

genes, resultando no fator de transcrição EWS-FLI1. Sua expressão é um mal prognóstico da doença, pois modula características metastáticas e a resistência a tratamentos. Embora diversas medidas terapêuticas tenham sido implementadas para o SE, tem sido cada vez mais necessária a busca por novos alvos terapêuticos, devido ao crescimento de sua resistência à tratamentos. Os receptores de tropomiosina quinase (TrkA, TrkB, TrkC) são expressos em tumores de SE e estão envolvidos no processo oncogênico, na regulação da sobrevivência, desenvolvimento e plasticidade neuronal. A inibição desses receptores reduz a proliferação e aumenta a sensibilidade à quimioterapia e, por isso, são um alvo em potencial para a inibição farmacológica. Objetivos: Avaliar, em linhagens celulares de SE, a expressão de marcadores moleculares antes e após o tratamento com inibidores de receptores de tropomiosina. Métodos: Células SK-ES foram plaqueadas e tratadas com diferentes fármacos antagonistas de receptores de tropomiosina quinase (Trks): K252a (100nM e 500nM), inibidor não seletivo de Trks; ANA-12 (15uM), inibidor seletivo de TrkB e GW441756 (10uM), inibidor seletivo de TrkA. Após 48h, as células foram coletadas para análise, por RT-qPCR, da expressão dos marcadores de identidade celular (Beta-III tubulina, Nestina), marcadores de células-tronco (CD133, Oct4, Sox2, Bmi1), marcadores SE (CD99 e EWS-FLI1), marcador de indiferenciação (Musashi-1) e a expressão de  $\beta$ -actina como controle endógeno. Os resultados do RT-qPCR foram avaliados pelo método Delta-Delta CT. Resultados: Para os marcadores analisados, houve aumento na expressão dos genes EWS-FLI1, Nestina, Beta-III tubulina e Bmi1 após tratamento com os diferentes inibidores comparados ao controle. Porém não houve diferença no tratamento com o inibidor não seletivo de Trks, K252a, comparado a ANA-12 (TrkB) e GW441756 (TrkA). Conclusão: Esses resultados indicam que o tratamento com antagonistas de tropomiosina quinase implica na diferença de expressão de genes importantes na biologia e tumorigênese do Sarcoma de Ewing.

#### eP2554

##### **Gemcitabine effects on pancreatic cancer cells and exosome release**

Solon Andrades da Rosa; Karina Mariante Monteiro; Patricia Luciana da Costa Lopez  
HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Pancreatic cancer is a rare cancer type worldwide, however it is the seventh more lethal tumor. Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) represents 90% of its cases. As this cancer has a silencing progression, it remains unnoticed until showing the first symptoms. When the patients look for treatment, the disease is generally in a very advanced state, high infiltrate and usually metastatic. Early diagnosis remains the main challenge for this tumors treatment. Surgical resection is impossible in advanced states. In these cases, chemotherapeutic treatment is the best option, using gemcitabine (GEM). Many tumors become drug resistant during treatment. Chemotherapeutic resistance have been recently described as being high influenced by cell communication between tumor and healthy cells. In literature, this process showed influence of extracellular vesicles pathway. These double lipidic layer spheres, are classified by its origin and size. Exosomes (EXOs), the vesicles ranging from 40 – 100 nm, and formed from multivesicular bodies, gain a lot of attention, not only because its origin allows it to transport a wide variety of molecules but also by its high penetration capability. For PDAC, few works focus on cells response to GEM at EXOs level. Moreover, the resistance building process remains unclear. To further investigate these phenomena, the aim of this work was to characterize EXOs release after treating PANC-1, pancreatic adenocarcinoma cell line, with GEM. The drug effects over cells were evaluated, as highly apoptotic and necrotic cells cease secretory metabolism, and autophagy impairs EXO formation. 24 hours treatments showed no difference in cell death between control and treated cells, at all doses. However GEM induces size increase in treated cells. Western blot analysis verified that IC50 10  $\mu$ M GEM showed the same variation on protein abundance for EXO markers, being used in the following steps. The vesicles from supernatant of treated cells were collected by subjecting conditioned media to ultracentrifugation procedures, and the obtained vesicles were confirmed as EXO by transmission electron microscopy and dynamic light scattering. Also, these analysis revealed that after GEM exposure, there was an increased concentration of EXOs by the cells and it appear to be distinct in shape, organization and size compared to control. As EXOs change in response to GEM treatment, further investigation is needed to determine its cell changing capabilities.

