

3097

INTERAÇÃO ENTRE CÉLULAS TRONCO ADIPODERIVADAS E SCAFFOLD DE POLI (ÁCIDO LÁTICO-CO-GLICÓLICO) E POLI (ISOPRENO) EPOX CONFECCIONADO A PARTIR DE CENTRIFUGAL SPINNIN: ESTUDO IN VITRO

BRUNA GOMES DOS SANTOS; EMANUELLE BORTOLOTTI DEGREGORI; FERNANDA DOS SANTOS DE OLIVEIRA; LUIS ALBERTO LOUREIRO DOS SANTOS; ELIZABETH OBINO CIRNE-LIMA; NICOLE ANDRÉA CORBELLINI HENCKES; NATHALIA FRANCO; CRISTIANA PALMA KUHL

UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Introdução- A engenharia de tecidos tem como objetivo a substituição, a regeneração ou a manutenção de órgãos e tecidos. A terapêutica envolvida compreende o uso de células associadas à arcabouços. **Objetivo-** Avaliar a interação entre células estromais derivadas do tecido adiposo com scaffold de PLGA/PI epox, confeccionado a partir da técnica de centrifugal spinning, através de testes de adesão celular, viabilidade e morfologia. Além disso, preconizou-se o estabelecimento da melhor densidade e período de cultivo, aspirando máxima performance biomaterial-células. **Metodologia-** O projeto teve anuência do Comitê de Bioética do HCPA (2019-0136). O biomaterial foi doado pelo Laboratório de Biomateriais (LABIOMAT) da UFRGS e as células foram cultivadas de tecido adiposo, obtidas a partir de cirurgias de lipoaspiração. As características celulares, a diferenciação osteogênica e a adipogênica bem como expressão de marcadores de superfície, caracterizaram as células utilizadas como tronco mesenquimais. A partir das imagens capturadas por microscopia eletrônica de varredura foi possível a observação de fibras porosas, entrelaçadas entre si, porém sem sentido regular. O diâmetro das fibras foi mensurado a partir do software ImageJ®, que demonstrou média de $3,61 \pm 2,81 \mu\text{m}$, tendo maior frequência de $1 \mu\text{m}$. **Resultados-** O ImageJ® teste possibilitou a constatação da perfeita adesão celular, com emissão de pseudópodes celulares às fibras. Através do teste de viabilidade celular (MTT) foi demonstrado caráter biocompatível do biomaterial, pois o mesmo demonstrou atoxicidade perante a cultura celular, mantendo a proliferação das mesmas. Foi evidenciada estabilidade na expressão de proteínas do citoesqueleto, através da coloração da citoqueratina celular. A contagem celular foi realizada por meio de coloração nuclear com DAPI. Fundamentado neste teste e nos demais conclui-se que com o passar do tempo, há uma tendência ao descolamento celular devido a forças moleculares atuantes na interação entre o arcabouço e as células, sendo mais favorável a permanência de incubação de 24 horas. Ademais, o plaqueamento de $1,3 \times 10^5$ foi mais eficaz. **Conclusões-** Baseado nestes resultados, a associação entre PLGA/PI epox e células mesenquimais adipoderivadas podem ser consideradas para futuros estudos in vitro na engenharia de tecidos.

Palavras-chave: Adesão Celular. Biomaterial. Células Tronco Adipoderivadas.

Centrifugal Spinning. Engenharia de Tecidos. PLGA/PI epox.

