

P 1004**Comparação da citometria de fluxo e da coloração FDA/PI para avaliação da viabilidade de ilhotas pancreáticas**

Cristine Dieter; Natália Emerim Lemos; Jakeline Rheinheimer; Bianca Marmontel de Souza; Rodrigo Carlessi; Cristiane Bauermann Leitão; Andrea Carla Bauer; Daisy Crispim - HCPA

Introdução: Diabetes mellitus tipo 1 (DM1) é responsável por aproximadamente 10% de todos os casos de diabetes, e é causada por destruição autoimune das células-beta, levando a dependência de insulina para a sobrevivência dos pacientes. 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 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 FDA/PI. Metodologia: Ilhotas isoladas de 10 ratos Wistar machos foram usadas para avaliar a viabilidade celular. Na coloração FDA/PI, as células vivas coram com o FDA ganhando a cor verde, enquanto que as 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 (o qual identifica células necróticas/apoptóticas tardias) e com o anticorpo monoclonal Anexina V-FITC (o qual identifica células apoptóticas precoces). Nessa técnica, 100.000 células 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. $89,5 \pm 5,0\%$, respectivamente, $p=0,002$). Conclusão: Embora a citometria de fluxo seja mais cara e mais demorada do que a coloração FDA/PI, é uma técnica quantitativa e não subjetiva. Logo, a citometria de fluxo deve ser a técnica de escolha para uma determinação mais eficaz da viabilidade de ilhotas. Unitermos: Diabetes Mellitus tipo 1; Transplante de ilhotas; Citometria de fluxo