#### eP2580

##### **Uso de células-tronco derivadas de tecido adiposo para redução de complicações da cicatrização cutânea em indivíduos tabagistas: um modelo experimental em ratos**

Milena Boerner Zago; Geciéle Rodrigues Teixeira; João Maximiliano Pedron Martins; Fernanda dos Santos de Oliveira ; Elizabeth Cirne Lima; Diego Dullius; Everton Hiraiwa; Tulio Serrano; Marcus Vinicius Martins Collares  
HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Introdução: A cicatrização cutânea é um fenômeno complexo e dependente das condições fisiológicas do paciente. As intercorrências, nesse processo, são frequentes em cirurgias plásticas, trazendo, algumas vezes, resultados inestéticos e que frequentemente demandam reintervenções. Uma complicação comum é a necrose cutânea secundária ao tabagismo crônico devido a ambiente de isquemia e hipóxia da ferida cirúrgica. A aplicação das células-tronco adiposo derivadas (CTDA) na ferida cutânea pode melhorar a cicatrização através de estímulos parácrinos locais, aumentando o estímulo à neovascularização e regulando a cascata de coagulação. Objetivo: Avaliar o uso das CTDA para redução da área de necrose em retalhos cutâneos em um modelo experimental de tabagismo. Metodologia: As CTDA foram isoladas de ratos e cultivadas até a 5ª passagem. Trinta ratos (n=30) foram submetidos a injeção de nicotina subcutânea (1,2mg/kg/dia) por 14 dias. A ferida foi realizada utilizando um modelo de retalho cutâneo isquêmico no dorso após 7 dias de indução ao tabagismo. O grupo tratamento (n=15), recebeu injeção intradérmica de CTDA na quantidade de  $1 \times 10^6$  células. O grupo controle (n=15) não recebeu o tratamento celular. Sete dias após a cirurgia os animais foram eutanasiados e foi realizado um decalque de toda área do retalho do dorso de ambos os grupos, definindo com exatidão a transição da necrose com a região saudável. Imagens dos dorsos foram avaliadas por escalas padronizadas pelo programa Paint-Autocad-2015 para definir a área de necrose. O teste T de Student foi utilizado para comparar os grupos, sendo  $p < 0,05$  considerado significativo. Os resultados foram calculados no SPSS IBM® versão 2018. Resultados: Por meio da análise das imagens pelo programa Paint-Autocad-2015 e área de decalque obtido pela folha transparente, obteve-se uma média de 46% de necrose da área total do retalho no grupo tratamento e 69,4% no grupo controle. Na análise descritiva, foi evidenciado no grupo tratamento uma média de 3,7 cm de necrose IC 95% (3,2 – 4,2) e no grupo controle uma média de 5,56 cm IC 95% (5,2 – 5,9) com  $p < 0,001$ . Conclusões: A aplicação das CTDA em feridas cirúrgicas de ratos submetidos a um modelo experimental de tabagismo reduziu o percentual de necrose dos mesmos e pode ser alternativa futura para pacientes tabagistas que necessitem de intervenções

cirúrgicas. Outros testes estão sendo realizados nesse material biológico.

#### eP2612

##### **The polarization of neutrophils associated with tumor analysis when cultivated in vitro with glioma cells**

Dominique Santos Rubenich; Priscila Oliveira de Souza; Elizandra Braganhol  
UFCSPA - Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

**Introduction:** Immune cells exhibit functional plasticity, altering themselves phenotypically and favoring tumor growth. The neutrophil subpopulations (N0) are polarized in different activation states, antitumor (N1) and pro-tumor (N2), in response to signals from the microenvironment. Little is known about mechanisms that alter leukocyte functional behavior. **Objective:** The aim is to analyse the neutrophil morphology when in contact with glioma cells for increasing times, and observe the growing of tumor in these conditions. **Methods:** The tumor microenvironment influence was observed through co-culture of U87MG glioma cells with primary neutrophils at 5 different N0/U87MG ratio for 24, 48 and 72h. The U87MG viability was investigated by MTT test, also viable N0 was performed by trypan-blue staining. Neutrophils morphologic changes were observed through microscope. **Results:** The tumor growth is N0-dependent concentration, with decreasing viability between 24 and 48h, but revealed a potential change in neutrophils modulation in time 72 when there was an increase in the cellular viability compared to the time 48. Morphologically, it was observed that the lower concentration of neutrophils induces tumor growth and more disorderly arrangement. Regarding the neutrophils, it was observed that there was no cell death in the analysed period, and there was a conformational change from a spherical shape to a flower shape of the cells in culture after the period of 72. Microscopically, it was observed a change in the nucleus shape, suggesting nuclear increase and, consequently, modification from multilobular to banana shape in the N2 profile. **Discussion:** The conformational change in the neutrophil after 72h indicates the tumor-induced phenotypic modeling, consistent with the change in the expected pattern of tumor viability after 72h of contact with N0, slightly increasing the amount of viable cells, despite concentration-dependent. It suggests that N0 polarization by tumor helps its growth in vitro. Morphological changes in the phenotypes aid in the characterization between polarizations. The nucleus format, if well established, can predict the patient's N2/N1 ratio in blood tests, and a more accurate analysis of neutrophils in cancer patients may predict tumor aggressiveness. Further tests are needed to assume the role of the neutrophil associated with tumor.

