

lizadas em cápsulas de alginato (grupo Cápsulas), fibroblastos tratados com sobrenadante das rBHK não encapsuladas (grupo Sobrenadante) e fibroblastos tratados com cápsulas vazias (grupo Vazias). A atividade de ARSA foi medida semanalmente durante 1 mês (resultados foram expressos em nmol/h/mg proteína). A diminuição do acúmulo lisossomal foi avaliada por microscopia eletrônica de transmissão. Resultados: Fibroblastos não tratados apresentaram atividade de 2,22 +/- 0,17. Após os tratamentos, os grupos Cápsulas e Sobrenadante demonstraram um aumento significativo de ARSA, respectivamente, 23,42 +/- 6,39 e 42,35 +/- 5,20, após a terceira semana. O grupo Vazias manteve-se constante. A análise por MET sugere uma redução do acúmulo lisossomal de sulfatídeo nos fibroblastos tratados. Conclusão: Microcápsulas contendo rBHK demonstraram um alto potencial como nova estratégia no tratamento de LDM, alcançando níveis enzimáticos normais em fibroblastos humanos deficientes. Entretanto, mais estudos devem ser realizados usando modelo animal para corroborar nossos achados. Apoio: FIPE-HCPA, Rede de Terapia Gênica/CNPq e ONG Pela Vida.

#### ANÁLISE ULTRA-ESTRUTURAL EM FIBROBLASTOS DE PACIENTES COM LEUCODISTROFIA METACROMÁTICA SUBMETIDOS A TRATAMENTO IN VITRO COM CÉLULAS RECOMBINANTES ENCAPSULADAS

VALESKA LIZZI LAGRANHA; TALITA GIACOMET DE CARVALHO, GUILHERME BALDO, MAIRA BURIN, MARIA LUIZA SARAIVA PEREIRA, ROBERTO GIUGLIANI, URSULA MATTE

**Introdução:** Leucodistrofia Metacromática (LDM) é uma doença causada pela deficiência da enzima Aril-sulfatase A (ARSA). Esta enzima está envolvida na degradação do sulfatídeo. Uma das conseqüências dessa deficiência é o depósito de grânulos metacromáticos. Estudos que tenham por objetivo novas opções terapêuticas devem demonstrar, além da normalização da atividade de ARSA, a redução do depósito de sulfatídeo nos lisossomos. **Objetivos:** Verificar, através de análise ultra-estrutural, a diminuição deste acúmulo em fibroblastos de pacientes tratados com células superexpressando ARSA. **Materiais e Métodos:** Fibroblastos de pacientes com LDM foram co-cultivados com células BHK superexpressando ARSA (rBHK) microencapsuladas. Fibroblastos tratados com sobrenadante das rBHK não encapsuladas, fibroblastos não tratados e fibroblastos normais foram usados como controles. Após a terceira semana de tratamento os fibroblastos foram coletados, fixados em glutaraldeído 1%, pós-fixados em tetróxido de ósmio e embebidos em Epon. As secções foram coradas com chumbo e urânio. Após, foram analisadas em Microscópio Eletrônico de Transmissão. **Resultados:** Fibroblastos não tratados apresentaram numerosos vacúolos e lisossomos com inclusões lamelares, devido ao acúmulo do substrato.

Após tratamentos, foi observada uma discreta diminuição no volume do material estocado dentro dos lisossomos, bem como uma alteração na morfologia deste material, sugerindo uma redução no acúmulo devido a um aumento da captação da ARSA recombinante expressa pelas células rBHKs. **Conclusão:** A análise ultra-estrutural dos fibroblastos sugere que a ARSA superexpressada pelas rBHKs foi captada e degradou o seu substrato natural, auxiliando na correção do dano metabólico desta doença. Apoio: FIPE-HCPA, Rede Terapia Gênica-CNPq.

#### CARACTERIZAÇÃO DE CÉLULAS ENCAPSULADAS QUANTO À BIOCAMPATIBILIDADE IN VIVO

TALITA GIACOMET DE CARVALHO; VALESKA LIZZI LAGRANHA; FABIANA QUOOS MAYER; GUILHERME BALDO; LUÍSE MEURER; ROBERTO GIUGLIANI; URSULA MATTE.

