

## Sessão 33

### Bioquímica III

**333**

**UM ENSAIO NÃO RADIOATIVO PARA AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE DE LINFÓCITOS HUMANOS À GLICOCORTICÓIDES.** *Diego Collaziol, Thales Preissler, Moisés Evandro Bauer* (Laboratório de Imunorreumatologia - Instituto de Pesquisas Biomédicas - Hospital São Lucas – PUCRS).

Resistência adquirida à glicocorticóides (RAG) vem sendo demonstrada em inúmeras patologias, tais como artrite reumatóide, asma, depressão maior, estresse crônico e AIDS. RAG pode ser demonstrada através da tolerância de linfócitos à supressão da proliferação mediada por glicocorticóides (GC) *in vitro*. Os ensaios eram até então realizados com marcadores radioativos que são caros, possuem uma meia-vida reduzida e ocasionam o acúmulo de lixo radioativo. Desta forma, padronizamos um ensaio colorimétrico para avaliar a sensibilidade linfocitária à GC. Para a padronização do ensaio de sensibilidade de células T, células mononucleares humanas ( $1,5 \times 10^5$  células por poço) foram incubadas *in vitro* por 96h com fitohemaglutinina (PHA, 1%) em meio RPMI-1640 suplementado ( $37^\circ\text{C}$  e 5%  $\text{CO}_2$ ). Foram também realizadas co-culturas com os seguintes GC: cortisol, dexametasona e prednisona (faixa de  $10^{-4}$  à  $10^{-11}$  M). Nas últimas 4h de ensaio, 5 mg/mL de MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil brometo tetrazólico) foram adicionados nas microculturas para revelação num leitor de ELISA. Além disto, foram feitas co-culturas usando o esteróide DHEA (dehidroepiandrosterona) para tentar reverter a supressão mediada por GC. Foi observado um efeito supressor dose-dependente com supressão máxima a  $10^{-4}$  M para todos os glicocorticóides testados. As culturas estimuladas com DHEA não conseguiram reverter a supressão causada pelos glicocorticóides *in vitro*. Além disso, conseguimos calcular o IC50, que é a dose que suprime 50% da proliferação linfocitária, fornecendo uma estimativa da sensibilidade linfocitária de cada indivíduo. Como este ensaio, pretendemos avaliar RAG em populações humanas, como nos idosos, pacientes com artrite reumatóide, câncer e crianças asmáticas. Apoio: Fapergs e Secretaria de ciência e tecnologia do RS.