

tecidos. Metodologia: O cultivo foi realizado em placas de 6 poços (2x10<sup>5</sup> células/poço), e as células mantidas em Dulbecco Modified Eagle Medium (DMEM), suplementado com 20% de soro fetal bovino e 1% de antibiótico. Para ensaios de caracterização as CTM foram diferenciadas em adipócitos, condrócitos e osteócitos. Análises de coloração de Periodic acid-Schiff (PAS) a fim de destacar a secreção de muco celular, avaliação da expressão de citoqueratina com anticorpo AE1/AE3 em microscopia confocal e avaliação estrutural de células associadas ao biomaterial por microscopia eletrônica de varredura (JEOL JSM 6060) foram realizadas. Projeto aprovado pelo comitê de ética HCPA (160527). Resultados: Com os resultados obtidos foi possível demonstrar a interação do PLGA/Plépox com CTM, visualizando a adesão e morfologia adequada das células no biomaterial. Em paralelo, as análises revelaram que as MSC continham uma alta proporção de macromoléculas de carboidratos, o que é importante para a regeneração tecidual. As células mantiveram a expressão de citoqueratina, proteína específica presente nos tecidos normais. Conclusão: A combinação entre PLGA/Plépox e CTM demonstra que o biomaterial é adequado para cocultura com o tipo celular testado. Este modelo, quando aplicado in vivo, pode vir a oferecer uma nova alternativa terapêutica para pacientes com a síndrome de MRKH. A viabilidade da combinação biomaterial e células ainda deve ser testada para investigar a eficácia e segurança do modelo, bem como garantir a possibilidade de utilização da combinação biomaterial + CTM para fins terapêuticos. Unitermos: Biomateriais; Células-tronco mesenquimais; Neovagina.

### P1258

#### **Caracterização de um novo inibidor peptídico de quimase: efeitos sobre alterações de permeabilidade, proliferação e migração de células vasculares**

Marina da Silva Medeiros, Pamela Zanon, Manoella Pugliese, Rafael Lopes da Rosa, Lucélia Santi, Walter Orlando Beys da Silva, Hugo Verli, Renata Cristina de Souza Ramos, Jorge Almeida Guimarães, Markus Berger - HCPA

Introdução. O aumento de permeabilidade vascular, proliferação e migração de células vasculares ocorre em uma série de eventos hipertróficos associados a alterações cardiovasculares como hipertensão, insuficiência cardíaca ou aneurisma de aorta. A angiotensina II (Ang II), que tem sua produção aumentada em várias dessas condições, pode ser gerada por quimase proveniente não só de células vasculares, mas também de células inflamatórias como mastócitos e neutrófilos. Neste trabalho descrevemos a caracterização farmacológica de um novo inibidor peptídico de serino-proteinases obtido das sementes de *Canavalia ensiformes* capaz de inibir quimase de mastócitos e de células da musculatura lisa de aorta. Metodologia. O inibidor foi isolado por métodos de cromatografia líquida e caracterizado por espectrometria de massas. As alterações vasculares foram estudadas in vivo em modelo de permeabilidade vascular em ratos e in vitro em cultura de células da musculatura lisa de aorta (linhagem A7r5). O projeto está aprovado no CEUA-HCPA 17-0333. Resultados. O inibidor (denominado CETI) foi purificado por cromatografia de troca aniônica e afinidade. Possui massa molecular de 8173 daltons, é um trímero em solução aquosa, a estrutura é rica em cisteínas, resistente à variações de temperatura e pH e apresenta duas alças inibitórias, uma capaz de bloquear tripsina (IC<sub>50</sub> = 21,68 nM) e outra capaz de bloquear quimase (IC<sub>50</sub> = 13,80 nM). É um inibidor não-competitivo de ligação rápida e forte para tripsina e um ligante tempo-dependente capaz de bloquear quimase de maneira competitiva. CETI é capaz de bloquear a atividade tipo-quimase de mastócitos isolados do peritônio de ratos previamente estimulados com carragenina e reduzir a permeabilidade vascular induzida pelo composto 48/80 in vivo. Quando cultivadas em meio hiperglicêmico (glicose 25 mM) houve um aumento da atividade de quimase em células vasculares e também aumento na capacidade de proliferação e migração dessas células. O tratamento prévio das células vasculares com CETI inibiu significativamente esses efeitos. Conclusão. O CETI reduz a permeabilidade, a proliferação e a migração mediadas por quimase em células vasculares, provavelmente por reduzir a formação de Ang II. Como a migração dependente de quimase induzida por Ang II envolve a geração de espécies reativas de oxigênio intracelular e óxido nítrico, experimentos estão em andamento para verificar os efeitos do CETI sobre esses eventos. Unitermos: Quimase; Inibidor; Vascular.

### P1259

#### **Análise proteômica da infecção causada por *Cryptococcus gattii*: alterações metabólicas e suas consequências para a progressão da patologia em pulmões de ratos experimentalmente infectados**

Rafael Lopes da Rosa, Markus Berger, Lucélia Santi, Walter Orlando Beys-da-Silva, Jorge Almeida Guimarães - UFRGS

Introdução: *Cryptococcus gattii* é o agente causador da criptococose, caracterizada como uma infecção oportunista que pode levar à pneumonia e meningite em indivíduos imunocompetentes. Estes efeitos são possíveis devido a capacidade do *C. gattii* evadir o sistema imunológico. No entanto, a base molecular do processo patogênico e o impacto no perfil metabólico do hospedeiro são pouco investigados e permanecem desconhecidos. Objetivo: Neste contexto, o presente trabalho buscou realizar uma análise abrangente do proteoma diferencial da infecção por *C. gattii* em pulmões de ratos. Metodologia: Toda a experimentação com animais foi aprovada pelo CEUA UFRGS n° 17423. Foram analisados dois grupos de ratos Wistar machos (n = 6/ grupo): um grupo infectado com a cepa R272 hipervirulenta de *C. gattii* e outro inoculado com a cepa avirulenta capΔ67 de *C. neoformans*. Após três dias, os pulmões dos ratos foram coletados, processados e realizada análise do proteoma em espectrômetro de massas pela técnica de MudPIT, a fim de identificar proteínas diferencialmente reguladas em cada uma das condições. Posteriormente, o proteoma resultante foi caracterizado através de ferramentas de bioinformática para identificar as vias bioquímicas e processos moleculares alterados durante a infecção. Os resultados foram validados in vitro, em ensaios de co-cultura de *C. gattii* com fibroblastos de pulmão de ratos (linhagem MRC-5), e in vivo, pela dosagem de biomarcadores no pulmão dos animais infectados. Resultados: Os resultados apontaram para uma mudança significativa na expressão proteica de pulmões infectados, principalmente em proteínas relacionadas ao metabolismo bioenergético. As principais vias afetadas incluem o ciclo glicolítico, o ciclo de Krebs, o metabolismo de pirimidina e purina, onde a maior parte de suas proteínas correspondentes foram encontradas reguladas positivamente. Os ensaios de co-cultura de *C. gattii* com células MRC-5 e análises bioquímicas de extratos pulmonares infectados confirmaram o estado metabólico alterado. Os níveis elevados de lactato desidrogenase (LDH) e de lactato demonstram que o tecido pulmonar infectado por *C. gattii* se encontra em anaerobiose, uma forma muito menos eficiente de obtenção energética, podendo levar o tecido a uma alta taxa de absorção de glicose como compensação. Conclusão: Os resultados aqui obtidos reforçam a importância das alterações no metabolismo bioenergético durante a infecção pulmonar por *C. gattii*. Unitermos: *Cryptococcus gattii*; Infecção; Proteoma.