

neoplasia mais incidente e a segunda com maior taxa de mortalidade no ano de 2018, em ambos os sexos e todas as idades no mundo. Tendo em vista a alta prevalência de Câncer de Mama (CM) em países de baixo e médio desenvolvimento e o envelhecimento como um dos principais fatores de risco, ele poderá se tornar um grave problema de saúde pública para o Brasil. Alterações no microambiente tumoral, em componentes do sistema purinérgico, têm sido demonstradas em diversos tipos de câncer, como bexiga, esôfago, próstata, etc. Esse sistema é composto por ectonucleotidases (CD39 e CD73), por receptores P1 e P2 e transportadores que estão relacionados à sinalização de moléculas derivadas da adenina. Este trabalho é uma coorte prospectiva que visa avaliar a atividade das enzimas CD39 e CD73 que fazem a hidrólise do ATP a AMP e do AMP à adenosina (ADO), respectivamente, a fim de identificar potenciais novos biomarcadores. Para isso, foram selecionadas 43 pacientes  $\geq$  60 anos de idade, 28 delas em tratamento para CM no ambulatório de oncologia do Hospital São Lucas da PUCRS e 15 pacientes para o grupo controle, de agosto de 2017 a dezembro de 2019. Foram coletadas duas amostras (4 ml cada) de sangue venoso periférico, antes do início do tratamento e seis meses depois. Essas amostras foram centrifugadas, o plasma coletado e incubado através do teste colorimétrico do verde de malaquita com os resultados expressos pmol/min/mg PTN. A média de idade das pacientes foi de 67 anos, 5 delas luminal A (15,15%), 12 luminal B (36,36%), 12 HER2 positivo (36,36%) e 4 pacientes triplo-negativas (12,12%). 23 (71,9%) pacientes estavam nos estágios I e II e 9 (28,1%) nos estágios III e IV, faltando o registro de uma delas. As pacientes com câncer de mama apresentaram uma maior hidrólise do AMP ( $161.0 \pm 150.8$  pmol/min/mg PTN) se comparada ao grupo controle ( $91.8 \pm 125.28$  pmol/min/mg PTN). Observamos uma redução significativa na atividade AMPasica, do início do tratamento ( $157.15 \pm 72.67$  pmol/min/mg PTN) a seis meses depois ( $76.23 \pm 81.85$  pmol/min/mg PTN). Assim, os resultados obtidos até o momento sugerem um forte potencial da enzima CD73 como marcadora de resposta ao tratamento em pacientes com câncer de mama.

Fomento: FAPERGS (PPSUS-17/2551-0001455-3).

### 2755

#### ATIVIDADE DE AMINOPEPTIDASES E ENDOPEPTIDASES DE MEMBRANA DE CÉLULAS ESTROMAIS ENDOMETRIAIS HUMANAS

LETÍCIA QUANDT; DEBORA HELENA ZANINI GOTARDI ; MARIANA DA SILVA; RAQUEL DE ALMEIDA SCHNEIDER; SABRINA BEAL PIZZATO ; CRISTIANA PALMA KUHL ; EDUARDO PANDOLFI PASSOS; MARKUS BERGER; PAULA BARROS TERRACIANO ;

HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Introdução. Peptidases são enzimas proteolíticas que regulam o metabolismo e a geração de diferentes hormônios e peptídeos biologicamente ativos. Nos órgãos reprodutivos sabe-se que a aminopeptidase N, dipeptidil-peptidase IV, carboxipeptidase M, endopeptidase neutra e a enzima conversora de endotelina-1 são expressas em células da granulosa e da teca interna e células epiteliais e estromais do endométrio. No ovário e endométrio, estão localizadas na parte externa da membrana celular e atuam na metabolização ou geração local de peptídeos importantes para o crescimento folicular, ovulação, função do corpo lúteo, diferenciação de células endometriais e implantação embrionária. Neste trabalho, buscamos caracterizar a atividade de uma série de aminopeptidases (AP) e endopeptidases em células estromais endometriais humanas (hESC). Metodologia. hESC foram isoladas de biópsias endometriais, cultivadas em condições padrão e caracterizadas por citometria de fluxo. A viabilidade celular foi analisada por MTT e contagem com azul de Trypan. As atividades de aminopeptidases e endopeptidases foram determinadas em extratos de membrana celular, utilizando substratos cromogênicos ou fluorogênicos específicos para cada enzima. Resultados. As hESC não apresentaram alterações morfológicas ou de viabilidade após 24 h de cultivo tanto na presença de nutrientes quanto em privação. Endopeptidases como calicreína intersticial, calicreína tecidual, plasmina, dipeptidil-peptidase IV e catepsina D apresentaram atividade detectável em hESCs após 24h de cultivo. Também foi detectada atividade de aminopeptidases como cisteinil-AP, AP básica e leucil-AP. Já as aminopeptidases ácida e glutamyl-AP não foram detectáveis. De maneira geral a presença de nutrientes aumentou significativamente a atividade de todas as enzimas. Endopeptidases com maior atividade como calicreínas e plasmina são enzimas capazes de gerar bradicinina e degradar matriz extracelular, tendo papel importante na fisiologia ovulatória e em patologias como endometriose. Já a cisteinil-AP e aminopeptidases básicas estão envolvidas na geração e metabolização de oxitocina importante na reatividade endometrial durante a gestação. Conclusão. Neste trabalho detectamos atividade de uma série de aminopeptidases e endopeptidases que atuam na regulação local de peptídeos no endométrio. Esses resultados serão importantes para a identificação de novos alvos e busca de inibidores farmacológicos para o tratamento de doenças ginecológicas.

### 3004

#### O PAPEL DE NEUROTROFINAS EM CÉLULAS TRONCO TUMORAIS NA IDENTIFICAÇÃO DE NOVOS ALVOS TERAPÊUTICOS EM SARCOMA DE EWING

RAFAEL PEREIRA DOS SANTOS; BRUNA ALMEIDA DOS SANTOS; MARIANE DA CUNHA JAEGER; ANDRÉ TESAINER BRUNETTO; LAURO JOSÉ GREGIANIN; ALGEMIR LUNARDI BRUNETTO; CAROLINE BRUNETTO DE FARIAS; RAFAEL ROESLER

UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

O sarcoma de Ewing (SE) é um tumor pediátrico altamente agressivo, que afeta ossos e com menor frequência tecidos moles. Acomete, principalmente, crianças, adolescentes e adultos jovens. A principal característica do SE é uma translocação cromossômica que produz o gene fusionado EWS-FLI1, o qual é encontrado em 85% dos tumores de Ewing. Uma maior compreensão da identidade e origem celular é necessária para a identificação de marcadores e alvos terapêuticos. Neurotrofinas (NTs), são proteínas secretadas pelas células as quais regulam aspectos do desenvolvimento e função

neuronal e em tecidos não neurais. Inclusive esses mesmos mecanismos são utilizados por tumores. O papel da inibição de neurotrofinas em SE já foi demonstrado, porém seu mecanismo permanece pouco compreendido. A progressão tumoral e resistência à quimioterapia pode significar uma maior resistência de células-tronco tumorais. Neste trabalho nós investigamos características celulares e moleculares, participação de neurotrofinas e de células tronco em linhagens celulares de SE com pan-inibidor de neurotrofinas K252a. Assim, as células da linhagem celular SK-ES-1 foram tratadas com K252a na dose de 100 nM. A expressão de EWS-FLI1 teve um aumento significativo após o tratamento. Esferas tumorais da linhagem SK-ES-1 foram cultivadas e expostas à K252a. Após 72 horas de tratamento, verificou-se uma diminuição significativa do número e tamanho das esferas. Foi observado uma diminuição significativa em Prom1 após o tratamento com K252a 100 nM, entretanto OCT4 teve expressão aumentada. Esses resultados demonstram pela primeira vez que o K252a atua em nível molecular em células com capacidade tronco-tumoral. Investigamos mecanismos moleculares de vias de sinalização associados com diminuição do crescimento celular de SE. O tratamento com K252a diminuiu níveis de pERK, mas não os níveis totais de ERK1. Esses resultados reforçam que o pan-inibidor de neurotrofinas tem um potencial como nova alternativa para terapia alvo para SE.

