



**Título:** Desenvolvimento, validação e otimização de imunoterapias antitumorais combinadas: vacinas com neo antígenos tumorais associada com bloqueio dos pontos de controle imunológicos

**Pesquisador Responsável:** Bryan Eric Strauss

**Valor Concedido (R\$):** 209.725,29

**Valor Desembolsado (R\$):** 200.981,23

**Modalidade:** Bolsas no Exterior - Estágio de Pesquisa - Doutorado

**Vigência: Início:** 10/11/2015      **Término:** 09/11/2016

**Resumo:**

Entre as estratégias atuais para utilizar o sistema imunitário para o tratamento do câncer, o bloqueio dos pontos de regulação imunológico vem obtendo resultados encorajadores em vários protocolos clínicos. Trabalhos recentes do laboratório do Dr. Schreiber usou uma combinação de sequenciamento de próxima geração, bioinformática e técnicas de imunologia de alto nível para demonstrar que as células T tumorais são reativadas após o bloqueio dos pontos de regulação imunológico e reagem preferencialmente com epítopos de antígenos tumorais mutantes. O trabalho do Dr. Schreiber também levou ao desenvolvimento de famílias distintas de sarcomas murinos induzido por cancerígenos que (a) são rejeitadas espontaneamente quando injetadas em camundongos singênicos naïve imunocompetentes; (B) crescem progressivamente em camundongos imunocompetente, mas são rejeitados quando os camundongos portadores de tumor são tratados com anticorpos anti-CTLA-4, anti-PD-1, ou de uma vacina que consiste de longo peptídeo sintético contendo neoepítopos tumorais como mono ou terapia combinada; ou (c) não são rejeitados quando os camundongos com tumores são tratados com bloqueio dos pontos de regulação imunológico ou vacinas tumorais específicas, mas cujo crescimento pode ser controlada parcialmente quando os camundongos são tratados com combinações de anti-CTLA-4, anti-PD-1 e / ou vacinas de longo peptídeo sintético. Estes dados preliminares sugerem que o controle terapêutico deste terceiro grupo pode ser melhorada, se a eficácia dos protocolos de vacinação for aprimorada. Assim, neste projeto, queremos testar formalmente a hipótese de que métodos mais eficientes de vacinação irão melhorar o resultado terapêutico de terapias de bloqueio dos pontos de regulação imunológico. Para este propósito, pretendemos explorar os seguintes tipos de vacinas antígenos tumorais específicas: vacinas de longo peptídeo sintético contendo novos neoantígenos tumorais, vacina de *Listeria* duplamente, vacina de DNA e de células dendríticas carregadas com peptídeos de antígenos tumorais. (AU)



**Título:** Estudo do papel do Fator Inibitório da Migração de Macrófagos (MIF) na modulação do infiltrado inflamatório tumoral e na progressão do carcinoma epidermóide da cavidade bucal

**Pesquisador Responsável:** Marcos Brasilino de Carvalho

**Valor Concedido (R\$):** 202.178,88

**Valor Desembolsado (R\$):** 171.696,20

**Modalidade:** Bolsas no Exterior - Estágio de Pesquisa - Doutorado

**Vigência: Início:** 01/03/2016      **Término:** 28/02/2017

**Resumo:**

A inflamação está presente nas diferentes etapas da carcinogênese e da progressão da maioria das neoplasias malignas. A inflamação associada ao câncer, incluídos aqui os macrófagos associados ao tumor, assume mecanismos diversos dependendo do tipo e frequência de estímulos recebidos, podendo assim apresentar funções anti ou pró-tumorais. A proteína MIF exerce papel ativo na modulação da resposta imunológica tumoral e estudos têm demonstrado que pode induzir a polarização de macrófagos situados no estroma tumoral para um fenótipo M2, imunossupressor e pró-tumoral. OBJETIVOS. Esse estudo objetiva investigar o papel da proteína MIF na modulação dos macrófagos associados ao CEC da cavidade bucal. MÉTODOS. Serão obtidos macrófagos de tecidos tumorais e de sangue periférico de indivíduos saudáveis, que serão tratados in vitro com meios condicionados por células de carcinoma epidermóide da cavidade bucal (SCC25 e SCC15) silenciadas ou expressando MIF e avaliados quanto ao perfil fenotípico M1 e M2. Testes funcionais serão realizados a fim de verificar o papel dos diferentes fenótipos de macrófagos associados ao tumor na indução migração, invasão e proliferação das células SCC15 e SCC25. (AU)



**Título:** Correlação prognóstica da expressão de micro RNAs através da varredura por microarray no carcinoma espinocelular peniano

**Pesquisador Responsável:** José Pontes Junior

**Valor Concedido (R\$):** 331.175,67

**Valor Desembolsado (R\$):** 58.566,40

**Modalidade:** Auxílio à Pesquisa - Regular

**Vigência: Início:** 01/03/2016      **Término:** 28/02/2018

O câncer de pênis, embora raro em países ocidentais, representa até 20% das neoplasias do sexo masculino nos países em desenvolvimento. Os principais fatores de prognóstico são o estágio patológico e o grau tumoral, embora sejam úteis na prática diária, estes fatores apresentam desempenho aquém do desejável. O tratamento cirúrgico do tumor localizado consiste na penectomia associada à linfadenectomia inguinal e apresenta altas taxas de sobrevida livre de recorrência; porém quando há acometimento linfonodal os resultados do tratamento cirúrgico são inferiores. Como complicador inexistem terapias sistêmicas eficazes e as taxas de resposta à radioterapia também são baixas. Dados da literatura indicam que fenômenos epigenéticos, como a expressão de microRNAs (miRNA), tem papel importante na carcinogênese de diversas neoplasias. Postulamos que o pior prognóstico do tumor possa estar associado a um determinado perfil de expressão de miRNAs, e que o seu conhecimento possa levar a descoberta de novos marcadores de prognóstico. **Objetivo:** Identificar o padrão de expressão de miRNAs no câncer de pênis localizado tratado por cirurgia e associá-lo ao comportamento da doença. O objetivo final é a identificação de marcadores de agressividade do tumor que possam servir como biomarcadores de prognóstico ou terapia alvo. **Metodologia:** Na fase inicial analisaremos amostras de tecido congelado do tumor primário de 12 pacientes com câncer de pênis divididos em dois grupos: (a) 6 tumores de baixo grau e estágio localizado; e (b) 6 tumores de alto grau e localmente avançado. As amostras serão submetidas à análise de varredura de expressão de miRNAs pela técnica de "microarray" com o intuito de identificarmos os miRNAs mais diferentemente expressos quando comparados os casos de bom versus mal prognóstico. Na fase de validação avaliaremos prospectivamente 20 pacientes com carcinoma espinocelular peniano localizado ou localmente avançado, tratados com cirurgia e com acompanhamento pós-operatório de 3 anos (grupo c). Coletaremos amostras do tumor primário e do produto da linfadenectomia inguinal destes 20 casos para análise da expressão dos miRNAs selecionados na fase inicial do estudo; sendo a análise de expressão realizada pela técnica de PCR em tempo real. A seguir, correlacionaremos os níveis de expressão destes miRNAs com o estágio patológico, grau tumoral, invasão angiolinfática e sobrevida livre de recorrência do tumor. A presença de DNA de HPV será avaliada pela metodologia de PCR seguida de sequenciamento. (AU)



**Título:** Efeitos da deleção de CRIPTO-1 (Cr-1) na tumorigênese mamária induzida por NOTCH4/INT3

**Pesquisador Responsável:** Maria Cristina R Rangel

**Valor Concedido (R\$):** 209.565,65

**Valor Desembolsado (R\$):** 203.996,40

**Modalidade:** Bolsas no Exterior - Pesquisa

**Vigência: Início:** 27/10/2015      **Término:** 26/07/2016

**Resumo:**

Camundongos transgênicos que super-expressam o domínio intracelular de Notch4 (Int3) nas glândulas mamárias sob o controle do promotor WAP (whey acid protein) não apresentam lactação e rapidamente desenvolvem hiperplasias e adenocarcinomas mamários indiferenciados. Considerando-se que o gene embrionário Cripto-1 facilita o processamento proteolítico intracelular dos receptores Notch, decidimos investigar a contribuição de Cripto-1 nas hiperplasias e tumores que se desenvolvem nos camundongos Wap-Int3+/-, os quais carregam o transgene Notch4-Int3 ativado. Criamos inicialmente um modelo murino haploinsuficiente para Cripto-1, Wap-Int3+/-/Cr-1+/LacZ, no qual um alelo de Cripto-1 foi deletado e substituído por um gene reporter LacZ. Resultados preliminares mostraram consideráveis efeitos supressores de tumor nos camundongos Cripto-1 haploinsuficientes, e o fenótipo do tumor pode ser associado com uma sub-população putativa de células epiteliais progenitoras ou tronco. Para investigar o papel de Cripto-1 na tumorigênese induzida por Notch4, e mais precisamente identificar a população de células mamárias tumorais que expressam ou não Cripto-1 endógeno, desenvolvemos neste projeto um modelo murino Wap-Int3+/- Cripto-1 knockout, WAP-Int3+/-/MMTV-Cre+/-/Cr-1flox/flox, o qual perde condicionalmente os dois alelos de Cripto-1 através de uma deleção gênica mediada por MMTV-Cre (mouse mammary tumor virus, cre recombinase). Considerando-se que Int3 é ativado na glândula mamária durante a gestação, fêmeas serão expostas a múltiplos ciclos de gravidez e monitoradas para crescimento de tumores e um possível resgate de lactação. A frequência de tumores e o período de latência para a sua formação serão analisados, e os tumores serão coletados para análise molecular e histopatológica, a fim de que as diferenças observadas entre fêmeas WAP-Int3+/-/MMTV-Cre+/-/Cr-1flox/flox e fêmeas WAP-Int3+/- controle sejam caracterizadas e quantificadas. Além disso, testaremos um agente anticâncer que tem Cripto-1 e seu parceiro de ligação GRP78 como alvos, com o intuito de investigar mecanismos potenciais para inibir a contribuição de Cripto-1 na tumorigênese mamária induzida por Notch4 e na manutenção de uma população de células progenitoras luminais mamárias, que é o alvo da transformação por Notch4. (AU)



