O diagnóstico molecular pode ser realizado pela metodologia de PCR convencional (PCR) utilizada como uma triagem em indivíduos do sexo masculino, identificando apenas a presença de uma expansão, podendo ser esta uma PM ou MP. Este teste

não é adequado para mulheres devido a presença de um cromossomo X normal. Assim, torna-se necessária a utilização de diferentes metodologias para identificação de mutação em pacientes do sexo feminino e para diferenciar a presença de uma PM ou MP. Objetivo Comparar o resultado de três técnicas moleculares distintas para diagnóstico de pacientes com suspeita da SXF e identificar familiares portadores de PM. Métodos Foram selecionados 15 pacientes, incluindo 4 mulheres, previamente analisados através da PCR. As metodologias adicionais utilizadas foram PCR metilação específica (MS-PCR) e análise de fragmentos por eletroforese capilar utilizando o kit AmplideX. Resultados A amostras do sexo feminino não foram analisadas por MS-PCR. Não houve amplificação por PCR de 6 amostras do sexo masculino. Após MS-PCR para avaliação destes casos, 4 foram mosaicos (PM+MP) e 2 MP. Estes resultados foram concordantes após AmplideX. Para os outros 5 pacientes com resultado sugestivo de PM após PCR e MS-PCR, os resultados de AmplideX foram divergentes: 3 normais e 2 gray zone. Conclusão Todas as técnicas são eficientes para detecção de indivíduos normais, com exceção de mulheres para as quais é mandatória a utilização de AmplideX. Para homens, a MS-PCR é capaz de diferenciar uma PM de uma mutação plena e também identificar indivíduos mosaicos para estes dois tipos de expansão e deve ser utilizada para complementar um resultado positivo da triagem por PCR convencional. O AmplideX é um teste completo e permite diferenciar todos os tipos de expansões, tanto em homens quanto em mulheres. Entretanto, devido ao seu alto custo, deve ser utilizado preferencialmente para o diagnóstico em mulheres e para determinar o tamanho das expansões em portadores de PM.

eP2239

Efeitos citoprotetores de secreções obtidas da lagarta *Lonomia obliqua* sobre células-tronco endometriais humanas

Raquel de Almeida Schneider; Paula Barros Terraciano; Débora Helena Zanini Gotardi; Jorge Almeida Guimarães; Markus Berger Oliveira; Eduardo Pandolfi Passos
HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Introdução: A síndrome do abortamento gestacional recorrente é associada com um decréscimo do número de células-tronco endometriais e de sua capacidade de migração e proliferação celular. Essas células são indispensáveis para que a gestação ocorra pois criam um microambiente favorável para implantação e desenvolvimento embrionário. Desta maneira, identificar novas moléculas citoprotetoras que podem estimular a proliferação de células-tronco endometriais é de interesse terapêutico. O veneno da lagarta *Lonomia obliqua* é rico em moléculas bioativas citoprotetoras que podem melhorar a atividade de células-tronco endometriais. Objetivo: caracterizar os efeitos citoprotetores do veneno da lagarta *Lonomia obliqua* nas células-tronco endometriais. Métodos: células-tronco endometriais foram isoladas de biópsias endometriais e cultivadas em meio DMEM LOW suplementado com 20% de soro fetal bovino e 1% de penicilina-estreptomicina. A viabilidade e a proliferação celular foram analisadas com MTT e contagem com azul de Trypan e a migração das células foi avaliada com o ensaio de Wound Healing. Resultados: o veneno da *L. obliqua* (0.001 – 10 µg/mL) provocou aumento da proliferação e viabilidade celular de maneira dependente da dose do veneno tanto em condições normais de cultivo quanto em privação de nutrientes (ausência de soro fetal bovino). Todas as doses testadas provocaram esse aumento e mesmo a dose mais alta não foi citotóxica de acordo com a quantificação de lactato desidrogenase. Os componentes do veneno aumentaram a capacidade de migração das células em 24 horas e a produção de óxido nítrico. Um dos mecanismos envolvidos na citoproteção pode ser a atividade antioxidante, já que as células cultivadas com veneno não produziram ânion superóxido mesmo em privação de nutrientes. Conclusão: O veneno da *L. obliqua* é capaz de ação citoprotetora e aumento da proliferação, viabilidade e migração celular por bloquear a produção de espécies reativas de oxigênio, sendo um suplemento promissor na terapia celular.

eP2242

Warm Necropsy - autópsia rápida, o que é e por que realizar?

Hellen Meiry Grosskopf Werka; Raquel Camara Rivero; Carlos Thadeu Schmidt Cerski; Marcelle Reesink Cerski
HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Introdução: A autópsia ou necropsia clínica busca esclarecer a causa mortis e, através disso, promover avanços na educação médica e na qualidade da assistência. Desde sua origem, achados anatômicos e histológicos foram o foco dos patologistas em busca de diagnósticos. O foco, porém, expandiu-se para incluir a análise genômica, devido aos progressos recentes na patologia molecular. Alterações no DNA iniciam-se minutos após a morte e a maioria ocorre entre sete e quatorze horas. O estudo genético adequado carece de material viável e, assim, demanda um rápido exame post mortem. Dado isso, cunha-se o termo autópsia rápida ou quente (rapid autopsy, warm autopsy). Objetivo: Informar sobre warm autopsy, realizada no Serviço de Patologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Metodologia: Paciente com falência hepática de etiologia desconhecida motivou a realização desse procedimento, feito duas horas após o óbito, para que a autópsia clínica fosse realizada com o mínimo de artefatos de autólise e para agilizar o desenlace de procedimentos fúnebres. Observações: No Brasil, conforme o artigo 162 do Código de Processo Penal, a autópsia deve ser realizada ao menos seis horas após o óbito, salvo se os peritos julgarem apropriados antes desse prazo. Células tumorais são clones mutantes heterogêneos e uma biópsia provê apenas um número limitado destes e de apenas um sítio, inviabilizando estudos comparativos. Tais estudos são cruciais para elucidar mecanismos de evolução, disseminação, resistência tumoral e mutações prévias. Múltiplas biópsias exporiam o paciente in vivo a riscos incabíveis, enquanto a autópsia rápida fornece espécimes suficientes. Programas de autópsia rápida estão em execução em diversos hospitais, e dentre os resultados atingidos, há a elucidação de mecanismos de mutação do gene PTEN, mutação do gene PI3KCA em tumor de mama ocasionando resistência à quimioterapia e aumento na heterogeneidade clonal após quimioterapia em casos de câncer de mama. A dificuldade em obter consentimento familiar e financiamento representam grandes barreiras, bem como a falta de conhecimento por parte da comunidade médica sobre os avanços possibilitados com essa técnica. Considerações: A autópsia rápida busca progressos e fornece ferramentas às pesquisas em oncologia e à complementação dos achados anatômicos e histológicos. Alertar sobre a existência e possibilidades oferecidas promove o reconhecimento dessa opção, impulsionando questionamentos, atualizações e pesquisas.