

TMZ, reduzindo o número de células viáveis e aumentando a porcentagem de células com fenótipo apoptótico. Considerando os 15 dias subsequentes ao primeiro tratamento, todos quimioterápicos aumentaram transitoriamente o número de células com características de autofagia, especialmente 5-FU e TMZ. Este aumento foi acompanhado pela redução da proliferação e aumento do número de células com fenótipo senescente, especialmente para a TMZ mas também para 5-FU e PAC. Quando retratadas, as células senescentes se mostraram resistentes ao segundo ciclo de tratamento. Finalmente, após 3 ciclos de tratamento com 5-FU nós observamos o surgimento de populações celulares altamente proliferativas, o que não foi observado para a TMZ e PAC. Conclusões: Nossos dados preliminares sugerem que as células senescentes são resistentes a múltiplos tratamentos quimioterápicos. Apesar de não proliferativas, as células senescentes parecem contribuir para a resistência e recorrência tumorais através da secreção de moléculas parácrinas. Assim, iremos tratar as células expostas à TMZ e PAC com compostos senolíticos a fim de eliminar as células senescentes, avaliando a consequência desta eliminação na proliferação e resposta das células a múltiplos ciclos de tratamento.

eP2744

Interatoma microrna-mrna em pacientes brasileiros com Doença de Gaucher - ensinamentos de um estudo piloto

Marina Siebert; Tatiéle Nalin; Mariana Recamonde-Mendonza; Fernanda Sperb-Ludwig; Suelen Porto Basgalupp; Ida Vanessa Doederlein Schwartz

HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Introdução: Mutações no gene GBA1 causam deficiência da enzima glicosidase, levando ao aparecimento da doença de Gaucher (DG). Diversos estudos têm destacado a contribuição de agentes modificadores, dentre os quais microRNAs (miRNAs), na complexidade da doença. Objetivo: Analisar o interatoma miRNA-mRNA de pacientes do Sul do Brasil em tratamento com taliglucerase alfa ou imiglucerase. Métodos: A amostra foi constituída por 3 pacientes em tratamento com taliglucerase alfa e 3 pacientes em tratamento com imiglucerase. Cada amostra foi coletada em dois momentos distintos: antes (pré-tratamento) e 1 hora após (pós-tratamento) a administração da enzima recombinante. O RNA total foi extraído dos leucócitos obtidos a partir de sangue periférico. A técnica de microarranjo foi realizada tanto para análise do miRNoma quanto do transcriptoma total. As análises foram realizadas utilizando o pacote R e os resultados foram apresentados como comparações entre os momentos pós e pré-tratamento em cada um dos grupos. Resultados: Dos 2578 miRNAs analisados, identificamos 10 miRNAs com expressão aumentada e 14 com expressão diminuída no grupo tratado com taliglucerase alfa, enquanto 9 miRNAs tiveram aumento e 10 redução da expressão no grupo tratado com imiglucerase. Desses, somente 2 (miR-623 e miR-6855-3p) estavam diferentemente expressos em ambos grupos, estando mais expressos no grupo taliglucerase e menos expressos no grupo imiglucerase. Diversos genes (mRNAs) estavam diferentemente expressos em cada um dos grupos. A análise do interatoma miRNA-mRNA indicou que 15 miRNAs parecem estar regulando o funcionamento de 91 genes nos pacientes em tratamento com taliglucerase alfa. Dois miRNAs (miR-1197 e miR-520c-3p) estavam 1,3x mais expressos e, conseqüentemente, 5 genes apresentaram redução da expressão (NMNAT2, GUCA1C, NHLH2, C5orf30 e FAM177A1). Sete miRNAs parecem regular 14 genes no grupo de pacientes em tratamento com imiglucerase, sendo que miR-376c-3p e miR-199a-5p destacam-se por estarem negativamente regulados. Esses miRNAs estavam envolvidos no aumento da expressão dos genes IL22, PGBD1, SPATA16, TBC1D26, ZNF23 e ZNF440. Conclusão: Os dados obtidos sugerem que existe um perfil diferente tanto em relação à expressão de miRNAs quanto de mRNAs dependendo do tipo de enzima com o qual o paciente com DG está sendo tratado. Os nossos achados estão sendo validados através de diferentes abordagens experimentais a fim de confirmar os dados encontrados.

eP2748

Avaliação do papel da autofagia em células de adenocarcinoma pancreático durante o tratamento com Gemcitabina

Paula Colonetti Ferst; Eduardo C. Filippi-Chiela; Patrícia Luciana da Costa Lopez

HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Introdução: O adenocarcinoma ductal pancreático (ADP) é o tipo mais comum e agressivo de câncer de pâncreas. O tratamento farmacológico com Gemcitabina (GEM) é de primeira escolha, usualmente combinado a outros quimioterápicos como o Paclitaxel (PAC). Entretanto, não há na literatura estudos que tenham investigado a resposta das células de ADP à GEM e PAC em desenho experimental que mimetize o regime clínico e avalie os mecanismos de resposta e resistência celulares. Neste contexto, a autofagia atua como mecanismo citoprotetor às células tumorais por eliminação de componentes celulares danificados como mitocôndrias. Objetivo: avaliar a resposta das células de ADP a múltiplos ciclos de tratamento com GEM e PAC, em perfil de tratamento semelhante ao regime clínico (ou seja, 48h de tratamento seguido de 15 dias de recuperação), com foco em medidas integradas de autofagia, morte celular e estresse oxidativo. Nossa hipótese é que a autofagia desempenha papel importante na resistência das células aos tratamentos, e que a modulação deste mecanismo poderia sensibilizar as células tumorais. Metodologia: inicialmente as células da linhagem Panc-1 foram tratadas por 48 horas com GEM 0.1 μ M, 0.5 μ M, 1 μ M e 10 μ M, seguido do replaqueamento em Meio Livre de Droga por 15 dias. Ao longo deste período foram avaliados a proliferação celular, a marcação com laranja de acridina, a quantidade de mitocôndrias (marcação com Mitotracker) e a quantidade de espécies reativas de oxigênio (marcação com DCFH). Resultados: nós observamos uma redução dose-dependente da proliferação celular ao longo dos 15 dias do período de recuperação. Não observamos, porém, alterações típicas de apoptose. Nós também observamos um aumento da porcentagem de células com características de autofagia concomitante com a redução da massa mitocondrial e redução da quantidade de espécies reativas de oxigênio, sugerem que o dano causado pela GEM, direta ou indiretamente, induz a redução da massa mitocondrial e ativação de autofagia, o que poderia reduzir a taxa de proliferação celular. Conclusões: GEM parece induzir mitofagia nas células de ADP, e os níveis de mitofagia podem estar associados à sensibilidade das células tumorais ao tratamento. Nós iremos avaliar a resposta destas células ao PAC, bem como modularemos a autofagia a fim de sensibilizar as células de ADP à GEM e ao PAC, e avaliaremos o efeito desta modulação na massa mitocondrial e proliferação celular.