**Título:** Estudo das microvesículas circulantes como potenciais biomarcadores e mediadores de síndrome do desconforto respiratório agudo na sepse

**Pesquisador Responsável:** Juliana Monte Real

**Valor Concedido (R\$):** 297.794,75

**Valor Desembolsado (R\$):** 20.349,57

**Modalidade:** Auxílio à Pesquisa - Regular

**Vigência: Início:** 01/03/2017      **Término:** 28/02/2019

**Resumo:**

A Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo (SDRA) é uma condição clínica de repentina disfunção do sistema respiratório que geralmente se desenvolve em pacientes críticos com resposta inflamatória sistêmica, sendo a sepse a causa mais comum para o desenvolvimento de SDRA. Os mediadores inflamatórios circulantes podem causar injúrias no tecido pulmonar, o que torna necessária, na maioria das vezes, a utilização de ventilação mecânica. Os fatores e a sequência de eventos precoces que levam ao desenvolvimento de SDRA ainda são desconhecidos. Microvesículas (MVs) são pequenas vesículas produzidas por uma grande variedade de células, que são revestidas por bicamada lipídica e contém proteínas, lipídios e diferentes tipos de RNAs fornecidas pela célula de origem. As moléculas transportadas são biologicamente ativas e, quando captadas pelas células-alvo, podem regular a expressão gênica, influenciar a proliferação celular, modular a angiogênese e o sistema imune. Em virtude de trazerem as características da sua célula de origem e aumentarem suas concentrações na circulação em diversas situações patológicas, recentemente, as MVs têm ganhado importância na busca por novos biomarcadores. Em um estudo recente desenvolvido pelo nosso grupo em pacientes com Sepse, fizemos um screening entre 754 microRNAs e observamos que 65 encontram-se diferencialmente expressos nas microvesículas circulantes quando comparados as de indivíduos saudáveis. Além disso, um conjunto de 19 microRNAs esteve significativamente correlacionado com os pacientes que evoluíram a óbito. Tendo em vista que parte dos pacientes com Sepse poderá desenvolver insuficiência respiratória grave (SDRA), pretendemos aprofundar os estudos com os microRNAs previamente identificados, investigando quais seus níveis de expressão entre pacientes que desenvolveram SDRA ou não, correlacionando com dados clínicos mais detalhados. Serão utilizadas amostras provenientes do Biobanco UTI (Unidade de Terapia Intensiva) do Hospital Sírio-Libanês, no qual são coletadas amostras de sangue nas primeiras 24 horas de internação e 72h após a primeira coleta. As microvesículas serão isoladas do plasma e seu conteúdo de 48 microRNAs será avaliado por PCR em tempo real. Investigaremos ainda se as microvesículas isoladas da circulação transportam proteínas marcadoras de injúria tecidual do epitélio pulmonar. Avaliaremos se o conteúdo dessas MVs pode ser associado a fatores clínicos importantes que poderiam servir como biomarcadores de injúria pulmonar na sepse. (AU)



**Título:** Avaliação da resposta ao tratamento e perfil clínico de pacientes com câncer de colo uterino tratadas com quimiorradioterapia com cisplatina, associada ou não a quimioterapia neoadjuvante com cisplatina e gencitabina

**Pesquisador Responsável:** Maria Del Pilar Estevez Diz

**Valor Concedido (R\$):** 18.624,30

**Valor Desembolsado (R\$):** 18.624,30

**Modalidade:** Bolsas no Brasil - Iniciação Científica

**Vigência: Início:** 01/12/2015      **Término:** 30/11/2016

**Resumo:**

O câncer cervical é um problema de saúde pública não só no Brasil, mas em todo o mundo, muito devido ao fato de o diagnóstico ser feito quando a doença já está localmente avançada, em cerca de ¼ das pacientes. Há cerca de uma década o tratamento padrão do câncer cervical localmente invasivo (CCLA) é a quimiorradiação com agentes platinantes; ainda assim houve diversos estudos e progresso no tratamento, com destaque à associação de métodos de quimiorradiação e quimioterapia adjuvante e escolhas distintas do arsenal de drogas neoadjuvantes. Em estudos dos dois tipos observou-se o aumento da sobrevida e aumento da sobrevida livre de progressão. Além disso, aventa-se a hipótese de que os fatores angiogênicos e de crescimento, os quais medeiam a angiogênese, o desenvolvimento e a progressão tumoral, variem quantitativamente ao longo desse processo, apresentando-se como sinalizadores indiretos da progressão tumoral. O objetivo primário deste estudo é avaliar a taxa de resposta de pacientes submetidas ao tratamento do câncer cervical com quimiorradioterapia com cisplatina concomitante, associado ou não a quimioterapia neoadjuvante. Os objetivos secundários são traçar o perfil clínico e epidemiológico das pacientes do estudo, e construir e organizar uma soroteca para avaliação de fatores de angiogênese, trombogênese e crescimento nessas pacientes. Serão avaliadas as 50 primeiras pacientes incluídas no estudo randomizado de Fase II, unicêntrico, prospectivo, não comparativo, com pacientes admitidas no Instituto do Câncer do estado de São Paulo (ICESP) que estavam dentro dos critérios de inclusão e exclusão para o macro-estudo "Estudo de Fase II, prospectivo, randomizado, não comparativo, de tratamento com quimioterapia de indução com cisplatina e gencitabina seguida de quimiorradiação ou quimiorradiação definitiva em carcinomas invasivos da cérvix uterina localmente avançados". As avaliações de resposta serão por exames radiológicos segundo os critérios do RECIST de estadiamento em períodos específicos, e a avaliação dos biomarcadores será feita com amostras sanguíneas e blocos de biópsia já coletados e armazenados; nessa análise será utilizado o painel multiplex que avalia Angiopoietin-2, BMP-9, EGF, Endoglin, Endothelin-1, FGF-1, FGF-2, Follistatin, G-CSF, HB-EGF, HGF, IL-8, Leptin, PLGF, VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D. (AU)



**Título:** Envolvimento da ativação de PAFR frente à quimioterapia no fenômeno de repopulação de melanomas

**Pesquisador Responsável:** Roger Chammas

**Valor Concedido (R\$):** 69.726,33

**Valor Desembolsado (R\$):** 49.099,96

**Modalidade:** Bolsas no Brasil - Mestrado

**Vigência:** Início: 01/04/2016      Término: 04/01/2018

**Resumo:**

Um dos desafios encontrados no tratamento do câncer é o processo de repopulação tumoral, no qual células resistentes à terapia são capazes de proliferar e reconstituir novamente o tumor. Apesar de ser recorrente na clínica, contribuindo para a falha terapêutica, os eventos celulares e moleculares envolvidos neste fenômeno ainda são pouco elucidados, sendo necessário melhor compreendê-los, para que, futuramente, se possa prevenir o processo e aperfeiçoar o tratamento. No único modelo proposto até então, denominado Phoenix Rising, células apoptóticas decorrentes de quimioterapia ou radioterapia, provêm sinais proliferativos para as demais células tumorais, em um mecanismo dependente da ativação de caspase 3 e fosfolipase A2 (pLA2). Um dos subprodutos de pLA2 é o fator de ativação de plaquetas, PAF, um lipídeo bioativo relacionado com diversas funções fisiológicas. Em tumores, foi observado que a ativação do receptor de PAF, PAFR, está relacionada a processos que favorecem o crescimento tumoral e a geração de metástases. Além disso, PAFR está envolvido em processos de reciclagem celular, como a fagocitose de células apoptóticas por macrófagos, induzindo a polarização destas células no sentido de um perfil imunossupressor. Resultados prévios do grupo mostram que células expostas à hipóxia são mais resistentes a morte celular induzida por cisplatina e que a utilização do antagonista de PAFR, WEB 2086, sensibiliza as células neste contexto, havendo efeito sinérgico quando combinado com cisplatina. Além disso, experimentos in vivo mostram que em áreas de hipóxia do tumor, há aumento da expressão de PAFR. Sabe-se que células tumorais em hipóxia são mais resistentes aos tratamentos e podem levar a repopulação tumoral. Assim, o objetivo do trabalho é avaliar se em condições de hipóxia/reoxigenação, privação de nutriente e exposição a insultos citotóxicos, a ativação de PAFR está envolvida no processo de repopulação tumoral, desencadeando mecanismos relacionados à sobrevivência tumoral (como autofagia) e à proliferação celular. (AU)



