

lactato marcado para os mesmos grupos. A análise dos níveis de aminoácidos no líquor por HPLC demonstram um aumento no pico de Ser/His em todos os grupos experimentais quando comparados com o controle (SS) ( $P < 0,05$ ), bem como um aumento estatístico no pico de Asp no grupo ICTX em comparação com o SCTX ( $P < 0,01$ ). Esses resultados apontam para um efeito do pré-tratamento com CTX que vai além da modulação do sistema glutamatérgico, causando alterações que ditam a utilização de substratos energéticos pelas células neurais. Maiores investigações são necessárias para elucidar os mecanismos pelos quais a CTX exerce esses efeitos. Unitermos: Ceftriaxona; Isquemia cerebral; Metabolismo energético.

### P1192

#### **Estimulação magnética estática diminui viabilidade das células SH-SY5Y**

Maryane Monteiro Estrella, Helouise Richardt Medeiros, Martina Stapenhorst, Paulo Roberto Stefani, Paula Barros Terraciano, Viviane Almeida, Fernanda S. de Oliveira, Elizabeth Cirne-Lima, Iraci Lucena da Silva Torres - HCPA

A Estimulação Magnética tem sido utilizada no tratamento de várias patologias do sistema nervoso, mas a compreensão do exato mecanismo de ação dessa técnica na resposta celular precisa ser melhor investigado. Assim, o objetivo principal deste estudo foi estabelecer, em cultura celular, um método de Estimulação Magnética Estática (EME). Para isso, foi desenvolvido um suporte de placa de cultura com ímãs NeFeB. As células se adaptaram de forma adequada ao novo ambiente, apresentando aderência e crescimento adequados à superfície da placa. Os experimentos foram realizados aplicando 24 horas de EME com intensidade de 0,3T em culturas de diferentes tipos celulares. Utilizamos células SH-SY5Y, células de melanoma vaginal, SH-SY5Y diferenciadas em células neuronais e células mesenquimais derivadas de adipócitos. Cada tipo celular foi dividido em 2 grupos estimulados e não estimulados, que foram subdivididos em: avaliados imediatamente e 24h após o final da exposição. Para verificar a resposta celular ao EME, foram avaliados os parâmetros de toxicidade, morte celular, neuroplasticidade, por meio da expressão do BDNF e avaliação do ciclo celular. Este estudo foi aprovado pela CEUA/HCPA (no. 15-0567) e registrado na plataforma Brasil (no. 57361416.1.0000.5327). Os dados foram analisados pelos teste não paramétrico Kruskal Wallis, e considerado diferença estatisticamente significativa com um  $P < 0,05$ . Os resultados demonstraram diminuição estatisticamente significativa na viabilidade celular das células SH-SY5Y indiferenciadas imediatamente após EME (Kruskal Wallis,  $P < 0,05$ ). Porém, não houve morte celular ou parada do ciclo nas SH-SY5Y em relação ao seu controle (Kruskal Wallis,  $P > 0,05$ ). Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos nos outros tipos celulares em nenhum dos parâmetros avaliados ( $P > 0,05$ ). Estes resultados sugerem que o EME é uma técnica segura, que em células com morfologia normal não induziu alterações importantes nos parâmetros avaliados e em tumores de células não neuronais não alterou o crescimento celular. A diminuição da viabilidade celular em células SH-SY5Y indiferenciadas é um resultado surpreendente e favorável, considerando que esta é uma linhagem celular tumoral. Novos estudos são necessários buscando melhor esclarecer os resultados encontrados. Suporte Financeiro: FIPE/GPPG-HCPA, PRAE-URGS, CNPq-UFRGS, CAPES, FINEP. Unitermos: Neuromodulação; SH-SY5Y; Estimulação Magnética Estática.

