

20°

CONGRESSO
NACIONAL

DE MEDICINA
LEGAL
E CIÊNCIAS FORENSES

5ª REUNIÃO DA REDE
DE SERVIÇOS MÉDICO-LEGAIS E FORENSES
DE PAÍSES DE LÍNGUA PORTUGUESA

24
26
NOV.
2022

**PROGRAMA
CIENTÍFICO**

RESUMOS



⁶Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, Delegação do Centro

A sequenciação massiva paralela (massive parallel sequencing, MPS), também conhecida como sequenciação de nova geração (next-generation sequencing, NGS) refere-se a tecnologias de sequenciação de alto rendimento que surgiram em 2005 e que possibilitam a geração de uma grande quantidade de dados em um curto período de tempo. Há diversas plataformas NGS e cada uma utiliza uma abordagem de sequenciação específica, entretanto todas essas tecnologias partilham de processos fundamentais, nos quais templates de ácidos nucleicos amplificados, ou moléculas únicas, são sequenciados de forma massiva e paralela sobre a superfície de uma membrana ou esfera. Em áreas como Oncologia e Genética Clínica, a tecnologia MPS vem sendo utilizada de forma rotineira há mais de uma década. Na área forense, o uso dessa tecnologia ainda não faz parte da rotina do processamento de amostras, entretanto os métodos MPS têm mostrado diversas vantagens quando comparado ao método de análise de amostras forenses clássico, baseado em análise de polimorfismos STR via polymerase chain reaction e capillary electrophoresis (PCR-CE). O presente trabalho apresenta: I) as vantagens da utilização das tecnologias MPS, o que inclui a análise de um grande número de marcadores genéticos em simultâneo, a sequenciação de polimorfismos STR, e a elevada sensibilidade destas técnicas, que, para fornecer perfis genéticos completos, requerem uma quantidade inicial de DNA de cerca de 1ng; II) aplicações das análises MPS em investigações de paternidade, perfis de mistura, obtenção de micro-haplótipos, análises de amostras degradadas, estudos epigenéticos e da tananomicrobioma; e III) vicissitudes relacionadas à implementação

das análises MPS na rotina de um laboratório forense, que requer a padronização da nomenclatura dos alelos, cálculos estatísticos ajustados às novas designações de alelos, estabelecimento do número mínimo de reads necessárias para a identificação dos alelos sob diferentes desenhos experimentais, e treinamento específico, principalmente para a utilização de ferramentas bioinformáticas. A principal vantagem das tecnologias MPS na área forense é a ampla gama de informações que pode ser obtida em um curto período de tempo. Seus altos custos iniciais, ausência de padronização, o extenso treinamento necessário nessas tecnologias e o gerenciamento dos dados fortemente pré-processados, ainda são obstáculos a serem superados, entretanto é apenas uma questão de tempo até que essa tecnologia inovadora seja incorporada às análises forenses, principalmente nos casos de perfis de mistura, desastres em massa, e outras situações as amostras forenses estão comprometidas e degradadas.

Palavras-chave: MPS; NGS; genética forense

15

ANÁLISE TRANSCRIPTÓMICA COMPARATIVA DE INSUFICIÊNCIA CARDÍACA EM CASOS DE MIOCARDIOPATIA HIPERTRÓFICA E DILATADA REVELA EXPRESSÃO GÉNICA DIFERENCIAL

¹J. Fadoni; ^{2,3,4,5}A. Santos; ^{2,3,4,6}L. Cainé

¹Programa Doutoral em Ciências Forenses, Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, Portugal

²Rede de Química e Tecnologia - Laboratório Associado para a Química Verde, Portugal

³Escola de Direito da Universidade do Minho, Portugal

⁴Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, Portugal

⁵Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, Delegação do Norte

⁶Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, Delegação do Centro

Introdução: A miocardiopatia hipertrófica (MCH) e a miocardiopatia dilatada (MCD) estão entre as doenças cardiovasculares hereditárias mais comuns associadas à insuficiência cardíaca (IC) que podem levar a arritmias letais e morte súbita cardíaca (MSC). As miocardiopatias hereditárias apresentam penetrância e expressão variáveis, e a caracterização dessas doenças contribuirá para a definição dos fatores genéticos a elas relacionados, o que por sua vez permitirá o desenvolvimento de estratégias mais adequadas para a prevenção da MSC. Neste trabalho, foram comparados os transcriptomas de indivíduos com MCH e MCD vítimas de insuficiência cardíaca, para avaliar a contribuição genética para a expressão dessas doenças cardíacas. Com o propósito de identificar os genes diferencialmente expressos (GDEs) foram comparados os transcriptomas de indivíduos vítimas de insuficiência cardíaca, diagnosticados com MCD ou MCH, e as funções biológicas desses GDEs foram interpretadas. **Material e Métodos:** Através da base de dados Gene Expression Omnibus (GEO), foi extraído o conjunto de dados GSE141910 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE141910>), a partir do qual foram selecionados 76 perfis de expressão gênica de tecido da parede livre do ventrículo esquerdo de corações com insuficiência, incluindo 38 transcriptomas de indivíduos com MCH e 38 com MCD. Os dados de read count foram analisados no R, com recurso ao pacote de software DESeq2, que estima a dependência média da variância em dados de contagem de análises de sequenciação de alto rendimento e avalia a expressão diferencial com base em

um modelo que usa a distribuição binomial. Os limites de filtragem foram $\text{padj} < 0,05$ e $|\log_2 \text{Fold-Change}| > 1$. A anotação funcional e a construção da rede de interação proteína-proteína foram realizadas para interpretar as funções biológicas dos GDEs. **Resultados e Discussão:** Foram identificados 112 GDEs, dos quais 10 mostram-se regulados positivamente e 102 negativamente em MCH, quando comparado com o MCD. A análise da enciclopédia de genes e genomas de Kyoto revelou que os GDEs estão envolvidos principalmente nas vias metabólicas. A análise do processo biológico da Gene Ontology mostrou que os GDEs estão enriquecidos principalmente nas vias de resposta imune e inflamatória. Quanto à composição celular, os GDEs estão envolvidos na composição da membrana plasmática e do espaço extracelular, e quanto à função molecular, os genes identificados relacionam-se a ligação a receptores e atividade das quimiocinas. Tais alterações indicam que as diferenças de expressões fenotípicas dessas doenças podem não estar unicamente associadas a alterações nas sequências de DNA mas também pelo estado funcional do genoma, que determina os níveis de expressão gênica. **Conclusões:** A identificação de GDEs, bem como vias metabólicas, entre MCH e MCD é extremamente útil para a elucidação dos mecanismos moleculares destas doenças cardíacas, contribuindo para o desenvolvimento de potenciais biomarcadores, melhoria no diagnóstico, implementação de tratamento personalizado e medidas de prevenção para a MSC.

Palavras-chave: morte súbita; miocardiopatias; transcriptoma