**Título:** Estudo do papel da proteína superóxido dismutase 2 (SOD2) no processo de transformação celular mediado por HPV

**Pesquisador Responsável:** Lara Termini

**Valor Concedido (R\$):** 73.953,08

**Valor Desembolsado (R\$):** 42.704,60

**Modalidade:** Bolsas no Brasil - Mestrado

**Vigência: Início:** 01/09/2016      **Término:** 31/12/2017

**Resumo:**

O estresse oxidativo reflete um desequilíbrio na manutenção do estado redox intracelular que pode resultar no acúmulo de espécies oxidantes. Nestas condições, estas espécies podem gerar danos na estrutura/função do DNA, disfunções mitocondriais, alterações no enovelamento de proteínas, peroxidação de lipídeos, dentre outros danos. Assim, o estresse oxidativo pode contribuir para diversas condições patológicas, como por exemplo, câncer, desordens neurológicas, aterosclerose, diabetes e asma. A infecção persistente por alguns tipos de papilomavírus humanos (HPV) está etiológicamente associada ao câncer de colo uterino, uma das principais causas de morte por câncer em mulheres no mundo todo. Além disso, esses vírus estão associados a uma porcentagem relevante de cânceres de pênis, vulva, ânus e cabeça e pescoço. Em células infectadas por HPV de alto risco oncogênico, o estresse oxidativo resultante do metabolismo anormal dos queratinócitos e a resposta inflamatória crônica não efetiva, podem contribuir no processo de transformação celular. Além disso, a presença das oncoproteínas E6 e E7 interfere nos mecanismos de reparo de lesões em DNA, favorecendo o acúmulo de mutações. Ainda mais, a instabilidade genômica promovida pelo estresse oxidativo, pode favorecer a integração do HPV no genoma das células infectadas, principal causa da persistência viral e progressão de lesões ao câncer. A proteína superóxido dismutase 2 (SOD2) contribui com a homeostase celular ao catalisar a dismutação de radicais ânion superóxido em oxigênio e peróxido de hidrogênio, prevenindo a inativação direta de biomoléculas. Em estudos anteriores, observamos que o aumento do transcrito de SOD2 está associado à resistência ao efeito antiproliferativo do fator de necrose tumoral (TNF) em células imortalizadas por HPV. Além disso, mostramos que existe uma correlação direta entre o aumento dos níveis da proteína SOD2 e a severidade de lesões da cérvix uterina. Finalmente, identificamos SOD2 como um marcador preditivo independente de metástases linfonodais inguinais em pacientes com carcinoma de pênis. No entanto, o papel desta proteína na patogênese associada ao HPV não tem sido estudado em profundidade. O presente estudo visa determinar o envolvimento de SOD2 no processo de transformação celular mediado por HPV e seu valor como marcador preditivo de patologias associadas a este vírus. (AU)



**Título:** Impacto da variabilidade genética de E6/E7 sob o potencial oncogênico de HPV-18

**Pesquisador Responsável:** Laura Cristina Sichero Vettorazzo

**Valor Concedido (R\$):** 375.333,78

**Valor Desembolsado (R\$):** 152.130,40

**Modalidade:** Auxílio à Pesquisa - Regular

**Vigência: Início:** 01/03/2016      **Término:** 28/02/2018

**Resumo:**

A infecção por HPV-16 e HPV-18 está fortemente associada ao risco de desenvolvimento de neoplasias do colo do útero. Em todo o mundo, o HPV-16, é o tipo mais prevalente em carcinomas escamosos invasivos do colo do útero, seguido de HPV-18, enquanto que HPV-18 é mais prevalente em amostras de adenocarcinoma. A variabilidade nucleotídica intra-típica de HPV-18 tem sido estudada resultando em importantes achados no que concerne à filogenia e evolução do vírus e a história natural das infecções. Em um estudo epidemiológico sobre a história natural da infecção por HPV em mulheres conduzido no nosso meio, foi observado que as variantes E de HPV-18 estão mais associadas à persistência da infecção viral. Embora os estudos acerca da relevância clínica da variabilidade genética de HPV-18 são muito limitados, sugere-se que variantes As+Al e E de HPV-18 representem variantes com maior potencial oncogênico comparado com variantes Af. Ademais, foi observado que variantes Af de HPV-18 são exclusivamente detectadas entre as amostras de carcinoma escamoso invasivo do colo do útero, ao passo que variantes E e As+Al são mais prevalentes em adenocarcinoma e carcinoma adenoescamoso. No que concerne às diferenças biológicas entre as variantes de HPV-18, é fundamental ressaltar que os poucos estudos conduzidos até o momento exploraram exclusivamente a variabilidade da oncoproteína viral E6, e mais importante, nenhum dos estudos foi realizado em modelos de células hospedeiras naturais de HPV-18, que são queratinócitos humanos primários. Pelo exposto, este projeto tem por objetivo caracterizar de maneira abrangente a atividade diferencial das proteínas E6/E7 das variantes As+Al, E e Af de HPV-18 em queratinócitos humanos primários transduzidos com estas proteínas. Mais especificamente, objetiva-se analisar nestas células infectadas pelas diferentes variantes a capacidade de (1) induzir degradação de TP53; (2) inibir a diferenciação celular induzida por soro e cálcio; (3) imortalizar queratinócitos humanos por ensaios de formação de colônias após plaqueamento em baixa densidade e análise de atividade de telomerase; (4) induzir fenótipo EMT (transição epitélio-mesenquima); (5) inibir o ciclo celular após dano ao DNA; (6) crescer independentemente de adesão ao substrato; (7) migrar; (8) invadir através de matriz de colágeno; (9) ativar vias de sinalização celular induzidas por MAPK e AKT; e de (10) formar epitélios estratificados em organocultura. (AU)



**Título:** Propriedades biológicas e bioquímicas de variantes naturais de HPV-18

**Pesquisador Responsável:** Laura Cristina Sichero Vettorazzo

**Valor Concedido (R\$):** 313.343,35

**Valor Desembolsado (R\$):** 78.892,76

**Modalidade:** Bolsas no Brasil - Doutorado

**Vigência: Início:** 01/06/2016      **Término:** 31/05/2019

**Resumo:**

A infecção por HPV-16 e HPV-18 está fortemente associada ao risco de desenvolvimento de neoplasias do colo do útero. Em todo o mundo, o HPV-16, é o tipo mais prevalente em carcinomas escamosos invasivos do colo do útero, seguido de HPV-18, enquanto que HPV-18 é mais prevalente em amostras de adenocarcinoma. A variabilidade nucleotídica intra-típica de HPV-18 tem sido estudada resultando em importantes achados no que concerne à filogenia e evolução do vírus e a história natural das infecções. Em um estudo epidemiológico sobre a história natural da infecção por HPV em mulheres conduzido no nosso meio, foi observado que as variantes E de HPV-18 estão mais associadas à persistência da infecção viral. Embora os estudos acerca da relevância clínica da variabilidade genética de HPV-18 são muito limitados, sugere-se que variantes As+Al e E de HPV-18 representem variantes com maior potencial oncogênico comparado com variantes Af. Ademais, foi observado que variantes Af de HPV-18 são exclusivamente detectadas entre as amostras de carcinoma escamoso invasivo do colo do útero, ao passo que variantes E e As+Al são mais prevalentes em adenocarcinoma e carcinoma adenoescamoso. No que concerne às diferenças biológicas entre as variantes de HPV-18, é fundamental ressaltar que os poucos estudos conduzidos até o momento exploraram exclusivamente a variabilidade da oncoproteína viral E6, e mais importante, nenhum dos estudos foi realizado em modelos de células hospedeiras naturais de HPV-18, que são queratinócitos humanos primários. Pelo exposto, este projeto tem por objetivo caracterizar de maneira abrangente a atividade diferencial das proteínas E6/E7 das variantes As+Al, E e Af de HPV-18 em queratinócitos humanos primários transduzidos com estas proteínas. Mais especificamente, objetiva-se analisar nestas células infectadas pelas diferentes variantes a capacidade de (1) induzir degradação de TP53; (2) inibir a diferenciação celular induzida por soro e cálcio; (3) imortalizar queratinócitos humanos por ensaios de formação de colônias após plaqueamento em baixa densidade e análise de atividade de telomerase; (4) induzir fenótipo EMT (transição epitélio-mesenquima); (5) inibir o ciclo celular após dano ao DNA; (6) crescer independentemente de adesão ao substrato; (7) migrar; (8) invadir através de matriz de colágeno; (9) ativar vias de sinalização celular induzidas por MAPK e AKT. (AU)



