ÁREA DE SUBMISSÃO

BIOLOGIA MOLECULAR E GENÉTICA



VII CONGRESSO DE BIOLOGIA DA UEL
CONECTANDO OS ELOS DA VIDA
DO MOLECULAR AO ECOSSISTÊMICO

ESFEROIDES MULTICELULARES HOMOTÍPICOS E HETEROTÍPICOS COMO MODELO PARA TRIAGEM DE DROGAS

Celina Yung-Ai Lin Lee[1]; Anna Gabriele Prado Santos[1]; Maiara Piva[2]; Andresa Hiromi Sakai[1]; Flávia Eliza Staut Silva[1]; Beatriz Geovana Leite Vacario[1]; Luiza Magosso Oliveira Rocha[1]; Juliana Mara Serpeloni[1]

[1] Universidade Estadual de Londrina, Laboratório de Mutagênese e Oncogenética;

[2] Universidade Estadual de Londrina, Laboratório de Dor, Inflamação, Neuropatia e Câncer.

Biologia molecular e genética ; experimental; pós-graduação

O câncer é uma das principais causas de morte no mundo, com mais de 20 milhões de novos casos por ano. As culturas tridimensionais de células, tais como os esferoides multicelulares tumorais (EMTs), são amplamente utilizadas no desenvolvimento de novos agentes anticâncer e a criação de novos modelos de triagem é importante para aprimorar a eficácia das respostas preditivas. Assim, o presente trabalho teve como objetivo o desenvolvimento e caracterização morfológica de dois modelos de EMTs, sendo o primeiro um modelo de monocultura de células tumorais (EMTs homotípicos) e o segundo, um modelo de cocultura de células tumorais e fibroblastos (EMTs heterotípicos), bem como a avaliação da resposta de ambos os modelos à cisplatina. A formação dos EMTs homotípicos e heterotípicos foi realizada por meio do semeio de 3000 células tumorais de bexiga UMUC-3 ou de 1500 células tumorais UMUC-3 e 1500 fibroblastos MRC-5, respectivamente, e incubação em estufa a 37 °C por 96 h. Os EMTs foram analisados por microscopia confocal de varredura a laser (MCVL) e por microscopia eletrônica de varredura (MEV), e sua resposta à cisplatina foi avaliada pelos valores de CC50 obtidos por meio do ensaio de integridade e resazurina, realizados aos tempos de 72 h e 216 h. Por meio da MCVL e da MEV, foi possível visualizar nos EMTs heterotípicos uma maior compactação, distribuição homogênea entre células tumorais e fibroblastos pela superfície do EMT e grande presença de matriz extracelular recobrindo as células, dificultando a visualização de células individuais, contribuindo para o aspecto liso e bem definido desse modelo de cultivo. Já os EMTs homotípicos formaram esferoides menos compactos e de aspecto irregular, o que pode estar relacionado à menor presença de MEC e à baixa expressão de proteínas de adesão. Nesse modelo, também foi possível visualizar células individuais nas imagens obtidas por MEV, devido à baixa presença de matriz extracelular. Quando ambos os modelos de esferoides foram expostos a cisplatina (6,25 – 75 µM), foi observada a desagregação dos EMTs homotípicos já no tempo de 72 h na concentração de 12,5 µM, enquanto EMTs heterotípicos mantiveram a sua estrutura 3D em todas as concentrações testadas após 216 h de tratamento. Os valores de CC50 calculados foram de 25,94 µM e 59,08 µM para os EMTs homotípicos e heterotípicos no tempo de 72 h, e de 7,005 µM e 22,77 µM no tempo de 216 h. Os maiores valores de CC50 observados no modelo heterotípico podem estar relacionados à maior compactação, que dificulta o acesso dos quimioterápicos às camadas mais internas dos EMTs. Considerando a complexidade do microambiente tumoral, os nossos resultados sugerem a cocultura de células tumorais com fibroblastos como uma ferramenta que melhor mimetiza os tumores *in vivo* para triagem de novos compostos anticâncer, sendo necessários mais estudos para avaliar a sua resposta em outras etapas da progressão tumoral.

Palavras-chave: Câncer de bexiga; co-cultura; cultura de células 3D; microambiente tumoral.

Agradecimentos: à Central Multiusuária de Laboratórios de Pesquisa da Universidade Estadual de Londrina pela infraestrutura para as análises de MEV e MCVL.

Universidade Estadual de Londrina
Ciências Biológicas UEL
Bioma CONSULTORIA AMBIENTAL

Agência de fomento: ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Processo número 406560/2025-0 e Concessão de Bolsa de Doutorado, Processo número 140352/2025-2), à Fundação Araucária (Processo número: 4.1.01.01.0134 e Bolsa Produtividade da docente Juliana Mara Serpeloni). À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Código de Financiamento 001).

VII CONGRESSO DE BIOLOGIA DA UEL
CONECTANDO OS ELOS DA VIDA
DO MOLECULAR AO ECOSSISTÊMICO

ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA EM CAFÉ ARÁBICA COM INTROGRESSÃO DE *Coffea racemosa* PARA RESISTÊNCIA AO BICHO-MINEIRO

Guilherme de Carvalho Borges[1,3]; Caroline Ariyoshi[3]; Thaís Miki Funada[2,3]; Ricky Lorran Medeiros[2,3]; Luciana Harumi Shigueoka[4]; Gustavo Hirsohi Sera[4]; Luiz Filipe Protasio Pereira[3,5]

[1] Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas;
[2] Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias;
[3] Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná, Laboratório de Biotecnologia;
[4] Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná, Área de Melhoramento e Propagação Vegetal;
[5] Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Café;

Biologia Molecular e Genética; experimental; pós-graduação

Resumo: O Brasil é o principal produtor de café arábica (*Coffea arabica*), com cerca de 57% da produção mundial. Entretanto, a produção brasileira de café é prejudicada por estresses bióticos e abióticos. Um dos estresses bióticos é o bicho-mineiro (*Leucoptera coffeella*), que na sua fase larval pratica herbivoria realizando escavações serpenteantes no mesofilo foliar, resultando em necrose nas folhas, esgotamento de recursos nutricionais e perda de produtividade. Atualmente o principal controle dessa praga é feito pelo uso de químicos, prejudicial ao ambiente e ao trabalhador rural. Dessa forma, o desenvolvimento de cultivares de café resistentes é de suma importância para a cafeicultura. Sendo *C. arabica* a única espécie alotetraploide do gênero, sua reprodução é majoritariamente autógama, que aliada à sua história evolutiva e de cultivo resultou em baixa diversidade genética na espécie, limitando assim o *pool* genético para o melhoramento. Esse cenário levou os melhoristas a desenvolverem cultivares com introgressão de diversidade genética fornecida a partir de hibridizações interespecíficas com espécies diploides de *Coffea*. A resistência ao bicho-mineiro já foi identificada em híbridos de *C. arabica* e *C. racemosa*, apesar dos mecanismos e regiões genômicas envolvidos nesse fenótipo não estarem bem descritos na literatura. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi realizar um Estudo de Associação Genômica Ampla (GWAS) em uma população de café arábica com introgressão de *C. racemosa* para identificar genes e marcadores SNPs associados à resistência ao bicho-mineiro. Para tal, foi utilizada uma população multiparental de 222 progênies resultantes dos cruzamentos entre 4 genótipos e um genitor (*C. arabica* com introgressão de *C. racemosa*), estando elas nas gerações F_2 (31) F_3 (2) e F_4 (189). O DNA foi extraído das progênies por método CTAB e utilizado na Genotipagem por Sequenciamento (GBS), tendo sido clivado por enzimas de restrição sensíveis a metilação (*Msl*I) e sequenciado (*pair-end*) por *Illumina HiSeq2000*. Os dados da GBS foram alinhados ao genoma de referência ET-39 HiFi de acordo com o subgenoma mais assertivo (*C. canephora*: cromossomos 1c - 11c; *C. eugenioides*: cromossomos 1-e - 11e) e foi feita a chamada de SNPs a partir do programa FreeBayes, gerandos um painel de marcadores que foi filtrado pelo *VCFTools*, considerando MAF ≥ 0,05 e *call-rate* ≥ 0,8. O painel de SNPs filtrado foi utilizado no programa TASSEL-GBS, onde foi feita a remoção de trechos de *indels* e imputação dos dados. A partir desses dados, foi feita uma Análise de Coordenadas Principais (PCoA) baseada em uma matriz de dissimilaridade, juntamente com uma matriz de parentesco (K). O GWAS foi realizado em Modelo Linear Misto (MLM) considerando os dados imputados, PCoA, K e os dados de fenotipagem das progênies para resistência a bicho-mineiro fornecido pelo Laboratório de Genética de Café do IDR-Paraná. Os SNPs associados foram corrigidos pelo método de Bonferroni para evitar falsos-positivos. Como resultado, foram identificados 26.399 SNPs após as filtragens. A partir do MLM e correção estatística, 6 SNPs associados à característica foram identificados, estando 4 presentes no cromossomo 10c, um no 9e e um no 8c. Na identificação

as regiões associadas na anotação funcional, estavam preditos de genes que codificam para enzimas que atuam na produção de metabólitos secundários, incluindo limonoides (10c), viridiflorenes (9e) e um precursor do capsidiol (8c). Esses compostos são da classe dos terpenoides, um grupo de substâncias orgânicas frequentemente associado à defesa contra herbivoria em plantas. Estes resultados contribuem no entendimento acerca da resistência do cafeeiro ao bicho-mineiro, podendo ser utilizados em novos estudos que buscam identificar os processos biológicos por trás dessa característica ou no desenvolvimento de novas ferramentas biotecnológicas para o manejo dessa praga.

Palavras-chave: GWAS; Modelo *single-locus*; Café Aramosa; Marcadores SNPs; Pragas do cafeeiro.

Agência de fomento: CAPES, CNPq, Consórcio Pesquisa Café.

VII CONGRESSO DE BIOLOGIA DA UEL
CONECTANDO OS ELOS DA VIDA
DO MOLECULAR AO ECOSSISTÊMICO

FLUOPSINA C NANOENCAPSULADA EM LIPOSSOMA PEGUILADO INDUZ DISFUNÇÃO MITOCONDRIAL E MORTE CELULAR NÃO APOPTÓTICA ASSOCIADA À CUPROPTOSE EM MODELOS 2D E 3D DE CARCINOMA PROSTÁTICO HUMANO RESISTENTES À CASTRAÇÃO

Mattheus Pizane de Azevedo Silva[1]; Dimitri Alves da Costa[1]; Luan Vitor Alves de Lima[2]; Matheus Felipe da Silva[1]; Maria Claudia Terkelli de Assis[1]; Luiz Henrique Santana Martins[1]; Mickely Liuti Dealis[3]; Galdino Andrade Filho[3]; Luis Fernando Cabeça[4]; Mário Sérgio Mantovani[1]

[1] Laboratório de Genética Toxicológica, Universidade Estadual de londrina, Londrina, PR;
[2] Laboratório de Genética Molecular e Microbiologia, Universidade Estadual de Paraná, Paranaguá, PR;

[3] Laboratório de Ecologia Microbiana, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR;

[4] Laboratório de Química 5, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, PR.

Biologia Molecular e Genética; Experimental; Graduação

O câncer de próstata é a segunda neoplasia mais incidente em homens, responsiva à terapia de privação androgênica. Entretanto, cerca de 20% dos casos evoluem para câncer de próstata resistente à castração, associado à resistência às terapias convencionais e à apoptose. Nesse contexto, vias alternativas de morte celular induzidas por metais são potenciais estratégias terapêuticas. A Fluopsina C (FlpC), composto organocúprico natural produzido por *Pseudomonas* e *Streptomyces*, apresenta atividade antitumoral *in vitro* associada à cuproptose e ferroptose, porém sua elevada toxicidade limita sua aplicação. Assim, sua formulação em lipossomas peguilados (FlpC-PEG) pode otimizar a entrega e potencializar a eficácia terapêutica. Objetivou-se analisar os efeitos toxicológicos e moleculares da FlpC-PEG em modelos 2D e 3D de DU-145. Células DU-145 foram cultivadas em MEM com 10% SBF (37°C, 5% CO_2). Lipossomas vazios utilizados como controle veículo (CV). Em modelo 2D, as células (4×10^4/poço) foram tratadas com FlpC livre (FlpC-L) ou FlpC-PEG (0,25–1,25 µM; 24 e 48h). No modelo 2D, foram avaliados: viabilidade celular pelo método de MTT, morfologia celular (microscopia de time-lapse e fluorescência com PI, Hoechst e Rodamina), ciclo celular (PI/Citrato+TritonX) e morte celular (FDA/PI) por citometria de fluxo. A IC_{50} da FlpC-PEG foi testada após pré-incubação (1h) com o inibidor de cuproptose tetratiomolibdato de amônio (TTM; 10 µM). No modelo 3D, esferoides foram formados em agarose microtexturizada (123 micropoços/poço; 1×10^3 células/micropoço), estabilizados por 72h e tratados com FlpC-PEG (0,1–3 µM; 24h). Foram avaliados: viabilidade celular, microscopia de fluorescência (PI, Hoechst e Rodamina), citometria de morte celular (FDA/PI) e atividade mitocondrial (Rodamina), expressão gênica por cDNA de RNA-poliA (n=246; T=12h; IC50) e a IC_{50} foi testada com TTM em determinados ensaios. Os dados foram analisados por ANOVA e Dunnett (n=3, $p<0,05$), na RT-qPCR utilizou-se teste t de Student ($p<0,05$) e fold-change (FC) ≥2 ou ≤0.5. Em monocamada, FlpC-PEG apresentou citotoxicidade superior à FlpC livre (FlpC-L), com IC_{50} de 0,8/0,42 µM (24/48h) comparado a 1,0/0,7 µM (24/48h) da FlpC-L. O time-lapse evidenciou tumefação e rompimento de membrana, corroborados pela microscopia de fluorescência, que demonstrou perda da integridade de membrana e alteração na distribuição mitocondrial. Na IC_{50} da FlpC-PEG, a citometria de fluxo demonstrou parada de 45% em G2/M e a citometria de morte celular evidenciou aumento de 4,6× em morte celular semelhante a necrose com relação ao CV. O pré-tratamento com TTM na IC_{50} da FlpC-PEG reverteu a citotoxicidade, restaurando a viabilidade a 109% e perfil semelhante ao CV, sugerindo envolvimento

