

**BIOINFORMÁTICA****AO2715****Uma análise bioinformática de HAND2 na embriopatia da talidomida**

Bruna Duarte Rengel; Laiana Brun; Thayne Woycinck Kowalski; Lucas Rosa Fraga; Fernanda Sales Luiz Vianna  
UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

**Introdução:** A talidomida é um dos teratógenos mais potentes já conhecidos, porém seus mecanismos de teratogênese ainda não foram completamente elucidados. O seu conjunto de malformações é conhecido como embriopatia da talidomida (TE) e pode afetar os membros e o coração. HAND2 é um fator de transcrição importante durante o desenvolvimento cardíaco. Além disso, um estudo observou que a talidomida impede a usual interação de HAND2 com o fator de transcrição TBX5. **Objetivo:** Este estudo tem como objetivo realizar uma análise bioinformática de HAND2 nas malformações cardíacas e de membros características da TE. **Métodos:** A varredura do gene HAND2 para variantes foi realizada utilizando o pacote biomaRt (R v3.3.3). Para a construção das redes de biologia de sistemas foi primeiramente realizada uma pesquisa no banco de dados Human Phenotype Ontology (HPO). Foi construída uma rede com os alvos de HAND2 e TBX5 no STRING v11.0, selecionando apenas “evidências experimentais” e confiança mínima de 0,4, e exportadas para o Cytoscape v3.7.1 para análises estatísticas de redes. Também se realizou análise de enriquecimento por ontologia gênica no pacote clusterProfiler (R v3.4.4). **Resultados:** Na varredura de HAND2 foi possível observar poucas variantes, sendo as de maior frequência na região do éxon 2/3'UTR. No HPO foram identificados 475 genes envolvidos nas malformações cardíacas e 255 nas malformações de membros de TE. Observou-se que a rede de HAND2 interagiu com a rede de TBX5 por meio de GATA4 e ARID1A. Quando comparadas as redes de HAND2 e TBX5 com a rede HPO cardíaco foram observadas 17 proteínas em comum (incluindo GATA4), já na comparação com a rede HPO membros foram observados somente três proteínas em comum, sendo que duas (KMT2A e CHD4) também foram observadas na comparação com a rede HPO cardíaco. A análise de ontologias gênicas foi realizada para a rede entre HAND2 e TBX5 e mostrou enriquecimento das vias de “remodelação da cromatina” e “modificação de histonas”, além das vias de “formação do ventrículo cardíaco” e “morfogênese do ventrículo cardíaco”. **Conclusão:** As proteínas que interagiram com HAND2 e TBX5 estão envolvidas em processos de embriogênese e regulação da transcrição. A proteína GATA4 parece estar presente na interação entre HAND2 e TBX5 com as proteínas envolvidas nas malformações cardíacas da TE. Contudo, mais estudos são necessários para concluir se a interação entre HAND2 e TBX5 é importante nas malformações cardíacas da TE.

**BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR****AO2155****Zika virus infection of human mesenchymal stem cells results in severe disturbance in the ubiquitin-proteasome pathway**

Rafael Lopes da Rosa; Lucélia Santi; Markus Berger; Walter Orlando Beys-da-Silva; Jorge Almeida Guimarães  
UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

**Introduction:** The Zika virus (ZIKV) is a mosquito-borne flavivirus that causes neurodegenerative diseases, such as microcephaly and Guillain-Barré syndrome in infected individuals. The current molecular understanding of the deleterious effects and its extensions promoted by ZIKV infection remains unclear. Moreover, ZIKV has been implicated in other neurodegenerative and developmental outcomes. In order to get new insights related with mechanisms implicated in ZIKV infection and pathogenesis, we further analyzed a proteome dataset of human Mesenchymal Stem Cells (hMSC) that related ZIKV infection to brain diseases. **Methods:** hMSC differential proteome of ZIKV infection was analyzed applying a system biology approach. The list of identified proteins were submitted to Centiscape 2.2 application in Cytoscape software to calculate the degree related with the predicted regulatory relevance of each node of system. **Results and discussion:** Our results indicate that ZIKV induces a potential reprogramming of the metabolic machinery in nucleotide metabolism, changes in the energy production via glycolysis and other metabolic pathways, and potentially inhibits autophagy, neurogenesis, and immune response by downregulation of signaling pathways. In addition, proteins previously described in several brain pathologies, such as Alzheimer's disease, autism spectrum disorder, amyotrophic lateral sclerosis, and Parkinson's disease, were found with altered expression due to ZIKV infection in hMSC. In addition, we detected that proteins causing the greatest molecular perturbation in the system are directly related with the ubiquitin-proteasome pathway according to Network Degree Centrality analysis. Among these proteins, are UBA52, UBC and PPS27, recognized as important in neural formation, thus demonstrating that ubiquitin-related proteins may have an important role in ZIKV infection effects, including those related with clinical outcomes. **Conclusion:** Our system biology approach points out to a major disturbance of ubiquitin-proteasome pathway as effect of ZIKV infection in hMSC.