**Título:** Estudo do papel da proteína superóxido dismutase 2 (SOD2) no processo de transformação celular mediado por HPV

**Pesquisador Responsável:** Lara Termini

**Valor Concedido (R\$):** 356.897,11

**Valor Desembolsado (R\$):** 21.276,63

**Modalidade:** Auxílio à Pesquisa - Regular

**Vigência: Início:** 01/09/2016      **Término:** 31/08/2018

**Resumo:**

O estresse oxidativo reflete um desequilíbrio na manutenção do estado redox intracelular que pode resultar no acúmulo de espécies oxidantes. Nestas condições, estas espécies podem gerar danos na estrutura/função do DNA, disfunções mitocondriais, alterações no enovelamento de proteínas, peroxidação de lipídeos, dentre outros danos. Assim, o estresse oxidativo pode contribuir para diversas condições patológicas, como por exemplo, câncer, desordens neurológicas, aterosclerose, diabetes e asma. A infecção persistente por alguns tipos de papilomavírus humanos (HPV) está etiológicamente associada ao câncer de colo uterino, uma das principais causas de morte por câncer em mulheres no mundo todo. Além disso, esses vírus estão associados a uma porcentagem relevante de cânceres de pênis, vulva, ânus e cabeça e pescoço. Em células infectadas por HPV de alto risco oncogênico, o estresse oxidativo resultante do metabolismo anormal dos queratinócitos e a resposta inflamatória crônica não efetiva, podem contribuir no processo de transformação celular. Além disso, a presença das oncoproteínas E6 e E7 interfere nos mecanismos de reparo de lesões em DNA, favorecendo o acúmulo de mutações. Ainda mais, a instabilidade genômica promovida pelo estresse oxidativo, pode favorecer a integração do HPV no genoma das células infectadas, principal causa da persistência viral e progressão de lesões ao câncer. A proteína superóxido dismutase 2 (SOD2) contribui com a homeostase celular ao catalisar a dismutação de radicais ânion superóxido em oxigênio e peróxido de hidrogênio, prevenindo a inativação direta de biomoléculas. Em estudos anteriores, observamos que o aumento do transcrito de SOD2 está associado à resistência ao efeito antiproliferativo do fator de necrose tumoral (TNF) em células imortalizadas por HPV. Além disso, mostramos que existe uma correlação direta entre o aumento dos níveis da proteína SOD2 e a severidade de lesões da cérvix uterina. Finalmente, identificamos SOD2 como um marcador preditivo independente de metástases linfonodais inguinais em pacientes com carcinoma de pênis. No entanto, o papel desta proteína na patogênese associada ao HPV não tem sido estudado em profundidade. O presente estudo visa determinar o envolvimento de SOD2 no processo de transformação celular mediado por HPV e seu valor como marcador preditivo de patologias associadas a este vírus. (AU)



**Título:** Terapia gênica do câncer: alinhamento estratégico para estudos translacionais

**Pesquisador Responsável:** Bryan Eric Strauss

**Valor Concedido (R\$):** 1.100.620,31

**Valor Desembolsado (R\$):** 124.779,37

**Modalidade:** Auxílio à Pesquisa - Temático

**Vigência: Início:** 01/05/2017      **Término:** 30/04/2022

**Resumo:**

O impacto do atendimento de pacientes com câncer para os sistemas de saúde pública está em contínuo aumento, em parte devido ao envelhecimento da população. Tratamento eficaz para o câncer ainda não é disponível apesar do desenvolvimento de novas e avançadas abordagens. Terapia gênica tem sido utilizada na clínica há mais de 25 anos e a sua aplicação para o tratamento do câncer tem mostrado vários sucessos, incluindo a recente aprovação pelo FDA de uma das modalidades de terapia gênica do câncer. No Brasil os estudos de terapia gênica estão bem encaminhados, mas a fim de chegar à aplicação clínica precisam de investimento considerável em pesquisa e infraestrutura. O Laboratório de Vetores Virais (LVV, ICESP, FMUSP) trabalha no desenvolvimento de uma imunoterapia contra melanoma baseada em vetores adenovirais portadores de p19Arf e interferon- $\gamma$ , enquanto que o Laboratório de Terapia Gênica (LTG, ICB-USP) tem investido nas pesquisas de terapia gênica para câncer de pulmão desenvolvendo vetor adenoviral portador de dois genes supressores de tumor: CDKN2a (p16INK4a) e p53. Estes vetores adenovirais são capazes de retardar a progressão do tumor, induzem morte celular, particularmente o vetor portador de INF promove importante resposta imunológica antitumoral quando testado em modelos in vitro e in vivo de terapia gênica do câncer. Entretanto, estas abordagens precisam passar por rigorosas pesquisas pré-clínicas antes de serem candidatas a aplicação em protocolos clínicos. Esta proposta pretende preparar o caminho para estudos pré-clínicos através da implementação de três estratégias. Em primeiro lugar está o estabelecimento de produção de adenovírus com quantidade e qualidade adequadas para ensaios in vivo com relevância pré-clínica. A segunda estratégia inclui a continuação das investigações sobre os mecanismos de resposta celular e imunológica desencadeados pelo tratamento com os vetores adenovirais anticâncer, nesta meta serão realizadas análises em sistemas de cultura de células, tanto murinas quanto humanas, e também em modelos in vivo. A terceira estratégia está voltada a utilização de modelos animais clinicamente relevantes, incluindo modelos murinos condicionais e o modelo PDX (Patient Derived Xenograft), os quais serão empregados para demonstrar o mérito de nossas abordagens de terapia gênica do câncer. Este projeto irá garantir que o LVV e LTG atravessem a fronteira entre a investigação básica e clínica. (AU)



**Título:** Projeto de aplicação da reserva técnica institucional, 14-15

**Pesquisador Responsável:** Roger Chammas

**Valor Concedido (R\$):** 323.686,60

**Valor Desembolsado (R\$):** 263.308,23

**Modalidade:** Auxílio à Pesquisa - Reserva Técnica para Infra-estrutura Institucional de Pesquisa

**Vigência: Início:** 01/03/2016      **Término:** 31/05/2017

**Resumo:**

O Instituto do Câncer do Estado de São Paulo congrega um grupo crescente de pesquisadores que interagem em dois espaços dedicados a pesquisa: (i) o núcleo de pesquisa clínica e (ii) o Centro de Investigação Translacional em Oncologia, composto por laboratórios de pesquisa e núcleos de equipamentos multiusuários. Investimentos nas áreas de pesquisa serão feitos, criando-se estruturas de uso comum além de investimentos em insumos para o processamento de amostras biológicas, que constituem o BioBanco-USP, uma estrutura dedicada ao armazenamento de amostras biológicas associadas a informações clínicas dos participantes que consentem em ter amostras biológicas armazenadas para pesquisas científicas. (AU)



**Título:** IARC 50th anniversary conference

**Pesquisador Responsável:** Rossana Verónica Mendoza López

**Valor Concedido (R\$):** 28.090,78

**Valor Desembolsado (R\$):** 28.090,78

**Modalidade:** Auxílio à Pesquisa - Reunião - Exterior

**Vigência: Início:** 01/06/2016      **Término:** 10/06/2016

**Resumo:**



**Título:** Tratamento de amostras primárias de tumores colorretais com quinacrina e 5-fluorouracil

**Pesquisador Responsável:** Bryan Eric Strauss

**Valor Concedido (R\$):** 175.823,84

**Valor Desembolsado (R\$):** 110.288,46

**Modalidade:** Bolsas no Exterior - Estágio de Pesquisa - Doutorado

**Vigência:** Início: 01/11/2016      Término: 31/10/2017

**Resumo:**

O câncer colorretal ainda apresenta diversos desafios, apesar dos recentes avanços em seu tratamento. Ele é o terceiro carcinoma mais comum e o segundo em causas de mortes relacionadas ao câncer. Existe uma gama de alterações genéticas ligadas ao desenvolvimento e progressão do câncer colorretal, mas esses vários fenótipos estão unidos por alterações no balanço entre vias gênicas de supressores tumorais e oncogênicos, frequentemente envolvendo o p53. Como o p53 tem como principal função induzir morte celular, muitos tentam restaurar sua função com abordagens farmacológicas. Surpreendentemente, quinacrina se mostrou capaz de restaurar p53 de sua degradação pelo proteassoma e induzir a expressão de genes alvo, incluindo DR5. Também foi observado que quinacrina pode levar a morte celular dependente e independente de p53. No câncer colorretal, quinacrina foi testada contra um painel de 10 linhagens celulares, mostrando uma potente ação citostática *in vitro* e *in vivo*, com inibição da via de NFkB. Além disso, quinacrina mostrou sinergismo com 5-fluorouracil (5-FU), um quimioterápico padrão no tratamento do câncer colorretal, resultando em aumento significativo de morte celular. Entretanto, muitas questões ainda estão em aberto sobre o mecanismo molecular do sinergismo entre quinacrina e 5-FU. Por exemplo, esta combinação de drogas ainda não foi testada em modelos organoides e em cultura primária, possivelmente revelando a indução de morte celular imunogênica em um modelo clinicamente relevante. Assim, nós propomos a avaliação de amostras primárias derivadas de pacientes de câncer colorretal tratadas com 5-FU e quinacrina, *in vitro* e *in vivo*, com o objetivo de revelar os mediadores-chaves da resposta celular. (AU)