da cuproptose. Em esferoides, a FlpC-PEG apresentou IC_{50} de 2,4 µM, com aumento de 1,36× em morte celular semelhante a necrose com relação ao CV, avaliada por citometria de fluxo. A microscopia de fluorescência demonstrou desorganização morfológica do esferoide, redução da atividade mitocondrial e perda da integridade da membrana. A IC_{50} demonstrou aumento da perda da atividade metabólica mitocondrial de 1,7x em relação ao CV por citometria de fluxo. O pré-tratamento com TTM reverteu a atividade mitocondrial para 1,05x, em relação ao CV e a morte celular igual ao CV. A RTq-PCR apresentou alterações em genes relacionados com a cuproptose (*SLC31A1* (FC=6), *LIPT1* (FC=2,4), *DLAT* (FC=2,3), *LIAS* (FC=2,2), *ATOX1* (FC=2,6), *COX17* (FC=2,6), *SOD1* (FC=2,3)), ferroptose (*AIFM2* (FC=3,8), *SLC7A11* (FC=6,3), *TFRC* (FC=2,3) e *HMOX* (FC=11,8)), ciclo celular (*CDKN1A* (FC=2,7)), dano ao DNA (*GADD45A* (FC=3,9)), estresse de retículo (*ERN1* (FC=3,6)) e autofagia (*BECN1* (FC=2,1)). Portanto, a formulação de FlpC-PEG demonstrou potencial na nanomedicina como indutor de morte não apoptótica em adenocarcinoma prostático, com maior eficiência citotóxica, parada do ciclo celular em G2/M, disfunção mitocondrial e participação da cuproptose em modelos 2D e 3D.

Palavras-chave: Cultura-3D; Cuproptose; Metalodrogas; Nanomedicina; Toxicologia.

VII CONGRESSO DE BIOLOGIA DA UEL
CONECTANDO OS ELOS DA VIDA
DO MOLECULAR AO ECOSSISTÊMICO

INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO RS2069762 NO GENE *IL2* NA RECORRÊNCIA TUMORAL DO CARCINOMA UROTELIAL DE BEXIGA

Lyvia Emanoely Santos Tenório Miranda[1]; Ariane Pereira de Souza[1]; Tacieli Maria de Almeida[1]; Beatriz Geovana Leite Vacario[1]; Rafaella Oliveira Lopes[1]; Glauco Akelinghton Freire Vitiello[1]; Fernando Terziotti[2]; Roberta Losi Guembarovski[1]

[1] Universidade Estadual de Londrina, Laboratório de Mutagênese e Oncogenética;
[2] Hospital do Câncer de Londrina;

Biologia molecular e Genética; experimental; graduação

Resumo: Sendo responsável por 90% dos diagnósticos, o carcinoma urotelial de bexiga (CUB) representa a forma mais comum do câncer de bexiga (CB), e tem sua relevância na oncologia clínica devido a sua alta taxa de recidiva e progressão tumoral. A idade avançada caracteriza um dos fatores de risco desta doença, com média de aumento significativo de sua incidência na faixa de 60-70 anos. Além disso, a idade avançada configura um fator independente para a recorrência do CUB. Dessa forma, investigar variantes genéticas polimórficas torna-se essencial para o reconhecimento de novos biomarcadores que possam impactar diretamente no risco de progressão e recidiva da neoplasia para pacientes mais velhos. Nesse contexto, no microambiente tumoral (MAT), a interleucina-2 (IL-2) desempenha papel um importante na imunovigilância antitumoral, e variantes no gene *IL2* têm sido associadas ao risco de desenvolvimento e progressão do CUB. O presente trabalho investigou o polimorfismo rs2069762 no gene *IL2* (A>C) por reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR) utilizando sonda TaqMan® (n=313). A coorte foi submetida a avaliação de parâmetros sociodemográficos, clínicos e prognósticos (grau tumoral, invasão e recorrência tumoral) (CAAE:47092521.2.0000.5231). As análises estatísticas foram realizadas no software IBM® SPSS® Statistics for Windows, versão 26.0 (IBM® Corp., Armonk, N.Y., USA) ($p<0.05$), considerando os modelos genotípico, dominante, recessivo e overdominante. Os resultados indicaram que indivíduos acima dos 65 anos tiverem proteção para recidiva tumoral (p=0,04, OR=0,596; IC95% = 0,363-0,977). No modelo genotípico indivíduos (AA) maiores de 65 anos apresentaram proteção para ocorrência de recidivas (p=0,001, OR=0,316; IC95%=0,157-0,635), e no modelo dominante (AA) nossos resultados reforçam o efeito protetor desta variante para a mesma faixa etária (p=0,001, OR=0,316; IC95%=0,157-0,635). Embora a idade avançada seja descrita na literatura como fator de risco independente para recorrência do CUB, os achados obtidos sugerem que o polimorfismo rs2069762 no gene *IL2*, especialmente o genótipo homozigoto referência (AA), apresentaram um efeito protetor contra recorrência tumoral, refletindo uma influência direta dessa variante alélica sobre os níveis de expressão ou produção da IL-2 no MAT, favorecendo uma resposta imunológica antitumoral mais eficiente independentemente do processo de imunossenescência esperado nesta faixa etária. Esse resultado reforça o potencial do rs2069762 como biomarcador candidato de prognóstico no CUB. Novas investigações tornam-se necessárias para validar o papel desta variante alélica, visando identificar precocemente pacientes mais suscetíveis a desenvolver tumores invasivos, ou com menor probabilidade de apresentar recidivas nos tumores uroteliais de bexiga.

Palavras-chave: Câncer bexiga; Interleucina-2; Prognóstico; Recidiva tumoral.

Agradecimentos: Hospital do Câncer de Londrina.

Agência de fomento:: CAPES e CNPq.

VII CONGRESSO DE BIOLOGIA DA UEL
CONECTANDO OS ELOS DA VIDA
DO MOLECULAR AO ECOSSISTÊMICO

INVESTIGAÇÃO CITOGENÉTICO-MOLECULAR DA SÍNDROME DE LA CHAPELLE POR CARIOTIPAGEM E HIBRIDIZAÇÃO FLUORESCENTE *IN SITU* PARA SRY: RELATO DE CASO

Júlia Agostinho Gonçalves[1]; Tacieli Maria de Almeida[1]; Lyvia Emanoely Santos Tenório Miranda[1]; Kauany Isabeli Sione[2]; Maria Eliane Longhi Barroso[1]; Ana Beatriz Goes Fernandes Monteiro[1]; Fernando Gomes Barcellos[1]

[1] Laboratório de Genética Humana, Universidade Estadual de Londrina, Londrina - Paraná;
[2] Universidade Positivo, Londrina - Paraná;

Biologia molecular e genética; Relato de caso; Graduação

Resumo: A síndrome de La Chapelle é uma condição rara do desenvolvimento sexual caracterizada por indivíduos com fenótipo masculino e cariótipo 46,XX, com incidência de 1 para 20.000 à 25.000 nascidos vivos. As alterações clínicas observadas nos portadores incluem infertilidade, gônadas pouco desenvolvidas e baixos níveis de testosterona. Além disso, esta alteração estaria relacionada, em sua maioria, à uma translocação entre o gene SRY (responsável por desenvolver as características masculinas), localizado no braço curto do cromossomo Y (Yp11.2/Yp11.3.) com o cromossomo X. O presente trabalho teve por objetivo descrever o caso de um paciente de 43 anos encaminhado ao Serviço de Aconselhamento Genético da Universidade Estadual de Londrina (SAG-UEL) com suspeita de Síndrome de Klinefelter, após laudo de infertilidade. Para isto, foi feita à coleta de sangue periférico do paciente e realizado o exame de cariótipo a partir do bandamento G, que obteve como resultado, 46,XX, o que se enquadra à Síndrome de La Chapelle. Diante deste resultado, para a confirmação da hipótese de translocação do gene SRY, foi realizada a técnica de Hibridização Fluorescente *in situ* (FISH), utilizando a sonda tricromática CytoCell SRY (LPU 026-SA/LPU 026-A), composta pelos marcadores SRY (Yp11.31), DYZ1 (Yq12) e DXZ1 (Xp11.1-q11.1), com o objetivo de investigar a presença e a localização da sequência SRY. Após o preparo das lâminas, as metáfases foram analisadas em microscopia de fluorescência, com captura das imagens por meio do software Motic Images Plus 2.0. A interpretação dos padrões de hibridização encontra-se em andamento e será utilizada para complementar a caracterização citogenético-molecular do caso. O achado de cariótipo 46,XX em indivíduo com fenótipo masculino e histórico de infertilidade reforça a importância da investigação citogenético-molecular para a caracterização da síndrome de La Chapelle. A análise por FISH poderá contribuir para a identificação da presença e localização da sequência *SRY*, auxiliando na elucidação do mecanismo cromossômico associado ao fenótipo observado.

Palavras-chave: Alterações cromossômicas; Cariótipo; FISH; Gene SRY;

Agradecimentos: Hospital das Clínicas e ao SUS

VII CONGRESSO DE BIOLOGIA DA UEL
CONECTANDO OS ELOS DA VIDA
DO MOLECULAR AO ECOSSISTÊMICO

MOSAICISMO CROMOSSÔMICO EM SÍNDROME DE TURNER: RELATO DE CASO

Lyvia Emanoely Santos Tenório Miranda[1]; Tacieli Maria de Almeida[1]; Júlia Agostinho Gonçalves[1]; Sibely Ferreira Da Silva[1]; Maria Eliane Longhi Barroso[1]; Ana Beatriz Goes Fernandes Monteiro[1]; Fernando Gomes Barcellos[1]

[1] Universidade Estadual de Londrina, Laboratório de Genética Humana;

Biologia molecular e Genética; relato de caso; graduação

Resumo: A síndrome de Turner (ST) é uma aneuploidia de cromossomos sexuais mais comum em mulheres, com prevalencia de 1:2000-2500 nascidos vivos do sexo feminino e decorre da ausência total ou parcial do cromossomo X. Uma das variantes de ST ocorre por meio do mosaicismo cromossômico, resultante de eventos de não-disjunção ou de alterações cromossômicas durante a divisão mitótica pós-zigótica, originando duas ou mais linhagens celulares geneticamente distintas em um mesmo indivíduo. Este trabalho tem como objetivo relatar um caso de variante em mosaico de ST em uma paciente, sexo feminino, de 10 anos de idade. A paciente foi encaminhada para avaliação citogenética ao Serviço de Aconselhamento Genético da Universidade Estadual de Londrina (SAG-UEL) por apresentar baixa estatura, dismorfias faciais atípicas e transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH). Foi realizada a análise citogenética de 50 metáfases obtidas por cultura temporária de linfócitos de sangue periférico, com bandeamento GTG (Giemsa-tripsina) e bandeamento C (heterocromatina constitutiva). O cariótipo revelou mosaicismo 45,X[43]/46,X,i(X)(q10)[7]. Essa variante de ST é caracterizada pela coexistência de uma linhagem 45,X, com uma linhagem portadora de isocromossomo do braço longo (q) do X, com perda do braço curto (p) e duplicação do braço q, correspondendo a cerca de 8 a 9% entre mulheres com ST. A presença da linhagem 46,X e do isocromossomo i(X)(q10) resulta na haploinsuficiência do gene *SHOX* (localizado na região Xp22.33), que escapa da inativação do X e é normalmente expresso de forma bialélica. Esse gene codifica um fator de transcrição essencial para o crescimento e maturação óssea. Dessa forma, a haploinsuficiência do *SHOX* está associada à deficiência de crescimento e à baixa estatura, correlacionando-se com o fenótipo observado na paciente. Além disso, estudos apontam que mulheres com ST possuem maior prevalência de sintomas de TDAH, sendo consistente com o quadro clínico relatado. O achado citogenético reforça a relevância do papel da citogenética clássica no diagnóstico de fenótipos de ST mais sutis. O diagnóstico preciso permite o aconselhamento genético adequado e direciona a conduta clínica para indicação de terapias direcionadas. Este trabalho mostra a importância do Serviço de Aconselhamento Genético da UEL para a comunidade da região.

Palavras-chave: Aconselhamento genético; Gene *SHOX;* Isocromossomo; Monossomia do X.

Agradecimentos: Hospital das Clínicas e ao Sistema Único de Saúde (SUS).

Agência de fomento: FAUEL.

