

of cancer are also modulated by the 5 proteins found here, including proliferation and death, cell metabolism, cell migration and intracellular trafficking. In addition, some proteins also have potential to be tested as therapeutic targets (e.g. LYPLA1/APT1, TCN2N and TRIM67) or as follow-up markers (e.g. MAST4 and TC2N). In conclusion, potential biomarkers described here, besides adding to the molecular knowledge of pancreatic carcinogenesis, have potential to be used as prognostic and/or follow-up factors and also to enable the discovery of new targets of therapy in pancreatic cancer.

BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR

2043

SUPEREXPRESSÃO DE PIK3CA TEM IMPACTO NA SOBREVIDA GLOBAL DE PACIENTES COM CARCINOMA DE MAMA DO SUBTIPO HER2

SIDNEI IENSEN FELICIDADE; EMILY FERREIRA SALLES PILAR; JOARA PREDEBOM FLORES TEIXEIRA; GUILHERME WATTE; GABRIELA REMONATTO; RITA DE CÁSSIA SANT'ANNA ALVES; ADRIANA VIAL ROEHE
UFCSPA - Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

Introdução: o carcinoma invasivo de mama HER2-positivo ocorre entre 15 a 20% entre os carcinomas de mama e as ferramentas laboratoriais mais utilizadas para seu diagnóstico e classificação para o tratamento com anti-HER2 são a imunohistoquímica (IHQ) e hibridização in situ. Porém, pode ocorrer falha neste tratamento, através de mecanismos associados à via de sinalização mTOR, pelos quais os genes PTEN e PIK3CA estão envolvidos. Com isso, o conhecimento sobre os níveis de expressão destes genes, pode contribuir para uma melhor estratificação e tratamento personalizado destes pacientes. Objetivos: avaliar a expressão de PIK3CA e PTEN por IHQ em carcinomas de mama HER2 positivos e correlacionando os resultados com parâmetros clínico-patológicos. Materiais e Métodos: foram estudadas, retrospectivamente, 50 amostras (biópsias virgens de tratamento) de pacientes com diagnóstico de carcinoma de mama HER2-positivo. O projeto recebeu aprovação ética na Plataforma Brasil, CAAE: 57627916.8.0000.5327. As amostras foram submetidas a IHQ para PTEN (Abcam-ab31392) e PIK3CA (Abcam-ab152155), em plataforma automatizada. A análise dos resultados foi realizada por dois observadores independentes, de modo semiquantitativo, sendo avaliadas percentagem de células positivas (0 a 100%) e intensidade de marcação (0 a 3), com posterior criação de um escore (0-300 pontos). Os dados foram submetidos a análise estatística, sendo considerados estatisticamente significativos valores de $p < 0,05$. Resultados: A expressão imunohistoquímica do anticorpo PIK3CA foi positiva em 86% das amostras. A perda de expressão de PTEN foi observada em 46% dos casos. A expressão dos marcadores não apresentou correlação significativa entre si e nem com os parâmetros clínico-patológicos estudados: grau tumoral, estadiamento, RE, RP, Ki67, recidiva. A expressão positiva de PIK3CA esteve associada com diminuição da mortalidade na amostra estudada ($P = 0.016$) e maior tempo de sobrevida das pacientes ($p = 0.001$). O marcador PTEN não mostrou efeito significativo na análise de sobrevida. Conclusões: A expressão de PIK3CA mostrou efeito protetor em relação ao tempo de sobrevida das pacientes com Câncer de Mama HER-positivo. Palavras-chave: câncer de mama, imunohistoquímica, HER2, PIK3CA, PTEN.

2049

PARTÍCULAS DE MEMBRANA, CÉLULAS ESTROMAIS MESENQUIMAIS E SEU MEIO CONDICIONADO POLARIZAM MACRÓFAGOS EM UM PERFIL ANTI-INFLAMATÓRIO IN VITRO

ANA BEATRIZ TITTONI DA SILVEIRA; ANA CAROLINA HENZEL RAYMUNDO; MICHELE ARAMBURU SERAFINI; DIENIFER HERMANN SIRENA; ALEXIA NEDEL SANT'ANA; MARIANA RAUBACK AUBIN; MONIQUE MARIA FRANCO DA SILVA; ELIZANDRA BRAGANHOL; FABIANY DA COSTA GONÇALVES; ANA HELENA DA
HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

