

P 4301**Azatioprina e Dexametasona induzem alterações típicas de autofagia em células-tronco mesenquimais humanas**

Eduardo Cremonese Filippi Chiela, Natália Schneider, Anelise Bergmann Araújo, Nayara Franco, Ana Helena da Rosa Paz, Patrícia Luciana da Costa Lopez
Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA)

As doenças inflamatórias intestinais, entre as quais destacam-se Doença de Crohn e Retocolite Ulcerativa (RCU), são patologias caracterizadas por inflamação crônica do trato gastrointestinal. Atualmente, o tratamento farmacológico consiste de medicamentos para controle da inflamação, entre os quais destacam-se imunossupressores e aminossalicilatos. Recentemente, diversos trabalhos têm mostrado que células-tronco mesenquimais (MSCs) apresentam potencial anti-inflamatório em modelos de RCU. Assim, uma alternativa terapêutica promissora consiste na combinação de MSCs com terapias farmacológicas para controle da doença. Porém, o efeito dos fármacos utilizados clinicamente sobre mecanismos celulares das MSCs é pouco conhecido. Entre estes mecanismos destaca-se a autofagia, processo de degradação de componentes celulares próprios e bactérias intracelulares, o qual está alterado em pacientes com RCU e parece estar envolvido na patogênese da doença. No presente trabalho foi avaliado o efeito da dexametasona (DEXA) e azatioprina (AZA) na autofagia de MSCs. Para tal, MSCs de córion humano, previamente caracterizadas por citometria de fluxo e diferenciação celular, foram tratadas por 24h, 48h ou 72h com AZA (0,5 microM e 1 microM – AZA0,5 e AZA 1) ou DEXA (5 microM e 10 microM - DEXA5 e DEXA10), além da combinação AZA1+DEXA10. As doses utilizadas correspondem à concentração plasmática atingida pelos fármacos. Após os tratamentos, foi realizada citometria de fluxo para contagem celular e marcação com a sonda laranja de acridina (AO), que marca organelas vacuolares ácidas (AVOs), principalmente autolisossomos, em vermelho. DEXA aumentou a proliferação de MSCs nas duas doses testadas, bem como induziu o aumento da complexidade intracelular (parâmetro SSC na citometria de fluxo) e da marcação com AO, de maneira correlativa ao número de células (DEXA5, $p = 0,93$; DEXA10, $p = 0,81$). AZA e o tratamento combinado induziram aumento da marcação com AO, porém não interferiram no número de células. Concluindo, nossos dados indicam que ambas as drogas induzem autofagia em MSCs enquanto agem diferentemente na proliferação celular, o que poderia alterar o resultado da terapia celular. Como próxima etapa, objetivamos confirmar a indução de autofagia pelos tratamentos, bem como modular a autofagia e avaliar o secretoma de MSCs, focando na análise de citocinas inflamatórias envolvidas na patogênese de RCU. Palavras-chaves: Retocolite ulcerativa crônica, autofagia, células tronco mesenquimais. Projetos 14-0269 e 11-0616