

apresentaram aumento do alongamento celular quando comparados ao grupo LPS, tanto em macrófagos RAW 264.7 quanto em macrófagos de cultura primária ( $p < 0,05$ ). Ambos os resultados apontam para uma polarização de macrófagos no perfil M2. O ensaio de fagocitose demonstrou que as MP são englobadas pelos macrófagos; sugerindo que o efeito imunomodulador das MP se daria devido a interação célula-célula com os macrófagos, o que as torna uma potencial terapia livre de células.

2079

### **CAMUNDONGOS AG/WT, BALB/C, C57, DBA1/J E RATOS WISTAR APRESENTAM COMPORTAMENTOS DIFERENTES NA DESCALCIFICAÇÃO COM SOLUÇÃO DE ÁCIDO NÍTRICO E EDTA**

EDUARDA CORREA FREITAS; SUELEN PIZZOLATTO DALMOLIN; FRANCINE HEHN DE OLIVEIRA; MATEUS MÜLLER DA SILVA; EMILY FERREIRA SALLES PILAR  
HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

**Introdução:** O processo de descalcificação de amostras mineralizadas para análise microscópica em patologia é um desafio. O equilíbrio entre o tempo de descalcificação, preservação da integridade do tecido e o custo é desejável. **Objetivo:** Avaliar o efeito da solução de ácido nítrico e EDTA na descalcificação da articulação tíbio-tarsal de camundongos AG/WT, BALB/c, C57, DBA1/J e ratos Wistar. **Materiais e Métodos:** Após a eutanásia, as patas posteriores foram removidas e colocadas em formalina tamponada 10% por até 72 horas. Os espécimes de cada linhagem foram divididas aleatoriamente em três grupos: (1) Solução de ácido nítrico 10%, (2) Solução de EDTA 12,5% à temperatura ambiente e (3) Solução de EDTA 12,5% à temperatura 35°C e agitação. As soluções de desmineralização foram substituídas a cada 24 horas. As seções articulares foram cortadas em micrótomo e coradas com hematoxilina de Harris e eosina (HE). Os seguintes parâmetros foram avaliados: tempo de descalcificação, variação de massa, facilidade de corte, preservação da basofilia nuclear e detalhamento intranuclear, intensidade da coloração da eosina e custos da descalcificação. **Resultados:** A solução de ácido nítrico 10% apresentou o menor tempo de descalcificação. A solução de 12,5% de EDTA com agitação e aquecimento a 35°C não foi capaz de diminuir os dias em que as amostras permaneceram na solução de descalcificação em nenhuma das linhagens. Todas as soluções de descalcificação reduziram a massa dos espécimes. Os protocolos de descalcificação apresentaram percepções heterogêneas para facilidade de corte e coloração de HE para cada linhagem. Os custos estiveram diretamente relacionados ao tempo de descalcificação para concluir a desmineralização dos espécimes. **Conclusão:** A solução EDTA apresenta a melhor qualidade na coloração para a linhagens AG/WT, BALB/c, C57 e DBA1/J. Os espécimes de ratos Wistar também mostraram preservação da coloração nas amostras descalcificadas em ácido nítrico a 10%. A análise histológica mostrou que as linhagens não se comportam de forma idêntica nos parâmetros avaliados. O comportamento das amostras de linhagens de camundongos é mais semelhante do que ao observado nos ratos Wistar.

**PALAVRAS CHAVE:** osso; descalcificação; desmineralização; ácido etilendiaminotetracético (EDTA); articulação; ácido nítrico.

2113

### **PADRONIZAÇÃO DE UM PROTOCOLO DE EXTRAÇÃO ORGÂNICA DE DNA DE SIPF PARA USO NA CONFIRMAÇÃO DE CASOS ALTERADOS NA TRIAGEM NEONATAL DE DOENÇAS LISSOSSÔMICAS SELECIONADAS**

ALICE BRINCKMANN OLIVEIRA NETTO; DIANA ELIZABETH ROJAS MÁLAGA; FRANCYNE KUBASKI; FRANCIELE BARBOSA TRAPP; ROBERTO GIUGLIANI; ANA CAROLINA BRUSIUS-FACCHIN  
HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

A Triagem Neonatal, Teste do Pezinho (TP), é o rastreamento neonatal de crianças portadoras de doenças que devem ser diagnosticadas e tratadas o mais precocemente possível a fim de evitar sequelas para o paciente. As doenças lisossômicas (DL) são um grupo de doenças onde há acúmulo progressivo de substâncias não metabolizadas, no interior do lisossomo, devido a uma deficiência enzimática. Os pacientes geralmente são assintomáticos ao nascimento, mas apresentam progressão rápida da doença e manifestações irreversíveis. Atualmente, nenhuma DL faz parte do TP disponibilizado pelo SUS, de maneira que a inclusão dessas doenças no TP terá um ganho significativo na qualidade de vida futura dos recém-nascidos. A triagem é composta por um conjunto de exames realizados a partir de gotas de sangue do bebê que são impregnadas em papel filtro (SIPF), dentre eles diferentes testes bioquímicos. Além disso, o SIPF pode ser utilizado para a extração de DNA do paciente a ser empregado nas diferentes metodologias moleculares, como PCR, qPCR, MLPA, Sequenciamento de Sanger, Sequenciamento de Nova Geração (NGS), etc. O objetivo do presente estudo é padronizar um método de extração orgânica de DNA de SIPF proveniente do TP utilizando uma quantidade mínima de amostra, 3 spots de 3mm, a ser utilizado no Sequenciamento de Nova Geração, o qual necessita de uma menor concentração de DNA (2ng/uL). O estabelecimento de um novo protocolo de extração possibilita que o SIPF do TP, enviado ao Serviço de Genética Médica para testes enzimáticos, de demanda assistencial do HCPA e de convênios externos, seja reaproveitado na análise molecular, o que reduz significativamente o tempo de confirmação diagnóstica. Uma vez estabelecida a padronização do método, serão usados SIPF de pacientes com diagnóstico bioquímico prévio de doença de Gaucher, doença de Fabry, doença de Pompe, doença de Krabbe, doença NP A/B e MPS I, que possuam amostras de SIPF armazenadas no SGM do HCPA, para confirmação do diagnóstico bioquímico inicial. Os resultados preliminares demonstram eficiência na padronização do protocolo de extração orgânica, chegando a uma concentração média de 14,7 ng/ul de DNA nas amostras controle, sendo possível também desenvolver as metodologias de PCR, qPCR e Sequenciamento de Sanger. Até o momento foram analisados dois pacientes do TP por Sequenciamento de Nova Geração, possibilitando a determinação do genótipo dos mesmos.