

pelo método colorimétrico de MTT. A atividade mitocondrial dos cardiomiócitos H9C2 foi determinada a 37 °C usando a respirometria de alta resolução (Oroboros®), o potencial de membrana mitocondrial por fluorescência utilizando a sonda JC-1 e a produção de espécies reativas de oxigênio utilizando a sonda fluorescente DCF para análise em citômetro de fluxo. Os resultados foram expressos em média e erro padrão e as análises estatísticas entre os grupos por teste de ANOVA univariada seguida de pos-hoc de Bonferroni no software SPSS 13.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA). Os resultados foram considerados significativos quando o valor de p foi menor que 0,05. Resultados: As doses de MGO de 200µM (subletal) e 500µM (letal) foram determinadas a partir da LD50 aferida no ensaio de MTT (LD50 = 272 µM). A fosforilação oxidativa, o potencial de membrana mitocondrial e a produção de espécies reativas de oxigênio dos cardiomiócitos não foram alterados por 200µM MGO. Já em 500µM de MGO foi observada uma despolarização da membrana mitocondrial e aumento na produção de caspase-3 clivada. Conclusão: Cardiomiócitos H9C2 foram resistentes a concentrações subletais de metilglioxal sem que ocorram alterações na função mitocondrial. Unitermos: Cardiomiócito; Metilglioxal; H9C2.

P1368

Hipermetilação do DNA e hipoacetilação de histonas em leiomiomas uterinos

Ana Paula de Bortoli Silveira, Gabriela dos Santos Sant'anna, Ilma Simoni Brum da Silva, Edison Capp, Lolita Schneider Pizzolato, Helena Von Eye Corleta - HCPA

INTRODUÇÃO: Leiomiomas uterinos são tumores que se desenvolvem no miométrio e acometem cerca de 30% das mulheres em idade reprodutiva. Os sintomas clínicos podem incluir sangramento uterino anormal, dor pélvica e infertilidade tendo como tratamento efetivo a histerectomia. Predisposições genéticas e fatores ambientais parecem contribuir com o surgimento desses tumores. Mecanismos epigenéticos são capazes de modular a expressão gênica em células eucarióticas, como por exemplo, a metilação do DNA, reação catalisada pela enzima DNA metiltransferase e a Acetilação de Histonas, controlada pelas enzimas histona acetiltransferase (HAT) e histona desacetilase (HDAC). **OBJETIVO:** Verificar os níveis de metilação global do DNA e a atividade das enzimas HAT e HDAC nos leiomiomas uterinos. **METODOLOGIA:** Foi realizada a coleta de tecidos de leiomiomas uterinos e miométrio em 25 pacientes submetidas a histerectomia no Hospital de Clínicas de Porto Alegre após aprovação no comitê de ética do hospital. Foi realizada a extração de DNA e posteriormente purificação. Para análise de metilação global do DNA foi utilizado kit específico, pelo método de ELISA. A análise de Acetilação de histonas realizou-se a extração de proteínas nucleares, sendo a atividade enzimática da HAT determinada por ensaio colorimétrico e a atividade da HDAC por ensaio fluorimétrico. A análise estatística foi realizada com o software SPSS 18.0 para metilação global do DNA foi teste t Student e a avaliação da atividade HDAC/HAT foi realizado o teste de Wilcoxon, ambas considerando a significância de $p < 0,05$. **RESULTADOS:** Os resultados da análise de metilação global do DNA demonstraram haver maior metilação do DNA em leiomiomas uterinos (46,85%) quando comparado com miométrio (24,95%), considerando um $p = 0,022$. Foi observada uma hipoacetilação, ou seja, maior atividade enzimática da HDAC, nos leiomiomas uterinos quando comparado com miométrio ($p = 0,04$). A atividade de HAT não apresentou diferenças estatísticas entre os tecidos. **CONCLUSÃO:** A hipermetilação do DNA e hipoacetilação de histonas encontrados nos leiomiomas uterinos indicam um importante papel dos mecanismos epigenéticos no desenvolvimento desses tumores podendo contribuir no silenciamento de genes supressores. Unitermos: Leiomiomas; Metilação; Acetilação.