### P1228

#### **Modelo animal de indução de infertilidade com cisplatina em camundongos fêmeas**

Bruna Gomes dos Santos, Laura Silveira Ayres, Markus Berger, Isabel Cirne Lima de Oliveira Durli, Cristiana Palma Kuhl, Paula Barros Terraciano, Francine Hehn de Oliveira, Eduardo Pandolfi Passos, Elizabeth Obino Cirne-Lima - HCPA

**Introdução-** O tratamento para o câncer pode afetar o sistema endócrino e o sistema reprodutivo. Portanto, é necessário realizar novos estudos almejando a preservação da fertilidade desses pacientes e estabelecendo um protocolo quimioterápico em modelo animal. **Objetivos-** Desenvolver um protocolo para avaliar a toxicidade da Cisplatina sobre o tecido ovariano em camundongos fêmeas. **Metodologia-** Foram utilizados camundongos fêmeas C57Bl/6 adultos jovens ( $n=18$ ). O protocolo consistiu em 5 injeções intraperitoneais de 2,5 mg.kg<sup>-1</sup> de cisplatina aplicadas em duas rodadas com um intervalo de 7 dias entre as aplicações para o grupo tratado ( $n=9$ ). Seguindo o mesmo protocolo o grupo controle ( $n=9$ ) recebeu solução fisiológica. Os animais foram pesados diariamente. O ciclo estral foi avaliado por cinco dias antes e após o tratamento. No momento da eutanásia, foram coletadas amostras de sangue e os ovários de cada animal. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do HCPA (no 170420) **Resultados-** Os pesos dos animais de ambos os grupos se mantiveram semelhantes antes e depois do tratamento. Quanto à citologia vaginal, cinco dias após o término do protocolo, todos os animais do grupo controle entraram em estro. O grupo cisplatina apresentou 44,4% dos camundongos com fases de influência estrogênica. Apenas 2 (22,2%) dos camundongos entraram em estro, um resultado esperado pois a cisplatina apresenta um risco médio de amenorréia. A contagem de folículos ovarianos foi semelhante entre os grupos controle e o grupo tratado para os folículos primordiais, primários e secundários. Já a contagem de folículos antrais, foi maior no grupo controle ( $p=0.011$ ), assim como para os folículos viáveis totais ( $p=0.006$ ) em comparação ao grupo tratado. A contagem de folículos atresícos foi maior no grupo tratado com cisplatina em comparação ao grupo controle ( $p=0.014$ ). No teste de imunohistoquímica para o marcador de proliferação celular Ki67, o percentual de áreas marcadas foi semelhante entre os grupos, o que era esperado pois a cisplatina induz a degeneração folicular, aumentando o FSH e recrutando novos folículos que também entram em atresia. **Conclusões-** O protocolo desenvolvido neste estudo permitiu mimetizar os protocolos de quimioterapia utilizados em humanos e induziu a infertilidade de acordo com o observado na literatura. Esse modelo serve como base para futuros estudos sobre a toxicidade da cisplatina para o tecido ovariano. Unitermos: Cisplatina; Fertilidade; Ovários.

### P1233

#### **Efeitos do tratamento com inibidor de mtor em células de pacientes com esclerose tuberosa**

Clévia Rosset, Mariane Jaeger, Eduardo C. F. Chiela, Larissa Brussa Reis, Ivaine Taís Sauthier Sartor, Cristina Brinckmann Oliveira Netto, Caroline Brunetto de Farias, Rafael Roesler, Patricia Ashton-Prolla - HCPA

**Introdução.** A esclerose tuberosa (TSC) é uma síndrome hereditária autossômica dominante causada por mutações de perda de função nos genes TSC1 ou TSC2, que codificam proteínas que agem na supressão de mTOR, um regulador mestre do crescimento celular. Inibidores de mTOR são utilizados e investigados para várias indicações em pacientes com esclerose tuberosa. Entretanto, ainda não se sabe se existem diferentes respostas ao tratamento com esses inibidores de acordo com as diferentes mutações apresentadas pelos pacientes. **Objetivo.** O objetivo deste trabalho foi avaliar o mecanismo de ação molecular e efeito do inibidor de mTOR rapamicina em células de indivíduos com diferentes mutações germinativas em TSC1 ou TSC2. **Métodos.** Biópsias de pele de aparência normal foram obtidas de cinco mulheres diagnosticadas com TSC e com mutação identificada (duas em TSC1 e três em TSC2) e de dois indivíduos sem mutação em ambos os genes. Os participantes assinaram Termo de Consentimento Livre e

