



ASPECTOS MOLECULARES DA TIREOIDE: CONTROLE DE QUALIDADE DE MATERIAL RESIDUAL DE BIÓPSIA POR PAAF-US.

SOLERA, Geise Lilian Menezes¹; OLIVEIRA, Cáren Nunes²; ZANDONÁ, Marília Remuzzi²; MEYER, Erika Laurini de Souza^{3,5}; IZQUIERDO, Rogério⁴; GOLBERT, Lenara^{3,5}; MATTEVI, Vanessa Suñé².

¹ Curso de Graduação em Biomedicina, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, RS.

² Laboratório de Biologia Molecular, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, RS.

³ Serviço de Endocrinologia, Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, Porto Alegre, RS.

⁴ Departamento de Radiologia, Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, Porto Alegre, RS.

⁵ Departamento de Clínica Médica, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, RS.

* Autor correspondente: vmattevi@ufcspa.edu.br

Justificativa: Nódulos da tireoide tem alta prevalência na população quando avaliados por ultrassonografia (US), porém apenas cerca de 5%-15% consistem em câncer da tireoide (CDT). A biópsia por punção aspirativa com agulha fina guiada por ultrassom (PAAF-US), seguida de avaliação citológica, permite o diagnóstico benigno ou maligno na maioria dos casos, contudo, 20-30% dos nódulos são de citologia indeterminada. A maioria é encaminhada à cirurgia, porém apenas 15%-30% correspondem a CDT. Assim, torna-se fundamental estabelecer novas abordagens diagnósticas, como a utilização de marcadores tumorais, visando promover o manejo adequado destes casos e minimizando procedimentos desnecessários. No entanto, a quantidade de células obtidas através da PAAF-US é pequena e nem sempre adequada para análise, sendo necessária a otimização de protocolos para este tipo de material.

Objetivo: Estabelecer e otimizar técnicas de extração de ácidos nucleicos a partir de material residual de biópsia por PAAF-US.

Método: Foram avaliados 215 pacientes, dos quais 72 tiveram amostras coletadas durante a PAAF-US, resultando em 91 amostras biológicas para avaliação molecular. O controle de qualidade para análise molecular se deu a partir da quantificação dos

ácidos nucleicos no material isolado, além da proporção das células epiteliais tireoidianas dentro da amostra. Para esta última avaliação, foram realizados testes de expressão comparando o gene constitutivo *GAPDH*, expresso uniformemente em todos os tipos celulares, e o gene da citoqueratina 7 (*KRT7*), expresso em células epiteliais específicas, incluindo células da tireoide. Para a análise da qualidade e quantidade do material obtido, a amostra foi considerada satisfatória quando a expressão do *GAPDH* estava abaixo de 35 ciclos de *threshold* (Ct) e com uma diferença de até 3,5 ciclos entre a expressão do gene alvo e o gene constitutivo, indicando presença de pelo menos 10% de células da tireoide. A expressão gênica foi avaliada por RT-PCR quantitativa em tempo real com detecção por sondas de hidrólise.

Resultados:

Oitenta amostras tiveram DNA e RNA extraídos pelo protocolo de co-extração otimizado no laboratório. Das 80 amostras, 53 (66,25%) foram consideradas satisfatórias, apresentando assim quantidade suficiente de células da tireoide para análises subsequentes das mutações nos genes a serem analisados. O DNA extraído foi quantificado por espectrofotometria através do equipamento BioSpec-nano (Shimadzu, Quioto), obtendo-se concentrações variando entre 3,82 ng/μL e 417,46 ng/μL.

Conclusões: Houve sucesso no estabelecimento de uma metodologia *in-house*, de baixo custo, para co-extração de RNA/DNA que foi validada a partir do controle de qualidade pré-estabelecido e por quantificação de DNA extraído. A maioria das amostras analisadas apresentou quantidade e qualidade de DNA e de RNA satisfatórias para a realização da investigação molecular. A realização desta etapa de controle de qualidade das amostras obtidas mostrou-se importante para assegurar a confiabilidade dos resultados subsequentes e para evitar o desperdício de recursos e tempo naquelas amostras inadequadas. Em sequência, serão investigadas as mutações nos genes *BRAF*, *RAS* e *TERT*, que auxiliarão na avaliação do prognóstico desses pacientes.

Palavras-chave: nódulos indeterminados; teste molecular; PAAF.