

expressam BRAFT1799A na presença de doxaciclina (dox-1 µg/ml). Os efeitos precoces de BRAF foram analisados após 48 horas de indução (Grupo Dox). O tratamento com iodo a 10-5 M no meio de cultura foi realizado por cinco dias (grupo NaI), e no grupo Dox+NaI, a indução com dox foi realizada no dia 3. O controle (Ctr) foi realizado na ausência de dox e NaI. Expressão gênica: detecção de miR-18a, miR-19a, miR-19b e snoRNA foi realizada por qPCR. Expressão proteica: Smad4 foi detectado por Western Blotting utilizando anticorpo monoclonal; alfatubulina foi utilizada como controle. **Resultados:** O efeito precoce de BRAFT1799A sobre a expressão de miRNAs envolve a ativação do cluster miR-17-92 em células foliculares tireoidianas. A indução de BRAFT1799A (Dox) resultou em aumento de 85,8 vezes, 634,3 vezes e 141,6 vezes em miR-19a, miR-19b e miR-18a, respectivamente, comparados com o controle (Ctr). O tratamento prévio com iodo antes da indução de BRAF (Dox+NaI) resultou em reversão parcial ou bloqueio completo desse efeito, com expressão de miR-18a, miR-19a e miR-19b em 2,7 vezes, 2,36 vezes e 0,66 vez em relação ao grupo Ctr, respectivamente. A análise bioinformática de alvos mostra que a região 3'-UTR de Smad4 contém sítios potenciais para ligação de miR-19a e miR-19b. Smad4 é a proteína-chave na transdução do sinal inibitório de TGFB, via comumente alterada no câncer. A análise da expressão proteica mostra que BRAF diminui os níveis de Smad4, enquanto o tratamento prévio de iodo é capaz de bloquear esse efeito oncogênico, sugerindo Smad4 como potencial alvo de miR-19a e miR-19b. **Conclusão:** O iodo exerce efeito protetor na célula folicular tireoidiana durante a indução de BRAFT1799A, revertendo a ativação dos miRNAs oncogênicos miR-19a e miR-19b e restaurando os níveis proteicos de Smad4. FAPESP.

#### OR9 TIREOGLOBULINA PRÉ-DOSE ABLATIVA DE IODO COMO MARCADOR PROGNÓSTICO DE DOENÇA PERSISTENTE EM CARCINOMA DIFERENCIADO DE TIREÓIDE: UM ESTUDO PROSPECTIVO

Rafael Selbach Scheffel<sup>1</sup>, José Miguel Silva Dora<sup>1</sup>, André B. Zanella<sup>1</sup>, Ana Luiza Maia<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Unidade de Tireoide, Serviço de Endocrinologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

**Introdução:** A tireoglobulina (Tg) é um marcador tecido-específico para a tireoide. Estudos recentes têm demonstrado que dosagem da Tg estimulada após tireoidectomia total e antes da dose ablativa de Iodo-131 é um importante fator prognóstico para doença persistente pós-tratamento inicial no carcinoma diferenciado de tireoide (CDT). **Objetivo:** Determinar o valor prognóstico da Tg pré-dose ablativa de iodo em pacientes com CDT em um estudo prospectivo e com desfecho clínico. **Métodos:** De uma coorte de 575 pacientes acompanhados no Ambulatório de Tireoide do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, foram selecionados aqueles com anticorpo antitireoglobulina negativo e dosagem da Tg estimulada após tireoidectomia total e pré-dose ablativa de iodo. A Tg estimulada foi aferida sob estímulo do TSH endógeno (hipotireoidismo). Doença persistente foi definida como presença de doença clínica ou radiológica e/ou tireoglobulina (Tg) estimulada > 1 ng/ml durante o seguimento. Os fatores prognósticos foram avaliados por meio de regressão logística. **Resultados:** Foram incluídos 190 pacientes, sendo 154 (81,1%) mulheres, com idade média ao diagnóstico de 45,3 ± 14,7 anos. A maioria dos pacientes recebeu o diagnóstico de CPT (84,7%; n = 161). Em relação à extensão da doença, 35,2% dos pacientes apresentavam metástases em linfonodos e 7% a distância. Considerando o estadiamento TNM, 93 (48,9%) pacientes apresentavam estágio I, 19 (10%), estágio II, 19 (10%), estágio III e 29 (15,3%), estágio IV. Ao final de uma mediana de 48,5 meses de seguimento (intervalo interquartil 28-72 meses), 74 (38,9%) pacientes apresentavam doença persistente. Utilizando a curva ROC para avaliar o desempenho da Tg pré-dose em prever doença persistente resultou em uma área sob a curva de 0,84 (IC95% 0,78-0,90). O ponto de corte de 7,0 ng/ml foi o que apresentou melhor combinação de sensibilidade e especificidade (sensibilidade de 80% e especificidade de 77%). Classificando os pacientes de acordo com a Tg

pré-dose em grupo 1 (< 7 ng/ml) e grupo 2 (> 7 ng/ml), a taxa de doença persistente foi de 14,4% no grupo 1 e 68,6% no grupo 2 (P < 0,001). De modo interessante, nenhum paciente com Tg pré-dose indetectável (< 1 ng/ml) apresentou doença persistente no seguimento. A regressão logística demonstrou que sexo masculino (OR 6,6; IC95% 1,89-23,08; P = 0,03) e Tg pré-dose (OR 12,4; IC95% 4,49-43,21; P < 0,001) são fatores independentes para doença persistente. **Conclusão:** A Tg pré-dose ablativa de iodo é um fator prognóstico independente para doença persistente em CDT e pode ser utilizada na definição da melhor abordagem terapêutica desses pacientes.

