

estímulo. É possível inferir que, nas condições testadas, a estimulação magnética aumenta os parâmetros de análise e pode ser uma alternativa para a regeneração de tecidos lesionados. Unitermos: Células-tronco mesenquimais; Estimulação magnética; Viabilidade celular.

P1319

Avaliação do perfil de cromatina em cortex pré-frontal de camundongos C57BL/6 submetidos ao modelo de depressão da bulbectomia olfatória e sob o tratamento crônico com guanosina

Camila Pocharski Barbosa, Arthur Noll, Helen Tais da Rosa, Diogo Onofre Gomes de Souza, José Claudio Fonseca Moreira, Roberto Farina de Almeida - UFRGS

O Transtorno Depressivo Maior (TDM) é a principal causa de incapacidade do mundo atual. Estudos recentes indicam que modificações epigenéticas, podem ser responsáveis por alterações na expressão gênica, o que pode levar a alterações na estrutura e função de inúmeras proteínas envolvidas na homeostase das funções cerebrais e, por conseguinte, modificar diversos padrões de comportamento. Com isso, nosso objetivo é investigar o perfil de sensibilidade da cromatina à DNase em regiões cerebrais relacionadas com a fisiopatologia da TDM em camundongos submetidos ao modelo de TDM da Bulbectomia Olfatória (OBX), além de investigar o efeito de um tratamento crônico com o nucleosídeo guanosina (GUO), cujo potencial antidepressivo vêm sendo demonstrado em estudos prévios. Para tal, camundongos C57BL/6 foram inicialmente alocados em dois grupos experimentais Sham e OBX. Duas semanas após a cirurgia, quando os animais OBX já apresentavam as alterações comportamentais do tipo depressiva iniciou-se o tratamento crônico (45 dias) ou com Salina (Sal) ou com GUO. Após o tratamento, diferentes estruturas cerebrais foram obtidas afim de se analisar os efeitos da OBX, assim como do tratamento crônico com GUO em parâmetros relacionados com a sensibilidade da cromatina a DNase tipo I. Nossos resultados preliminares sugerem que animais submetidos ao modelo da OBX exibem um aumento na compactação do DNA, visto que suas cromatinas são menos sensíveis a ação da DNase tipo I, quando comparados com os animais do grupo Sham Sal. Já os animais OBX tratados com GUO apresentam uma reversão das alterações induzidas pela OBX. Diante de tais achados, sugerimos que esta mudança no perfil da cromatina em animais OBX pode estar relacionada com alterações na expressão de proteínas importantes para a homeostase cerebral, e consequentemente com as alterações fenotípicas presentes nestes animais. Também, sugerimos que este efeito exercido pela GUO pode estar ter uma relação direta com sua ação antidepressiva. Assim, estes achados reforçam a possibilidade de que alterações epigenéticas estão associadas ao modelo da OBX, e desta forma estudos adicionais visando a análise parâmetros, como: metilação, acetilação, fosforilação, sumoilação de histonas, assim como metilação do DNA em diferentes regiões promotoras de genes intimamente relacionados com o TDM são extremamente importantes, e poderão ajudar a melhor entender os mecanismos epigenéticos relacionados com a TDM. Unitermos: Epigenética; Depressão; Guanosina.

P1321

Ação da melatonina no modelo experimental de esteato-hepatite não alcoólica em camundongos

Fabiano Moraes Miguel, Renata Minuzzo Hartmann, Francielli Licks, Elizângela Gonçalves Schemitt, Josieli Raskopf Colares, Cláudio Augusto Marroni, Norma Anair Possa Marroni - HCPA

Introdução: A esteato-hepatite não alcoólica (EHNA) é uma doença de alta incidência, difícil diagnóstico e tratamento ainda não efetivo, incentiva o uso de modelos experimentais para estudar as vias de seu desenvolvimento, bem como tentativas de tratamento. Objetivo: Avaliar o efeito da melatonina (MLT) sobre o tecido hepático em camundongos com EHNA induzida por dieta deficiente em metionina e colina (MCD), na tentativa de elucidar a ação desse antioxidante no modelo experimental. Método: Foram utilizados 34 camundongos C57BL / 6 machos com 8 semanas de idade. Os animais foram divididos aleatoriamente em 4 grupos: controle (CO), controle + MLT (CO + MLT), (EHNA) e EHNA tratados com melatonina (EHNA + MLT). A indução da EHNA foi realizada por dieta MCD durante 4 semanas e administração de MLT durante 14 dias na dose de 20 mg / kg de peso corporal (# 2015-4P CEUA / ULBRA) a partir do 15º dia. O tecido hepático foi removido para avaliação da lipoperoxidação (TBARS), bem como para análise das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutatona peroxidase (GPx), expressão por imunistoquímica do Nrf2, do TNF- α , iNOS e TGF- β e análise histológica hematoxilina e eosina e picrossírius. A análise estatística foi ANOVA seguida de Student-Newman-Keuls (média \pm DP), com $p < 0,05$ considerado significativo. Resultados: Na avaliação do TBARS o grupo EHNA+MLT apresentou redução significativa ($p < 0,001$) em relação ao grupo EHNA. A atividade da CAT no grupo EHNA+MLT reduziu significativa ($p < 0,05$) comparado ao grupo EHNA. A MLT aumentou significativamente a atividade da GPx em relação ao EHNA ($p < 0,05$) e a expressão de Nrf2. Quando avaliamos a expressão do TNF- α , iNOS e TGF- β observamos que a MLT reduziu significativamente ($p < 0,001$) no grupo EHNA+MLT em relação ao grupo EHNA. Na histologia por HE, a administração de MLT diminuiu o processo inflamatório, a balonização e as macro vesículas de lipídios em comparação ao grupo EHNA. Na análise histológica por picrossírius, observa-se redução significativa ($p < 0,01$) na expressão de colágeno no grupo EHNA+MLT em comparação ao grupo EHNA. Conclusão: A Melatonina parece ser eficaz no tratamento da EHNA no modelo experimental induzido pela dieta MCD, reestruturando o tecido hepático, diminuindo o estresse oxidativo e o processo inflamatório. Unitermos: Estresse oxidativo; Melatonina; Processo inflamatório.

P1325

Ação do metilglioxal sobre o metabolismo mitocondrial em linhagem de cardiomiócitos H9C2

Aline Gonçalves da Silva, Juliana Oliveira Rangel, Amanda Lopes, Michael Everton Andrades, Santiago Alonso Tobar Leitão, Nadine Oliveira Clausell - UFRGS

Introdução: os AGEs (Advanced Glycation End-Products) são um grupo heterogêneo de moléculas formadas por reações de açúcares reduzidos com proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos. Eles se acumulam no corpo conforme envelhecimento e sua deposição é acelerada por certas condições patológicas, como o diabetes. O metilglioxal (MGO) é um subproduto do metabolismo da glicose que participa diretamente da formação endógena dos produtos de glicação. Os AGEs exercem um importante papel no desenvolvimento e progressão das doenças cardiovasculares. Evidências sugerem que a ação deletéria dos AGEs sobre os cardiomiócitos se dá por afetar a dinâmica, respiração e fosforilação oxidativa mitocondrial. Objetivo: avaliar a ação do MGO sobre o metabolismo mitocondrial em linhagem de cardiomiócitos H9C2. Metodologia: a linhagem comercial H9C2, constituída de mioblastos de miocárdio de rato, foi cultivada em meio suplementado apropriado. A concentração de MGO para o tratamento das células foi determinada utilizando uma curva de dose-resposta com concentrações variadas de MGO (1 – 1000 μ M de MGO) e quantificadas

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