P1416

Estabilidade e função de vesículas extracelulares derivadas de glioblastoma

Vitória Brum da Silva Nunes, Juliete N. Scholl, Amanda Fraga, Ana Maria O. Battastini, Fabrício Figueiró - UFRGS

Introdução/Objetivos: O glioblastoma (GBM) é o mais maligno dos tumores gliais. A proliferação tumoral depende de uma rede complexa de fatores, como citocinas, adenosina e vesículas extracelulares. Tem-se sugerido que essas vesículas podem ativar o sistema imune contra o crescimento tumoral. Procuramos entender o papel das vesículas extracelulares derivadas do glioblastoma (GEVs) na modulação de linfócitos periféricos e na progressão do GBM. **Métodos e Resultados:** As GEVs foram isoladas por centrifugação diferencial do sobrenadante de células C6. A estabilidade das GEVs foi analisada pelo equipamento Zetasizer. O metabolismo do ATP extracelular foi analisado por HPLC. GEVs (8 µg/mL) foram incubadas com ATP 50 µM por 30 minutos e tratadas com inibidores das enzimas CD39 e CD73 (ARL-67156 e APCP, respectivamente), e com um inibidor de captação de ADO (dipiridamol). Além disso, as células C6 foram tratadas com diferentes concentrações de GEVs durante 96 h e a viabilidade celular foi avaliada por ensaio MTS. As GEVs foram incubadas (8 µg) com linfócitos isolados de ratos Wistar. Após 48 h de incubação, a expressão das enzimas CD39 e CD73 foi avaliada por citometria de fluxo. O modelo de GBM foi realizado por co-injeção de GEVs com células C6 no estriado de ratos Wistar. Após 14 dias de crescimento tumoral, os ratos foram decapitados e o cérebro removido para quantificação do tamanho tumoral (Protocolo # 33505). As GEVs apresentaram tamanho uniforme ($175,2 \pm 6,14$ nm) e permaneceram constantes a 4°C durante os 18 dias ($186,8 \pm 6,64$ nm). Os inibidores das enzimas CD39 e CD73 reduziram a formação de ADO (52,1% e 57,8%, respectivamente), enquanto o inibidor do transportador de ADO não alterou a formação de ADO. A porcentagem de células viáveis foi reduzida após o tratamento com 16 e 32 µg/mL de GEVs (de $120 \pm 2,12\%$ para $82,52 \pm 5\%$ e $92,1 \pm 7,9\%$, respectivamente). A incubação de linfócitos T com GEVs não alterou a expressão da proteína CD39 e CD73 em nenhum subconjunto de linfócitos-T. Além disso, a co-injeção de GEVs reduziu o tamanho do GBM de $192,8 \pm 38,1$ mm³ para $99,6 \pm 47,7$ mm³ em comparação ao grupo GBM. **Conclusões:** O tamanho das GEVs permaneça estável quando armazenadas a 4°C. Essas vesículas expressam as enzimas CD39 e CD73, mas não os transportadores de nucleosídeos. GEVs diminuem a viabilidade das células C6, mas elas não afetaram os linfócitos T periféricos. Mais estudos são necessários para entender o papel das GEVs no crescimento do GBM. Unitermos: Glioblastoma; Vesículas extracelulares; Linfócitos periféricos.

P1474

Desenvolvimento de partículas de membrana a partir de células estromais mesenquimais: uma possível nova estratégia para terapia celular

Dienifer Hermann Sirena, Ana Carolina Henzel Raymundo, Michele Aramburu Serafini, Ana Helena da Rosa Paz, Fabiany da Costa Gonçalves - HCPA