As Células Estromais mesenquimais(MSC) têm sido vistas como potencial tratamento para doenças inflamatórias, devido à sua capacidade de imunomodulação, seja pela secreção de fatores solúveis ou pelo contato célula-célula. O macrófago é uma das primeiras células imunes a chegar ao local de inflamação. Acredita-se que as MSC sejam capazes de modular essas células, convertendo os macrófagos do perfil inflamatório (M1) para um perfil anti-inflamatório (M2). Todavia, a terapia com MSC pode apresentar riscos, pois- devido ao seu tamanho ($>200\mu\text{m}$)- as MSC podem ficar retidas nos microcapilares pulmonares, causando embolia. Portanto, esse trabalho objetiva avaliar o efeito do meio de condicionado de MSC (MSC-CM) e das partículas de membrana de MSC (MSC-MP) na polarização de macrófagos in vitro. Para isso, foram coletados macrófagos peritoneais e MSC do tecido adiposo de camundongos C57BL/6 e foram cultivados macrófagos da linhagem RAW 264.7. As MSC foram ativadas com LPS e foi coletado o MSC-CM. As MSC-MP foram geradas por lise e ultracentrifugação e seu tamanho médio foi medido. Para determinar se houve polarização, os macrófagos foram cultivados nos seguintes grupos: MØ (controle não estimulado), LPS (controle pró-inflamatório), IL-4 (controle anti-inflamatório), MSC (co-cultivados com MSC), CM (cultivados com MSC-CM) e MP (cultivados com MSC-MP). Cada grupo foi avaliado quanto a atividade enzimática da arginase e a expressão de CD206. Ainda realizou-se ensaio de morfometria celular e fagocitose com os macrófagos GFP peritoneais e RAW 264.7 marcados com rodamina-faloídina, as imagens foram analisadas pelo software image J. As MP apresentaram tamanho médio menor que $200\mu\text{m}$. A atividade da arginase estava aumentada nos grupos MSC e MP em relação ao grupo controle ($p < 0,05$), sugerindo atividade anti-inflamatória. A expressão de CD206 foi maior nos grupos MSC (MFI= 6.195), CM (MFI= 4.066) e MP (MFI= 4.582) e o ensaio de morfometria indicou que os grupos CM e MP

apresentaram aumento do alongamento celular quando comparados ao grupo LPS, tanto em macrófagos RAW 264.7 quanto em macrófagos de cultura primária ($p < 0,05$). Ambos os resultados apontam para uma polarização de macrófagos no perfil M2. O ensaio de fagocitose demonstrou que as MP são englobadas pelos macrófagos; sugerindo que o efeito imunomodulador das MP se daria devido a interação célula-célula com os macrófagos, o que as torna uma potencial terapia livre de células.

2079

CAMUNDONGOS AG/WT, BALB/C, C57, DBA1/J E RATOS WISTAR APRESENTAM COMPORTAMENTOS DIFERENTES NA DESCALCIFICAÇÃO COM SOLUÇÃO DE ÁCIDO NÍTRICO E EDTA

EDUARDA CORREA FREITAS; SUELEN PIZZOLATTO DALMOLIN; FRANCINE HEHN DE OLIVEIRA; MATEUS MÜLLER DA SILVA; EMILY FERREIRA SALLES PILAR
HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Introdução: O processo de descalcificação de amostras mineralizadas para análise microscópica em patologia é um desafio. O equilíbrio entre o tempo de descalcificação, preservação da integridade do tecido e o custo é desejável. **Objetivo:** Avaliar o efeito da solução de ácido nítrico e EDTA na descalcificação da articulação tibio-tarsal de camundongos AG/WT, BALB/c, C57, DBA1/J e ratos Wistar. **Materiais e Métodos:** Após a eutanásia, as patas posteriores foram removidas e colocadas em formalina tamponada 10% por até 72 horas. Os espécimes de cada linhagem foram divididas aleatoriamente em três grupos: (1) Solução de ácido nítrico 10%, (2) Solução de EDTA 12,5% à temperatura ambiente e (3) Solução de EDTA 12,5% à temperatura 35°C e agitação. As soluções de desmineralização foram substituídas a cada 24 horas. As seções articulares foram cortadas em micrótomo e coradas com hematoxilina de Harris e eosina (HE). Os seguintes parâmetros foram avaliados: tempo de descalcificação, variação de massa, facilidade de corte, preservação da basofilia nuclear e detalhamento intranuclear, intensidade da coloração da eosina e custos da descalcificação. **Resultados:** A solução de ácido nítrico 10% apresentou o menor tempo de descalcificação. A solução de 12,5% de EDTA com agitação e aquecimento a 35°C não foi capaz de diminuir os dias em que as amostras permaneceram na solução de descalcificação em nenhuma das linhagens. Todas as soluções de descalcificação reduziram a massa dos espécimes. Os protocolos de descalcificação apresentou percepções heterogêneas para facilidade de corte e coloração de HE para cada linhagem. Os custos estiveram diretamente relacionados ao tempo de descalcificação para concluir a desmineralização dos espécimes. **Conclusão:** A solução EDTA apresenta a melhor qualidade na coloração para a linhagens AG/WT, BALB/c, C57 e DBA1/J. Os espécimes de ratos Wistar também mostraram preservação da coloração nas amostras descalcificadas em ácido nítrico a 10%. A análise histológica mostrou que as linhagens não se comportam de forma idêntica nos parâmetros avaliados. O comportamento das amostras de linhagens de camundongos é mais semelhante do que ao observado nos ratos Wistar.

