

Apresentação

O Simpósio Internacional de Patologia Experimental (SIPE) foi elaborado como evento inaugural da sociedade brasileira de patologia experimental, vinculado ao Departamento de Patologia e Medicina Legal da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP) da Universidade de São Paulo (USP). Foi realizado nos dias 24, 25, 26 de fevereiro de 2010, tendo o propósito de estimular o intercâmbio científico. O evento organizado pelos pós-graduandos do Departamento, com o apoio dos docentes, representados pela Profa. Dra. Leandra Naira Zambelli Ramalho.

O principal objetivo do SIPE é a divulgação de trabalhos, promovendo discussões sobre periódicos nacionais e internacionais, proporcionando uma maior integração entre renomados pesquisadores do Brasil e do exterior, com alunos de graduação, pós-graduação e profissionais das diversas áreas da saúde, que tenham em comum o desenvolvimento de pesquisas no campo da patologia experimental.

Para tanto, foram realizadas palestras, conferências e mesas redondas, além da apresentação de trabalhos científicos desenvolvidos pelos participantes; onde o melhor trabalho foi agraciado com o prêmio “Prof. Dr. João Samuel Meira de Oliveira”, uma homenagem ao pioneiro na cirurgia experimental em cardiopatia chagásica. Homem de muitas virtudes: estudioso, querido pelos alunos e admirado pelos colegas. Foi chefe do Departamento de Patologia por dois mandatos consecutivos em 1990 e 1992, sempre participando ativamente de inúmeras comissões nesta instituição. Este prêmio visa homenagear e manter viva a lembrança de um homem de futuro, que por obra do destino se tornou um homem do passado, o qual sempre viverá na história do Departamento de Patologia e Medicina Legal.

O SIPE acontecerá bianualmente, tendo para este ano de 2010 uma previsão, estimada pela comissão organizadora de aproximadamente 200 inscritos, 80 trabalhos expostos, e a presença confirmada de 14 palestrantes brasileiros e 3 do exterior.

Comissão Organizadora

A ASSOCIAÇÃO ENTRE A DISCRETA ATIVAÇÃO DO NF- κ B COM A APOPTOSE DE CÉLULAS ESTRELADAS HEPÁTICAS NA FIBROSE ESQUISTOSSOMÓTICA HUMANA

Braz MM, Ramalho FS, Cardoso RL, Zucoloto S, Costa RS, Ramalho LN

Departamento de Patologia e Medicina Legal da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP

Este estudo objetivou comparar a ativação do fator nuclear κ B (NF- κ B) na fibrose esquistossomótica e na cirrose induzida pelo vírus da hepatite C, além da relação desta ativação com a população de células estreladas hepáticas (CEH). CEH foram avaliadas pela imuno-histoquímica para α -actina de músculo liso (α -SMA) em biópsias hepáticas de pacientes com fibrose esquistossomótica (n = 40), cirrose induzida pelo vírus da hepatite C (n = 20), e de controles normais (n = 20). A marcação de CEH para NF- κ B foi avaliada através da imuno-histoquímica, para NF- κ B p65, e pela técnica Southwestern-histoquímica, para o complexo NF- κ B ativado. A apoptose de CEH foi determinada pelo método de TUNEL. O número de CEH positivas para α -SMA e NF- κ B, ativado foi maior na cirrose que na fibrose esquistossomótica e no fígado normal. Por outro lado, foi detectado um aumento da apoptose de CEH e de expressão do NF- κ B p65 na fibrose esquistossomótica em relação aos fígados cirróticos e normais. Estes resultados mostraram uma possível associação entre a pouca ativação do complexo NF- κ B com o aumento da apoptose de CEH na fibrose esquistossomótica, ocorrendo a redução do número de CEH quando em comparação com a cirrose. Este evento pode ser relacionado à discreta resposta inflamatória induzida pelos ovos do parasita, em contraste com o evidente processo necro-inflamatório observado na cirrose hepática. Além disso, a associação da ativação de NF- κ B com o aumento de CEH pode constituir um alvo terapêutico para reprimir a fibrogênese hepática, embora mais estudos sejam necessários para garantir a maior compreensão deste fenômeno.