VII CONGRESSO DE BIOLOGIA DA UEL
CONECTANDO OS ELOS DA VIDA
DO MOLECULAR AO ECOSSISTÊMICO

PERFIL METABOLÔMICO EXTRACELULAR DE CEPAS DE STREPTOCOCCUS AGALACTIAE ISOLADAS DE SURTOS DE ESTREPTOCOCOSE EM TILÁPIAS NO BRASIL

Karen Cristina Lye Ioshimura[1]; Karine Nicole Siqueira[1]; Felipe Rocha Raggi[1]; Bianca Gois Rocha[1]; André Luiz Martinez de Oliveira[2]; Lucienne Garcia Pretto-Giordano[3]; Gislayne Fernandes Lemes Trindade Vilas-Boas[1]; Laurival Antônio Vilas-Boas[1]

[1] Universidade Estadual de Londrina, departamento de Biologia Geral;
[2] Universidade Estadual de Londrina, departamento de Bioquímica e Biotecnologia;
[3] Universidade Estadual de Londrina, departamento de Medicina Veterinária Preventiva.

Biologia Molecular e Genética; experimental; pós-graduação

Resumo: A tilapicultura é uma atividade economicamente importante no Brasil e no mundo. Entretanto, a intensificação dos sistemas de produção e determinadas condições de cultivo podem predispor os animais ao estresse e ao desenvolvimento de doenças. Nesse cenário, a estreptococose, causada principalmente por *Streptococcus agalactiae*, se destaca como uma das infecções bacterianas mais relevantes na criação de tilápias, gerando surtos e alta mortalidade. No entanto, apesar das perdas expressivas na produção decorrentes da enfermidade, ainda existem lacunas na ciência acerca da patogenia e caracterização das cepas circulantes no país. Considerando que o metaboloma representa o nível mais próximo do fenótipo celular, a metabolômica configura-se como uma ferramenta estratégica para investigar aspectos funcionais de microrganismos patogênicos, especialmente em contextos nos quais os mecanismos de patogenicidade ainda são pouco compreendidos. Nesse sentido, a análise do metabolismo extracelular permite inferir como a bactéria interage metabolicamente com o ambiente, consome nutrientes e libera subprodutos, fornecendo pistas indiretas sobre processos potencialmente associados à adaptação e patogenicidade. Diante disso, o presente estudo teve como objetivo realizar a análise comparativa do perfil metabolômico extracelular das cepas SA08-UEL (sorotipo Ib) e SA10-UEL (sorotipo III) de *Streptococcus agalactiae*, responsáveis por surtos em tilápias no Brasil, com o intuito de detectar metabólitos diferencialmente expressos entre as cepas e ao longo das diferentes fases da curva de crescimento. Para isso, foi investigado o perfil metabolômico não direcionado das cepas por GC-MS, seguido do pré-processamento no pacote XCMS no software R e análise estatística na plataforma MetaboAnalyst 6.0. As análises diferenciais indicaram que as principais alterações na expressão de metabólitos estiveram associadas às fases de crescimento bacteriano, evidenciando mudanças extracelulares ao longo do ciclo celular. Enquanto as cepas apresentaram maior sobreposição dos perfis metabolômicos, sugerindo que as diferenças entre as linhagens são mais sutis do que as observadas entre as fases da curva de crescimento. No entanto, abordagens supervisionadas permitiram a discriminação entre SA08 e SA10, indicando que diferenças na abundância relativa dos metabólitos, refletidas na intensidade dos sinais cromatográficos, contribuíram para a separação estatística entre as cepas. Além disso, foram detectados conjuntos de sinais com maior contribuição para a discriminação entre os grupos, os quais representam potenciais candidatos a estudos futuros de anotação e interpretação biológica. Logo, esses resultados demonstram que o metabolismo extracelular de *S. agalactiae* é dinâmico e sensível às variações fisiológicas do crescimento bacteriano, e que a metabolômica constitui uma abordagem promissora para a compreensão funcional de diferenças entre cepas isoladas de surtos de estreptococose em tilápias, podendo auxiliar no estudo de processos metabólicos envolvidos na adaptação e virulência bacteriana bem como desenvolvimento de estratégias de diagnóstico e controle da doença.

Palavras-chave: Aquicultura; GC-MS; Metaboloma; *Streptococcus* do grupo B; Tilapicultura.

Agradecimentos: Agradeço o Laboratório de Análise de Materiais e Moléculas, o Laboratório de Genética e Taxonomia de Bactérias, o Programa de Pós-graduação em Genética e Biologia Molecular

e a Universidade Estadual de Londrina.

PLUMBAGINA LIPOSSOMAL PEGILADA INDUZ ESTRESSE E MORTE CELULAR EM MODELOS 2D E 3D DE ADENOCARCINOMA MAMÁRIO MCF-7

Maria Claudia Terkelli de Assis[1]; Luan Vitor Alves de Lima[2]; Matheus Felipe da Silva[1]; Isabella Cristina Oliveira Carvalho[1]; Dimitri Alves da Costa[1]; Mattheus Pizane de Azevedo Silva[1]; Luís Fernando Cabeça[3]; Mario Sérgio Mantovani[1]

[1] Universidade Estadual de Londrina (UEL), Laboratório de Genética Toxicológica;
[2] Universidade Estadual do Paraná (UNESPAR), Laboratório de Genética Molecular e Microbiologia;
[3] Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Laboratório de Química 5;

Biologia Molecular e Genética; Experimental; Pós-Graduação

Resumo: A plumbagina (PLB), um fitoquímico de atividade antitumoral já descrita, é extraída, principalmente, das plantas de espécies do gênero *Plumbago*, da família *Plumbaginaceae*. Apesar do potencial terapêutico, sua alta lipofilicidade reduz a solubilidade aquosa e a biodisponibilidade oral, limitando sua aplicação clínica. Nesse contexto, lipossomas PEGilados podem contornar essas limitações, aumentando a estabilidade sistêmica e favorecendo o direcionamento aos tecidos-alvo. Assim, o trabalho avaliou o impacto da formulação lipossomal PEGilada sobre o perfil citotóxico e os mecanismos de ação da PLB (PLB-PEG) em células de adenocarcinoma mamário (MCF-7), comparando os modelos 2D (monocamada) e 3D (esferoides tumorais). Os lipossomas foram formulados pelo método de hidratação do filme lipídico, utilizando fosfatidilcolina de soja (SPC; 0,54 mM), colesterol (0,41 mM) e distearoilfosfatidiletanolamina-polietilenoglicol (DSPE-PEG; 0,05 mM), ressuspenso em PBS contendo PLB (1 mM) e sonicados para a redução nanométrica do tamanho vesicular. A caracterização foi realizada por espalhamento dinâmico de luz (DLS), determinando o diâmetro hidrodinâmico médio (DHM) e índice de polidispersão (PDI), e a eficiência de encapsulamento (EE) por espectrofotometria UV-Vis. As células MCF-7 foram cultivadas em DMEM completo com atmosfera controlada (10% SBF; 37 °C; 5% CO_2). Em 2D, a citotoxicidade de PLB e PLB-PEG (10-70 µM; 24 h) foi avaliada por resazurina para determinação das $IC_{12,5}$, IC_{25} e IC_{50}, utilizando-se os valores de ICs de PLB-PEG para os demais ensaios. O comportamento celular foi monitorado por microscopia time-lapse (16 h; IC_{50}), e a expressão de mRNA por RT-qPCR (n= 3; 24 h; IC_{50}). A viabilidade celular (FDA), integridade nuclear (Hoechst), potencial mitocondrial (Rodamina 123) e integridade de membrana (PI) foram avaliadas por microscopia de fluorescência (n = 3; 24 h). Em 3D, esferoides foram formados por sobreposição líquida em micropoços de agarose moldados por microtexturizador impresso em 3D (10^3 células/micropoço), avaliando-se fluorescência (Hoechst e PI; n= 3) e volume médio esferoidal (10 esferoides/tratamento; n= 3; 0 e 72 h). As análises estatísticas foram realizadas por One-way ANOVA, Two-way ANOVA, Dunnett e teste t de Student para RT-qPCR, com $p < 0,05$. Os lipossomas apresentaram DHM de 95,5 ± 15,9 nm, PDI de 0,22 ± 0,03 e EE de 84%. Após 24 h, a PLB foi citotóxica a partir de 30 µM (63,18%), com $IC_{12,5}$, IC_{25} e IC_{50} de 21,66, 26,23 e 33,61 µM, respectivamente. A PLB-PEG também foi citotóxica a partir de 30 µM (82,20%), porém com valores de $IC_{12,5}$, IC_{25} e IC_{50} mais elevados sendo de, respectivamente, 31,14, 38,57 e 50,91 µM. O time-lapse apontou inchaço e lise celular. A RT-qPCR evidenciou um aumento na expressão e genes associados ao estresse oxidativo e celular (*HMOX1:* 334,8X; *ERN1:*6,31X; *GPX1:*4,20X), em resposta ao dano de DNA e alterações no ciclo celular (*CDKN1A*: 33,53X; *GADD45a*: 6,47X; *c-MYC*: 2X). Também foram observados aumentos em genes associados à apoptose (*BBC3*: 6,73x; *BAX*: 3x; *CASP7*: 2,30x) e à resposta inflamatória e piroptótica (*TNF*: 6,83x; *CASP1*: 4x; *IL18*: 3,54x). Já a fluorescência indicou morte celular e perda progressiva do potencial mitocondrial. Em 3D, após 72h, as alterações na marcação também foram progressivas, porém mais expressivas com $2.IC_{50}$. O volume evidenciou que valores de IC_{25} e IC_{50} da PLB-PEG promoveu, respectivamente, um crescimento de

63,4% e 53,24%, indicando um retardo de crescimento. Em 2.IC_{50}, observou-se uma redução de 10,11%, sugerindo, além da inibição, uma perda da massa esferoidal compatível com morte celular. Conclui-se que os lipossomas PEGilados alteram o perfil citotóxico da PLB, promovendo estresse celular, morte semelhante a apoptose e piroptose e retardo no crescimento dos esferoides tumorais.

Palavras-chave: Esferoides tumorais; Fitoquímicos; Nanotecnologia; Sistemas de liberação; Toxicologia.

Agradecimentos: Ao Laboratório de Genética Toxicológica, Universidade Estadual de Londrina, Universidade Federal do Paraná – Londrina e Universidade Estadual do Paraná – Paranaguá.

Agência de fomento: CAPES, CNPq e Fundação Araucária.

VII CONGRESSO DE BIOLOGIA DA UEL
CONECTANDO OS ELOS DA VIDA
DO MOLECULAR AO ECOSSISTÊMICO

POLIMORFISMOS NOS GENES *BCL2*, *H2AFX* E *TP53* COMO MARCADORES DE PROGNÓSTICO E CONDUTA TERAPÊUTICA NO ADENOCARCINOMA DE PRÓSTATA

Ana Paula dos Santos Alves[1]; Rebeca Doris da Silva Headley[1]; Ana Luiza Moraes Rezende Teixeira[1], Anna Júlia de França[1], Ariane Pereira de Souza[1]; Fernando Terziotti[2], Glauco Akelington Freire Vitiello[1]; Roberta Losi Guembarovski[1]

[1] Universidade Estadual de Londrina, Laboratório de Mutagênese e Oncogenética;
[2] Hospital de Câncer de Londrina;

Biologia Molecular e Genética; Experimental; Pós-graduação

Resumo: O adenocarcinoma de próstata (CaP) é o câncer não melanoma mais incidente em homens e a quinta causa de morte por câncer no mundo. Seu curso clínico variável resulta da interação entre fatores ambientais, hormonais e genéticos, destacando os biomarcadores moleculares para estratificação de risco e terapias personalizadas. Os genes *B-cell lymphoma 2* (*BCL2)* (18q21.33; antiapoptótico), *H2A histone family member X* (*H2AFX)* (11q23.3; resposta a danos no DNA) e *Tumor protein p53* (*TP53)* (17p13.1; supressor tumoral) desempenham papéis cruciais na manutenção da estabilidade genômica, no controle do ciclo celular e na morte celular programada. Mutações nesses genes podem comprometer tais mecanismos, favorecendo a carcinogênese, a progressão tumoral e influenciando na resposta terapêutica. Dentro deste contexto, este estudo avaliou possíveis associações entre os polimorfismos *BCL2* rs3943258 (T>C), *H2AFX* rs640603 (G>A) e *TP53* rs1042522 (G>C) com parâmetros clinicopatológicos e prognósticos em 130 amostras de pacientes diagnosticados com CaP no Hospital de Câncer de Londrina (CAAE: 47092521.2.1001.5231). A genotipagem foi realizada por qPCR em tempo real (sondas TaqMan®) e, para as análises estatísticas pelo teste do Qui-quadrado de Pearson, foi utilizado o *software* SPSS (IBM® SPSS, Statistics for Windows, versão 26.0 IBM® Corp., Armonk, N.Y., USA). A média de idade ao diagnóstico foi de 65,74 ± 7,5 anos, com 76% dos pacientes relatando exposição a substâncias tóxicas (n=98) e 43,8% histórico familiar de câncer (n=57). As frequências genotípicas observadas foram: *BCL2* rs3943258 — TC (46,2%, n=60), CC (29,2%, n=38) e TT (24,6%, n=32); *H2AFX* rs640603 — GA (52,3%, n=68), GG (40%, n=52) e AA (7,7%, n=10); *TP53* rs1042522 — CC (47,7%, n=62), GC (42,3%, n=55) e GG (10%, n=13). No modelo genotípico, o polimorfismo *H2AFX* rs640603 associou-se ao estadiamento tumoral avançado (≥pT3; p=0,037) e à presença de extensão extraprostática (p=0,031), ambos parâmetros de pior prognóstico. No modelo dominante, a variante alélica *TP53* rs1042522 associou-se à presença de invasão de vesícula seminal (p=0,001), enquanto a *BCL2* rs3943258 correlacionou-se com extensão extraprostática (p=0,004) e realização de prostatectomia combinada à orquiectomia (p=0,002). Dessa forma, os polimorfismos investigados nos genes *BCL2*, *H2AFX* e *TP53* apresentaram, em diferentes modelos genéticos, associações significativas com parâmetros de maior agressividade e com o direcionamento da conduta terapêutica no CaP. Esses achados reforçam a relevância funcional dessas variantes genéticas na progressão do adenocarcinoma prostático e evidenciam seu potencial promissor como marcadores de prognóstico e estratificação de risco para o manejo personalizado da doença.

