

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

##### **Identificação de 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<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase foram também investigados. Vinte ratos Wistar foram randomizados em grupo controle e HCY. O grupo HCY recebeu uma administração de HCY (0,03μmol/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 sulfidrila (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<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-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