

1637**MICROVESÍCULAS LIBERADAS POR HEPATÓCITOS LESIONADOS INFLUENCIAM A DIFERENCIAÇÃO DE CÉLULAS DA MEDULA ÓSSEA EM CÉLULAS TIPO-HEPATÓCITOS**

Laura Simon, Mónica Luján López, Carolina Uribe Cruz, Davi Fernandes Peralvo Vergara, Ursula Matte. Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA)

Introdução: Microvesículas (MVs) liberadas pelas células podem mediar a comunicação intercelular e afetar o fenótipo das células alvo, como células da medula óssea. **Objetivos:** Avaliar a presença e o conteúdo de MVs no sobrenadante das células da FMMO diferenciadas em células tipo-hepatócitos a partir do co-cultivo com hepatócitos lesionados. **Métodos:** As células foram obtidas de ratos Wistar machos adultos. A lesão hepática aguda foi induzida pela administração de tetracloreto de carbono por gavagem (1,25 ml/kg) e, após 24 horas, foi realizada a perfusão do fígado para obtenção dos hepatócitos. Hepatócitos foram corados com o marcador de membrana fluorescente PKH26 previamente ao cultivo. A FMMO foi isolada por gradiente de densidade com Ficoll e as células não-aderentes da FMMO foram co-cultivadas com hepatócitos normais (grupo controle) e com lesão (grupo experimental) por 24 horas, separados por uma membrana semipermeável. O meio do co-cultivo livre de células foi ultracentrifugado a 100.000 g e o material sedimentado foi analisado. O tamanho das MVs e potencial de membrana foram estimados pela análise no equipamento Zetasizer. A presença dos marcadores de membrana CD29, CD31, CD45 e CD90 foi investigada nas MVs e nas células do co-cultivo por citometria de fluxo. MVs foram tratadas com RNase A e o RNA foi extraído subsequentemente. Foi analisada a presença de mRNA de Albumina (Alb), Citoqueratina 18 (CK-18), Fator V (FV) e β -actina por RT-qPCR. **Resultados:** As MVs isoladas do sobrenadante do co-cultivo têm tamanho entre 100 nm e 1 μ m, e apresentam potencial de membrana correspondente a de membranas celulares em solução fisiológica (-20mV \pm 5). A imunofenotipagem das MVs mostrou um padrão de marcadores semelhante a das células de origem. MVs isoladas do co-cultivo apresentam menor porcentagem de marcadores de células não-aderentes da FMMO, sugerindo a presença de MVs liberadas pelos hepatócitos. Foi observada a presença de RNA total nas MVs mesmo após o tratamento com RNase A em ambos os grupos. No entanto, os mRNA de Alb, CK-18 e FV foram encontrados exclusivamente no grupo experimental. A incorporação das MVs pelas células da FMMO foi mostrada pela presença de fluorescência do PKH26 após o co-cultivo. **Palavra-chave:** Micovesículas, células tipo-hepatócitos, diferenciação celular. Projeto 12-0208