#### eP2706

##### **Avaliação da modulação do receptor MAS da Angiotensina (1-7) e do receptor MRGD sobre a cardiotoxicidade induzida por Doxorubicina em Cardiomioblastos**

Juliana Romeu Marques; Fernanda Tereza Bovi Frozza; Temenouga Guecheva; Maria Cláudia Irigoyen; Natalia Leguisamo Meirelles  
IC - Instituto de Cardiologia

**Introdução:** O antineoplásico doxorubicina (DOX) é considerado o protótipo da cardiotoxicidade por induzir dano direto ao miocárdio. O bloqueio farmacológico das ações da Angiotensina (Ang) II é uma das principais estratégias para manejo da cardiomiopatia induzida pela DOX, cujos efeitos são também mediados pela ativação do seu eixo contra regulatório. A modulação deste eixo, que inclui a Ang-(1-7) e Alamandina (Ala) e o receptor Mas, pode ser uma nova estratégia cardioprotetora no contexto da cardiotoxicidade. **Objetivo:** Avaliar o efeito da modulação farmacológica dos receptores Mas e MrgD sobre a cardiotoxicidade induzida por DOX in vitro. **Métodos:** Cardiomioblastos murinos (H9c2) foram expostos (30') a um antagonista (A779, 10µM) do MasR seguido do seu agonista (Ang-(1-7), 100nM), ou da Ala (100nM) antes do tratamento de 24h com DOX (0,1µM e IC50: 0,347µM). Avaliou-se a viabilidade celular (Vermelho Neutro e Azul de Trypan), perfil de morte celular (Anexina/7AAD) e indução de danos ao DNA (Ensaio Cometa). Os experimentos foram realizados em triplicata, e os dados foram analisados por ANOVA e post-hoc de Dunnett. Considerou-se  $p < 0,05$ . **Resultados:** O A779 ou a Ang-(1-7), isoladamente, elevaram a proliferação dos cardiomioblastos (A779: 116,8%  $\pm$  9,8  $p < 0,05$ ; Ang-(1-7): 117,0%  $\pm$  8,5,  $p < 0,05$ ) quando comparado com o controle. Contudo, a modulação do MasR não impediu a redução da viabilidade celular induzida pela DOX. O perfil de morte celular induzida pela DOX, predominantemente por apoptose, não foi alterado pela modulação do MasR. Foram induzidos danos ao DNA por ambas as concentrações de DOX (C: 27,5 $\pm$ 13,4; DOX 0,1µM: 53,5 $\pm$ 9,1; DOX IC50: 109,5  $\pm$  17,6 em unidades arbitrárias). O pré-tratamento com Ang-(1-7) e A779 atenuou a indução de quebras no DNA causadas pela menor concentração de DOX (DOX+Ang-(1-7): 36,5  $\pm$  6,3; DOX+A779: 36,5 $\pm$ 0,7 em unidades arbitrárias). **Conclusão:** A modulação do MasR por antagonismo e agonismo seletivos e isoladamente aumenta a proliferação celular, mas não impede os efeitos deletérios da DOX sobre a viabilidade dos cardiomioblastos. Todavia, esta abordagem atenua a indução de danos ao DNA causadas pela DOX na menor concentração, denotando a existência de efeito cardioprotetor indireto. Os efeitos alcançados parecem ser independentes da ativação do MasR pela Ang-(1-7), sugerindo um possível crosstalk entre os demais receptores do SRA.

#### eP2724

##### **Efeito de múltiplos ciclos de tratamento quimioterápico na senescência e autofagia de células de Glioblastoma**

Stefano Walter Agatti; Patrícia Luciana da Costa Lopez; Eduardo Cremonese Filippi Chiela  
HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

**Introdução:** Glioblastomas (GBM) são os tumores mais frequentes e agressivos do Sistema Nervoso Central. A terapia do GBM consiste em ressecção cirúrgica seguida de radioterapia e quimioterápica com múltiplos ciclos de Temozolomida (TMZ); em casos refratários ou recorrentes, outros quimioterápicos clássicos são utilizados. Entre os mecanismos disparados pela TMZ estão a apoptose, autofagia e senescência. Entretanto, são escassos os dados referentes à resposta das células tumorais a múltiplos ciclos de tratamento em perfil semelhante ao regime clínico. **Objetivos:** avaliar a resposta de células de GBM a múltiplos ciclos de tratamento com os quimioterápicos TMZ, Paclitaxel (PAC) e 5-Fluoruracila (5-FU), com foco nos mecanismos de autofagia e senescência. **Métodos:** células da linhagem de GBM U87-MG foram tratadas com os quimioterápicos por 3 ciclos de 2d de tratamento seguidos de 15 dias de recuperação. Foram avaliadas a proliferação celular, autofagia e senescência. Nós também acompanhamos o comportamento de células individuais para avaliar a resposta de células senescentes induzidas no primeiro ciclo de tratamento aos tratamentos subsequentes. **Resultados:** Após 48h do tratamento, 5-FU e PAC exerceram maior toxicidade do que