Esclarecido aprovado pelo CEP-HCPA e registrado no GPPG-HCPA sob número 15-0049. Culturas primárias de fibroblastos foram estabelecidas e utilizadas para avaliar viabilidade celular, progressão do ciclo celular, autofagia e expressão gênica e proteica nos diferentes casos. Resultados. Não foram observadas diferenças na viabilidade e ciclo celular entre os grupos com e sem mutação. A autofagia parece diminuída em células com mutação; após o tratamento com rapamicina, o aumento do número de células autofágicas é maior no grupo com mutação ( $p=0.039$ ). Ainda, um gene sensor de nutrientes na célula (GATSL2) e um gene pró-apoptótico (PRR5L) foram diferencialmente expressos entre os grupos com e sem mutação após o tratamento com rapamicina. No entanto, os níveis das proteínas correspondentes a esses genes, avaliados por Western Blot, não foram significativamente alterados entre os grupos. Não foi possível observar correlação entre os tipos de mutação e a resposta ao tratamento com rapamicina. Conclusão. A autofagia é uma das funções celulares que parece estar alterada em células com mutação em TSC1 ou TSC2, e pode ser um dos processos celulares alvo no tratamento da esclerose tuberosa. Estudos com um número maior de indivíduos são necessários para avaliar a correlação entre os tipos de mutação e a resposta aos inibidores de mTOR, o que proporcionaria um tratamento personalizado para estes pacientes. Unitermos: Esclerose tuberosa; Inibidores de MTOR; Rapamicina.

### P1234

#### **Células-tronco: efeitos do lipopolissacarídeo bacteriano (Lps) na atividade celular**

Raquel de Almeida Schneider, Tuane Nerissa Alves Garcez, Paula Barros Terraciano, Markus Berger, Débora Helena Zanini Gotardi, Isabel Cirne Lima de Oliveira Durlí, Cristiana Palma Kuhl, Fernanda dos Santos de Oliveira, Elizabeth Obino Cirne Lima, Emerson Antonio Contesini - HCPA

Introdução: Células-tronco mesenquimais (CTM) derivadas de tecido adiposo podem atuar como facilitadores dos processos de reparação e regeneração suprimindo a liberação de citocinas pró-inflamatórias e estimulando aquelas de natureza anti-inflamatória, regulando a resposta imunológica. Devido às propriedades imunomoduladoras inerentes a este tipo celular, estão em investigação clínica para uma variedade de aplicações terapêuticas. Recentemente tiveram atividade antibacteriana de amplo espectro demonstrada, porém os dados sobre a interação entre as células-tronco e os patógenos microbianos ainda são escassos. Objetivos: Investigar o impacto do lipopolissacarídeo bacteriano (LPS) na proliferação celular, atividade metabólica e secreção de peptídeo mieloide antibacteriano porcino (PMAP-23) em cultura in vitro de CTM de tecido adiposo suínas. Metodologia: As CTM foram cultivadas com meio DMEM suplementado com 20% de soro fetal bovino e 1% de antibiótico (penicilina/estreptomicina) em densidade  $1 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup> em placas de 24 poços na terceira passagem. No terceiro dia (D0), as células foram incubadas com 10 µg/mL de LPS originado de *Escherichia coli* 0111:B4. No grupo controle, o meio foi suplementado com PBS em volume similar. A incubação com LPS foi mantida por curto tempo (1 dia após desafio) ou por longo tempo (7 dias após desafio). Após a incubação, as células foram testadas para determinar proliferação por ensaio com sulfurodamina, atividade metabólica por MTT e quantificação de PMAP-23 por ELISA. Resultados: A proliferação celular não foi afetada pelo LPS, porém a atividade metabólica mitocondrial aumentou na exposição a longo tempo ( $p=0.001$ ). Além disso, a secreção de PMAP-23 aumentou nos grupos expostos ao LPS ( $p<0.04$ ). Conclusão: Neste estudo, mostramos o impacto do lipopolissacarídeo (LPS) no aumento da atividade metabólica e da secreção PMAP-23 de CTM derivadas do tecido adiposo porcino, encorajando uma investigação adicional de seu potencial benefício terapêutico, mesmo em um ambiente rico em toxinas bacterianas. Unitermos: Célula-tronco mesenquimal; Antimicrobiano; LPS.