Palavras-chave: Agressividade tumoral; Apoptose; Reparo de DNA; Supressão tumoral; Variante alélica polimórfica.

Agradecimentos: À Universidade Estadual de Londrina (UEL), ao Programa de Pós Graduação em Genética e Biologia Molecular da UEL, ao Hospital do Câncer de Londrina e ao Laboratório de Mutagênese e Oncogenética (LAMON) da UEL.

Universidade Estadual de Londrina
Ciências Biológicas UEL
Bioma CONSULTORIA AMBIENTAL

Agência de fomento: "O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001" .

POTENCIAL CITOTÓXICO DO URSOLATO DE METILA EM CÉLULAS DE CÂNCER DE BEXIGA RESISTENTES À CISPLATINA

Andresa Hiromi Sakai Laguna[1]; Flávia Eliza Staut Silva[1]; Anna Gabriele Prado dos Santos[1]; Beatriz Geovana Leite Vacario[1]; Celina Yung-Ai Lin Lee[1]; Luiza Magosso Oliveira Rocha[1]; Amanda Ilis dos Santos Batista[2]; Cláudia Quintino da Rocha[2]; Diego Luis Ribeiro[3]; Juliana Mara Serpeloni[1]

[1] Universidade Estadual de Londrina, Laboratório de Mutagênese e Oncogenética;
[2] Universidade Federal do Maranhão, Laboratório de Química de Produtos Naturais;
[3] Universidade de São Paulo, Laboratório de Reparo de DNA.

Biologia Molecular e Genética; Experimental; Pós-graduação

Resumo: O câncer urotelial de bexiga (CUB) é a neoplasia maligna mais comum do trato urinário e está entre os dez tipos de câncer mais diagnosticados no mundo. Apresenta elevado risco de recidiva e, em estágios avançados, o desenvolvimento de resistência aos agentes quimioterápicos constitui um dos principais desafios terapêuticos. Entre os agentes utilizados no tratamento, destaca-se a cisplatina (cDDP), cuja eficácia pode ser comprometida pela aquisição de resistência por parte das células tumorais, o que favorece a progressão da doença e limita as opções terapêuticas. Nesse contexto, os fitoquímicos, compostos bioativos derivados de plantas, têm grande relevância na investigação de novos tratamentos para o câncer, devido à capacidade de diferentes classes desses compostos de modular processos relacionados à carcinogênese, incluindo proliferação celular, apoptose, estresse oxidativo e vias de sinalização associadas à progressão tumoral. Entre os fitoquímicos de interesse, destacam-se os triterpenos pentacíclicos, como o ácido ursólico, com propriedades biológicas amplamente investigadas, incluindo atividades anti-inflamatórias, antioxidantes e antitumorais. O ursolato de metila (UM), um derivado do ácido ursólico, apresenta uma modificação estrutural, com a substituição da função ácido carboxílico no C-28 por um éster metílico. Essa alteração influencia a polaridade da molécula e tende a favorecer um caráter hidrofóbico, podendo interferir na sua solubilidade, na distribuição celular, na permeabilidade através de membranas e na interação com proteínas e outros alvos moleculares. Consequentemente, essas alterações podem modificar a sua atividade biológica e citotóxica, pouco exploradas em tumores. Com isso, o objetivo do presente trabalho foi desenvolver um modelo *in vitro* que mimetize a resistência à cDDP, utilizando a linhagem de câncer de bexiga metastático 253J, e comparar a citotoxicidade do UM nas células parentais e resistentes. A resistência à cDDP foi induzida por meio de exposição prolongada, na qual as células foram submetidas a 10 ciclos de cDDP a 2 µM, o que permitiu a seleção progressiva de células resistentes ao tratamento. Posteriormente, a citotoxicidade da cDDP e do UM foi avaliada pelo ensaio de resazurina após 24 h de tratamento. Para determinar a concentração citotóxica capaz de reduzir a viabilidade celular em 50% (CC_{50}), as células foram expostas a concentrações crescentes de cDDP (0,8–51,2 µM) ou de UM (2–100 µM). Após 10 ciclos de exposição a cDDP, observou-se a aquisição de uma linhagem resistente ao quimioterápico, evidenciada pelo aumento do CC_{50}. A linhagem parental apresentou CC_{50} de 11 µM, enquanto a linhagem resistente obteve CC_{50} de 65,02 µM, um aumento de aproximadamente 5,9 vezes. As linhagens parental e resistente responderam de forma distinta ao tratamento com UM. A linhagem parental apresentou CC_{50} de 72,65 µM, enquanto a resistente apresentou CC_{50} de 57,26 µM. Assim, embora o composto tenha sido citotóxico em ambas as linhagens, seu maior efeito foi observado na população de células resistentes, com redução de aproximadamente 21% no valor de CC_{50} em relação às células parentais. O presente estudo estabeleceu uma linhagem de células de bexiga resistente à cDDP, comprovada pelo aumento do CC_{50} da cDDP. O UM apresentou atividade citotóxica em ambas as linhagens, com maior efeito sobre as células resistentes, o que destaca

seu potencial como candidato para a investigação de novas estratégias terapêuticas direcionadas a tumores de bexiga resistentes à terapia convencional com cDDP.

Palavras-chave: Citotoxicidade; Fitoquímicos; Resistência quimioterápica; Triterpenos pentacíclicos.

Agradecimentos: Ao Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade do Maranhão pelo fornecimento do fitoquímico utilizado na realização deste trabalho.

Agência de fomento: Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Processo número 406560/2025-0 e Concessão de Bolsa de Doutorado, Processo número 140352/2025-2), à Fundação Araucária (Processo Número: 4.1.01.01.0134 e Bolsa Produtividade da docente Juliana Mara Serpeloni). À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Código de Financiamento 001).

QUIMIORRESISTÊNCIA À CISPLATINA EM CÉLULAS DE CÂNCER DE BEXIGA: PAPEL DA TELOMERASE E DO ESTRESSE OXIDATIVO E EFEITO QUIMIOSSENSIBILIZADOR DA SILIBININA

Anna Gabriele Prado dos Santos[1]; Celina Yung-Ai Lin Lee[1]; Luan Vitor Alves de Lima[2]; Andresa Hiromi Sakai[1]; Isabely Mayara da Silva[1]; Alberto Jorge Oliveira Lopes[3]; Flávia Eliza Staut Silva[1]; Beatriz Geovana Leite Vacario[1]; Diego Luís Ribeiro[4]; Juliana Mara Serpeloni[1]

[1] Universidade Estadual de Londrina, Laboratório de Mutagênese e Oncogenética;
[2] Universidade Estadual de Londrina, Laboratório de Genética Toxicológica;
[3] Universidade Federal do Maranhão, Laboratório de Química de Produtos Naturais;
[4] Universidade de São Paulo, Laboratório de Reparo de DNA.

Biologia Molecular e Genética; Experimental; Pós-graduação.

Resumo: O câncer de bexiga é o décimo mais comum no mundo, e a resistência à cisplatina, principal estratégia terapêutica, destaca-se como um dos principais problemas no tratamento da doença. Evidências na literatura sugerem que a quimiorresistência pode estar associada à enzima telomerase, que, embora seja conhecida por manter os telômeros, pode translocar-se do núcleo para a mitocôndria, reduzindo a formação de espécies reativas de oxigênio e impedindo a apoptose via mitocondrial. Os fitoquímicos são amplamente investigados devido ao seu potencial anticâncer e quimiossensibilizador. Dentre eles, a silibinina destaca-se por seus efeitos antitumorais e por sua capacidade de potencializar a resposta à quimioterapia. Além disso, a silibinina reduziu a expressão da telomerase (*hTERT)* em tumores de mama, de pulmão e de próstata. Tendo em vista a frequência de mutações no gene *hTERT* e a sua elevada expressão no câncer de bexiga, o presente trabalho investigou o papel da telomerase e do estresse oxidativo em células resistentes à cisplatina (UMUC3/R) e parentais (UMUC3/PA), bem como o co-tratamento com silibinina e a cisplatina, visando à quimiossensibilização da linhagem UMUC3/R. Para induzir resistência, as células UMUC3 foram tratadas com cisplatina (0,2 µM) por 10 ciclos. As duas linhagens foram comparadas quanto ao comprimento telomérico, aos valores de concentração inibitória 50% (CI_{50}) no ensaio MTT após 24 e 72 h de tratamento com cisplatina (0,8 a 51,2 µM) e à capacidade proliferativa (clonogênica) após exposição à cisplatina (1,6 a 6,4 µM). Além disso, o estresse oxidativo (MitoSox) e a massa mitocondrial (MitoTracker) foram analisados na presença de cisplatina a 3,2 µM. Após a indução de resistência, o CI_{50} foi de 4,78 e 25,6 µM em 24 h, e de 0,91 e 1,82 µM em 72 h para as células UMUC3/PA e UMUC3/R, respectivamente. A capacidade proliferativa foi reduzida nas células UMUC3/PA (7,4%) em comparação às células UMUC3/R (42,1%). Quando comparados os tamanhos de telômeros, observou-se aumento dos telômeros na UMUC3/R em relação à linhagem parental e ao controle positivo (RPE-1 imortalizada com telomerase). As células UMUC3/R apresentaram maior capacidade adaptativa ao estresse induzido por cisplatina (3,2 µM), com menor estresse mitocondrial (3,8% *vs* 12,9% na UMUC3/PA). Somado a isso, também na presença de cisplatina, a UMUC3/R apresentou redução da massa mitocondrial (intensidade média de fluorescência de 247 u.a. *vs* 368 u.a. na UMUC3/PA), o que pode estar relacionado à mitofagia associada à quimiorresistência, já descrita na literatura. A silibinina foi selecionada como potencial quimiossensibilizador para as células UMUC3/R por meio de *docking molecular,* por apresentar maior afinidade de ligação e potencial inibitório sobre a telomerase, com base nos valores de energia livre de ligação (ΔG). As análises *in silico* mostram maior afinidade da silibinina pela telomerase (ΔG = -10,09) do que a do inibidor MST-312 (ΔG = -9,5). Após a seleção, o ensaio MTT foi conduzido em células UMUC3/R, com os tratamentos isolados (silibinina) e com co-tratamento (silibinina + cisplatina), em diferentes tempos e frações de CI_{50}. Após 72 h de tratamento, a silibinina apresentou CI_{50} de 42,95 µM

e reduziu a capacidade clonogênica para 73% (20 µM). O co-tratamento reduziu a viabilidade celular em comparação com os compostos isolados após 72 h em todas as combinações testadas, evidenciando o papel sinérgico da silibinina em combinação com a cisplatina. Por fim, o co-tratamento, com foco no potencial efeito quimiossensibilizador da silibinina em células tumorais de bexiga resistentes à cisplatina, bem como em sua correlação com a telomerase, pode ser uma estratégia promissora para o desenvolvimento de terapias mais eficazes para pacientes refratários. Análises posteriores serão conduzidas para avaliar a expressão da proteína telomerase e sua localização celular, a fim de compreender melhor os mecanismos envolvidos nesse processo.

Palavras-chave: Anticâncer; Fitoquímico; Metabolismo Mitocondrial; Resistência; Telômeros.

Agência de fomento: CAPES; CNPq (406560/2025-0); Fundação Araucária (Bolsa Produtividade).

VII CONGRESSO DE BIOLOGIA DA UEL
CONECTANDO OS ELOS DA VIDA
DO MOLECULAR AO ECOSSISTÊMICO

TRANSLOCAÇÃO BALANCEADA t(5;9) (p11;p11) IDENTIFICADA POR FISH EM UM CASAL COM ANORMALIDADES CROMOSSÔMICAS RECORRENTES NA PROLE

Tacieli Maria de Almeida[1]; Júlia Agostinho Golçalves[1]; Lyvia Emanoely Santos Tenorio Miranda[1]; Nicoly Santana Ramalho[1]; Julia Teixeira Liutti[2]; Maria Eliane Longhi Barroso[1]; Matheus Pires Rincão[3]; Ana Beatriz Goes Fernandes Monteiro[1]; Fernando Gomes Barcellos[1]

[1] Universidade Estadual de Londrina, Laboratório de Genética Humana;
[2] Hospital Universitário de Londrina;
[3] Universidade Federal do Rio Grande do Sul;

Biologia Molecular e Genética; Relato de Caso; Graduação.