**AO2253****Guaraná (Paullinia Cupana): um possível ativador terapêutico de células estromais mesenquimais (MSCs)**

Dienifer Hermann Sirena; Eduardo Filippi Chiela; Alexandre Kleber Silveira; Ana Beatriz Titoni; Michele Aramburu Serafini; Ana Carolina Henzel Raymundo; Anelise Bergmann Araujo; José Claudio Moreira Fonseca; Ana Helena da Rosa Paz  
UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

**Introdução:** O guaraná é muito utilizado por suas propriedades estimulantes e medicinais. Dentre seus efeitos destacam-se as propriedades antioxidantes, cicatríciais e de potencialização das atividades metabólicas celulares. Estudos pré-clínicos demonstram que as MSCs contêm potencial terapêutico devido sua capacidade de diferenciação, imunomodulação e migração para tecidos lesionados. Estudos demonstram que MSC aumentam sua capacidade trófica e reparadora quando ativadas, com citocinas por exemplo. **Objetivos:** avaliar os efeitos do extrato de guaraná e da cafeína sobre a morfologia, viabilidade, potencial antioxidante, proliferação, ciclo celular e autofagia de MSCs humanas. **Métodos:** após o isolamento e caracterização das MSCs de placenta (CAE: 26563613.1.0000.5327), realizou-se o tratamento das mesmas, nos seguintes grupos: G10, G100 e G1000 com 10, 100 e 1000ug de extrato de guaraná por mL de meio; e C 0,4, C4 e C40 com 0,4, 4 e 40ug de cafeína por mL de meio. O grupo controle recebeu apenas meio de cultivo padrão. Após 24 de cultivo, as células foram fixadas e tiveram o citoesqueleto marcado por rodamina-faloidina. O software Image J foi utilizado para avaliar a área e a polaridade celular. A viabilidade foi analisada por MTT, o potencial

antioxidante por concentração de tióis reduzidos totais e a proliferação por ensaio de dobro populacional durante 7 dias. O ciclo celular e autofagia foram avaliados por citometria de fluxo com iodeto de propídio e laranja de acridina. Resultados: MSCs do grupo G1000 apresentaram maiores índices de polaridade celular ( $p < 0,00001$ ), viabilidade ( $P < 0,001$ ) e potencial antioxidante ( $p < 0,0224$ ). G100 e G1000 tiveram menores índices de proliferação ( $P < 0,0001$ ), apesar de não haver diferenças no ciclo celular entre os tratamentos. G1000 também revelou menores níveis de autofagia ( $p < 0,05$ ).

Conclusões: Guaraná 1000ug/mL promoveu aumento na viabilidade e no potencial antioxidante das MSCs. Desempenhando ainda um possível efeito na atividade migratória devido à modificação morfológica e aumento da polaridade celular. Os efeitos do guaraná sobre as MSCs podem gerar produtos celulares com maior potencial para diferentes aplicações clínicas.

#### AO2788

##### **Glioblastoma reduz a expressão e a funcionalidade de TLR4 em macrófagos associados ao tumor: um novo mecanismo de imunossupressão?**

Lorrayne Letycia Prado da Cruz; Morgana Dal Prá; Priscila Oliveira de Souza; Juliana Hofstatter Azambuja; Ana Paula Santin Bertoni; Marcia Rosângela Wink; Elizandra Braganhol

