

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