PALAVRAS CHAVE: osso; descalcificação; desmineralização; ácido etilenodiaminotetracético (EDTA); articulação; ácido nítrico.

2113

PADRONIZAÇÃO DE UM PROTOCOLO DE EXTRAÇÃO ORGÂNICA DE DNA DE SIPF PARA USO NA CONFIRMAÇÃO DE CASOS ALTERADOS NA TRIAGEM NEONATAL DE DOENÇAS LISSÔMICAS SELECIONADAS

ALICE BRINCKMANN OLIVEIRA NETTO; DIANA ELIZABETH ROJAS MÁLAGA; FRANCYNE KUBASKI; FRANCIELE BARBOSA TRAPP; ROBERTO GIUGLIANI; c-FACCHIN
HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

A Triagem Neonatal, Teste do Pezinho (TP), é o rastreamento neonatal de crianças portadoras de doenças que devem ser diagnosticadas e tratadas o mais precocemente possível a fim de evitar sequelas para o paciente. As doenças lisossômicas (DL) são um grupo de doenças onde há acúmulo progressivo de substâncias não metabolizadas, no interior do lisossomo, devido a uma deficiência enzimática. Os pacientes geralmente são assintomáticos ao nascimento, mas apresentam progressão rápida da doença e manifestações irreversíveis. Atualmente, nenhuma DL faz parte do TP disponibilizado pelo SUS, de maneira que a inclusão dessas doenças no TP terá um ganho significativo na qualidade de vida futura dos recém-nascidos. A triagem é composta por um conjunto de exames realizados a partir de gotas de sangue do bebê que são impregnadas em papel filtro (SIPF), dentre eles diferentes testes bioquímicos. Além disso, o SIPF pode ser utilizado para a extração de DNA do paciente a ser empregado nas diferentes metodologias moleculares, como PCR, qPCR, MLPA, Sequenciamento de Sanger, Sequenciamento de Nova Geração (NGS), etc. O objetivo do presente estudo é padronizar um método de extração orgânica de DNA de SIPF proveniente do TP utilizando uma quantidade mínima de amostra, 3 spots de 3mm, a ser utilizado no Sequenciamento de Nova Geração, o qual necessita de uma menor concentração de DNA (2ng/uL). O estabelecimento de um novo protocolo de extração possibilita que o SIPF do TP, enviado ao Serviço de Genética Médica para testes enzimáticos, de demanda assistencial do HCPA e de convênios externos, seja reaproveitado na análise molecular, o que reduz significativamente o tempo de confirmação diagnóstica. Uma vez estabelecida a padronização do método, serão usados SIPF de pacientes com diagnóstico bioquímico prévio de doença de Gaucher, doença de Fabry, doença de Pompe, doença de Krabbe, doença NP A/B e MPS I, que possuam amostras de SIPF armazenadas no SGM do HCPA, para confirmação do diagnóstico bioquímico inicial. Os resultados preliminares demonstram eficiência na padronização do protocolo de extração orgânica, chegando a uma concentração média de 14,7 ng/ul de DNA nas amostras controle, sendo possível também desenvolver as metodologias de PCR, qPCR e Sequenciamento de Sanger. Até o momento foram analisados dois pacientes do TP por Sequenciamento de Nova Geração, possibilitando a determinação do genótipo dos mesmos.