

P 2952**Comparação de duas técnicas para avaliação da viabilidade de ilhotas pancreáticas: citometria de fluxo e coloração com FDA/PI**

Cristine Dieter, Natália Emerim Lemos, Jakeline Rheinheimer, Bianca Marmontel de Souza, Rodrigo Carlessi, Cristiane Bauermann Leitão, Andrea Carla Bauer, Daisy Crispim
Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA)

Introdução: O diabetes mellitus tipo 1 (DM1) é responsável por aproximadamente 10% de todos os casos de diabetes, e é causado por uma destruição autoimune das células-beta pancreáticas, fazendo com que os indivíduos necessitem tratamento com insulina para a sobrevivência. Em pacientes com DM1 instável, o transplante de ilhotas pancreáticas é uma opção terapêutica para restabelecer a secreção de insulina e melhorar o controle glicêmico. No entanto, o sucesso do transplante de ilhotas depende, em parte, do número de ilhotas isoladas e de fatores associados com sua qualidade, que são avaliados por testes funcionais e de viabilidade. Nesse contexto, o método comumente utilizado para avaliar a viabilidade das ilhotas [coloração com diacetato de fluoresceína (FDA)/iodeto de propídio (PI)] não é suficientemente acurado e novos métodos têm sido pesquisados, como a citometria de fluxo. **Objetivo:** Comparar duas técnicas usadas para avaliar viabilidade das ilhotas: citometria de fluxo e coloração com FDA/PI. **Metodologia:** Ilhotas isoladas de 10 ratos Wistar machos foram usadas para avaliação da viabilidade celular. Na coloração FDA/PI, as células vivas coram com FDA ganhando a cor verde, enquanto que células mortas coram com o PI em vermelho. Nesse caso, 50 ilhotas derivadas de cada animal eram analisadas por dois pesquisadores e o percentual de células vivas e mortas por ilhota era estimado. Para a citometria de fluxo as ilhotas eram dissociadas e as células já separadas eram incubadas com o fluoróforo 7AAD (identifica células necróticas/apoptóticas tardias) e com o anticorpo Anexina V-FITC (identifica células apoptóticas precoces). Nessa técnica, 100.000 células derivadas de cada animal eram analisadas no citômetro. **Resultados:** A correlação de Pearson entre as duas técnicas foi 0,6 ($p=0,047$), indicando uma correlação moderada. A média da viabilidade medida pela citometria de fluxo foi um pouco mais alta do que a média estimada pela coloração FDA/PI ($95,5 \pm 1,4\%$ vs. $89,5 \pm 5,0\%$; $p=0,002$). **Conclusão:** Embora a citometria de fluxo seja mais cara e mais demorada do que a coloração com FDA/PI, é uma técnica quantitativa e não subjetiva. Logo, a citometria de fluxo deve ser a técnica de escolha para uma determinação da viabilidade de ilhotas mais eficaz. Projeto aprovado pelo CEUA/HCPA. **Palavras-chaves:** Diabetes mellitus tipo 1, transplante de ilhotas, citometria de fluxo. Projeto 13-0166