**Introdução:** A microencapsulação celular tem sido proposta como uma estratégia promissora para o tratamento de uma grande variedade de doenças, pois além de proteger o material transplantado da ação do sistema imune, permite a liberação de produto terapêutico. Sua biocompatibilidade e capacidade imunoprotetora são essenciais para seu bom funcionamento. **Objetivos:** Avaliar a biocompatibilidade de células encapsuladas com diferentes concentrações de alginato. **Métodos:** Foram implantadas cápsulas vazias, células BHK e HepG2 encapsuladas em alginato 1,5 ou 2,0% na cavidade peritoneal, músculo vasto medial e por via subcutânea de ratos Wistar (n=60). Após 7 ou 21 dias, os ratos foram mortos e seus órgãos coletados para análise histológica. Avaliou-se presença do infiltrado inflamatório e quando presente foi realizado contagem dos principais tipos celulares. Outro grupo de animais (n=7) recebeu células BHK superexpressando Aril-sulfatase A (rBHK) encapsuladas, para avaliar a liberação enzimática in vivo, durante 7 dias. **Resultados:** Foi observada presença de infiltrado inflamatório nos locais onde as cápsulas ficaram em contato com o tecido, porém este diminuiu após 21 dias. A contagem de células revelou diferenças no número de linfócitos, plasmócitos e células gigantes em relação aos diferentes tempos analisados, concentração de alginato ou composição da cápsula. Nos animais que receberam rBHK encapsuladas houve aumento da atividade da enzima em amostras do músculo em relação ao controle. **Conclusão:** Embora tenha sido notada a presença de infiltrado inflamatório, este não impediu a liberação da enzima para o tecido. Isso indica que, com alguns aperfeiçoamentos, esta é uma estratégia viável para o tratamento de várias doenças. **Apoio:** FIPE/HCPA, PIBIC/HCPA, CNPq.

#### PREVALÊNCIA DE ANEMIA EM PACIENTES COM DOENÇA DE GAUCHER DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL

TACIANE ALEGRA; CRISTINA C. B. NETTO, FABIANE LOPES DE OLIVEIRA, BÁRBARA KRUG, SIMONE M. DE CASTRO, ANA PAULA SANTIN, CARINA ZALESKI, DIVAIR DONEDA, MAYNA ÁVILA, PAULO D. PICON, IDA V. D. SCHWARTZ

**INTRODUÇÃO/OBJETIVO:** Citopenias e hepatoesplenomegalia são algumas manifestações da Doença de Gaucher (DG). Descrevemos a prevalência de anemia em pacientes com DG atendidos em um centro terciário. **MÉTODOS/PACIENTES:** Realizado hemograma e eletroforese de hemoglobina prospectivamente em todos os pacientes. Anemia foi definida por níveis de Hb utilizados internacionalmente para DG: homens 100fl foi definida como micro e macrocitose, respectivamente. Os anêmicos foram investigados em relação aos níveis séricos de ferro. **RESULTADOS:** Avaliados 22 pacientes (DG tipo I=19; tipo III=3), 9/22 femininos e 5/22 esplenectomizados. Dois adultos não estavam em Terapia de Reposição Enzimática (TRE) com imiglucerase e mostravam hemograma normal. Entre aqueles em TRE (n= 20), a dose média atual para o tipo I (n=17) foi, respectivamente 34,4 e 18,1 UI/kg/infusão para os

**POTENT ANTI-FIBROGENIC EFFECTS OF S-NITROSO-N-ACETYLCYSTEINE (SNAC) IN LIVER CARCINOGENESIS AND FIBROGENESIS: IN VITRO STUDIES**

FERNANDA DOS SANTOS DE OLIVEIRA, BARBARA GROSSMANN, CAROLINA URIBE, MARIO REIS, URSULA MATTE, GABRIELA DE SOUZA, MARCELO OLIVEIRA, FLAIR CARRILLO, THEMSI REVERBEL DA SILVEIRA, CLAUDIA OLIVEIRA