**Título:** Desenvolvimento de peptídeos para a detecção in vivo de macrófagos M1 e M2 no microambiente tumoral

**Pesquisador Responsável:** Roger Chammas

**Valor Concedido (R\$):** 461.541,47

**Valor Desembolsado (R\$):** 310.939,67

**Modalidade:** Bolsas no Exterior - Estágio de Pesquisa - Pós-Doutorado

**Vigência: Início:** 15/09/2016      **Término:** 14/09/2017

**Resumo:**

A presença de grande quantidade de macrófagos infiltrados nos tumores sólidos está correlacionado com resistência a quimioterapia, metástase, pior prognóstico e menor tempo de sobrevivência dos pacientes. Estratégias que identifiquem macrófagos dentro do microambiente tumoral ou reeduem essas células para um fenótipo pró-inflamatório pode melhorar as terapias convencionais no tratamento do câncer. Os macrófagos são as células mais abundantes no microambiente tumoral. Eles apresentam distintos estados de ativação e plasticidade em resposta a diferentes sinais do microambiente. Macrófagos associados ao tumor são definidos como macrófagos que residem dentro do microambiente tumoral. Eles interagem com as células tumorais e com o estroma; e promovem muitas características específicas do câncer incluindo, crescimento, angiogênese, invasão e metástase através da liberação de citocinas, quimiocinas e proteases que modificam o ambiente. A imagem molecular desempenha um importante papel no diagnóstico e tratamento do câncer. Ela permite a detecção dos tumores no corpo, visualizando a expressão e atividade de moléculas específicas e processos biológicos que podem influenciar o comportamento tumoral e a resposta à terapia. Agentes de imagem molecular são ferramentas indispensáveis ao diagnóstico de câncer, pela sua capacidade de detectar de forma não invasiva a doença in vivo. Os recentes avanços tecnológicos resultaram em várias estratégias para a síntese de agentes de imagem, incluindo o desenvolvimento e aplicação das sondas com base em peptídeos. Os peptídeos representam uma classe de agentes que se ligam ao alvo com elevada afinidade. Eles são relativamente fáceis de sintetizar e o seu pequeno tamanho facilita a penetração nos tecidos. Os peptídeos são importantes sondas para imagem molecular devido à alta expressão de receptores em muitos tumores que podem ser alvo utilizando estes vetores de recombinação biológica. O objetivo deste estudo é identificar peptídeos que detectem macrófagos M1 e M2 em tecido tumoral, desenvolver e avaliar o uso destes peptídeos in vitro e in vivo usando PET. Estes peptídeos podem auxiliar no diagnóstico do estágio tumoral e no planejamento do tratamento, resultando em melhor prognóstico e aumento da taxa de sobrevivência. (AU)



**Título:** Análise da atividade transcricional de HPV-18 durante a diferenciação celular

**Pesquisador Responsável:** Laura Cristina Sichero Vettorazzo

**Valor Concedido (R\$):** 128.840,59

**Valor Desembolsado (R\$):** 30.549,16

**Modalidade:** Bolsas no Brasil - Doutorado

**Vigência: Início:** 01/03/2017      **Término:** 30/06/2019

**Resumo:**

Mundialmente, o HPV-16 é o tipo mais prevalente tanto em neoplasias pré-invasivas quanto em carcinomas invasivos do colo do útero, seguido pelo HPV-18, entretanto o HPV-18 predomina em adenocarcinomas (56%) e tumores adenoescamosos (39%). Diversas evidências indicam que a sincronização do ciclo de vida do vírus ao programa de diferenciação do epitélio, além do epitéliotropismo, se deva em parte à composição de sítios de ligação de fatores de transcrição (FTs) à LCR e a expressão diferencial destes fatores, ou co-fatores necessários para a transcrição, não apenas nas células epiteliais, mas também através das diferentes camadas do epitélio estratificado. Até o momento, muito pouco progresso foi feito no que concerne à expressão gênica de HPV-18 no contexto das diferentes fases do ciclo de vida viral. Pelo exposto, este projeto visa caracterizar de maneira abrangente a atividade transcricional do promotor precoce principal de HPV-18 (P105) em condições representando os diferentes estágios do ciclo de vida viral. Mais especificamente, objetiva-se: (1) avaliar a atividade transcricional de P105 de HPV-18 em queratinócitos não-diferenciados e diferenciados; (2) analisar os níveis de 345 FTs expressos em queratinócitos não-diferenciados e diferenciados; (3) determinar quais dentre estes FTs celulares se ligam à LCR de HPV-18; (4) determinar o impacto destes fatores individualmente e sinergicamente sobre a atividade transcricional de P105 de HPV-18. Este conhecimento é fundamental para melhor compreender a biologia, patogenia, diagnóstico e manejo clínico das doenças associadas a este tipo viral. (AU)



**Título:** Análise de qualidade de vida em estudo de tratamento com quimioterapia de indução baseada em cisplatina e gencitabina seguida de quimiorradiação definitiva em carcinomas invasivos da cérvix uterina localmente avançados

**Pesquisador Responsável:** Maria Del Pilar Estevez Diz

**Valor Concedido (R\$):** 18.851,81

**Valor Desembolsado (R\$):** 12.328,48

**Modalidade:** Bolsas no Brasil - Iniciação Científica

**Vigência: Início:** 01/11/2016      **Término:** 31/10/2017

**Resumo:**

A importância do estudo do câncer de colo uterino pode ser compreendida ao avaliar sua magnitude nacional: é a terceira localização primária de incidência e de mortalidade por câncer em mulheres. Nesse contexto, desenvolveram-se múltiplas técnicas terapêuticas na última década, com o objetivo de aumento da sobrevida. Entretanto não está claro qual o impacto na qualidade de vida dessas mulheres. Esta temática, que aborda aspectos como saúde mental e social e qualidade de vida sexual, é de fundamental significância na escolha do tratamento. No âmbito da terapêutica, estudos recentes apontam que a radioquimioterapia é igual ou superior ao tratamento cirúrgico, havendo resultados que avaliaram positivamente a associação de gencitabina e cisplatina no contexto paliativo. Até o momento a quimioterapia neoadjuvante seguida da quimiorradiação exclusiva não foi avaliada em estudo prospectivo. Esta estratégia de tratamento está envolvida em estudo institucional que está sendo desenvolvido no ICESP, "Estudo de Fase II, prospectivo, randomizado, não comparativo, de tratamento com quimioterapia de indução baseada Cisplatina e Gencitabina seguida de quimiorradiação ou quimiorradiação definitiva em carcinomas invasivos da cérvix uterina localmente avançados" (CCLA). Ao acompanhar o estudo que visa a determinar se a quimioterapia de indução com cisplatina e gencitabina seguida de quimiorradiação é superior ao tratamento padrão com quimiorradiação, em pacientes com diagnóstico de CCLA. Objetivo: O presente estudo objetiva avaliar e comparar o efeito de duas linhas de tratamento sobre a qualidade de vida e a vida sexual das pacientes com carcinoma invasivo da cérvix uterina, sendo elas (1) a quimioterapia de indução com cisplatina e gencitabina, seguida de quimiorradiação, e (2) a quimiorradiação apenas. Métodos: Foram elegíveis para o estudo pacientes admitidas no Instituto do Câncer do Estado de São Paulo (ICESP) e Instituto de Radiologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (INRAD - HC - FMUSP) com diagnóstico histológico de carcinoma invasivo da cérvix uterina, localmente avançado, com estágio IIB a IVA da Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia (FIGO) e candidatas a tratamento com quimiorradiação definitiva participantes do "Estudo de Fase II, prospectivo, randomizado, não comparativo, de tratamento com quimioterapia de indução baseada Cisplatina e Gencitabina seguida de quimiorradiação ou quimiorradiação definitiva em carcinomas invasivos da cérvix uterina localmente avançados". Foram selecionadas para avaliação no presente estudo cinquenta pacientes em que foi realizado coleta de sangue para marcadores biológicos de fatores de angiogênese e proliferação. Os

critérios de inclusão englobam o consentimento e preenchimento dos questionários de qualidade de vida, além da participação no estudo e diagnóstico supracitados. A análise da qualidade de vida das pacientes é feita por meio da escala do Estado Global de Saúde da Organização Européia para a Investigação e o Tratamento do Câncer (EORTC) QLQ-C30 e o módulo do câncer de cérvix uterina dessa mesma organização - EORTC QLQ-CX24, tais questionários serão administrados no início e depois de 3, 6 e 12 meses de tratamento. A aplicação do questionário está sendo realizada antes do início das duas linhas de tratamento, e antes da consulta médica que precede cada ciclo de quimioterapia e radioterapia. Com a avaliação pode-se descobrir quais são as queixas de maior impacto na vida dos pacientes, a partir dessa descoberta, elaborar novas condutas e/ou orientações. Desse modo, é possível avaliar qual o tratamento mais eficaz e menos debilitante para a paciente. (AU)