Resumo: A translocação balanceada é um tipo relativamente comum de alteração estrutural cromossômica que não envolve ganho ou perda de material genético; portanto, os portadores são, em geral, fenotipicamente normais. No entanto, durante a meiose, o quadrivalente formado pode segregar de maneira anormal, gerando gametas desbalanceados e levando a complicações reprodutivas, como aborto espontâneo, natimortos ou descendentes com síndromes cromossômicas. Um casal fenotipicamente normal foi encaminhado ao Serviço de Aconselhamento Genético (SAG) da Universidade Estadual de Londrina (UEL) após a recorrência de anomalias no cromossomo 5 em dois de seus filhos. O primeiro filho faleceu aos nove meses de idade, e o segundo recém-nascido também apresentava suspeita clínica de anomalia cromossômica. O cariótipo de ambas as crianças foi encaminhado do hospital de origem do pedido e revelou rearranjos estruturais envolvendo o cromossomo 5, descritos como 46,XX,?inv(5)(p15.2p14) e 46,XY,add(5)(p14), respectivamente, de acordo com o Sistema Internacional de Nomenclatura Citogenômica Humana (ISCN). Este estudo teve como objetivo investigar a base citogenética subjacente à recorrência de alterações no cromossomo 5 na mesma família, por meio do uso combinado de técnicas de citogenética convencional e molecular. Ambos os pais foram submetidos à análise citogenética a partir de culturas de linfócitos de sangue periférico. Após 72 horas de incubação, as células foram tratadas com colchicina a 0,0017%, seguidas de tratamento hipotônico com KCl 0,0175 M, fixação e preparação de lâminas. Realizou-se o bandeamento GTG; contudo, essa técnica mostrou-se insuficiente para um diagnóstico definitivo na mãe, revelando apenas uma possível alteração no tamanho das bandas na região 5p. Diante do cariótipo materno inconclusivo, realizou-se uma análise complementar por Hibridização *in situ* por Fluorescência (FISH). A análise por FISH identificou uma translocação balanceada materna, caracterizada como 46,XX,t(5;9)(p11;p11). A presença desse rearranjo permite inferir a formação de um quadrivalente durante a meiose, cuja segregação anormal pode resultar na produção de gametas desbalanceados e contribuir para os rearranjos cromossômicos observados na prole." No entanto, a determinação do cariótipo exato de cada criança exigiria técnicas moleculares adicionais, como o FISH. Compreender a origem do rearranjo cromossômico permite uma estratificação precisa do risco reprodutivo para o casal. Neste caso destaca a importância de integrar a citogenética convencional a técnicas moleculares para elucidar rearranjos cromossômicos estruturais. Além disso, reforça o valor clínico da realização do cariótipo dos pais quando anomalias estruturais são identificadas em uma criança, proporcionando ao casal uma base mais bem fundamentada para a tomada de decisões reprodutivas.

Palavras-chave: Aconselhamento Genético; Citogenética; FISH; Translocação Balanceada.
Agradecimentos: SUS.

Universidade Estadual de Londrina
Ciências Biológicas UEL
Bioma CONSULTORIA AMBIENTAL

VII CONGRESSO DE BIOLOGIA DA UEL
CONECTANDO OS ELOS DA VIDA
DO MOLECULAR AO ECOSSISTÊMICO

VALIDAÇÃO DE PRIMERS PARA IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DE *Aedes aegypti*: ANÁLISE DE ESPECIFICIDADE E AMPLIFICAÇÃO CRUZADA COM *Aedes albopictus*

João Pedro de Albuquerque Cavalcanti[1]; Kauê Rodrigues Vicentini[1]; João Antonio Cyrino Zequi[2]; Laurival Antônio Vilas Boas[3]; Daniel Meneguello Limeira[4]

[1]Instituto Federal do Paraná Campus Londrina, PR, Curso Técnico em Biotecnologia Integrado ao Ensino Médio, Londrina, PR;
[2]Universidade Estadual de Londrina, Departamento de Biologia Animal e Vegetal, Londrina, PR, Brasil;
[3]Universidade Estadual de Londrina, Departamento de Biologia Geral, Londrina, PR, Brasil;
[4]Instituto Federal do Paraná Campus Londrina, PR.

Biologia Molecular e Genética; experimental; graduação

Resumo: A crescente proliferação de arbovírus no cenário mundial tem representado uma preocupação para diversos sistemas de saúde nacionais. Entre os principais vetores desse tipo de infecção, destacam-se os mosquitos do gênero *Aedes*, especialmente as espécies *A. aegypti* e *A. albopictus*, responsáveis pela transmissão de patógenos como os da chikungunya, dengue e zika. No contexto brasileiro, notamos um rápido aumento do número de casos, em estações propícias, ocasionado pela proliferação dos vetores. Para o seu ciclo de vida completo, o mosquito necessita de uma fonte de água parada. Devido a isso, o principal método usado na procura dessas espécies é uma inspeção visual, procurando por evidências de seu ciclo, tais como ovos, larvas e pupas. Porém, são comuns falsos negativos, já que existe a possibilidade de, em um determinado criadouro, os vetores já terem completado seus ciclos. Durante todo o seu ciclo de vida, através da defecação ou ecdise, por exemplo, as larvas podem deixar fragmentos de DNA nos criadouros. Esses fragmentos são o que chamamos de DNA ambiental (eDNA). Com esses trechos de eDNA, torna-se possível uma análise quanto à existência de mosquitos em determinado criadouro, através de técnicas de biologia molecular. Para viabilizar essa aplicação futura, entretanto, é necessário validar previamente a especificidade dos primers utilizados para a identificação de *A. aegypti* e *A. albopictus*. Assim, este trabalho teve como objetivo validar a funcionalidade de um primer desenvolvido para a detecção molecular de *A. aegypti*, verificando a ausência de amplificação cruzada com a espécie geneticamente próxima *A. albopictus*. Inicialmente, foram coletadas amostras de *A. aegypti* no laboratório de Entomologia da UEL. Em seguida, o DNA das amostras foi extraído por meio de um protocolo originalmente destinado a peixes. A extração foi realizada em seis indivíduos, com cada amostra contendo dois indivíduos, para garantir uma boa quantidade de DNA. O sucesso da extração (presença de DNA e integridade) foi confirmado por eletroforese em gel de agarose 1%. Em seguida, foi realizada uma PCR com gradiente de temperatura (50 a 62°C) utilizando o par de primers específico para *A. aegypti* (Aedes-F e AEG-R), em uma das amostras de DNA extraído, a fim de identificar a melhor temperatura de anelamento (Tm). Os produtos da PCR foram visualizados em gel de agarose 2%. Posteriormente, testou-se a amplificação dos primers específicos para *A. aegypti* (Aedes-F e AEG-R) e dos *primers* específicos para *A. albopictus* (Aedes-F e ALB-R) em todos os DNAs extraídos de *A. aegypti*. Para evitar resultados falso-positivos, utilizou-se duas amostras como controle negativo, uma para cada combinação de primer, contendo apenas água. Todas as amostras foram então submetidas à PCR (Tm = 58°C). Os produtos de PCR foram então visualizados em gel de agarose 2%. Os resultados demonstraram que a extração foi bem sucedida, resultando em DNA com boa quantidade e qualidade. O PCR com gradiente indicou amplificação em todas as temperaturas, sendo as melhores entre 56 e 58°C. Os resultados também confirmaram a especificidade dos primers Aedes-F e AEG-R para *A. aegypti* e a inespecificidade dos primers Aedes-F e ALB-R para *A. aegypti*. Como perspectiva futura, pretende-se aplicar esse primer validado em análises de eDNA de campo, facilitando a identificação de fases imaturas de ambas as espécies, o que

pode ampliar as possibilidades de vigilância entomológica.

Palavras-chave: Dengue; Reação em Cadeia da Polimerase; Vigilância Entomológica; eDNA; Arbovirose.

VII CONGRESSO DE BIOLOGIA DA UEL
CONECTANDO OS ELOS DA VIDA
DO MOLECULAR AO ECOSSISTÊMICO

ANÁLISE DA DIVERSIDADE GENÉTICA DE POPULAÇÕES INVASORAS DE CORVINA *PLAGIOSCION SQUAMOSISSIMUS* (Heckel, 1840) DO RIO PARANAPANEMA E TRIBUTÁRIOS

Eduardo Gilioli dos Santos[1]; Alanna Garla[1]; Andrey Bergamim Botini[1]; Cecília Alves de Sousa[1]; Karen Mayumi Suzuki Amorim[1]; Leonardo Terziotti[1]2; Mariana Camargo Cito[1]; Fernanda Simões de Almeida[1]

[1] Universidade Estadual de Londrina, Laboratório de Genética e Ecologia Animal (LAGEA);
[2] Universidade Estadual de Londrina, Laboratório de Ecologia de Peixes e Invasões Biológicas (LEPIB).

Biologia Molecular e Genética; experimental; graduação

Resumo: Espécies invasoras representam um risco para a fauna e flora nativa da região onde são introduzidas. Contudo, programas de estocagem possibilitaram a introdução de diversas espécies de peixes em reservatórios da bacia do rio Paranapanema. Na década de 70, espécies foram introduzidas no reservatório do Limoeiro pela Companhia de Eletricidade Paulista (CESP) e, após uma abertura das comportas, se espalharam por toda a bacia do rio Paraná. Dentre essas espécies, a corvina *Plagioscion squamosissimus* (Heckel, 1840), nativa da bacia Amazônica e da bacia do rio Parnaíba, atualmente pode ser encontrada em toda a extensão do rio Paranapanema. De hábitos carnívoros, predominantemente piscívoros, a corvina possui grande porte e a sua introdução causa um risco à fauna local, através de competição, predação e inserção de novas doenças que reduzem a riqueza de espécies nativas na região. Foram usados dados de DNA Barcoding a fim de analisar a diversidade das populações invasoras. A região do gene da Citocromo Oxidase I (COI), foi utilizada por ser representativa para estudos populacionais, embora apresente conservação a nível de espécie, possui variabilidade suficiente para comparar a diversidade genética entre indivíduos e investigar sua estrutura populacional. Portanto, esse estudo teve como objetivo analisar a diversidade genética de populações invasoras de corvina, a fim de testar duas hipóteses: (1) A diversidade genética das populações do rio Paranapanema é menor do que a diversidade genética das populações nativas? (2) As populações do rio Paranapanema derivam de uma população ancestral do rio Xingu, local onde a espécie é nativa? Para isso, a metodologia empregada consistiu em utilizar redes de espera para coletar amostras de indivíduos em 5 pontos diferentes do rio Paranapanema. Foram coletados 136 indivíduos, sendo 21 de Taquaruçu e 21 do reservatório de Rosana coletados entre 2018 e 2020, além de 30 do rio das Cinzas e 32 do rio Tibagi coletados entre 2009 e 2010, e 6 amostras do rio Xingu foram recebidas a fim de possibilitar a comparação com uma população nativa. Ao analisar a região COI do DNA mitocondrial desses indivíduos, um total de 10 haplótipos diferentes foram encontrados, sendo 4 deles exclusivos do rio Xingu, enquanto um haplótipo (H5) foi o mais frequente entre indivíduos do Rio Paranapanema, corroborando a ideia de que estes possuem um ancestral em comum. Através da Análise de Variância Molecular (AMOVA) identificou-se uma maior variação genética entre indivíduos (60,77%) do que entre populações (39,23%). Ao mesmo tempo, os valores FST e ΦST indicaram uma alta diferenciação genética entre a população do rio Xingu e as populações do rio Paranapanema. Sendo que o reservatório do rio das Cinzas apresentou o maior valor de ΦST (0,640) em relação às amostras do rio Xingu, indicando uma diferenciação genética muito alta, em contraste com a média das populações do rio Paranapanema (ΦST = 0,196). Os dados obtidos demonstram que a variabilidade genética em uma população invasora é menor do que em uma população nativa, confirmando a hipótese 1. Entretanto, a hipótese 2 não pôde ser confirmada, porque não foi constatada a presença de um haplótipo compartilhado entre as populações do rio Paranapanema e do rio Xingu. Sendo necessário um estudo com dados de mais populações de corvina, além de um mapeamento confiável do histórico de

introdução da espécie junto de evidências históricas. Diante disso, os resultados reforçam a importância de um plano correto de manejo e um banco de dados robusto sobre as espécies dos habitats em intervenção, para evitar desequilíbrio e danos à ictiofauna local.

Palavras-chave: Barcoding; COI; Espécie Invasora.