3124

A INFLUÊNCIA DE EZH2 NO PERFIL TRONCO-TUMORAL DE ADENOCARCINOMA DUCTAL PANCREÁTICO

TAMIRES PIRES LUCCA; KENDI NISHINO MIYAMOTO; PATRICIA LUCIANA DA COSTA LOPEZ

HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Existem evidências de que, assim como os fatores genéticos, as modificações epigenéticas também contribuem para a carcinogênese. Esse processo pode levar à perda da capacidade de diferenciação celular e, conseqüentemente, ao fenótipo de uma célula tronco tumoral. Nesse contexto, o gene EZH2 codifica uma das subunidades catalíticas do Complexo Repressivo Polycomb 2 (PRC2), que é responsável por trimetilizar a histona H3 e reprimir epigeneticamente a transcrição de genes relacionados à regulação do ciclo celular, promovendo um aumento na proliferação e prolongando a sobrevivência das células tumorais. Estudos também mostram que, em diferentes tipos de tumores, EZH2 possui uma função relevante na manutenção das propriedades das células tronco tumorais, aumentando a capacidade de auto-renovação dessas células. Assim, o presente trabalho busca esclarecer como a expressão de EZH2 correlaciona-se com marcadores de pluripotência. A fim de compreender essas correlações, foi utilizado como modelo dados transcritômicos de amostras de adenocarcinoma ductal pancreático (PDAC). A partir disso, com o auxílio da base de dados transcriptômicos GEO, realizou-se a busca por dados de microarranjo para identificar a expressão gênica de amostras de PDAC e comparar com um tecido pancreático saudável, a fim de encontrar genes cuja expressão diferencial estejam associados com pluripotência. Após a seleção dos projetos que possuíam amostras de tecido primário de PDAC e de tecido sadio, foram efetuadas análises de expressão diferencial, com enfoque para a expressão de EZH2 e de marcadores de pluripotência, com o software R, utilizando os pacotes GEOquery e Limma. Nessa análise, foram encontradas superexpressões significativas dos genes EZH2, KLF4 e SOX4 nas amostras tumorais em relação ao tecido sadio. Pretendemos, posteriormente, correlacionar essas expressões e, conseqüentemente, compreender a influência da alta expressão do EZH2 com o fenótipo de pluripotência. Esse trabalho de pesquisa faz parte de um projeto que irá avaliar experimentalmente as correlações encontradas.

3134

EFETO TOPDOWN DA ESTIMULAÇÃO TRANSCRANIANA POR CORRENTE CONTÍNUA (ETCC) SOBRE ALTERAÇÕES NEUROTRÓFICAS INDUZIDAS POR ESTRESSE EM RATOS.

ETIANE MICHELI MEYER CALLAI; ADRIANA VIZUETE; LUCIANA SANTA CATARINA; ELISSA FERNANDES; ADRIANA CORSETTI; ANGELO LUIZ FREDDO; DEISE PONZONI; CARLOS ALBERTO SARAIVA GONÇALVES; EDELA PURICELLI; ALEXANDRE QUEVEDO

UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

INTRODUÇÃO: O estresse está presente na vida moderna e tem repercussões em diversos sistemas do organismo, podendo desestabilizar a homeostase sistêmica. A Estimulação Transcraniana por Corrente Contínua (ETCC) tem se mostrado

promissora no tratamento de diversas patologias neuropsiquiátricas, e pode ser uma alternativa para minimizar os efeitos deletérios do estresse sobre o sistema nervoso central. **OBJETIVO:** Mensurar impacto da ETCC nos níveis de brain-derived neurotrophic factor (BDNF) em medula espinhal de ratos expostos a estresse por imobilização. **MÉTODOS:** Ratos Wistar, machos, de 2 meses de idade (n=100) foram imobilizados por 20 minutos. Alguns animais receberam uma sessão de ETCC bimodal (500 μ A), enquanto outros uma simulação de tratamento (sham- ETCC) durante a imobilização. Os animais foram eutanasiados após a intervenção de acordo com os seus grupos (30, 60, 12 min ou 24 horas). Os animais do grupo controle não receberam qualquer tratamento. Desta forma, os animais foram alocados em 10 grupos: ETCC 30, ETCC 60, ETCC 120, ETCC 24, Sham ETCC 30, Sham ETCC 60, Sham ETCC 120 e Sham ETCC 24. A técnica de Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) foi usada para dosagem de BDNF em medula espinhal e corticosterona em soro. A estatística foi feita por Mann Whitney para corticosterona e ANOVA seguida de Teste LSD de Fischer para BDNF. $P < 0,05$. Aprovação CEUA/HCPA: 16-0408 e 2019-0126. **RESULTADOS:** Os grupos submetidos ao modelo de estresse por imobilização apresentaram níveis significativamente maiores de corticosterona sérica em relação ao grupo controle. O estresse gerou diminuição significativa de BDNF medular nos tempos 60, 120 minutos e 24 horas após a intervenção. O ETCC reverteu totalmente esse efeito nos animais tratados. **CONCLUSÕES:** O modelo de restrição dos movimentos utilizado no estudo mostrou-se efetivo como estressor. A defasagem na capacidade neurotrófica desencadeada por estresse observada nos grupos imobilizados foi completamente revertida por uma única sessão de ETCC nas condições do estudo. Desta forma, os presentes dados sugerem efeito da ETCC em alterações induzidas por estresse, o que pode ser útil como tratamento adjuvante em certas condições clínicas. Futuros estudos serão importantes para investigar outros mecanismos envolvidos na ação preventiva desta terapia.

