

**eP2259****Avaliação do mecanismo de ação da rapamicina em células de pacientes com esclerose tuberosa**

Clévia Rosset; Mariane Jaeger; Eduardo C. F. Chiela; Larissa Brussa Reis; Cristina Brinckmann Oliveira Netto; Caroline Brunetto de Farias; Rafael Roesler; Patricia Ashton-Prolla  
HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

**Introdução.** A esclerose tuberosa (TSC) é uma síndrome hereditária autossômica dominante causada por mutações de perda de função nos genes TSC1 ou TSC2, que codificam proteínas que agem na supressão de mTOR, um regulador mestre do crescimento celular. As manifestações da esclerose tuberosa são amplamente variadas, representando um desafio para o diagnóstico e para o desenvolvimento de tratamentos eficazes. Inibidores de mTOR são utilizados e investigados para vários sintomas em pacientes com TSC mas possuem efetividade muito variável entre pacientes tratados. Ainda não se sabe se existem diferentes respostas ao tratamento de acordo com as diferentes mutações apresentadas pelos pacientes. **Objetivo.** O objetivo deste trabalho foi avaliar o mecanismo de ação molecular e efeito do inibidor de mTOR rapamicina em células de indivíduos com diferentes mutações germinativas em TSC1 ou TSC2. **Métodos.** Biópsias de pele de aparência normal foram obtidas de cinco mulheres diagnosticadas com TSC e com mutação em heterozigose identificada (duas em TSC1 e três em TSC2) e de dois indivíduos sem mutação em ambos os genes. Os participantes assinaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido aprovado pelo CEP-HCPA e registrado no GPPG-HCPA sob número 15-0049. Culturas primárias de fibroblastos foram estabelecidas e utilizadas para avaliar viabilidade celular, progressão do ciclo celular e autofagia por citometria de fluxo. **Resultados.** Não foram observadas diferenças na viabilidade e ciclo celular entre os grupos com e sem mutação. No entanto, a autofagia parece estar diminuída em células com mutação; após o tratamento com rapamicina, o aumento do número de células autofágicas é maior no grupo com mutação ( $p=0.039$ ). Não foi possível observar correlação entre os tipos de mutação e a resposta ao tratamento com rapamicina. **Conclusão.** A autofagia é uma das funções celulares que parece estar alterada em células com mutação em heterozigose em TSC1 ou TSC2, e pode ser um dos processos celulares alvo no tratamento da esclerose tuberosa. Nesse sentido, a investigação de compostos alternativos que sejam mais baratos, de fácil acesso e que permitam o estímulo da via de autofagia será uma perspectiva de continuação e aplicação do resultado encontrado neste estudo.

**eP2286****Efeitos da ovariectomia e da suplementação com vitamina D sobre a função mitocondrial em hipocampo de ratas wistar adultas**

Cassiana Siebert; Pedro Henrique Olmedo de Freitas; Tiago Marcon dos Santos; Leo Anderson Meira Martins; Angela T.S. Wyse  
UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

**Introdução:** A menopausa é caracterizada pela interrupção das habilidades reprodutivas femininas e ocorre como consequência da redução da secreção hormonal ovariana. Particularmente os estrógenos ovarianos, além de apresentarem funções reprodutivas, também desempenham funções não reprodutivas. Estudos mostram que a deficiência de estrógenos está relacionada com processos neurodegenerativos e que distúrbios no metabolismo energético mitocondrial também tem sido relacionados com tais condições. A procura de alternativas à terapia de reposição hormonal para o tratamento da menopausa tem sido cada vez mais estudada. Neste sentido, a vitamina D, vem sendo estudada como um possível agente terapêutico. **Objetivo:** O objetivo do trabalho foi investigar o efeito da ovariectomia (OVX) e/ou da suplementação com vitamina D sobre a atividade da citocromo c oxidase, níveis de ATP e massa e potencial de membrana mitocondrial em hipocampo de ratas Wistar adultas. **Materiais e métodos:** Ratas Wistar adultas (90 dias) foram divididas em quatro grupos (SHAM, OVX, vitamina D e OVX+ vitamina D,  $n=4-6$  animais por grupo) e submetidas à remoção bilateral de ovários (OVX). Trinta dias após o procedimento foi iniciada suplementação diária com vitamina D (500 UI/Kg de peso corporal) através de gavagem, por 30 dias. Posteriormente os animais foram eutanasiados por decapitação, e o hipocampo foi dissecado para as análises. Os resultados foram analisados por ANOVA de duas vias seguida do teste de Tukey. Este trabalho foi submetido e aprovado pelo CEUA-UFRGS (28033). **Resultados:** Os resultados mostraram que a OVX foi capaz de reduzir significativamente a atividade da citocromo c oxidase ( $p<0.05$ ). A suplementação com vitamina D não foi capaz de reverter este efeito ( $p>0.05$ ). A análise dos níveis de ATP mostrou que a OVX causou redução significativa neste parâmetro ( $p<0.05$ ), e este prejuízo foi revertido pela suplementação com vitamina D ( $p<0.05$ ). Por fim, a OVX também causou redução de massa e potencial de membrana mitocondrial na estrutura estudada ( $p<0.05$ ) e a suplementação com vitamina D foi eficaz em reverter as alterações observadas ( $p<0.05$ ). **Conclusão:** A OVX provoca alterações mitocondriais em hipocampo de ratas adultas e a suplementação com vitamina D se mostrou eficaz na reversão de algumas destas alterações. Esperamos com nossos resultados auxiliar na melhor compreensão da neurobiologia da menopausa, bem como na busca de novas estratégias de proteção. **Apoio Financeiro:** CNPq e PROPESQ.

**eP2299****Identification of burkholderia cenocepacia by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight (MALDI-TOF) in comparison with polymerase chain reaction (PCR)**

Fabiana Caroline Zempulski Volpato; Priscila Lamb Wink; Daiana de Lima Morales; Afonso Luís Barth  
UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

The *Burkholderia cepacia* complex (BCC) is a group of closely related species which, are associated with different levels of virulence and patient-to-patient transmissibility among Cystic Fibrosis (CF) patients. Although all species of the complex are associated with a poor prognosis, *B. cenocepacia* genomovar III is frequently related to a drastic reduction in lung function and decrease in survival. Moreover, this specie is responsible for the "cepacia syndrome", a necrotizing pulmonary infection with high mortality rate in CF patients. Differentiation of Bcc species by biochemical tests or even by conventional automated systems is cumbersome, if possible at all. Although molecular diagnostic based on PCR is considered a very sensitive and specific method to identify Bcc species (and genomovars), it is costly and needs long turnaround times. MALDI-TOF is considered an accurate and rapid technology for bacteria identification but it may not be a reliable method to distinguish the species of Bcc. The aim of this preliminary study was to compare the MALDI-TOF with a well-established nested-PCR for *B. cenocepacia* identification. A total of 10 *B. cenocepacia* III-B previously identified by nested-PCR were submitted in duplicate to identification on MALDI-TOF (Bruker Microflex®) using a conventional protocol (extraction by formic acid directly on the MALDI-TOF plate). The MALDI-TOF identified 8 isolates as *B. cenocepacia* with