**Título:** Investigação dos efeitos angiogênicos diretos e parácrinos, após transferência gênica mediada por vetores adenovirais portadores de interferon-beta no melanoma murino

**Pesquisador Responsável:** Bryan Eric Strauss

**Valor Concedido (R\$):** 312.519,30

**Valor Desembolsado (R\$):** 37.939,32

**Modalidade:** Bolsas no Brasil - Doutorado

**Vigência: Início:** 01/12/2016      **Término:** 30/11/2019

**Resumo:**

O melanoma é um câncer com alta mortalidade e relevante impacto na sociedade. Os tumores não são apenas massas de células tumorais, são complexos "órgãos" com variados tipos de células e estruturas que cooperam a favor do tumor. Terapias alternativas para o câncer, como a terapia gênica, vêm apresentando bons resultados na pesquisa pré e clínica. Nosso laboratório desenvolveu vetores virais portadores de  $IFN^2$ , com grande potencial terapêutico anti-tumoral. O  $IFN^2$  é uma citocina imunomoduladora, com efeitos anti-tumoral e anti-angiogênico. Os resultados do grupo mostraram que o uso do Ad- $IFN^2$  retardou o crescimento tumoral no modelo de melanoma murino. No projeto de mestrado deste aluno, demonstramos que o vetor Ad- $IFN$  não apresentou efeito quando transduziu diretamente as células endoteliais (tEnd), entretanto no ensaio parácrino, onde as células tEnd foram cultivadas com as células de melanoma B16 transduzidas, apresentou efeito indutor de morte da células tEnd. O resultado sugere que há um efeito dependente da transdução por adenovírus portadores de  $IFN^2$ . Frente aos novos dados e associando com os resultados do grupo, buscamos explorar os mecanismos envolvidos na morte ou sobrevivência de células endoteliais na presença de  $IFN^2$ . Deste modo buscamos compreender o possível efeito anti-angiogênico promovido pela transferência gênica no modelo murino de tratamento de melanoma. (AU)



**Título:** Expressão autorregulatória de p53 através de um vetor adenoviral confere inibição tumoral superior em um modelo de terapia gênica para carcinoma de próstata

**Pesquisador Responsável:** Bryan Eric Strauss

**Valor Concedido (R\$):** 13.446,15

**Valor Desembolsado (R\$):** 7.444,95

**Modalidade:** Auxílio à Pesquisa - Publicações científicas - Artigo

**Vigência: Início:** 01/11/2016      **Término:** 30/04/2017

**Resumo:**

Tratamentos alternativos para o câncer utilizando abordagens de terapia gênica têm mostrado resultados promissores e em alguns casos já são comercializados. Ainda assim, são necessárias melhorias, como através do emprego de promotores específicos para dirigir a expressão nas células alvo. Anteriormente descrevemos vetores virais nos quais altos níveis de expressão foram alcançados através de um promotor responsivo à p53. Aqui apresentamos o vetor adenoviral (AdPGp53), no qual p53 é empregado para regular a sua própria expressão e cuja performance é superior a um vetor tradicional, quando testado em um modelo de terapia genica para câncer de próstata. A funcionalidade de AdPGp53 e AdCMVp53 foi comparada em linhagens de carcinoma de próstata. AdPGp53 conferiu níveis muito maiores de p53 e indução do alvo de p53, p21; assim como morte celular superior por um mecanismo consistente com apoptose. Células DU145 foram mais suscetíveis à indução de morte por AdPGp53, enquanto PC3 mostrou-se mais resistente. Apesar de AdCMVp53 ter se mostrado confiável, foram necessários níveis extremamente altos de p53 mediados por AdPGp53 para induzir atividade supressora tumoral em PC3 e DU145. Experimentos de terapia gênica in situ revelaram inibição tumoral e aumento da sobrevida em resposta à AdPGp53, mas não com AdCMVp53. Análise histológica mostrou que somente tratamento com AdPGp53 correlacionou-se com detecção positiva de p53 e TUNEL. Esse estudo aponta para a importância de vetores com desempenho otimizado para terapia do câncer de próstata. (AU)



**Título:** Caquexia em pacientes com carcinoma pulmonar de células não pequenas: influência da aptidão física sobre o prognóstico

**Pesquisador Responsável:** Gilberto de Castro Junior

**Valor Concedido (R\$):** 158.272,92

**Valor Desembolsado (R\$):** 21.261,00

**Modalidade:** Bolsas no Brasil - Doutorado

**Vigência: Início:** 01/05/2017      **Término:** 30/04/2020

**Resumo:**

O carcinoma pulmonar de células não pequenas (CPCNP) é a neoplasia responsável pelo maior número de mortes no mundo, sendo no Brasil considerada a segunda maior causa de morte por câncer. Os pacientes são diagnosticados em estágio avançado e mais de 45% apresentam quadro de caquexia, síndrome caracterizada por perda acentuada de massa muscular acompanhada ou não de perda de tecido adiposo. Essa síndrome leva o indivíduo a um quadro severo de perda de proteínas contráteis musculares que culminam com fadiga e aumento da mortalidade. Além disso, os pacientes com caquexia apresentam baixa resposta ao tratamento primário associada a um pior prognóstico e terapias que minimizem a perda de massa muscular nestes pacientes são de grande relevância clínica. Nesse sentido, estudos de coorte sugerem uma relação positiva significativa entre variáveis relacionadas a aptidão física e prognóstico em diferentes doenças crônicas. Todavia, em relação ao CPCNP, pouco se sabe acerca da relação entre aptidão física e prognóstico dos pacientes. Assim sendo, o objetivo do presente estudo será entender a relação das variáveis associadas à aptidão física (função muscular e cardiorrespiratória, composição corporal e nível de atividade física diária) com o prognóstico e a mortalidade dos pacientes, bem como saber o efeito da quimioterapia sobre essas variáveis. Para isso, avaliaremos 60 pacientes diagnosticados com CPCNP avançado. Faremos avaliação do consumo máximo de oxigênio, nível de atividade física, função muscular, morfologia muscular, performance status e fadiga em um período prévio e posterior ao tratamento quimioterápico (ao término e 3 meses pós-tratamento), seguindo os pacientes para avaliação do prognóstico. Como perspectiva, pretendemos avaliar o valor preditivo relativo das diferentes variáveis relacionadas à aptidão física sobre o prognóstico dos pacientes com CPCNP. (AU)



**Título:** Análise dos efeitos da co-expressão das proteínas E6 e E7 de alfa e beta-HPV em queratinócitos humanos primários

**Pesquisador Responsável:** Laura Cristina Sichero Vettorazzo

**Valor Concedido (R\$):** 10.283,27

**Valor Desembolsado (R\$):** 8.817,83

**Modalidade:** Bolsas no Brasil - Iniciação Científica

**Vigência: Início:** 01/01/2017      **Término:** 31/12/2017

**Resumo:**

A infecção por  $\alpha$  (Alfa)-HPV de alto risco oncogênico é o principal fator etiológico do câncer de colo uterino. Adicionalmente, tem sido sugerido que alguns tipos de  $\beta$  (Beta)-HPV conferem maior risco no que concerne ao desenvolvimento de tumores de pele não-melanoma. Casos de co-infecções por múltiplos tipos de HPV tem sido reportados, porém não se conhece ainda os efeitos funcionais da interação entre os diferentes tipos de HPV em uma mesma infecção. As oncoproteínas E6 e E7 dos gêneros  $\alpha$ - e  $\beta$ -HPV, possuem diferentes estratégias de associação com proteínas celulares a fim de promover a proliferação celular e a replicação viral. Portanto, analisar a expressão destas proteínas poderia elucidar os possíveis sinergismos ou antagonismos biológicos no contexto de uma co-infecção. Para isso, queratinócitos humanos primários serão co-transduzidos com as oncoproteínas E6 e E7 de HPV-18 (gênero  $\alpha$ -HPV) e HPV-38 ou -49 (gênero  $\beta$ -HPV); ou transduzidos independentemente com as proteínas de apenas um tipo viral, a fim de analisarem-se os efeitos destas proteínas em uma situação de infecção única e de co-infecção com HPVs de gêneros distintos. Para tanto, será avaliada: (1) capacidade de formação de colônia de queratinócitos humanos primários transduzindo as oncoproteínas virais; (2) potencial de inibição de diferenciação por soro e cálcio dos queratinócitos humanos primários transduzindo as oncoproteínas virais; (3) expressão das proteínas celulares p53, deltaNp73 e p21 por Western Blot nas diferentes condições. Os dados gerados são de extrema relevância para melhor compreender o significado da detecção de múltiplos tipos de HPV em um mesmo sítio anatômico. (AU)



**Título:** Imunização intratumoral pela transferência gênica de p19Arf e interferon beta em um modelo murino heterotópico de carcinoma pulmonar