### P1245

#### **Efeito da estimulação magnética estática prévia na viabilidade e na morte celular de modelo in vitro da Doença de Parkinson**

Martina Caroline Stapenhorst, Helouise Richardt Medeiros, Fernanda dos Santos de Oliveira, Iraci Lucena da Silva Torres, Paulo Roberto Stefani Sanches, Fábio Klamt, Elizabeth Obino Cirne-Lima - HCPA

Técnicas de estimulação magnética cerebral têm sido amplamente utilizadas no tratamento de doenças do sistema nervoso, como a doença de Parkinson (DP), mas seu real mecanismo de ação e efeito em modelos celulares carece de maiores investigações, principalmente no que concerne à DP. Além disso, o estudo de tratamentos neuroprotetores sobre modelos celulares da doença vem ganhando espaço, e a utilização de campos magnéticos estáticos para este fim ainda não está descrita. Desta maneira, o objetivo principal deste trabalho foi investigar os efeitos neuroprotetores da Estimulação Magnética Estática (EME) em células de neuroblastoma humano SH-SY5Y diferenciado com ácido retinoico com toxicidade induzida por 6-hidroxidopamina (6-OHDA). As células foram expostas por 24h à EME em um suporte para placas de 24 poços com ímãs cilíndricos NeFeB (neodímio-ferro-boro) a uma intensidade de 0,3 T e posteriormente tratadas com 6-OHDA. O projeto foi avaliado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) e aprovado sob registro nº 17-0670. A diferenciação celular foi confirmada pela projeção de neuritos emitidos pelas células. A viabilidade celular foi avaliada a partir do ensaio de MTT e a morte celular pela coloração com iodeto de propídeo (PI) e Hoescht\_33342 (HO). A EME aplicada anteriormente ao tratamento com 6-OHDA aumentou a morte celular em comparação com o grupo que não sofreu o protocolo de estimulação magnética ( $p<0,05$ ). Tal resultado aponta para uma possível sensibilização das células à 6-OHDA quando a EME é aplicada previamente. Estes achados ilustram a importância de estudos que avaliam a utilização dos campos magnéticos estáticos sobre modelos de células neuronais, para melhor compreensão de seu mecanismo de ação. Unitermos: 6-OHDA; Células SH-SY5Y; Neuroproteção.

### P1257

#### **Interação célula-tronco mesenquimal X PLGA/PIEPOX para desenvolvimento de neovagina: ensaios in vitro**

Gabriela Barella Schmidt, Nicole Andréa Corbellini Henckes, Jaqueline Christine Dias Festa, Dalana Faleiro, Nayrim Brizuela, Luis Alberto Loureiro dos Santos, Paula Barros Terraciano, Eduardo Pandolfi Passos, Fernanda dos Santos de Oliveira, Elizabeth Obino - HCPA

Introdução: A Síndrome de Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser (MRKH) é caracterizada por agenesia completa ou parcial da vagina, requerendo reparação vaginal cirúrgica, que pode ser realizada em combinação com engenharia de tecidos. Neste sentido, ofertar alternativas terapêuticas mais eficientes e que minimizem os desconfortos das pacientes é necessário. Células-tronco mesenquimais (CTM) são conhecidas pela sua multipotencialidade, capacidade de diferenciação, propriedades imunomodulatórias e ação parácrina, pela secreção de diversos fatores. A associação de biomateriais às CTM podem promover o reparo tecidual de forma mais eficiente e segura contribuindo para uma cicatrização mais adequada e em menor tempo. Objetivo: Avaliar a capacidade de interação in vitro entre CTM e Poli ácido láctico-co-ácido glicólico(PLGA)/Poliisopreno epoxidado(Plepox) para uso na engenharia de