VII CONGRESSO DE BIOLOGIA DA UEL
CONECTANDO OS ELOS DA VIDA
DO MOLECULAR AO ECOSSISTÊMICO

ANÁLISE DE POPULAÇÕES DE *Pterygoplichthys ambrosettii* (HOLMBERG, 1893) DO PANTANAL E DO RIO PARANAPANEMA

Andrey Bergamim Botini[1]; Karen Mayumi Suzuki Amorim[1]; Eduardo Gilioli dos Santos[1]; Alanna Garla[1]; Mariana Camargo Cito[1]; Cecília Alves de Sousa[1]; Leonardo Terziotti[1]; Fernanda Simões de Almeida[1]

[1] Universidade Estadual de Londrina, Laboratório de Genética e Ecologia Animal (LAGEA);

Genética e Biologia molecular; experimental; Pós-graduação

Resumo: Atividades humanas continuamente ameaçam os ecossistemas. Dentre as principais formas de ameaças, a introdução de espécies não-nativas, seja de maneira acidental ou intencional, pode ser responsável por extinguir populações nativas. Os peixes compõem um dos grupos mais atingidos pelas introduções, que podem resultar tanto de soltura de aquariofilistas quanto de empreendimentos que alteram a dinâmica hídrica dos ambientes. O cascudo *Pterygoplichthys ambrosettii* (Holmberg, 1893) é uma espécie considerada invasora na bacia do Alto rio Paraná, sendo nativa da região do Pantanal. Sua introdução se deve a duas diferentes fontes: (i) alagamento do Salto de Sete Quedas para a construção da Usina Hidrelétrica de Itaipu; e (ii) solturas provenientes de aquarismo. Este estudo teve como objetivo avaliar a estrutura genética e a diversidade de 81 espécimes de *P. ambrosettii* coletados na sua região não-nativa (Baixo rio Paranapanema), e compará-los com 60 indivíduos coletados em sua região nativa (rio Miranda), totalizando 141 amostras. As amostras do rio Paranapanema foram divididas em 6 diferentes pontos de coleta (rio Tibagi, rio Congonhas, rio Cinzas, rio Anhumas, reservatório de Rosana e reservatório de Taquaruçu). Para atingir este objetivo, foi realizado o sequenciamento da região controle do DNA mitocondrial (*D-loop*) de todas as amostras, e foram utilizados marcadores microssatélites nas populações do rio Tibagi e do rio Miranda, a fim de analisar as populações e suas origens. Foram utilizados sete pares de *primes* para as regiões de microssatélite, que identificaram 41 alelos para a população do rio Tibagi e 111 alelos para a população do rio Miranda. Os níveis de Heterozigosidade Observada (*Ho*) e Heterozigosidade Esperada (*He*) para a população do rio Tibagi foram 0,684 e 0,654, e para a população do rio Miranda foram 0,879 e 0,883, respectivamente. O Índice de Fixação (Φ_{ST}) apresentou um valor de 0,11, encontrando a maior diversidade dentro dos indivíduos (89,27%). As análises de DNA mitocondrial (*D-loop*) apresentaram resultados similares, onde a maior diversidade se manteve dentro dos indivíduos (80,18%), com um valor de 0,19 para o Φ_{ST}. Para a população do rio Miranda foram identificados 14 haplótipos exclusivos, de um total de 17 haplótipos encontrados. Todas as populações do Baixo rio Paranapanema apresentaram baixa diversidade genética, em comparação com a população do rio Miranda. Esse é um padrão observado com frequência em estudos sobre populações invasoras, que se deve ao efeito do fundador. Por fim, os resultados das análises genéticas indicam que as populações estudadas possuem uma relação com base nos haplótipos compartilhados.

Palavras-chave: Loricariidae; mtDNA; Populações invasoras; SSR.

ANÁLISE DO COLÁGENO FIBRILAR POR PICROSIRIUS RED EM TUMORES PRIMÁRIOS DE PACIENTES COM CÂNCER UROTELIAL DE BEXIGA

Maria Alice Feitosa de Souza Martins[1]; Maria Fernanda Vicente Turim[1]; Laís Capelasso Lucas Pinheiro[1]; Roberta Losi Guembarovski[1]

[1] Universidade Estadual de Londrina, Laboratório de Mutagênese e Oncogenética;

Biologia Molecular e Genética; experimental; graduação

Resumo: O câncer urotelial de bexiga (CUB) é uma neoplasia maligna que se origina das células uroteliais que revestem o lúmen da bexiga. As funções das células epiteliais, incluindo diferenciação celular, migração e invasão, são direcionadas por interações físicas com a matriz extracelular (MEC). Durante a progressão do câncer, a MEC sofre alterações em sua composição e organização, criando um ambiente pró-tumorigênico que facilita a invasão, a sobrevivência e a disseminação das células cancerosas. Dentre os componentes da MEC, os colágenos fibrilares dos tipos I e III são as proteínas mais abundantes, e alterações em sua deposição, densidade e organização podem contribuir para um microambiente favorável à progressão tumoral. Nesse contexto, alterações nas características das fibras colágenas têm sido investigadas como potenciais indicadores da progressão de diferentes tipos de tumores, incluindo o CUB. A coloração com PicroSirius Red (PSR) é um dos métodos mais usados para visualizar fibras de colágeno em tecidos. O corante liga-se ao colágeno intensificando sua birrefringência natural. Sob luz normal observa-se o colágeno total, e sob luz polarizada, os colágenos fibrilares aparecem brilhantes. Essa técnica possibilita a diferenciação do colágeno tipo III (Col-III), que é fino e possui fibras pouco compactadas (brilho verde), e do colágeno tipo I (Col-I), que é espesso e possui fibras fortemente compactadas (brilho amarelo e vermelho). Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o perfil de deposição e organização das fibras colágenas fibrilares em amostras teciduais de pacientes com tumores primários de bexiga (n=9), com o intuito de caracterizar aspectos da remodelação da MEC tumoral e investigar o potencial do colágeno como marcador candidato de prognóstico em amostras de pacientes portadores de CUB. As amostras foram obtidas no Hospital do Câncer de Londrina (CAAE 47092521.2.1001.5231) e os pacientes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido. Para confirmação do diagnóstico e da presença de MEC circundante, todos os tecidos foram corados com hematoxilina e eosina e analisados por médico patologista. Posteriormente, as amostras foram coradas com PSR e contra-coradas com hematoxilina. Foram obtidas 10 imagens de cada amostra em luz polarizada e em luz normal. Para a quantificação das fibras colágenas, utilizou-se o software ImageJ Fiji. Foi realizada análise estatística para comparar a deposição de colágeno fino, grosso e total dos diferentes pacientes, além de correlacionar essa deposição com os parâmetros grau e estadiamento tumoral. De maneira geral, o Col-I foi mais expresso do que o Col-III, e o colágeno total apresentou maior deposição do que a soma dos dois colágenos fibrilares avaliados. Quanto à deposição dos colágenos I e III, observou-se várias diferenças, com destaque para dois dos pacientes que apresentaram valores mais altos do que a média observada. Concomitante a esses resultados, a análise de correlação revelou uma associação positiva entre a deposição de colágeno e o grau tumoral, indicando que tumores de alto grau apresentam maior deposição de fibras colágenas dos tipos I e III. Não foi encontrada correlação significativa entre a deposição de colágeno e o estadiamento tumoral. Com relação a deposição de colágeno total, foram observadas médias mais constantes entre os pacientes, uma vez que foram quantificados todos os colágenos presentes no tecido. De acordo com a literatura, alterações na quantidade e na organização das fibras colágenas podem contribuir para o aumento da rigidez da MEC, o que intensifica a sinalização mecânica entre as células tumorais e estromais, desencadeando múltiplas vias de

sobrevivência, proliferação e mobilidade das células tumorais. Nossos resultados sugerem que a maior deposição de colágenos fibrilares pode estar relacionada à maior agressividade do CUB, sendo necessários estudos adicionais para comprovar o papel desta molécula como um biomarcador prognóstico.

Palavras-chave: Colágeno tipo I; Colágeno tipo III; Grau tumoral; Matriz extracelular; Microambiente tumoral.

ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO RS1800469 NO GENE *TGFB1* COM A SUSCETIBILIDADE AO CÂNCER DE COLO DO ÚTERO

Nicoly Santana Ramalho[1]; Eliza Pizarro Castilha[1]; Mariane Ricciardi da Silva[1]; Giovana Garcia[1]; Marie Augusta Squarça e Silva[1]; Pamella Rodrigues da Silva[1]; Leonardo Matias Magalhães Silva[1]; Vitória de Aguiar Castro[1]; Eduardo Cristofoli Silva[2]; Bruno Bronzetti de Rezende[2]; Karen Brajão de Oliveira[1]

[1] Universidade Estadual de Londrina; Laboratório de Genética Molecular e Imunologia e Laboratório de Estudos e Aplicações de Polimorfismos;

[2] Hospital do Câncer de Londrina.;

Biologia Molecular e Genética; Experimental; Graduação

Resumo: O Câncer de Colo do Útero (CCU) representa um grave problema de saúde pública global, estando fortemente associado à infecção pelo Papilomavírus Humano (HPV) e a alterações no microambiente tumoral. O Fator de Crescimento Transformador Beta (TGF-β1) é uma citocina codificada pelo gene *TGFB1* e desempenha papel dual na oncogênese cervical ao atuar como supressora tumoral nos estágios iniciais e como promotora de evasão imune e invasão nos estágios avançados. Polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) na região promotora do gene, como o polimorfismo rs1800469 (C-509T), podem alterar os níveis de expressão e a produção da proteína, influenciando a suscetibilidade e o desenvolvimento de neoplasias cervicais. Diante disso, o objetivo deste estudo foi investigar a associação entre a variante genética rs1800469 (C-509T) do gene *TGFB1* e o desenvolvimento do câncer de colo do útero. Trata-se de um estudo caso-controle aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CAAE: 56738316.3.0000.5231), envolvendo 242 mulheres atendidas no Sistema Único de Saúde do Norte do Paraná. As participantes foram classificadas no grupo Controle (Sem Lesão - SL, n = 190), composto por mulheres sem infecção por HPV e sem lesões intraepiteliais, ou no grupo Casos (Câncer de Colo do Útero - CCU, n = 52), formado por mulheres com diagnóstico de carcinoma cervical, sendo espinocelular ou adenocarcinoma. Amostras de sangue periférico e secreção vaginal foram coletadas e submetidas à extração de DNA, a detecção do HPV foi realizada por nested-PCR com os primers MY09/MY11 e GP5+/GP6+. A genotipagem do polimorfismo rs1800469 (C-509T) foi executada por Reação em Cadeia da Polimerase seguida de Polimorfismo de Comprimento de Fragmentos de Restrição (PCR-RFLP), utilizando a enzima de restrição *Bsu36I*. As análises estatísticas foram realizadas no software SPSS v.22.0 por meio dos testes Qui-quadrado de Pearson ou Exato de Fisher, além de regressão logística binária ajustada por idade e tabagismo, adotando nível de significância de $p < 0,05$. No grupo CCU, a distribuição genotípica do polimorfismo rs1800469 foi de 30,8% para o homozigoto ancestral CC, 50,0% para o heterozigoto CT e 19,2% para o homozigoto variante TT, enquanto no grupo SL observou-se 46,8% CC, 41,6% CT e 11,6% TT. A análise de frequências alélicas demonstrou que o alelo T esteve associado ao grupo com câncer (44,2% no grupo CCU vs. 32,4% no grupo SL; $p = 0,024$). Sob o modelo de herança dominante (CC vs. CT + TT), a presença do alelo variante T manteve associação com o grupo CCU (69,2% vs. 53,2%; $p = 0,038$). A regressão logística binária ajustada para idade e tabagismo revelou uma tendência de associação para o modelo dominante (ORaj = 1,956; IC95% = 0,979–3,909; $p = 0,057$) e para o genótipo TT (ORaj = 2,372; IC95% = 0,902–6,237; $p = 0,080$). Em conclusão, embora não de forma independente, o polimorfismo rs1800469 (C-509T) no gene *TGFB1* está associado ao desenvolvimento do CCU na população estudada, sendo o alelo variante T e o modelo dominante indicadores de maior suscetibilidade à neoplasia, reforçando o papel das variações genéticas na via do TGF-β1 na carcinogênese cervical.

Palavras-chave: Câncer cervical; Fator de Crescimento Transformador Beta; Papilomavírus Humano; Variante de nucleotídeo único.

Agradecimentos: Gostaria de agradecer ao laboratório e sua equipe por possibilitar a realização desse projeto, ao VII CBUEL pela oportunidade de compartilhar uma das pesquisas realizadas pelo laboratório, à Universidade Estadual de Londrina e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento deste projeto.

Agência de fomento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

VII CONGRESSO DE BIOLOGIA DA UEL
CONECTANDO OS ELOS DA VIDA
DO MOLECULAR AO ECOSSISTÊMICO

AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DO TRATAMENTO COM ZERUMBONA E CURCUMINA EM LINHAGEM CELULAR DE ADENOCARCINOMA MAMÁRIO MCF-7

Ana Beatriz Teixeira Macedo[1]; Mário Sérgio Mantovani[1]

[1] Universidade Estadual de Londrina, Laboratório de Genética Toxicológica.

