

ANÁLISE DE POLIMORFISMOS NO GENE *TPT1* EM ASTROCITOMAS PROVENIENTES DE BLOCOS DE PARAFINA

Leonardo Vinicius Barbosa
leovincius@live.com
Cleber Machado-Souza

RESUMO:

Introdução: Os tumores do Sistema Nervoso Central (SNC) são as neoplasias sólidas mais frequentes na faixa etária pediátrica e são as que possuem as maiores taxas de mortalidade. Podem se originar de qualquer célula que compõe o sistema nervoso, como neurônios, astrócitos, oligodendrócitos, células meningoteliais, entre outras. São divididos em neoplasias benignas e malignas, sendo as malignas com diversos graus de agressividade. Na infância, as neoplasias de SNC mais prevalentes são os gliomas de origem astrocitária. São classificados em graus I a IV, utilizando-se a classificação da Organização Mundial da Saúde (OMS). O astrocitoma pilocítico é o tumor do SNC mais comum na infância. É classificado como grau I e apresenta excelente prognóstico. Os graus II, III e IV incluem os astrocitomas infiltrativos – difuso, anaplásico e glioblastoma, respectivamente. As alterações histopatológicas avaliadas para a classificação dessas neoplasias incluem hiper celularidade, atipia nuclear (núcleos hiper cromáticos e pleomórficos), índice mitótico, proliferação capilar glomeruloide e necrose. A partir do grau II, essas alterações tornam-se cada vez mais evidentes, sendo que apenas o glioblastoma (grau IV) apresenta necrose, com ou sem proliferação capilar glomeruloide. A TCTP, é uma proteína presente em células eucarióticas, também é conhecida como HRF (*Histamine releasing factor*); p23 ou fortalina. A *TPT1* (*Tumor protein translationally controlled*) é o gene que codifica a TCTP, é conhecido por desempenhar um papel na carcinogênese e é regulado positivamente por células cancerígenas. É composto por seis éxons e cinco íntrons, com um total de 3819 nucleotídeos, sendo que a transcrição do gene resulta em dois mRNA de 843 e 1163 nucleotídeos. A TCTP é expressa no citoplasma e no núcleo de diferentes tecidos normais (principalmente nos mitoticamente ativos), em resposta a diversos estímulos. Possui papel em eventos fisiológicos (proliferação celular, morte celular, resposta imune, síntese proteica, apoptose, citoesqueleto) e patológicos (resposta ao estresse e reversão tumoral), sendo superexpressa em neoplasias quando comparado com tecidos normais. Assim, uma mutação no gene *TPT1* pode ocorrer, de forma que favoreça ou não o ciclo celular, e para isso, o SNP (*single nucleotide polymorphism*) analisado, foi o rs2234222, que possui uma alteração de G>C e prevalência global de cerca de 1,66% para o alelo C. **Objetivo:** avaliar a associação de polimorfismos no gene *TPT1* com a expressão de TCTP, através de genotipagem de astrocitomas (pilocíticos, difusos, anaplásicos) de pacientes na faixa etária pediátrica, em blocos de parafina. **Método:** A técnica de imunoperoxidase foi utilizada para as reações de imunohistoquímica da TCTP. As lâminas imunocoradas foram submetidas ao scanner de lâminas Axio Scan.Z1 (Zeiss®), em aumento de 40 vezes. O software Zen 3.0 blue edition ZEN Lite software for Windows (ZEISS®, Jena, Germany) foi utilizado para a geração de 30 fotos a partir da imagem completa escaneada. Realizou-se uma análise morfométrica utilizando o programa de análise Image Pro Plus® 4.5 (Media Cybernetics® - Rockville, Maryland, USA) para a expressão tecidual do TCTP. A morfometria é a medida da área positiva obtida pelo marcador. A área obtida foi dividida pela área total do campo observado (micrômetro

quadrado - μm^2), gerando assim um percentual para cada imagem. Foi realizada a extração de DNA do material parafinado contendo as amostras de astrocitomas, e com o DNA purificado, foi amplificado através da RT-PCR (Reação em cadeia da polimerase em tempo real - Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System), e genotipado para o polimorfismo rs2234222 utilizando a tecnologia TaqMan® Genotyping Master Mix (Applied Biosystems). **Resultados:** a prevalência de gênero foi equivalente no grupo geral (n=50, masculino; n=51, feminino), sendo que a prevalência foi maior no grupo feminino nos graus I, II e III, e apenas no grau IV houve uma inversão desse padrão. A mediana de idade ao diagnóstico foi maior em pacientes com grau III (13,3 anos), e menor em pacientes de grau I (4,3 anos). Em relação a expressão de TCTP, os maiores resultados da mediana foram encontrados em tumores de grau I (16142,9; (8274,2-29786,9) já os menores, foram encontrados em tumores de grau II (8083,6 (4492,3-11675,0). Além disso, medianas muito semelhantes foram registradas em pacientes com astrocitoma de grau I e IV (13720,2 e 13424,5) respectivamente. Quando comparado o gênero dos pacientes com a idade ao diagnóstico, indivíduos do gênero masculino possuem uma mediana maior (5,33 anos) do que em pacientes do gênero feminino (4,4 anos). Não houve significância estatística (p=0,908) na distribuição dos genótipos para o rs2234222. O homocigoto GG apresentou maior frequência (n=90; 89%) seguido do heterocigoto CG (n=10; 10%) e do homocigoto CC (n=1; 1%). Analisou-se modelos agrupados (dominante e recessivo) porém essas análises não mostraram significância estatística (p=0,847). O genótipo agrupado para o modelo recessivo (CC+CG) indica para o grau I a maior expressão de TCTP tecidual (14884,2 (8274,2-29786,9). **Conclusão:** Não houve diferenças estatísticas para a distribuição tecidual de TCTP nos diferentes graus do astrocitoma estudados. Em relação a genética, a frequência do alelo polimórfico (C) para o rs2234222 do gene *TPT1* na população estudada foi condizente com o relatado na literatura. Não houve associação estatística quando analisados a expressão tecidual e a genética, e assim, não foi possível associar o marcador estudado como fator de prognóstico nos pacientes com astrocitoma.

PALAVRAS-CHAVE: astrocitoma, gene *TPT1*, TCTP.

REFERÊNCIAS:

ELLISON, D et al. **Neuropathology**, 3a ed. Mosby, 2013. Acesso em: 20 set. 2020.

LOUIS, DN et al. **The 2016 WHO Classification of Tumours of the Central**. Acesso em: 19 set. 2020.

NCBI, **TPT1 tumor protein, translationally-controlled** 1 Homo sapiens (human). 2020. Acesso em: 18 set. 2020.