Palavras-chave: Fibrose Esquistossomótica. Cirrose Hepática. Células Estreladas Hepáticas. NF- κ B

Suporte financeiro: CAPES e CNPq

AÇÃO DO TRATAMENTO CRÔNICO COM FLUOXETINA NO CÓLON DE ANIMAIS SOB INDUÇÃO CARCINOGENÉTICA

Cardoso VK¹, Turatti A¹, Marini T¹, Carvalho CM², Brandão ML² e Garcia SB¹

¹Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP. ²Laboratório de Psicobiologia, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto - USP

Introdução: Os inibidores da recaptção seletiva de serotonina (SSRI) são os antidepressivos mais utilizados mundialmente, com positivo padrão às respostas adversas e alta segurança em overdoses. Recentes estudos têm associado o alto uso de SSRI a uma elevação do risco carcinogênico entre usuários. **Objetivo:** Avaliar a ação do tratamento crônico com fluoxetina *in vivo* sobre o cólon de animais com indução carcinogênica. **Metodologia:** Os animais foram divididos randomicamente, recebendo gavagens diárias de fluoxetina (30mg/kg/dia) e única aplicação intraperitoneal de DMH (1,2-Dimetilhidrazina Diidroclorido, 125 mg/kg). Os animais foram sacrificados na quarta semana pós-carcinógeno, sendo os níveis de serotonina (5-HT) e do ácido 5 hidroxindoleacético determinados por HPLC no tecido colônico, com análise no cólon em HE de iAEC (Índice Apoptótico do Epitélio Colônico). Por imunohistoquímica foi analisado iCOX-2 (ciclooxigenase-2). Os dados obtidos foram analisados utilizando-se o programa estatístico GraphPad Prism 5 (Graph Pad Software In., San Diego, Califórnia, EUA). **Resultados:** Os animais sob tratamento com fluoxetina apresentaram significativa redução de peso frente aos grupos controles (p<0,001). Ambos os grupos tratados apresentaram significativo aumento nos níveis de 5-HT (p<0,05; p<0,01), com concomitante redução nos níveis de 5-HIAA (p<0,01) e na taxa de renovação tecidual de 5-HT (p<0,01; p<0,001), ação farmacológica previamente observadas no sistema nervoso central. Estes fatos provavelmente induziram o significativo aumento na apoptose colônica (iAEC; p<0,001), bem como a significativa redução nos níveis de expressão de iCOX-2 (p<0,001). **Conclusão:** O tratamento com fluoxetina comprovadamente interferiu sobre a síntese de serotonina colônica agindo positivamente nos padrões carcinogênicos observados.

Palavras-chave: Fluoxetina. Câncer de Cólon. 1,2 - Dimetilhidrazina. Serotonina. COX-2

Suporte financeiro: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

ASPECTOS POSITIVOS DO CONSUMO DE CAFÉ SOBRE A HEPATOTOXICIDADE INDUZIDA PELA TIOACETAMIDA (TAA)

Furtado KS, Aguiar e Silva MA, Prado MG, Barbisan LF

Departamento de Morfologia, Instituto de Biociências de Botucatu - Unesp

Estudos experimentais vêm demonstrando os efeitos benéficos do café e/ou da cafeína na prevenção de danos hepáticos, porém, os resultados ainda são controversos. Desta forma, o objetivo do estudo foi avaliar a atividade protetora da ingestão de café tradicional, descafeinado ou da cafeína isolada sobre a toxicidade induzida pelo tratamento subcrônico com tioacetamida (TAA) em ratos *Wistar*. Para tanto foram utilizados 60 ratos *Wistar* machos divididos em 5 grupos experimentais: controle negativo (G1), controle positivo (G2), tratados com café tradicional (G3, 8g de pó em 140mL de água), tratados com café descafeinado (G4, 8g de pó em 140mL de água) e tratados com cafeína a 0,1% na água (G5). Os grupos G2 a G5 receberam duas injeções semanais de TAA 200mg/Kg i.p. Ao final da oitava semana do experimento os animais foram eutanasiados e amostras de sangue periférico e de fígado de cada animal foram coletadas. Foram quantificados os níveis séricos da enzima alanina aminotransferase (ALT), realizadas técnicas de hematoxilina eosina (HE), imunistoquímica (PCNA e GST-P) e quantificadas as atividades das metaloproteinases de matriz 2 e 9 (MMP-2 e 9) hepáticas por zimografia. O nível de significância adotado foi de 5%. Os grupos de animais tratados com café tradicional e cafeína 0,1% (G3 e G5 respectivamente) apresentaram maior incidência (tendência) de animais com menor extensão de lesões hepáticas centrolobulares induzidas pela TAA ($p=0,07$). Os grupos G3 e G4 apresentaram menor atividade de MMP-2 e 9 quando comparados ao grupo G2. Os resultados preliminares deste estudo indicam que o tratamento com café, em especial o tradicional, apresentam maior potencial de proteção contra os efeitos tóxicos da TAA.

Palavras-chave: Café/Cafeína. Tioacetamida. Hepatotoxicidade. Metaloproteinases de Matriz.