**Pesquisador Responsável:** Bryan Eric Strauss

**Valor Concedido (R\$):** 18.473,60

**Valor Desembolsado (R\$):** 9.116,03

**Modalidade:** Auxílio à Pesquisa - Publicações científicas - Artigo

**Vigência: Início:** 01/12/2016      **Término:** 31/05/2017

**Resumo:**

Estretégias terapêuticas que agem pela incitação e aumento da imunidade antitumoral têm sido clinicamente validadas como uma modalidade de tratamento efetiva, mas ela pode se beneficiar da indução tanto de morte celular quanto ativação da resposta immune como um estímulo primário. Usando nossa plataforma de vetor adenoviral AdRGD-PG, nós mostramos aqui pela primeira vez que a transferência gênica de p19Arf e interferon-beta (IFN<sup>2</sup>) in situ no modelo murino de carcinoma pulmonar LLC1 age como uma imunoterapia. Enquanto p19Arf é suficiente para induzir morte celular, apenas no seu pareamento com IFN<sup>2</sup> induziu significativamente marcadores de morte celular imunogênica. A terapia gênica in situ com IFN<sup>2</sup>, tanto sozinha quanto na combinação com p19Arf, pôde retardar a progressão tumoral, mas apenas o tratamento combinado foi associado com uma resposta immune protetora. Especificamente no caso da transferência gênica intratumoral combinada, nós identificamos 167 genes diferencialmente expressos usando microarray para avaliar tumores que foram tratados in vivo e confirmamos a ativação de CCL3, CXCL3, IL1a, IL1b, CD274 e OSM, envolvidos na resposta immune e quimiotaxia. A avaliação histológica revelou infiltrado tumoral significativo de neutrófilos enquanto a depleção funcional de granulócitos cessou o efeito antitumoral de nossa abordagem. A associação da terapia gênica in situ com cisplatina resultou na eliminação sinérgica da progressão tumoral. Portanto, a transferência gênica in situ com p19Arf e IFN<sup>2</sup> age como imunoterapia envolvendo o recrutamento de neutrófilos, um resultado desejável mas previamente não testado, e essa abordagem pode ser aliada com quimioterapia, promovendo portanto, atividade antitumoral significativa e garantindo maior desenvolvimento para o tratamento do câncer de pulmão. (AU)



**Título:** Acometimento de linfonodos para aórticos em pacientes com câncer de colo uterino: avaliação de fatores de risco para recidiva e de sobrevida global e livre de progressão

**Pesquisador Responsável:** Maria Del Pilar Estevez Diz

**Valor Concedido (R\$):** 10.171,96

**Valor Desembolsado (R\$):** 8.026,36

**Modalidade:** Bolsas no Brasil - Iniciação Científica

**Vigência: Início:** 01/02/2017      **Término:** 31/01/2018

**Resumo:**

O panorama atual do câncer de colo de útero na saúde pública permeia-se estrategicamente na prevenção via vacina anti HPV e no rastreamento por exames ginecológicos. Atos estes que tendem a reduzir incidência e aumentar diagnósticos precoces e taxas de terapia curativa. O câncer de colo de útero é de suma importância à saúde da mulher adulta no Brasil devido à grande disparidade do acesso à saúde pública e, apesar da introdução da vacina no calendário oficial, espera-se redução da incidência somente nas próximas décadas. O diagnóstico com frequência é feito em estádios avançados, portanto este trabalho tem como objetivo avaliar um grupo mais vulnerável e com pior prognóstico: mulheres acometidas por câncer de colo de útero com comprometimento metastático exclusivo dos linfonodos para-aórticos (LNPA). Trata-se, então, de um estudo retrospectivo, unicêntrico, que vai avaliar segundo tratamento (pacientes que foram tratadas localmente vs sem tratamento local): sobrevida global e livre de progressão, saúde global, toxicidades agudas e tardias devido ao tratamento, além da caracterização clínica e epidemiológica desse grupo. Serão avaliados os prontuários de mulheres com diagnósticos de câncer de colo uterino com LNPA comprometidos que foram tratadas no ICESP entre maio de 2008 a maio de 15. (AU)



**Título:** Reparo de equipamento (TIPO II)

**Pesquisador Responsável:** Ana Carolina Prado Ribeiro e Silva

**Valor Concedido (R\$):** 2.838,14

**Valor Desembolsado (R\$):** 2.838,14

**Modalidade:** Auxílio à Pesquisa - Reparo de Equipamentos

**Vigência: Início:** 01/02/2017      **Término:** 31/01/2018

**Resumo:**



**Título:** Proteínas relacionadas à via de sinalização por toll like receptors na tumorigênese desencadeada pelo papilomavírus humano

**Pesquisador Responsável:** Luisa Lina Villa

**Valor Concedido (R\$):** 196.389,18

**Valor Desembolsado (R\$):** 55.976,40

**Modalidade:** Bolsas no Brasil - Pós-Doutorado

**Vigência: Início:** 01/04/2017      **Término:** 31/03/2019

**Resumo:**

O Papilomavírus Humano (HPV) foi inicialmente detectado em amostras de câncer cervical na década de 80. A infecção persistente dos HPVs de alto-risco é fator de risco necessário para o desenvolvimento do câncer cervical e independente da resposta imune, inata ou adaptativa, local ou sistêmica, induzida nas mulheres com infecção crônica, em alguns casos tais respostas são ineficientes para eliminar o vírus, resultando em infecção viral persistente e aumento de chance de desenvolvimento tumoral. Os TLRs são uma família de receptores de membrana que participam ativamente da resposta imune inata, reconhecendo padrões de patógenos e sinais de perigo na célula. As vias de sinalização por TLR e pelo NF- $\kappa$ B já foram implicadas em diversos tipos de câncer e doenças autoimune, mas como alterações dessas vias durante a infecção por HPV contribuem para o desenvolvimento de câncer cervical ainda precisa ser elucidado. Durante o Doutorado identifiquei várias proteínas das vias de TLR diferencialmente expressas entre linhagens de células tumorais de origem cervical e queratinócitos normais. Em particular 3 proteínas relacionadas ao sistema imune inato foram encontradas com elevados níveis nas células de câncer cervical, TLR4, SARM1 e HMGB1. As proteínas identificadas, no entanto, precisam de maiores estudos para determinação de seu papel na tumorigênese desencadeada por HPV e seu potencial tanto como biomarcadores como alvos de tratamentos quimioterápicos. Portanto, no presente estudo visamos analisar a importância das alterações da resposta imune inata mediada por TLR na tumorigênese dirigida pela infecção por HPV. (AU)



**Título:** Avaliação da ativação de PAFR na resposta de sobrevivência e quimiorresistência de células tumorais expostas a hipóxia

**Pesquisador Responsável:** Roger Chammas

**Valor Concedido (R\$):** 39.572,45

**Valor Desembolsado (R\$):** 39.572,45

**Modalidade:** Bolsas no Exterior - Estágio de Pesquisa - Mestrado

**Vigência: Início:** 01/03/2017      **Término:** 31/08/2017

**Resumo:**

Melanoma metastático tem sido considerado um desafio clínico devido a sua notória quimiorresistência. A compreensão dos eventos moleculares e celulares que contribuem com a quimiorresistência de melanomas é importante para melhorar as terapias atuais e prevenir a recidiva tumoral. Estudos prévios do nosso grupo, mostraram, in vivo, que a ativação de PAFR favorece o crescimento do melanoma por proteger as células da morte induzida por cisplatina. Além disso, existe um acúmulo de PAFR em áreas tumorais hipóxicas. Sabe-se que células tumorais expostas a hipóxia são mais resistentes aos tratamentos e podem contribuir com a recidiva tumoral. Assim, nós pretendemos avaliar se a ativação de PAFR está envolvida na quimiorresistência induzida em hipóxia. A linhagem de melanoma humano, SKmel 37, foi exposta a hipóxia seguida de reoxigenação na presença do antagonista de PAFR, WEB 2086, sob tratamento com cisplatina. Morte celular foi avaliada por marcação com iodeto de propídio e análises de citometria de fluxo. Observamos que células expostas a hipóxia são mais resistentes a morte celular induzida por cisplatina do que células em normóxia. Além disso, o bloqueio de PAFR com WEB 2086 sensibilizou as células em hipóxia e o tratamento combinado com cisplatina foi sinérgico. Nós também avaliamos os níveis proteicos de PAFR por Western Blot. Interessantemente, tanto hipóxia quanto cisplatina não foram capazes de alterar os níveis de PAFR. Além de explorar este fenômeno em outras linhagens celulares, utilizando fluxos de hipóxia apropriados, pretendemos avaliar a geração de ligantes de PAFR após hipóxia e/ou tratamento com cisplatina por espectrometria de massa. Também estamos interessados em explorar o mecanismo de sobrevivência disparado pela ativação de PAFR nestas condições experimentais e hipotetizamos que autofagia pode estar relacionada de alguma forma. Além disso, se a ativação de PAFR tiver um impacto na resistência a cisplatina induzida por hipóxia, utilizaremos o sistema CRISPR/Cas9 para deletar o gene de PAFR e realizar os experimentos in vitro e in vivo. O envolvimento de PAFR na quimiorresistência observada em hipóxia poderia levar ao desenvolvimento de novas terapias que visam este receptor (por exemplo, pró-drogas ativadas em hipóxia) e o tratamento convencional com cisplatina poderia ser melhorado quando associado com drogas direcionadas ao bloqueio/inibição de PAFR. (AU)