Introdução: As células estromais mesenquimais (MSCs) são uma terapia promissora para o tratamento de distúrbios imunológicos e regeneração tecidual devido a sua capacidade de diferenciação, homing para tecidos inflamatórios e propriedades imunomoduladoras. Estudos demonstraram o efeito da terapia com MSCs no tratamento de condições inflamatórias, entretanto, há

indicativos de que a sua utilização pode apresentar riscos, tais como o aprisionamento de células nos microcapilares pulmonares após infusão intravenosa, sobrevida de curto prazo no corpo e rejeição imunológica após o transplante alogênico. Nesse sentido, novas estratégias terapêuticas são necessárias para diminuir os riscos associados a essa terapia. Objetivos: Gerar e caracterizar partículas de membrana plasmática derivadas de MSC. Métodos: MSCs do tecido adiposo epididimal de camundongos C57BL/6 machos e do córion humano foram utilizadas no experimento. Após cultura e expansão das MSCs, estas foram estimuladas com LPS e IFN- γ (para camundongos e humanos, respectivamente) para simular um ambiente inflamatório. As partículas de membrana foram geradas por lise celular e ultracentrifugação. Utilizou-se Nanoparticle Tracking Analysis para medir o tamanho e a concentração das partículas por ml de amostra. Além disso, a forma das partículas foi avaliada com microscópio confocal a partir da coloração com PKH26, corante inespecífico de membranas. Resultados e Conclusões: Obteve-se um tamanho modal de 125,9 nm e concentração média de 6,24 \pm 08 ml para as partículas de camundongo, e 149,2 nm e 9,17 \pm 08 ml para as partículas derivadas de humanos. A observação em microscópio confocal demonstrou que a morfologia predominante das partículas é arredondada. Dessa forma, as partículas possuem efeitos imunomodulatórios semelhantes aos das células mesenquimais íntegras. Entretanto, sua possível utilização como terapia celular possui vantagens, uma vez que seu diâmetro permite a passagem pelos microcapilares pulmonares evitando a retenção e a dificuldade de atingir a região alvo, como ocorre com as MSCs que possuem um tamanho cerca de 160 vezes maior (20 μ m). Portanto, acreditamos que o emprego das partículas de membrana na terapia celular possa ser uma estratégia eficaz e inovadora. Unitermos: Terapia livre de células; Células estromais mesenquimais; Partículas de membrana.

P1488

Análise do papel prognóstico de genes da autofagia em adenocarcinoma de pâncreas e carcinoma hepatocelular a partir do banco de dados TCGA

Stefano Walter Agatti, Eduardo Cremonese Filippi Chiela - HCPA

INTRODUÇÃO: autofagia é um processo pelo qual as células degradam componentes intracelulares próprios, através da via lisossomal, para manter a homeostase celular. O processo é dirigido pela família de proteínas Atg (autophagy-related proteins), e por proteínas adaptadoras que marcam molecularmente os conteúdos para a degradação. Entre estas destaca-se a proteína Sequestosome 1 (gene SQSTM1). Os genes de autofagia têm expressão alterada em diversos tipos de câncer, e esta alteração parece colaborar com o desenvolvimento da doença e um prognóstico pior. **OBJETIVO:** identificar a associação entre os níveis de expressão dos principais genes da autofagia e o prognóstico em carcinoma hepatocelular e adenocarcinoma pancreático. **METODOLOGIA:** a análise foi realizada a partir do banco de dados do programa TCGA (The Cancer Genome Atlas - National Cancer Institute, EUA), que coletou dados de 11.000 pacientes ao longo de 10 anos. Os cânceres avaliados foram adenocarcinoma de pâncreas (N=179) e carcinoma hepatocelular (N=470). Os genes (19) analisados foram: ULK1 (ATG1), ATG2A, ATG2B, ATG3, ATG4B, ATG4D, ATG5, BECN1 (ATG6), ATG7, ATG9A, ATG10, ATG12, ATG13, ATG14, ATG16L1, ATG101, SQSTM1, MAP1LC3A (ATG8E), MAP1LC3B (ATG8F). Para as análises, utilizamos o TCGA Browser (tcgabrowser.ethz.ch:3838/PROD) e o The Human Protein Atlas (THPA). No TCGA Browser, foram considerados os quartis extremos (quartis 1 e 4) para separação dos pacientes dos grupos 'low expression' e 'high expression' para cada gene. No THPA, por sua vez, foram obtidas as curvas de sobrevivência baseadas na separação com maior diferença estatística entre os grupos 'low' e 'high'. **RESULTADOS:** encontramos associação entre níveis de expressão de genes da autofagia e tempo de sobrevida em 10 genes no adenocarcinoma de pâncreas, sendo expressão baixa de ULK1, ATG2B, ATG4B, ATG4D, ATG6, ATG9A e MAP1LC3A e expressão elevada de ATG3, ATG7 e ATG16L1 associados à sobrevida reduzida; e no carcinoma hepatocelular os níveis elevados de todos os genes, com exceção de três, ATG2B, ATG101 e MAP1LC3A, se mostraram associados com prognóstico pior. **CONCLUSÃO:** nós observamos que os níveis expressados por genes de autofagia interferem na sobrevida dos pacientes acometidos por estes tumores em um perfil câncer-específico. Acreditamos, assim, que assinaturas gênicas específicas relacionadas ao estado autofágico podem ter potencial prognóstico nestes tipos tumorais. Unitermos: Câncer; Autofagia; Prognóstico.