3049

#### **CARACTERIZAÇÃO DE GENES PLASMIDIAIS RELACIONADOS COM A RESISTÊNCIA ÀS QUINOLONAS EM ISOLADOS DE E. COLI PROVENIENTES DE SUÍNOS**

CAMILA ZANFELICE MÜLLER; SILVIA ADRIANA MAYER LENTZ; ANDREZA FRANCISCO MARTINS; THAIANE MARQUES SILVA

UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Quinolonas são antimicrobianos criticamente importantes para a Saúde Humana e Animal e são amplamente utilizados nos sistemas de produção. A ampla utilização destes antimicrobianos está associada a pressão seletiva promovendo a emergência da resistência em microrganismos de fontes animais, que se disseminam através do ambiente. Dentro desse contexto, as taxas de resistência a quinolonas, mediada por genes plasmidiais (qnrA, qnrB e qnrS) aumentaram significativamente nos últimos anos e preocupam pela facilidade de disseminação horizontal destes genes podendo levar ao esgotamento deste arsenal terapêutico. Assim, o objetivo deste estudo foi determinar a ocorrência dos genes de resistência qnrA, qnrB e qnrS em isolados de E. coli oriundos de suabe retal de 260 suínos (46 lotes diferentes) coletados entre março e setembro de 2018. O perfil de susceptibilidade foi determinado pelo método de disco-difusão (CLSI) e 221 isolados resistentes (R) e 39 intermediários (I) a enrofloxacin foram selecionados para pesquisa dos genes qnrA (627 bp), qnrB (469 bp) e qnrS (417 bp) por multiplex PCR in house usando controles positivos previamente caracterizados. O gene qnrB foi identificado em 7% (18/260) dos isolados, o gene qnrS em 20% (52/260) e 1 isolado (0.3%) apresentou ambos os genes. O gene qnrA não foi identificado em nenhum isolado. Apesar da alta taxa de genes plasmidiais que conferem resistência às quinolonas ter sido identificada (27,3%), outros mecanismos tais como mutações no gyrB e expressão de bombas de efluxo, podem estar presentes nestes isolados. Assim, os resultados deste estudo apontam para uma necessidade de maior controle de uso de antimicrobianos no ciclo de produção de animais para minimizar a disseminação de genes de resistência e preservar as quinolonas como uma importante opção terapêutica para o tratamento de doenças infecciosas.

3062

#### **AVALIAÇÃO DA OSCILAÇÃO CIRCADIANA DO MICROBIOMA INTESTINAL EM RATOS WISTAR MACHO**

GUILHERME RODRIGUEZ AMANDO; ANDRÉ COMIRAN TONON; DÉBORA BARROGGI CONSTANTINO; MARIA PAZ LOAYZA HIDALGO; FRANCISCO MONTAGNER

UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

O intestino abriga populações microbianas abundantes, com grande diversidade taxonômica e que sofre influência de diversos processos. Novas publicações, utilizando metagenômica, sugerem que a luz possui uma importante função na constituição de comunidades microbianas, apresentando variações circadianas em sua abundância. Entretanto, este método molecular não distingue microorganismos viáveis de não viáveis. Estudos que avaliem esta variação utilizando métodos que quantifiquem microorganismos metabolicamente ativos (i.e., cultura microbiana) são inexistentes. Compreender a oscilação circadiana do microbioma intestinal de ratos Wistar macho através de análise de cultura microbiana de diferentes tecidos do trato gastrointestinal (i.e., ceco e reto) e fezes. Durante 24h, 3 animais foram eutanasiados, a cada 6 horas (n = 12), sendo ZT0 correspondente às 7 horas da manhã. Imediatamente após a eutanásia, foi feita a dissecação dos segmentos intestinais. Para possibilitar o plaqueamento nos meios de cultura (i.e., BHI, Mitis Salivarius, Sabouraud e Brucella), todas as amostras foram diluídas em PBS. Então, realizou-se a contagem de unidades formadoras de colônia (UFC). Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (#HCPA 19-0413). No meio Brucella, a contagem de UFC/ml nas fezes foi significativamente maior no ZT0, seguido dos ZT6, ZT18 e ZT12 (p = 0,0156). No meio BHI, foram contadas mais UFC/ml em fezes (FZ) do que em ceco (CE) e mais em ceco do que em reto (RT) no ZT6 (p = 0,0321) e no ZT12 (p = 0,0036). Nos meios Sabouraud (p = 0,0214) e Mitis Salivarius (p = 0,0107), foi observado o mesmo padrão (i.e., FZ>CE>RT) no ZT0. Nós demonstramos que, a cada 6 horas, é possível observar variação nas contagens de UFC pelo método de cultura microbiana, abrangendo a oscilação diurna de bactérias anaeróbias metabolicamente ativas. Além desta variação nos horários avaliados, também foram apresentadas diferenças quantitativas de comunidades em diferentes tecidos.