

CORREÇÃO DA MUCOPOLISSACARIDOSE TIPO I EM FIBROBLASTOS HUMANOS APÓS TRATAMENTO COM MICROCÁPSULAS DE ALGINATO CONTENDO CÉLULAS SUPEREXPRESSANDO ALFA-L-IDURONIDASE
GUILHERME BALDO; VALESKA LAGRANHA; MAIRA BURIN; IDA VANESSA SCHWARTZ; VERÔNICA MUNOZ ROJAS; ROBERTO GIUGLIANI; URSULA MATTE

Introdução: Mucopolissacaridose tipo I (MPS I) é uma doença lisossomal que ocorre devido à deficiência da enzima alfa-L-iduronidase (IDUA), levando ao acúmulo de heparan e dermatan sulfato nos lisossomos e a uma série de manifestações clínicas características. Tratamentos disponíveis incluem terapia de reposição enzimática (TRE) e transplante de medula óssea, ambos possuindo limitações. O microencapsulamento de células é uma abordagem inovadora, pois permite continuada produção e secreção do produto de interesse, que pode ser captado por células deficientes. Neste trabalho investigamos a capacidade de células BHK encapsuladas que super-expressam IDUA corrigir fibroblastos de pacientes com MPS I in vitro. **Metodologia:** Quatro grupos (n= 3 por grupo) foram analisados: fibroblastos de voluntários sadios (NORMAL), fibroblastos de pacientes com MPS I não tratados (MPS), fibroblastos de pacientes tratados com TRE, em dose de 3ng/mL de Laronidase® (Genzyme®), duas vezes por semana, e fibroblastos de pacientes tratados com células BHK que super-expressam IDUA presas dentro de microcápsulas de alginato. As células foram obtidas por seleção clonal após transfecção com o plasmídeo prIDUA e encapsuladas. A atividade enzimática (nmoles/h/mg proteína) foi mensurada após duas semanas de tratamento por ensaio fluorimétrico, sendo a enzima beta-galactosidase usada como referência. **Resultados:** O grupo NORMAL obteve uma atividade de 25,7 +/-5,97. Células não tratadas tiveram a menor atividade (6,1 +/- 0,53). Ambos tratamentos demonstraram níveis enzimáticos significativamente maiores que o grupo MPS (111,5 +/- 12,1 para a TRE e 60,7 +/- 23,3 para CÁPSULAS, com p< 0.01 nos dois casos). A enzima de referência não mostrou diferenças entre os grupos. **Conclusão:** O tratamento com clones encapsulados demonstra potencial como nova alternativa para o tratamento da MPS I, alcançando níveis normais de atividade enzimática em fibroblastos humanos deficientes.

TERAPIA GÊNICA NÃO-VIRAL TRANSITÓRIA PARA MUCOPOLISSACARIDOSE TIPO I EM FIBROBLASTOS HUMANOS

GUILHERME BALDO; CAROLINA URIBE; VALESKA LAGRANHA; MAIRA BURIN; ROBERTO GIUGLIANI; URSULA MATTE

Introdução: A Mucopolissacaridose tipo I (MPS I) é uma doença autossômica recessiva caracterizada pela deficiência da enzima alfa-L-iduronidase (IDUA). Métodos atuais de tratamento incluem terapia de reposição enzimática e transplante de medula óssea, ambos possuindo limitações. Baseado neste fato, este trabalho tenta corrigir fibroblastos de pacientes com MPS I in vitro utilizando métodos não-virais de terapia gênica. **Metodologia:** Fibroblastos humanos com MPS I foram mantidos em cultivo celular até atingir confluência. DNA nu e lipofecção (utilizando LIPOFECTAMINE®) foram testados como métodos não virais de transferência gênica. Células foram transfectadas com pr-IDUA. A atividade enzimática (nmol/h/mL) foi medida no sobrenadante 24h, 72h e 7 dias após transfecção utilizando método fluorimétrico. Também analisamos atividade no sobrenadante de células não tratadas e de controles normais (n= 3/grupo). **Resultados:** Fibroblastos normais produziram uma atividade média de 0,69 (+/- 0,14). Células de pacientes com MPS não tratadas obtiveram atividade quase indetectável (0,09 +/-0,03). Transfecção usando lipossomas apresentou um pico na expressão em 24h (1,10 +/-0,31 com p < 0,01 comparado ao não tratado), e decaiu gradualmente (0,32 +/-0,05 e 0,12 +/-0,01 após 48h e 7 dias, respectivamente). DNA nu obteve níveis mais baixos que a lipofecção, atingindo níveis pouco superiores e sem diferença estatística quando comparados às células não tratadas, em todos tempos analisados. **Conclusão:** Neste trabalho mostrou-se a correção temporária de fibroblastos de pacientes com MPS I, sendo obtido níveis enzimáticos similares ao de fibroblastos normais 24 horas após transfecção com lipossomas. A correção estável deverá ser realizada para avaliar a expressão enzimática a longo prazo.

CRIAÇÃO DE UMA HISTÓRIA EM QUADRINHOS PARA UM PROTOCOLO DE EXTRAÇÃO DE PLASMÍDIOS E AVALIAÇÃO DA SUA IMPLEMENTAÇÃO NO CENTRO DE TERAPIA GÊNICA

GABRIELLA REJANE DOS SANTOS; ANTÔNIO CARLOS BURLAMAQUE NETO; CLARISSE RICCI; LEON LISBÔA; CARMEN LÚCIA BEZERRA MACHADO; URSULA MATTE

INTRODUÇÃO: A associação de materiais didáticos artísticos às atividades científicas está relacionada à melhora do aprendizado e da promoção da autonomia educativa, além de atuar como um fator de motivação. As necessidades de maior interação entre os pesquisadores e de desenvolvimento de estratégias pedagógicas aplicáveis às práticas científicas nos levou a criação de histórias em quadrinhos que retratam procedimentos científicos. Um protocolo de extração de plasmídeos foi utilizado como piloto para gerar uma trama entre personagens que se relaciona com os propósitos do projeto no qual este protocolo está inserido. Apresentamos aqui a história em quadrinhos intitulada A Libertação de β - galo e uma avaliação da sua implementação no Centro de Terapia Gênica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. **MÉTODOS:** Um roteiro foi elaborado e discutido pelos autores. Os rascunhos foram desenhados por uma das autoras, que os finalizou após revisão pelo grupo. Este material foi implementado através da comparação entre execuções do procedimento de extração de plasmídeos utilizando seu protocolo formal sozinho e associado aos quadrinhos. Os relatos de experiência dos executores foram então analisados. **RESULTADOS E DISCUSSÃO:** Produzimos material didático de linguagem informal que pode ser associado a um protocolo formal para implementação e execução do procedimento relacionado. A criação e a execução deste trabalho geraram material didático artístico que proporciona melhor compreensão do procedimento em questão, estimula o pensamento crítico e permite expressões mais extensas dos talentos dos pesquisadores. Os quadrinhos estão sendo compartilhados com outros pesquisadores. **APOIO:** CNPq, FIPE/HCPA.