**Background/Aim:** Nitric oxide (NO) plays several signaling roles in cells, whose effects depend on its local concentration. In tumor cells, such effects may range from anti-apoptotic to cytotoxic, allowing to propose its use as a chemotherapeutic drug in cancer treatment. Furthermore, NO has been shown to act as a potent antifibrotic effector by down-regulating fibroblast replication and myofibroblast differentiation. The aims of the present study were to evaluate the effectiveness of a NO donor, S-nitroso-N-acetylcysteine (SNAC), as antifibrogenic drug.. **Methods:** Myofibroblast-like GRX cell lines were cultured in Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM). GRX cells were incubated with different concentrations of SNAC and NAC and the cell viability was measured after 24 h by MTT colorimetric assay. SNAC-induced conversion of myofibroblast into lipocyte (fat storing) phenotype was evaluated by measuring TGF- $\beta$ 1 levels (ELISA) and by Oil-Red-O staining of fat droplets formed. **Results:** GRX myofibroblast cells, SNAC at low concentration (50  $\mu$ M) led to a decrease in TGF- $\beta$ 1 levels, compared to NAC at the same concentration, with significant cytotoxicity observed only at the highest concentration (2500  $\mu$ M).

This result was confirmed by the Oil-Red-O staining assay. **Conclusions:** SNAC is able to induce involution of myofibroblast into lipocyte phenotype on GRX cell lines, with concomitant reduction in TGF- $\beta$ 1 levels, suggesting an antifibrogenic effect. These in vitro results are currently being investigated in an in vivo model of hepatic carcinogenesis and fibrogenesis.

**ANFOTERICINA B COMO BLOQUEADOR DE TGF BETA 1 EM CULTURA DE CÉLULAS GRX**

FERNANDA DOS SANTOS DE OLIVEIRA; BARBARA GROSSMANN, CAROLINA URIBE, JOSEANE MULLER, THEMSI REVERBEL DA SILVEIRA, URSULA MATTE

**INTRODUÇÃO:** A anfotericina B é um antifúngico e é usada para tratar micoses há 50 anos. Como quase todos os antifúngicos atuam ligando-se e alterando especificamente os esteróis da membrana celular das células do fungo, ( ergosterol) o que altera sua permeabilidade e a célula perde potássio e moléculas pequenas. Está descrito que pacientes em tratamento com anfotericina B têm queda dos níveis de TGF beta 1 e de IL-10 séricos. O objetivo deste trabalho foi testar se miofibroblastos ativados regressariam ao fenótipo de lipócito na presença da droga, uma vez que a ativação destas células é dependente de TGF beta 1. **MATERIAL E MÉTODOS:** Células da linhagem GRX foram separadas em dois grupos: um deles foi mantido em condições de cultura celular padrão e outro grupo recebeu anfotericina na concentração de 0,5% adicionado ao meio padrão. Realizou-se ensaio de MTT para estimar a toxicidade da droga. Para avaliar a taxa de migração celular o teste de Wound Healing foi usado e observada a migração por 24 horas destas células. Para a detecção de gotas de gordura, as células foram coradas com oil red. ELISA foi usado para quantificar IL-10 e TGF beta 1 nos sobrenadantes celulares. **RESULTADOS:** O ensaio de MTT demonstrou que uso desta droga em culturas na dose usual de 1% é tóxica causando morte celular em mais de 50% destas. A citocina TGF beta 1 e IL-10 dosadas no sobrenadante IL-10 decaíram significativamente em relação ao grupo controle. Além disso as células tratadas foram menos invasivas que as do controle, demonstrando diminuição na capacidade migrativa. Mudanças de fenótipo foram observadas nas células tratadas, que adquiriram muitas gotas de gordura no seu interior, tendenciando a uma reversão de fenótipo. **CONCLUSÃO:** A fungizona, quando usada in vitro parece possuir um grande potencial de diferenciação celular e desativação em células esteladas hepáticas, podendo atuar como uma droga antifibrogênica. :

**POLIMORFISMOS NOS GENES GSTM1, GSTT1 E GSTP1 EM 750 MULHERES PARTICIPANTES DE UM PROGRAMA DE RASTREAMENTO MAMOGRAFICO DE CÂNCER DE MAMA (NMPOA) NO SUL DO BRASIL.**