

genes, resultando no fator de transcrição EWS-FLI1. Sua expressão é um mal prognóstico da doença, pois modula características metastáticas e a resistência a tratamentos. Embora diversas medidas terapêuticas tenham sido implementadas para o SE, tem sido cada vez mais necessária a busca por novos alvos terapêuticos, devido ao crescimento de sua resistência à tratamentos. Os receptores de tropomiosina quinase (TrkA, TrkB, TrkC) são expressos em tumores de SE e estão envolvidos no processo oncogênico, na regulação da sobrevivência, desenvolvimento e plasticidade neuronal. A inibição desses receptores reduz a proliferação e aumenta a sensibilidade à quimioterapia e, por isso, são um alvo em potencial para a inibição farmacológica. Objetivos: Avaliar, em linhagens celulares de SE, a expressão de marcadores moleculares antes e após o tratamento com inibidores de receptores de tropomiosina. Métodos: Células SK-ES foram plaqueadas e tratadas com diferentes fármacos antagonistas de receptores de tropomiosina quinase (Trks): K252a (100nM e 500nM), inibidor não seletivo de Trks; ANA-12 (15uM), inibidor seletivo de TrkB e GW441756 (10uM), inibidor seletivo de TrkA. Após 48h, as células foram coletadas para análise, por RT-qPCR, da expressão dos marcadores de identidade celular (Beta-III tubulina, Nestina), marcadores de células-tronco (CD133, Oct4, Sox2, Bmi1), marcadores SE (CD99 e EWS-FLI1), marcador de indiferenciação (Musashi-1) e a expressão de β -actina como controle endógeno. Os resultados do RT-qPCR foram avaliados pelo método Delta-Delta CT. Resultados: Para os marcadores analisados, houve aumento na expressão dos genes EWS-FLI1, Nestina, Beta-III tubulina e Bmi1 após tratamento com os diferentes inibidores comparados ao controle. Porém não houve diferença no tratamento com o inibidor não seletivo de Trks, K252a, comparado a ANA-12 (TrkB) e GW441756 (TrkA). Conclusão: Esses resultados indicam que o tratamento com antagonistas de tropomiosina quinase implica na diferença de expressão de genes importantes na biologia e tumorigênese do Sarcoma de Ewing.

eP2554

Gemcitabine effects on pancreatic cancer cells and exosome release

Solon Andrades da Rosa; Karina Mariante Monteiro; Patricia Luciana da Costa Lopez
HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Pancreatic cancer is a rare cancer type worldwide, however it is the seventh more lethal tumor. Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) represents 90% of its cases. As this cancer has a silencing progression, it remains unnoticed until showing the first symptoms. When the patients look for treatment, the disease is generally in a very advanced state, high infiltrate and usually metastatic. Early diagnosis remains the main challenge for this tumors treatment. Surgical resection is impossible in advanced states. In these cases, chemotherapeutic treatment is the best option, using gemcitabine (GEM). Many tumors become drug resistant during treatment. Chemotherapeutic resistance have been recently described as being high influenced by cell communication between tumor and healthy cells. In literature, this process showed influence of extracellular vesicles pathway. These double lipidic layer spheres, are classified by its origin and size. Exosomes (EXOs), the vesicles ranging from 40 – 100 nm, and formed from multivesicular bodies, gain a lot of attention, not only because its origin allows it to transport a wide variety of molecules but also by its high penetration capability. For PDAC, few works focus on cells response to GEM at EXOs level. Moreover, the resistance building process remains unclear. To further investigate these phenomena, the aim of this work was to characterize EXOs release after treating PANC-1, pancreatic adenocarcinoma cell line, with GEM. The drug effects over cells were evaluated, as highly apoptotic and necrotic cells cease secretory metabolism, and autophagy impairs EXO formation. 24 hours treatments showed no difference in cell death between control and treated cells, at all doses. However GEM induces size increase in treated cells. Western blot analysis verified that IC50 10 μ M GEM showed the same variation on protein abundance for EXO markers, being used in the following steps. The vesicles from supernatant of treated cells were collected by subjecting conditioned media to ultracentrifugation procedures, and the obtained vesicles were confirmed as EXO by transmission electron microscopy and dynamic light scattering. Also, these analysis revealed that after GEM exposure, there was an increased concentration of EXOs by the cells and it appear to be distinct in shape, organization and size compared to control. As EXOs change in response to GEM treatment, further investigation is needed to determine its cell changing capabilities.

eP2580

Uso de células-tronco derivadas de tecido adiposo para redução de complicações da cicatrização cutânea em indivíduos tabagistas: um modelo experimental em ratos

Milena Boerner Zago; Geciéle Rodrigues Teixeira; João Maximiliano Pedron Martins; Fernanda dos Santos de Oliveira ; Elizabeth Cirne Lima; Diego Dullius; Everton Hiraiwa; Tulio Serrano; Marcus Vinicius Martins Collares
HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Introdução: A cicatrização cutânea é um fenômeno complexo e dependente das condições fisiológicas do paciente. As intercorrências, nesse processo, são frequentes em cirurgias plásticas, trazendo, algumas vezes, resultados inestéticos e que frequentemente demandam reintervenções. Uma complicação comum é a necrose cutânea secundária ao tabagismo crônico devido a ambiente de isquemia e hipóxia da ferida cirúrgica. A aplicação das células-tronco adiposo derivadas (CTDA) na ferida cutânea pode melhorar a cicatrização através de estímulos parácrinos locais, aumentando o estímulo à neovascularização e regulando a cascata de coagulação. Objetivo: Avaliar o uso das CTDA para redução da área de necrose em retalhos cutâneos em um modelo experimental de tabagismo. Metodologia: As CTDA foram isoladas de ratos e cultivadas até a 5ª passagem. Trinta ratos (n=30) foram submetidos a injeção de nicotina subcutânea (1,2mg/kg/dia) por 14 dias. A ferida foi realizada utilizando um modelo de retalho cutâneo isquêmico no dorso após 7 dias de indução ao tabagismo. O grupo tratamento (n=15), recebeu injeção intradérmica de CTDA na quantidade de 1×10^6 células. O grupo controle (n=15) não recebeu o tratamento celular. Sete dias após a cirurgia os animais foram eutanasiados e foi realizado um decalque de toda área do retalho do dorso de ambos os grupos, definindo com exatidão a transição da necrose com a região saudável. Imagens dos dorsos foram avaliadas por escalas padronizadas pelo programa Paint-Autocad-2015 para definir a área de necrose. O teste T de Student foi utilizado para comparar os grupos, sendo $p < 0,05$ considerado significativo. Os resultados foram calculados no SPSS IBM® versão 2018. Resultados: Por meio da análise das imagens pelo programa Paint-Autocad-2015 e área de decalque obtido pela folha transparente, obteve-se uma média de 46% de necrose da área total do retalho no grupo tratamento e 69,4% no grupo controle. Na análise descritiva, foi evidenciado no grupo tratamento uma média de 3,7 cm de necrose IC 95% (3,2 – 4,2) e no grupo controle uma média de 5,56 cm IC 95% (5,2 – 5,9) com $p < 0,001$. Conclusões: A aplicação das CTDA em feridas cirúrgicas de ratos submetidos a um modelo experimental de tabagismo reduziu o percentual de necrose dos mesmos e pode ser alternativa futura para pacientes tabagistas que necessitem de intervenções