3148

DAMAGE-ASSOCIATED MOLECULAR PATTERNS (DAMPs) RELATED TO IMMUNOGENIC CELL DEATH ARE DIFFERENTIALLY TRIGGERED BY CLINICALLY RELEVANT CHEMOTHERAPEUTICS IN LUNG ADENOCARCINOMA CELLS

JOSÉ IGNÁCIO GONZALEZ; CRISTIANO FEIJÓ ANDRADE; FABIO KLAMT; EDUARDO CREMONESE FILIPPI-CHIELA
UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Introduction : Chemotherapeutics can stimulate immune antitumor response by inducing immunogenic cell death (ICD), which is activated by Damage-Associated Molecular Patterns (DAMPs) like the exposure of calreticulin (CRT) on the cell surface, the release of ATP and the secretion of High Mobility Group Box 1 (HMGB1). **Methods:** Here, we investigated the levels of ICD-associated DAMPs induced by chemotherapeutics commonly used in the clinical practice of non-small cell lung cancer (NSCLC) and the association of these DAMPs with apoptosis and autophagy. A549 human lung adenocarcinoma cells were treated with clinically relevant doses of cisplatin, carboplatin, etoposide, paclitaxel and gemcitabine. We assessed ICD-associated DAMPs, cell viability, apoptosis and autophagy in an integrated way. **Results:** Cisplatin and its combination with etoposide induced the highest levels of apoptosis, while etoposide was the less pro-apoptotic treatment. Cisplatin also induced the highest levels of ICD-associated DAMPs, which was not incremented by co-treatments. Etoposide induced the lower levels of ICD and the highest levels of autophagy, suggesting that the cytoprotective role of autophagy is dominant in relation to its pro-ICD role. High levels of CRT were associated with better prognosis in TCGA databank. In an integrative analysis we found a strong positive correlation between DAMPs and apoptosis, and a negative correlation between cell number and ICD-associated DAMPs as well as between autophagy and apoptosis markers. We also propose a mathematical integration of ICD-associated DAMPs in an index (IndImmuno) that may represent with greater biological relevance this process. Cisplatin-treated cells showed the highest IndImmuno, while etoposide was the less immunogenic and the more pro-autophagic treatment. **Conclusions:** Cisplatin alone induced the highest levels of ICD-associated DAMPs, so that its combination with immunotherapy may be a promising therapeutic strategy in NSCLC.

3241

DESENVOLVIMENTO DE UMA RT-QPCR PARA DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO MOLECULAR DO VÍRUS MAYARO

ANDRÉ FERREIRA HENNIGEN; ANA PAULA MUTERLE VARELA; THAIS FUMACO TEIXEIRA; PAULO MICHEL ROEHE;
LUCAS ROSA FRAGA; ANA CLÁUDIA FRANCO
UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

INTRODUÇÃO: A Febre de Mayaro, causada pelo Vírus Mayaro (MAYV), é uma doença tropical altamente negligenciada e subnotificada, sendo considerada uma das mais importantes arboviroses emergentes dos neotrópicos. Tem como sintomas mais comuns: artrite/artralgia incapacitante e duradora, exantema e febre alta abrupta. Em casos graves foram registradas hemorragias, encefalite e morte. Infecta principalmente articulações e cartilagens em humanos. Transmitido por mosquitos, ocorre em mamíferos, répteis e aves. Originalmente restrito a florestas tropicais, tem se espalhado rapidamente pela América do Sul e Central, sendo o Brasil o país com o maior número de casos em humanos. Nosso grupo de pesquisa está iniciando projetos que necessitam uma detecção acurada do MAYV em organismos potencialmente infectados. A principal técnica para detecção do RNA viral é a Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real com Transcrição Reversa (RT-qPCR). O pequeno número de RT-qPCRs desenvolvidas para MAYV até o momento possuem limitações que podem comprometer a detecção do patógeno. **OBJETIVO:** Desenvolver uma RT-qPCR específica, sensível e capaz de detectar a maior variedade de cepas possível de MAYV. **MÉTODOS:** Os 72 genomas completos de MAYV disponíveis no NCBI foram alinhados no software Geneious. Primers foram desenhados tendo-se o cuidado de evitar ao máximo discordâncias com as sequências virais, reações cruzadas e estruturas secundárias que pudessem afetar o desempenho ou a confiabilidade da reação. MAYV da cepa BeAr 20290 foi multiplicado em células Vero, titulado e o RNA viral extraído foi convertido em DNA complementar (cDNA) para uso na PCR. O produto dessa PCR foi sequenciado para confirmação do alvo amplificado e o cDNA foi usado