Biologia molecular e Genética; Experimental; Graduação

Resumo: O câncer é uma doença caracterizada pelo acúmulo de alterações genéticas que comprometem os mecanismos de controle do ciclo e da sobrevivência celular, resultando em proliferação celular descontrolada. O câncer de mama é um dos tipos de câncer mais frequentes entre as mulheres. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), em 2022, foram estimados 2,3 milhões de casos e 670 mil óbitos em decorrência da doença. Dada a elevada incidência da doença, a busca por novas estratégias terapêuticas para o tratamento de câncer de mama é de grande relevância. Nesse contexto, terapias antineoplásicas baseadas em produtos naturais, incluindo os fitoquímicos, têm ganhado destaque. Os fitoquímicos têm a capacidade de modular vias de sinalização celulares associadas à proliferação, apoptose e estresse oxidativo, apresentando potencial quimiopreventivo e antineoplásico. Entre esses compostos, destacam-se a zerumbona (ZER), um sesquiterpeno monocíclico extraído do rizoma de *Zingiber zerumbet*, e a curcumina (CUR), um polifenol extraído do rizoma da *Curcuma longa*, os quais destacam-se pelo potencial em induzir morte celular e reduzir toxicidade sistêmica, especialmente quando utilizados em associação. Dessa forma, no presente estudo, foram avaliados os efeitos citotóxicos da ZER e da CUR, isoladamente e em associação, na linhagem celular de adenocarcinoma ductal de mama humano MCF-7, cultivada em sistema bidimensional (2D). Foram testadas três concentrações de zerumbona (100, 150 e 200 µM) e três concentrações de curcumina (25, 50 e 100 µM). O DMSO foi utilizado como controle de veículo e a doxorrubicina (10 µM), como controle positivo. Os dados obtidos a partir de 3 repetições experimentais foram analisados por ANOVA seguida do teste de Dunnett ($p<0,05$). Após 24, 48 e 72 horas de tratamento, a viabilidade celular foi determinada por meio do ensaio de resazurina (5×10^4 células/poço). Nos tratamentos com ZER isolada, observou-se baixa citotoxicidade após 24 h de tratamento, com viabilidade acima de 80%. Após 72 h de tratamento, a ZER causou citotoxicidade na maior concentração testada. A CUR isolada também demonstrou citotoxicidade em 24 h, mas sem um padrão dose-resposta, com fraco efeito em 48 h e, em 72 h, apenas a maior concentração foi citotóxica. Já os tratamentos combinados de ZER 100, 150 e 200 e CUR 100 apresentaram efeito sinérgico, potencializando a citotoxicidade após 24 h de tratamento. Em 48 h, essa citotoxicidade foi menos evidente, mas significativa em relação ao controle nos tratamentos combinados ZER 100 + CUR 25 e ZER 100 + CUR 50, entretanto não houve sinergismo. Em 72h quase todas as associações apresentaram efeito sinérgico, com exceção da ZER 100 + CUR 25, que foi a única que não apresentou diferença significativa em relação ao controle. Em conclusão, o tratamento combinado de ZER 100 + CUR 100 por 24 h mostrou-se promissora, promovendo efeito citotóxico significativo e rápida redução da viabilidade das células de adenocarcinoma mamário MCF-7. Dessa forma, a associação de zerumbona e curcumina apresenta potencial como uma estratégia para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas contra o câncer de mama.

Palavras-chave: Apoptose; Produtos naturais; Proliferação.

Agradecimentos: Universidade Estadual de Londrina e Laboratório de Genética Toxicológica.

Universidade Estadual de Londrina
Ciências Biológicas UEL
Bioma Consultoria Ambiental

Agência de fomento: CNPq, Capes, Finep e Fundação Araucária.

VII CONGRESSO DE BIOLOGIA DA UEL
CONECTANDO OS ELOS DA VIDA
DO MOLECULAR AO ECOSSISTÊMICO

CARACTERIZAÇÃO DAS MUTAÇÕES *KDR* ASSOCIADAS À RESISTÊNCIA A PIRETROIDES DE UMA POPULAÇÃO DE *Aedes (Stegomyia) aegypti* COLETADA EM FOZ DO IGUAÇU, PARANÁ

Luana Yuka Nishizawa[1]; Giovanna Caroline Daineis[1]; Isabeli Godoy[1]; Matheus de Moura Silva[1]; Angela Maria Palacio Cortés[2]; Mário Antônio Navarro da Silva[2]; Renata da Rosa[1]

[1]Universidade Estadual de Londrina, SilkTec;
[2]Universidade Federal do Paraná, LAMFIC2;

Biologia Molecular e Genética; Experimental; Graduação

Resumo: *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) é o principal vetor de arboviroses como dengue, Zika, Chikungunya e febre amarela, sendo considerado um grande problema de saúde pública. A dengue compõe um cenário crítico no Brasil, registrando em 2025 mais de 1,4 milhão de casos prováveis e 1.165 óbitos, com o Paraná entre os estados de maior incidência (91.851 confirmações) e o município de Foz do Iguaçu em alerta com 15.823 casos notificados. A situação específica do município é favorecida por sua localização de tríplice fronteira, intenso trânsito de pessoas e ao clima quente e úmido, condições climáticas propícias à proliferação do vetor. Entre as estratégias de controle mais utilizadas destaca-se o uso de inseticidas químicos, principalmente do grupo dos piretroides. No entanto, o uso intensivo desses produtos tem favorecido a seleção de populações resistentes, fenômeno associado a mutações no gene do canal de sódio dependente de voltagem (Nav), conhecidas como mutações *knockdown resistance* (*kdr*). Dentre essas alterações, destacam-se as substituições dos aminoácidos fenilalanina por cisteína (Phe1534Cys), da valina por isoleucina (Val1016Ile) e da valina por uma leucina (Val410Leu), relatadas em populações de *Ae. aegypti* brasileiras. Considerando o cenário epidemiológico do Paraná, identificar os mecanismos genéticos envolvidos em sua resistência é fundamental para traçar metas de controle vetorial mais eficazes. Diante disso, o objetivo deste estudo foi identificar e analisar as frequências genotípicas e alélicas das mutações *kdr* Phe1534Cys, Val1016Ile e Val410Leu em uma população de *Ae. aegypti* coletada na cidade de Foz do Iguaçu-PR. Para isso, os ovos do mosquito foram coletados por meio de armadilhas de oviposição (ovitrampas) e mantidos em laboratório sob condições controladas até a emergência dos adultos. Em seguida, 30 indivíduos foram selecionados aleatoriamente, preservados em nitrogênio líquido e armazenados em freezer a −80 °C. Após devida identificação dos indivíduos, foi realizada a extração de DNA e as mutações *kdr* foram detectadas por PCR alelo-específica, com visualização da região amplificada em eletroforese com gel de agarose a 2%. Os resultados moleculares apontaram uma alta frequência de genótipos mutantes para Phe1534Cys (80%) e Val410Leu (100%). Já para Val1016Ile, há uma distribuição equilibrada entre homozigotos mutantes (30%), selvagem (33,3%) e heterozigotos (36,6%). Os dados obtidos para análises alélicas indicaram que os alelos mutantes Cys ^{kdr}, Ile ^{kdr} e Leu ^{kdr} encontram-se, respectivamente, nas frequências de 90%, 48,3% e 100%. Apesar das mutações Phe1534Cys e Val1016Ile apresentarem equilíbrio de Hardy-Weinberg, nota-se que o alelo mutante Leu ^{kdr} se encontra fixado na população, não sendo identificados indivíduos portadores do alelo selvagem na amostra. Além disso, a análise de co-ocorrência revelou que 53,33% da população apresenta genótipos mutantes concomitantes nos sítios 1534 e 410 (Cys ^{kdr} e Leu ^{kdr}), e 26,66% possuem perfil triplo homozigoto mutante (Cys ^{kdr}, Ile ^{kdr} e Leu ^{kdr}). Os resultados obtidos revelam uma circulação alarmante de alelos mutantes, associado a resistência de piretroides na população de *Ae. aegypti* avaliada em Foz do Iguaçu e a alta frequência genotípica de duas das três mutações *kdr* investigadas,o que indica o comprometimento da eficiência desse inseticida no controle vetorial no município. Nesse sentido, o monitoramento contínuo dessas variações genéticas é importante para identificar o avanço da resistência genotípica e alertar para a

necessidade de adequação de estratégias de controle às características locais.

Palavras-chave: Arboviroses, Entomologia Molecular, Inseticida, Phe1534Cys.

Agradecimentos: Os autores agradecem ao CNPq e a Fundação Araucária pelo fomento do projeto e a Universidade Estadual de Londrina pelo suporte.

Agência de fomento: CNPq e Fundação Araucária.

VII CONGRESSO DE BIOLOGIA DA UEL
CONECTANDO OS ELOS DA VIDA
DO MOLECULAR AO ECOSSISTÊMICO

DELEÇÃO DO BRAÇO LONGO DO CROMOSSOMO Y IDENTIFICADA EM INVESTIGAÇÃO CITOGENÉTICA DE PACIENTE COM ATRASO DE DESENVOLVIMENTO PSICOMOTOR E FENDA PALATINA

Sibely Ferreira da Silva[1]; Taciele Maria de Almeida[1]; Lyvia Emanoely Santos Tenório Miranda[1]; Julia Agostinho Gonçalves[1], Nicoly Santana Ramalho[1]; Maria Eliane Longhi Barroso[1]; Ana Beatriz Goes Fernandes Monteiro[1]; Fernando Gomes Barcellos [1]

[1] Universidade Estadual de Londrina, Serviço de Aconselhamento Genético;

Biologia Molecular e Genética; Relato de Caso; Graduação

Resumo: Alterações estruturais e numéricas dos cromossomos sexuais podem apresentar manifestações clínicas variáveis, relacionadas à região cromossômica envolvida e à quantidade de material genético alterado. Essas alterações podem estar associadas a anomalias congênitas, alterações do desenvolvimento, comprometimentos da linguagem e, em alguns casos, alterações da função gonadal, sendo a investigação citogenética importante para a caracterização de quadros clínicos sem etiologia definida. O objetivo deste estudo foi investigar uma possível causa genética para os sinais e sintomas apresentados por um paciente com fenda palatina, atraso do desenvolvimento neuropsicomotor e comprometimento da comunicação. Trata-se de um relato de caso fundamentado na análise do histórico clínico e na investigação citogenética. Não havia relato familiar de condição semelhante. No período neonatal, o paciente apresentou ausência de choro, parada respiratória, necessidade de reanimação e intubação, permanecendo por três dias em unidade de terapia intensiva. Também apresentou fenda palatina, com dificuldade de sucção e necessidade de alimentação por sonda até os nove meses. Ao longo do desenvolvimento, iniciou a alimentação por via oral aproximadamente aos 12 meses, mantendo dificuldade alimentar relacionada à fenda palatina, sem seletividade alimentar. Para a investigação citogenética, realizou-se cultura de linfócitos a partir de sangue periférico. O material fixado foi utilizado no preparo das lâminas, posteriormente submetidas à análise citogenética convencional e ao bandeamento G. As metáfases foram examinadas quanto ao número e à estrutura dos cromossomos, identificando-se o cariótipo 46,X,del(Y)(q11.22), correspondente à deleção no braço longo do cromossomo Y, na região Yq11.22. O achado contribui para a investigação etiológica das manifestações observadas e reforça a relevância da análise cromossômica em pacientes com anomalias congênitas, atraso motor e alterações da comunicação. Embora não estejam disponíveis informações de evolução clínica, o resultado fornece subsídios para o acompanhamento multidisciplinar e para a avaliação genética da família. Conclui-se que a cultura de linfócitos associada às análises convencionais e por bandeamento G possibilitou a detecção e caracterização de uma alteração estrutural do cromossomo Y, contribuindo para a investigação e para a caracterização laboratorial do caso.

Palavras-chave: Aconselhamento Genético, Cariótipo, Genética Clínica, Malformação Craniofacial, Síndrome genética.

Agradecimentos: PROEX, SUS.

VII CONGRESSO DE BIOLOGIA DA UEL
CONECTANDO OS ELOS DA VIDA
DO MOLECULAR AO ECOSSISTÊMICO

DISGENESIA GONADAL 46,XX EM PACIENTE COM FENÓTIPO MASCULINO: SEGUNDO CASO REGISTRADO NO SERVIÇO DE ACONSELHAMENTO GENÉTICO

Nicoly Santana Ramalho[1]; Tacieli Maria de Almeida[1]; Lyvia Emanoely Santos Tenório Miranda[1]; Sibely Ferreira da Silva[1]; Maria Eliane Longhi Barroso[1]; Ana Beatriz Goes Fernandes Monteiro[1]; Fernando Gomes Barcellos[1]

[1] Universidade Estadual de Londrina, Laboratório de Genética Humana;

Biologia Molecular e Genética; Relato de Caso; graduação

Resumo: As alterações genéticas que envolvem os cromossomos sexuais em indivíduos do sexo masculino constituem um grupo complexo de condições que impactam diretamente o desenvolvimento sexual, a função reprodutiva e a saúde geral do paciente. Tais alterações abrangem desde anomalias numéricas, como as aneuploidias, até rearranjos estruturais e translocações cromossômicas imperceptíveis em análises clínicas convencionais sem suporte genético especializado. Diante desse cenário, o presente estudo tem como objetivo relatar e investigar o caso de um paciente de 36 anos do sexo masculino, atendido no Serviço de Aconselhamento Genético (SAG) da Universidade Estadual de Londrina (UEL). O paciente foi encaminhado para exame por apresentar achados clínicos característicos, que incluíam micropênis, criptorquidia, hipogonadismo e ginecomastia, além de relatar um quadro de infertilidade. Com base nos dados e nas características fenotípicas observadas na ficha de encaminhamento, a suspeita clínica inicial era Síndrome de Klinefelter (47,XXY). Como conduta investigativa, foi realizada a análise por meio do exame de cariótipo com a técnica de bandamento G. Para tal, foi coletada amostra de sangue periférico do paciente e realizada a cultura de linfócitos em meio RPMI 1640 durante 72 horas, seguida da interrupção celular por colchicina, choque hipotônico, fixação e coloração das lâminas.. A análise microscópica está em execução, cerca de 25 metáfases foram analisadas e confirmam a presença de um cariótipo 46,XX, apesar do fenótipo masculino do paciente. Esta condição é descrita na literatura científica como Síndrome de la Chapelle ou Síndrome do Homem XX, uma condição rara em que as características fenotípicas masculinas ocorrem em indivíduos com o complemento cromossômico tipicamente feminino. Os achados clínicos descritos no momento do encaminhamento e o quadro de infertilidade vivenciado pelo paciente alinham-se com os relatos da literatura. A principal hipótese da manifestação dos sintomas é a translocação de um pedaço do cromossomo Y contendo o gene SRY para um cromossomo X ou para um autossomo durante a meiose paterna. A presença do cariótipo feminino resulta em desequilíbrio hormonal ao diminuir os níveis de testosterona e elevar o nível de LH e FSH, resultando nos sintomas presentes na ficha médica. Apesar dos achados citogenéticos expressivos obtidos até o momento, a investigação do caso permanece em andamento com a análise microscópica e será avaliada a necessidade da realização do exame de Hibridização in situ por Fluorescência (FISH) com sonda específica para determinar com precisão a presença e a localização física do gene SRY. A identificação do cariótipo 46,XX em um paciente fenotipicamente masculino destaca o papel imprescindível da citogenética clássica e do aconselhamento genético no diagnóstico diferencial dos distúrbios do desenvolvimento sexual e da infertilidade. Esse é o segundo caso relatado pelo SAG-UEL e aparenta apresentar sintomas mais aparentes comparados ao caso anterior. O encerramento desta investigação e a elucidação etiológica definitiva fornecem o suporte necessário para o correto manejo clínico e multidisciplinar do paciente, viabilizando a indicação de terapia de reposição hormonal quando pertinente, bem como o acolhimento e a orientação genética personalizada quanto ao prognóstico e à saúde reprodutiva.