UFCSPA - Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

Introdução: O glioblastoma (GB) é o tumor primário mais comum e agressivo do SNC. A eficácia da terapia com temozolomida (TMZ) esbarra no desenvolvimento de quimiorrestistência. Estudos indicam que a presença de um microambiente inflamatório, o qual é constituído por macrófagos ( $M\phi$ ) predominantemente com polarização do tipo-M2, está relacionado a progressão tumoral e a quimiorrestistência. Células tumorais podem adquirir características apresentadas por células imunes, como produção de citocinas e expressão de receptores de membrana como o Toll-like 4 (TLR4). Entretanto, o papel do TLR4 na progressão do GB e no microambiente tumoral é pouco conhecido. Objetivos: O objetivo desse estudo foi avaliar a expressão e funcionalidade do TLR4 em macrófagos associados ao tumor, tentando elucidar a participação desse receptor na quimiorrestistência. Linhagens de glioma de camundongo GL261 sensível (GL) ou resistente a TMZ (GLTMZ) foram co-cultivadas com  $M\phi$  peritoneais de camundongo (C57/BL-6) durante 24h na presença ou na ausência do agonista de TLR4 (LPS: 10 ng/mL). Métodos: A expressão e a funcionalidade de TLR4 foram analisadas por qPCR e por FACS, respectivamente. Células cultivadas isoladamente foram consideradas controle. Resultados: O co-cultivo de  $M\phi$  com GL ou GLTMZ resultou em redução de 12 e 8 vezes na expressão de TLR4 em nível de mRNA, respectivamente, quando comparado ao  $M\phi$  cultivado isoladamente. Em acordo com esses dados, o co-cultivo de  $M\phi$  com GL ou GLTMZ também reduziu 5 e 3 vezes respectivamente a funcionalidade de TLR4 em  $M\phi$ . Interessantemente, o tratamento com LPS não foi capaz de ativar a resposta dos  $M\phi$  co-cultivados com células de GB. Não houve diferença significativa nos parâmetros analisados utilizando células de GB sensíveis ou quimiorrestistentes a TMZ. Conclusões: Os dados sugerem que um dos mecanismos utilizados pelo GB para criar um ambiente imunossupressor, o qual é favorável para a progressão tumoral, ocorre por meio da redução da expressão e da funcionalidade de TLR4 em  $M\phi$ . Dessa forma, mecanismos para reverter essa modulação poderiam ser úteis para induzir uma polarização do tipo M1/pro-inflamatória nos  $M\phi$  associados ao tumor, resultando em redução da progressão tumoral.

#### AO2933

##### **Efeitos neuroprotetores da guanosina em um modelo de isquemia cerebral**

Evandro Yukio Ynumaru; Gabriel Cardozo Muller; Roberto Farina Almeida; Marcelo Ganzella; Mayara Vendramin Pasquetti; Maria Elisa Calcagnotto; Diogo Onofre Gomes de Souza

UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Introdução: O AVC isquêmico (AVCi) está entre as principais causas globais de morbimortalidade. Há poucas intervenções disponíveis, que seguem aplicáveis somente a uma população restrita; torna-se então primordial a busca por novos tratamentos. Nesse contexto, a Guanosina (GUO) vem demonstrando efeitos neuroprotetores promissores em diversos modelos animais, por mecanismos não completamente estabelecidos. Previamente, sua administração em modelos animais de AVCi demonstrou boa recuperação comportamental em uma janela de 3h após o início da isquemia. Objetivo: Este trabalho busca validar a GUO como um agente neuroprotetor em um modelo de AVCi e apresentar uma nova possibilidade mecanística da molécula. Métodos: Foram utilizados ratos Wistar machos de 90-120 dias, alocados em 4 grupos (Sham, Sham GUO, IS, IG). Nos grupos Sham e Sham GUO apenas foi realizada craniotomia. Os grupos isquêmicos foram expostos à termocoagulação dos vasos piais dos córtices motor e sensorimotor, seguida pela administração de 50 $\mu$ l de solução salina (IS) ou GUO 30 mg/ml (IG) no septo nasal de cada narina, com doses administradas 3, 5 e 8 h após a cirurgia. As avaliações realizadas 48h após a isquemia foram: teste de simetria dos membros anteriores, EEG quantitativo (qEEG) e avaliação da função da barreira hematoencefálica (BHE) por meio do corante Evans Blue (EB) e dos níveis de albumina no líquido cerebrospinal (LCR). Resultados: O grupo IS apresentou um déficit comportamental em relação ao Sham, sendo revertido parcialmente pela GUO. Em relação ao qEEG, no hemisfério ipsi e contralateral à lesão isquêmica, o grupo IS apresentou uma redução no poder espectral (PSD) das ondas analisadas em relação ao Sham, com uma reversão total nos animais IG. Também se observaram correlações entre a PSD das diferentes ondas e o parâmetro comportamental, em ambos os hemisférios. A marcação de EB e os níveis de albumina no LCR, se apresentaram significativamente aumentados no grupo IS em relação ao grupo Sham, sendo normalizados pelo tratamento com GUO. Em ambos parâmetros foram constatadas correlações com o aspecto comportamental. Conclusão: Estes dados apontam de maneira inovadora para um novo mecanismo para a neuroproteção da GUO que, paralelamente, se apresenta em diversos modelos, os quais parecem ter em denominador comum a disfunção da BHE. Esse ponto reforça a possibilidade uso da GUO no contexto clínico para pacientes sem os critérios para as abordagens convencionais em AVC.