

**AVALIAÇÃO DE APOPTOSE EM CULTURA DE LINFÓCITOS HUMANOS EXPOSTOS A RAPAMICINAS.** Prochnow T , Carpio VN , Dias ECA , Manfro RC , Gonçalves LF . Serviço de Nefrologia; Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Nefrologia . HCPA - UFRGS.

Fundamentação: O mecanismo de ação de alguns imunossuppressores como a rapamicina ainda não está claro, especialmente em relação a aspectos moleculares.Torna-se importante o desenvolvimento de estudos que contribuam para a sua elucidação.Objetivos:avaliar o efeito da rapamicina na indução de apoptose em linfócitos humanos periféricos.Causística:Linfócitos do sangue periférico de voluntários sadios foram separados através de centrifugação em gradiente de densidade, sendo cultivados em RPMI em placas de cultura, as quais acrescentou-se fito-hemaglutinina (PHA) e/ou rapamicina conforme o ensaio. Foram testados 4 ensaios experimentais: cultura de linfócitos não estimulados, linfócitos estimulados com PHA, linfócitos com rapamicina, e linfócitos estimulados com PHA e expostos a rapamicina. A apoptose foi determinada através da marcação com Anexina V por citometria de fluxo após 24h e 48h de cultura. A análise estatística foi realizada com o teste t de Student, considerando-se significativos valores de  $P < 0,05$ .Resultados:não houve diferença estatisticamente significativa na detecção de apoptose em linfócitos com e sem rapamicina, tanto na análise após 24 h (7,1% + 3,8 x 6,6% + 2,6,  $p=1,0$ ) como após 48h ( 6,1% + 1,9 x 6,2 + 1,8,  $p=1,0$  ). Já, linfócitos com PHA, na presença ou ausência da droga, aumentou estatisticamente a apoptose, tanto nas análises de 24h (39,0%±12,6% x 6,6%± 26%;  $P=0,002$ ) como nas de 48h (24,3%±11,0% x 6,2%±1,8%;  $P=0,033$ ). Nas culturas estimuladas com PHA a adição de rapamicina também não ocasionou aumento estatisticamente significativo nos percentuais de apoptose tanto em 24 h (49,5%±11,0% x 39,0%±12,6%;  $P=0,69$ ) como após 48 h (30,2%±8,7% x 24,3% ±24,3%±11,0%;  $P=0,73$ ).Conclusões:Os achados deste estudo mostram que há aumento de apoptose após a estimulação in vitro de linfócitos periféricos e que a rapamicina não induz apoptose nestas condições.