Palavras-chave: Cariótipo; Citogenética; Síndrome de la Chapelle; Síndrome do Homem XX.

Agradecimentos: Agradeço ao Serviço de Aconselhamento Genético da Universidade Estadual de Londrina e a toda a sua equipe pelo suporte técnico e dedicação no acompanhamento e investigação

citogenética deste caso. Expresso também minha gratidão ao Sistema Único de Saúde (SUS), fundamental por viabilizar o acesso gratuito e de qualidade à assistência especializada, aos exames diagnósticos de alta complexidade e ao atendimento humanizado para a comunidade.

VII CONGRESSO DE BIOLOGIA DA UEL
CONECTANDO OS ELOS DA VIDA
DO MOLECULAR AO ECOSSISTÊMICO

DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA DE DUAS POPULAÇÕES DA ESPÉCIE *Pimelodus ornatus* (SILURIFORMES: PIMELODIDAE) DA BACIA DO RIO PARANAPANEMA

Mariana Camargo Cito[1]; Andrey Bergamim Botini[1]; Karen Mayumi Suzuki Amorim[1]; Leonardo Terziotti[1]; Eduardo Gilioli dos Santos[1]; Cecília Alves de Sousa[1]; Allana Garla[1]; Fernanda Simões de Almeida[1]

[1] Universidade Estadual de Londrina, Laboratório de Genética e Ecologia Animal (LAGEA).

Genética e Biologia molecular; experimental; Pós-graduação

Resumo: Os peixes da família Pimelodidae apresentam ampla distribuição na região Neotropical, ocorrendo em diferentes bacias hidrográficas da América do Sul e constituindo um importante componente da ictiofauna de água doce. Entretanto, a degradação dos ambientes aquáticos, associada à construção de barragens, desmatamento, urbanização e introdução de espécies invasoras, representa uma ameaça à biodiversidade desses ecossistemas. Nesse contexto, a introdução e a expansão de espécies não nativas constituem uma importante ameaça à biodiversidade de ambientes de água doce, podendo alterar a composição e a estrutura das comunidades nativas e gerar impactos sobre as relações ecológicas. Entre essas espécies, *Pimelodus ornatus* Kner, 1858, pertencente à família Pimelodidae, apresenta ocorrência no baixo rio Paranapanema, especialmente nos reservatórios de Taquaruçu e Rosana. A espécie é considerada não nativa no alto rio Paraná, sendo sua expansão associada ao enchimento do reservatório de Itaipu e à consequente inundação das Sete Quedas, que anteriormente atuava como uma barreira natural à dispersão de peixes. Nesse cenário, compreender a ocorrência e a reprodução de espécies nativas e não nativas é fundamental para o monitoramento e manejo dos ambientes aquáticos. Entretanto, a identificação de ovos e larvas em nível específico é dificultada pela ausência ou pelo desenvolvimento incompleto de caracteres morfológicos diagnósticos. O presente estudo teve como objetivo realizar a identificação molecular de ovos e larvas e analisar a diversidade e estrutura genética de duas populações de *P. ornatus* coletados no rio Paranapanema, utilizando sequências do marcador mitocondrial da região COI. As sequências foram obtidas a partir do banco de dados online BOLD (Barcode of Life Data Systems). Foram analisados 58 indivíduos de ovos e larvas, sendo 44 provenientes do reservatório de Rosana e 14 do reservatório de Taquaruçu. A análise das sequências do gene COI identificou dois haplótipos entre os 58 indivíduos de *Pimelodus ornatus* analisados. O haplótipo H1 apresentou maior frequência, ocorrendo em 50 indivíduos (86,2%), enquanto o H2 foi identificado em 8 indivíduos (13,8%). A diversidade haplotípica estimada foi de 0,2420, indicando baixa diversidade genética para o marcador analisado. A análise de variância molecular (AMOVA) revelou que 10,44% da variação genética foi atribuída às diferenças entre as populações, enquanto 89,56% ocorreu dentro das populações. O índice de diferenciação genética apresentou valor de FST = 0,10439, indicando diferenciação moderada entre os grupos. Entretanto, o teste de permutação não apresentou significância estatística ao nível de 5% (P = 0,09189), não permitindo inferir estruturação genética significativa entre as populações de *P. ornatus* analisadas. Nesse sentido, destaca-se a necessidade de ampliar as amostragens para outras populações e localidades, com a inclusão de um maior número de indivíduos, bem como integrar diferentes marcadores moleculares, a fim de compreender melhor a estrutura e a diversidade genética da espécie. Esses dados podem contribuir para o monitoramento da ictiofauna desta espécie invasora e subsidiar estratégias de manejo e conservação no rio Paranapanema.

Palavras-chave: Diversidade haplotípica; DNA barcoding; Ictioplâncton; Paranapanema.

Universidade Estadual de Londrina
Ciências Biológicas UEL
Bioma CONSULTORIA AMBIENTAL

VII CONGRESSO DE BIOLOGIA DA UEL
CONECTANDO OS ELOS DA VIDA
DO MOLECULAR AO ECOSSISTÊMICO

DIVERSIDADE GENÉTICA DA ESPÉCIE *Leporinus friderici* (BLOCH, 1794) NOS PRINCIPAIS AFLUENTES DA BACIA DO RIO PARANAPANEMA

Cecília Alves de Sousa[1]; Andrey Bergamim Botini[1]; Karen Mayumi Suzuki Amorim[1]; Alanna Garla[1]; Mariana Camargo Cito[1]; Leonardo Terziotti[1]; Eduardo Gilioli dos Santos[1]; Fernanda Simões de Almeida[1]

[1] Universidade Estadual de Londrina, Laboratório de Genética e Ecologia Animal (LAGEA);

Biologia Molecular e Genética; experimental; graduação

Resumo: *Leporinus friderici* (Bloch, 1794), pertencente à ordem Characiformes, família Anostomidae, subfamília Anostominae, é popularmente conhecido como piau-três-pintas, aracu ou piava. Trata-se de um peixe migrador, de médio porte, nativo, e com ampla distribuição na América do Sul, em especial na bacia do rio Paranapanema. Este é um importante afluente da margem esquerda do rio Paraná, amplamente explorado para geração de energia hidrelétrica. A ictiofauna da bacia do rio Paranapanema tem sido investigada desde a década de 1990, e o conhecimento sobre a riqueza de espécies presentes em grandes afluentes, como os rios Tibagi e Cinzas, é fundamental para a sua manutenção. O presente estudo teve como objetivo analisar a diversidade e estrutura genética de duas populações de *L. friderici*, coletados em dois dos principais afluentes do rio Paranapanema, utilizando sequências do marcador mitocondrial da região da citocromo C oxidase subunidade I, conhecido como COI. As sequências foram obtidas a partir do banco de dados *online* BOLD (*Barcode of Life Data*). Foram analisadas 164 amostras de ovos e larvas, sendo 98 provenientes do rio Tibagi e 66 provenientes do rio Cinzas. A análise das sequências do gene COI identificou 12 haplótipos entre os 164 indivíduos de *Leporinus friderici.* O haplótipo H1 apresentou maior frequência, ocorrendo em 134 indivíduos (81,71%), seguido de H2, identificado em 12 indivíduos (7,32%). Os haplótipos restantes apresentaram frequência igual ou inferior a 2,44%. A diversidade haplotípica estimada foi de 0,3273, indicando baixa diversidade genética para o marcador analisado. A Análise da Variância Molecular (AMOVA) revelou que 0,1% da variação genética foi atribuída às diferenças entre as populações, enquanto 99,9% ocorreram dentro das populações. O índice de diferenciação genética apresentou valor de F_{ST} = 0,00105, indicando baixa diferenciação entre os grupos, e o teste de permutação não apresentou significância estatística ao nível de 5% (P = 0.28935). Dessa maneira, as populações dos rios Tibagi e Cinzas, apesar da distância geográfica entre eles, não apresentam diferenciação genética significativa, provavelmente devido ao comportamento migratório da espécie, que favorece o fluxo gênico entre essas localidades.

Palavras-chave: Fluxo gênico; Ictiofauna; Nativo; Paranapanema.

VII CONGRESSO DE BIOLOGIA DA UEL
CONECTANDO OS ELOS DA VIDA
DO MOLECULAR AO ECOSSISTÊMICO

DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Pimelodus maculatus* LACÉPÈDE, 1803 (SILURIFORMES: PIMELODIDAE) ENTRE DOIS AFLUENTES DA BACIA DO RIO PARANAPANEMA

Leonardo Terziotti[1,2]; Alanna Garla[1]; Andrey Bergamim Botini[1]; Cecília Alves de Sousa[1]; Eduardo Gilioli dos Santos[1]; Karen Mayumi Suzuki Amorim[1]; Mariana Camargo Cito[1]; Fernanda Simões de Almeida[1].

[1] Universidade Estadual de Londrina, Laboratório de Genética e Ecologia Animal (LAGEA);
[2] Universidade Estadual de Londrina, Laboratório de Ecologia de Peixes e Invasões Biológicas/ Laboratório de Ecologia Aquática e Conservação de Espécies Nativas (LEPIB/LEACEN).

Biologia Molecular e Genética; Experimental; Pós-graduação.

Resumo: Populações de uma espécie podem apresentar diferenças na composição e na distribuição de sua variabilidade genética. O estudo dessas variações entre populações de peixes ajuda a entender a estrutura genética das espécies e a distribuição da variabilidade ao longo das redes hidrográficas. A bacia do Rio Paranapanema abriga populações de espécies dulcícolas distribuídas ao longo de seus rios e tributários. Entre essas espécies está *Pimelodus maculatus* Lacepede, 1803 (Siluriformes: Pimelodidae) que apresenta ampla distribuição na região Neotropical. A ocorrência da espécie em diferentes rios permite comparar populações naturais e a variabilidade genética entre elas. Este estudo teve como objetivo comparar a diversidade e estrutura genética de populações naturais de *P. maculatus* provenientes de dois tributários da bacia do rio Paranapanema. Foram analisados 138 indivíduos provenientes do rio Tibagi e 236 do rio das Cinzas, totalizando 374 indivíduos. As análises foram realizadas a partir de sequências do gene mitocondrial citocromo c oxidase subunidade I (COI), considerando a diversidade haplotípica e a diferenciação entre populações. Foram identificados 10 haplótipos, com diversidade haplotípica moderadamente alta de 0,6998. Os haplótipos H1 e H3 foram os mais frequentes ocorrendo em 133 e 143 indivíduos, respectivamente, seguidos pelo H4 com 62 indivíduos. Os haplótipos H1, H3, H4 e H5 foram compartilhados entre os dois rios, enquanto H2, H6, H7, H8, H9 e H10 foram exclusivos do rio das Cinzas. Os haplótipos H8, H9 e H10 apresentaram menor frequência, ocorrendo em apenas um ou dois indivíduos. A Análise de Variância Molecular (AMOVA) demonstrou que 88,75% da variação genética ocorreu dentro das populações, e 11,25% entre elas. Foi observada diferenciação genética significativa entre as populações (F_{ST} = 0,11246; P < 0,001). A maior parte da variação genética concentrou-se dentro das populações, embora tenha sido identificada diferenciação genética entre os rios. Esses resultados mostram que as populações de *P. maculatus* apresentam tanto variabilidade genética compartilhada quanto variantes restritas a cada rio, contribuindo para o conhecimento da diversidade genética da espécie e para a compreensão da estruturação de suas populações na bacia do rio Paranapanema.

Palavras-chave: *Barcoding*; COI; Conservação da biodiversidade; Ictiofauna; Variabilidade genética.