#### OR10 ESTUDO GENÉTICO DA MUTAÇÃO GERMINATIVA DO GENE RET NO BRASIL: O ESTUDO BRASMEN

Fausto Germano Neto<sup>1</sup>, Cléber P. Camacho<sup>1</sup>, Maria Inez Caser França<sup>1</sup>, Laura Sterian Ward<sup>4</sup>, Lúgia Vera Montali da Assumpção<sup>4</sup>, Hans Graf<sup>6</sup>, Cencifa C. Pessoa<sup>6</sup>, Anelise Impelizeri, Rita Weiss, Janete M. Cerutti<sup>3</sup>, Ilda S. Kunii, Magnus R. Dias da Silva<sup>2</sup>, Rui Monteiro de Barros Maciel<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Medicina, Disciplina de Endocrinologia e Metabolismo, Laboratório de Endocrinologia Translacional, Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina (Unifesp-EPM), São Paulo. <sup>2</sup> Departamento de Bioquímica, Disciplina de Biologia Molecular. <sup>3</sup> Laboratório de Bases Genéticas dos Tumores da Tireoide, Disciplina de Genética, Departamento de Morfologia e Genética - Unifesp-EPM. <sup>4</sup> Faculdade de Ciências Médicas - Universidade Estadual de Campinas (FCM-UNICAMP), Campinas, SP. <sup>5</sup> Departamento de Clínica Médica, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba. <sup>6</sup> Serviço de Endocrinologia, Instituto Nacional do Câncer (INCA), Rio de Janeiro

**Introdução:** O carcinoma medular da tireoide (CMT) pode ocorrer na forma esporádica ou na forma hereditária. Na forma hereditária, pode se apresentar como neoplasia endócrina múltipla do tipo 2 (MEN2). Depois da identificação do gene RET (10q11.2) como responsável pela forma hereditária, é que os casos esporádicos e hereditários puderam ser corretamente classificados. A identificação das mutações do RET causadoras dos casos hereditários permitiu o estabelecimento de condutas baseadas na relação genótipo-fenótipo e no desenvolvimento de doença relacionada à idade. Considerando a importância da identificação das mutações para a estratégia de tratamento dos indivíduos dessas famílias, vários centros brasileiros se uniram para investigar a prevalência de mutações do gene RET no nosso país. **Pacientes e métodos:** Sequenciamos o gene RET de 1.063 pacientes suspeitos de CMT e familiares provenientes de São Paulo, Campinas, Rio de Janeiro, Curitiba, Belo Horizonte, Vitória e Fortaleza. Todos os casos índice foram sequenciados para os éxons 8, 10, 11, 13, 14, 15 e 16, enquanto os familiares foram sequenciados apenas para o éxon específico. Todos os produtos de PCR para cada éxon foram sequenciados pelo método de Sanger usando Big Dye™ Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit e o ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City CA, USA). **Resultados:** Analisamos os dados obtidos a partir do sequenciamento de 1.063 indivíduos com risco de mutação no RET (CMT, hiperplasia de células C, líquen amiloidótico, feocromocitoma, história familiar de CMT ou MEN 2). Trinta e seis por cento desses indivíduos foram sequenciados para todos os éxons *hot spots*, enquanto em 64% apenas o éxon específico da família. Encontramos 86 famílias e 580 indivíduos portadores de mutações no gene RET. Foram sequenciados um total de 389 pacientes com CMT, sendo 41% dos casos hereditários e 59% esporádicos. Observamos 24 mutações diferentes no gene RET (G533C, C609S, C609Y, C611R, C611Y, C618R, C618S, C620R, C620S, C620Y, C630R, C634G, C634R, C634S, C634W, C634Y, E768D, L790F, Y791F, V804M, V804L, R886W, S891A e M918T) e 3 variantes de significado clínico ainda indeterminado (V648I, Y791N e M918V). Essas mutações tiveram uma distribuição heterogênea nas várias regiões do país. **Conclusão:** Este estudo representa um esforço nacional para analisar as diferentes mutações responsáveis pelo CMT familiar e NEM2 no Brasil. O trabalho deixou claro a sua importância, pois identificou mutações no gene RET em metade dos indivíduos sequenciados. Além da correta caracterização dos casos esporádicos e familiares, foi possível determinar as regiões do Brasil onde há o predomínio de mutações, o que poderá permitir o desenvolvimento de medidas específicas para cada região. Financiado pela FAPESP (auxílio 06/60402-1).