P1542

Efeito do tratamento agudo com extrato de jabuticaba *Plinia trunciflora* (O. Berg) Kausel sobre atividade das enzimas antioxidantes em córtex cerebral de ratos wistar

Andresa Berger, Manuela Santos, Jéssica Pereira Marinho, Marina Rocha Frusciante, Luiz Fernando Lopes Silva, Tatiana do Amaral Baranguá, Isabel Cristina Teixeira Proença, Miriam Salvador, Caroline Dani, Cláudia Funchal - IPA

Introdução: A jabuticaba é considerada um alimento funcional devido aos seus efeitos benéficos à saúde. Essas propriedades podem ser atribuídas aos fitonutrientes, especialmente os compostos fenólicos. A jabuticaba possui importante atividade antioxidante in vitro, que tem sido atribuída principalmente aos flavonoides e antocianinas, que se concentram principalmente na casca da fruta. No entanto, estudos utilizando *Plinia trunciflora* (O. Berg) Kausel em modelos in vivo, ainda são escassos na literatura. **Objetivo:** Portanto, o objetivo deste estudo foi verificar o efeito do tratamento agudo com o extrato da casca de jabuticaba *Plinia trunciflora* (O. Berg) Kausel sobre atividade das enzimas antioxidantes Superóxido Dismutase (SOD) e Catalase (CAT) no córtex cerebral de ratos Wistar. **Metodologia:** Foram utilizados 32 ratos Wistar machos com 90 dias de idade, tratados uma única vez por gavagem com extrato da casca jabuticaba nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg de peso corporal. Após 24 horas do tratamento com o extrato, os animais foram eutanasiados e córtex cerebral foi extraído por dissecação, homogeneizado com solução de KCl a 1,5% e, em seguida, centrifugado a 800 X g por 10 minutos a 4° C. A atividade das enzimas antioxidantes CAT e SOD foram medidas. A análise estatística foi realizada por ANOVA seguida do pós-teste de Tukey (CEUA-IPA 004/2016). **RESULTADOS:** Com relação as defesas antioxidante enzimáticas, a enzima CAT em nosso estudo não apresentou alterações estatísticas significativas no córtex cerebral. No que se refere a enzima SOD, ocorreu uma elevação na dose de 50 mg/kg de jabuticaba no córtex cerebral, demonstrando uma melhora na atividade antioxidante, fortalecendo uma defesa primária contra o estresse oxidativo em baixas dosagens do extrato de jabuticaba. **CONCLUSÃO:** Podemos concluir que o extrato de jabuticaba *Plinia trunciflora* (O. Berg) Kausel em modelo experimental agudo, pode apresentar atividade antioxidante em doses baixas, pois aumenta a atividade da enzima SOD. No entanto, estudos complementares são necessários para elucidar as propriedades desta fruta na ingestão a longo prazo. Apoio financeiro: IPA, FAPERGS, CNPq, CAPES. Unitermos: Jabuticaba; Antioxidante; Enzimas antioxidantes.