**Título:** 20th Annual Meeting of the American society for gene and cell therapy

**Pesquisador Responsável:** Bryan Eric Strauss

**Valor Concedido (R\$):** 7.307,65

**Valor Desembolsado (R\$):** 7.307,65

**Modalidade:** Auxílio à Pesquisa - Reunião - Exterior

**Vigência: Início:** 10/05/2017      **Término:** 13/05/2017

**Resumo:**



**Título:** Germline mutations in BRCA1 and BRCA2 in epithelial ovarian cancer patients in Brazil

**Pesquisador Responsável:** Maria Aparecida Azevedo Koike Folgueira

**Valor Concedido (R\$):** 5.396,70

**Valor Desembolsado (R\$):** 5.396,70

**Modalidade:** Auxílio à Pesquisa - Publicações científicas - Artigo

**Vigência: Início:** 01/04/2017      **Término:** 30/09/2017

**Resumo:**

Introdução. Aproximadamente 8-15% das pacientes com câncer epitelial de ovário são portadoras de mutação germinativa em BRCA1 ou BRCA2. A população brasileira tem características genéticas peculiares associadas à diversidade étnica, e estudos abrangendo o seqüenciamento completo do gene BRCA1 / BRCA2 em pacientes brasileiros com câncer de ovário ainda não foram conduzidos. O objetivo deste estudo foi avaliar mutações BRCA1 / 2, através de sequenciamento completo, em uma população brasileira de mulheres com câncer epitelial de ovário. Métodos. Estudo transversal realizado em um centro de referência para o tratamento do câncer em São Paulo, onde foram incluídas 100 pacientes com diagnóstico de câncer epitelial de ovário não selecionadas para história familiar de câncer de mama e / ou ovário. O sequenciamento dos genes BRCA1 / 2 foi avaliada através de sequenciamento de nova geração (NGS) ou capilar. Presença de grandes deleções foram investigadas através de amplificação multiplex dependente de ligação de sonda (MLPA). Resultados. Foram identificadas mutações patogênicas em 19 pacientes (BRCA1: n = 17 e BRCA2: n = 2) representando 14 mutações diferentes, incluindo duas grandes deleções em BRCA1 (eliminação exon 1-2 e supressão exon 5-7). Três mutações foram detectadas mais de uma vez (c.3331\_3334delCAAG, c.5266dupC e c.4484G> T). Foram identificadas duas novas mutações frameshift, uma em BRCA1 (c.961\_962delTG) e uma em BRCA2 (c.1963\_1963delC). As mutações BRCA1 / 2 foram observadas em 35,5% dos pacientes com parentes de primeiro e / ou segundo grau com câncer de mama e / ou ovário. Foram detectadas 19 variantes de significado incerto (VUS) (BRCA1: n = 2 e BRCA2: n = 17), incluindo cinco variantes missense distintas (BRCA1: c.5348 T> C, BRCA2: c.2350A> G, c.3515C > T, c 7534C> T e c 8,351G> A). Conclusões. Entre as pacientes com câncer epitelial do ovário não selecionados segundo história familiar de câncer, 19% eram portadores de mutação germinativa em BRCA1/2. Quase ¾ das mutações BRCA, incluindo duas deleções grandes, foram detectadas apenas uma vez. Nosso trabalho enfatiza a necessidade de realizar o seqüenciamento completo do gene e análise por MLPA no Brasil. (AU)



**Título:** Orthotopic tumorgrafts in nude mice as a model to evaluate calcitriol effects in breast cancer

**Pesquisador Responsável:** Maria Aparecida Azevedo Koike Folgueira

**Valor Concedido (R\$):** 3.386,39

**Valor Desembolsado (R\$):** 3.386,39

**Modalidade:** Auxílio à Pesquisa - Publicações científicas - Artigo

**Vigência: Início:** 01/05/2017      **Término:** 31/10/2017

**Resumo:**

Calcitriol antiproliferative effects were observed in xenografts of breast cancer cell lines, however they were not yet investigated in tumorgrafts, consisting of freshly collected breast cancer samples xenografted into animals. Objectives: To establish a tumorgraft model, from freshly collected breast cancer samples, which were directly implanted in nude mice, to study calcitriol effects. Methods: Breast cancer samples collected from 12 patients were orthotopically implanted into nude mice. Animals were treated with weekly intratumoral injections of calcitriol 3  $\mu$ g/Kg, which was previously shown to induce peak serum calcitriol levels in the predicted therapeutic range. Results: Success engraftment rate was 25%. Tumorgrafts were established from aggressive (HER2 positive or histological grade 3) highly proliferative samples and original tumor characteristics were preserved. Calcitriol highly induced its target gene, CYP24A1, indicating that the genomic vitamin D pathway is active in tumorgrafts. However, no differences in the expression of proliferation and apoptosis markers (BrdU incorporation, Ki67, CDKN1A, CDKN1B, BCL2 expression) were observed in these highly proliferative tumor samples. Conclusions: Tumorgrafts seem a promising model to explore other calcitriol doses and regimens, considering the heterogeneity of the disease and microenvironment interactions. (AU)



**Título:** Autophagy: from molecular principles to human diseases

**Pesquisador Responsável:** Silvina Odete Bustos

**Valor Concedido (R\$):** 12.498,09

**Valor Desembolsado (R\$):** 12.498,09

**Modalidade:** Auxílio à Pesquisa - Reunião - Exterior

**Vigência: Início:** 25/09/2017      **Término:** 29/09/2017

**Resumo:**



**Título:** Accumulation of PHB1 is a common cellular response to different stressing stimuli and protects melanoma cells from er stress and the cytotoxic agent cisplatin

**Pesquisador Responsável:** Roger Chammas

**Valor Concedido (R\$):** 10.285,00

**Valor Desembolsado (R\$):** 10.285,00

**Modalidade:** Auxílio à Pesquisa - Publicações científicas - Artigo

**Vigência: Início:** 01/08/2017      **Término:** 31/01/2018

**Resumo:**

O melanoma é responsável pela maioria das mortes entre cânceres de pele. A quimioterapia convencional e paliativa é limitada graças ao desenvolvimento de quimioresistência. Nós usamos uma análise proteômica para identificar respostas celulares que leva à quimioresistência de linhagens de melanoma humano à cisplatina. Uma abordagem de biologia de sistemas nos dados do proteoma mostrou que a participação de processos celulares específicos como a fosforilação oxidativa, homeostase e organização mitocondrial, bem como a resposta a proteínas mal enoveladas são requeridas para a sobrevivência de células tratadas com cisplatina. Proibitina está entre as proteínas acumuladas de maneira consistente, interagindo com clusters funcionais associados com resistência à cisplatina. Nós mostramos que a proibitina acumulou em diferentes níveis em linhagens celulares de melanoma sobre estímulos de estresse como: tratamento com os quimioterápicos temozolamida, dacarbazina ou cisplatina; privação de soro fetal bovino; tratamento com tunicamicina, um indutor de proteínas mal enoveladas. Proibitina acumula na mitocôndria de células de melanoma após tratamento com cisplatina e tunicamicina e seu acúmulo de novo leva à quimioresistência em linhagens de melanoma. Em contraste, a inibição de proibitina sensibiliza linhagens de melanoma ao tratamento com cisplatina e tunicamicina. Nós concluímos que proibitina participa da sobrevivência de células expostas à diferentes estímulos de estresse e pode, assim sendo, servir como um alvo para a sensibilização de células de melanoma à quimioterapia. (AU)



**Título:** I seminário de odontologia oncológica

**Pesquisador Responsável:** Ana Carolina Prado Ribeiro e Silva

**Valor Concedido (R\$):** 14.400,28

**Valor Desembolsado (R\$):** 14.353,78

**Modalidade:** Auxílio à Pesquisa - Organização de Reunião Científica

**Vigência: Início:** 30/09/2017      **Término:** 30/09/2017

**Resumo:**

Dr. Triester: Oral toxicities induced by targeted cancer therapy; Dr. Migliorati: Current protocols of photobiomodulation in the management of oral mucositis - MASCC experience; Dr. Triester : Extraoral photobiomodulation for prevention of mucositis - Dana-Farber/Boston Children's Hospital experience; J. Carroll: New discoveries and innovations of photobiomodulation in medicine; Dra. Brandão: Padrões de progressão tumoral em pacientes com carcinoma espinocelular de boca submetidos à Fotobiomodulação; Dr. Santos-Silva: Impacto do uso dos bisfosfonatos intravenosos no ligamento periodontal de pacientes com câncer; Dr. Migliorati: Protocolo MASCC para diagnóstico e tratamento da osteonecrose relacionada à medicação; Dra Paes-Leme: Proteoma salivar e biomarcadores do câncer de boca. (AU)