Suporte financeiro: FAPESP

ATUAÇÃO DAS METALOPROTEINASES 2 E 9 EM UM MODELO EXPERIMENTAL INÉDITO DE INDUÇÃO DE ANEURISMAS EM AORTA ABDOMINAL DE RATOS *WISTAR*

Mata KM¹, Prudente PS¹, Floriano EM¹, Elias Junior J², Gerlach RF³, Ramos SG¹

¹Departamento de Patologia e de Medicina Legal, ²Departamento de Clínica Médica. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP; ³Departamento de Morfologia, Estomatologia e Fisiologia da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto - USP

A degradação da matriz extracelular da parede aórtica associada à inflamação é uma das principais características dos aneurismas da aorta abdominal (AAA). O objetivo deste trabalho foi investigar a participação das metaloproteinases (MMPs) 2 e 9 na formação de AAAs, através do desenvolvimento de um modelo experimental inédito de indução de AAA em ratos *Wistar*, desencadeado por duas potenciais causas de secreção e ativação de MMPs: alteração do fluxo sanguíneo e lesão vascular externa na aorta. Os animais foram divididos em 4 grupos (8 animais), submetidos a eutanásia no 3^o e 7^o dias de pós-operatório: *Grupo AAA* (estenose extrínseca associada à lesão traumática da camada externa da aorta abdominal); *Grupo Lesão*: apenas lesão traumática na camada externa da aorta abdominal; *Grupo Estenose*: apenas estenose extrínseca na aorta; *Grupo Sham*: controle. A atividade das MMPs (2 e 9) foram avaliadas por zimografia, as alterações do fluxo sanguíneo através do Doppler, a parede aórtica por morfometria e a quantificação da inflamação por análise histológica e imunistoquímica (CD68, CD20, CD3e α -actina). A formação de aneurismas foi observada em 60%-70% dos animais, apresentando diâmetro de 7 a 8 vezes maior que o diâmetro normal da aorta, com remodelamento, intensa resposta inflamatória, destruição de fibras elásticas e aumento da síntese de colágeno. A expressão da MMP-2 foi observada tanto nos AAAs como nos grupos controles, neste com menor atividade, entretanto a expressão da MMP-9 foi encontrada apenas nos AAAs. Os resultados sugerem que as MMPs (2 e 9) apresentam importante papel no desenvolvimento de AAA e este novo modelo, pode ajudar a elucidar os mecanismos que desencadeiam a secreção e ativação das MMPs na formação de AAA.

Palavras-chave: Aneurisma de Aorta Abdominal. Modelo Experimental Inédito. Metaloproteinases. Remodelamento.

CÉLULAS ESTROMAIS MESENQUIMAIS MULTIPOTENTES MODULAM O CRESCIMENTO DE TUMORES PROMOVENDO IMUNOSSUPRESSÃO *IN SITU* E A VASCULOGÊNESE TUMORAL

Souza LEB^{1,2}, Fontes AM¹, Almeida DC¹, Bonfim-Silva R¹, Yaochite JNU¹, Covas DT¹

¹Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Células-Tronco e Terapia Celular (INCTC); ²Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP/Mestrado em Investigação Biomédica pelo Departamento de Clínica Médica

Há indícios, embora controversos, de que as propriedades pró-angiogênicas e imunomodulatórias das células estromais mesenquimais multipotentes (CTMs) podem auxiliar a progressão de tumores. Porém, as

informações a respeito dos mecanismos envolvidos neste processo são escassas. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o papel das CTMs na progressão tumoral e os mecanismos envolvidos utilizando ensaios de co-cultivo *in vitro* e um modelo de metástase pulmonar experimental de melanoma. Após co-cultivo com contato, as CTMs induziram um aumento de 1,3-1,6 vezes na proliferação das células tumorais ($p < 0,05$). Nos estudos *in vivo*, camundongos C57BL/6J ($n=5$ por grupo) receberam $3 \cdot 10^5$ células de melanoma murino B16-F10-luc-G5 (modificadas para expressar o gene luciferase) por via intravenosa e foram infundidos simultaneamente ou com doses seriadas de CTMs singênicas derivadas da medula-óssea, cujo papel no crescimento das metástases foi avaliado por meio de diversas análises. O processamento de imagem *in vivo* baseado em bioluminescência demonstrou que os animais tratados com CTMs apresentaram a progressão tumoral mais rápida ($1,16 \times 10^6 \pm 1,73 \times 10^5$ vs. $4,38 \times 10^6 \pm 2,38 \times 10^6$ fótons/s, $p < 0,05$) e o peso dos pulmões apresentou-se 1,8-2,4 vezes maior ($p < 0,05$) em relação aos animais que receberam apenas células tumorais. Além disso, a densidade vascular das metástases pulmonares foi 2 vezes maior ($p < 0,05$), indicando um efeito pró-angiogênico das CTMs infundidas. A respeito dos efeitos imunomoduladores, os animais tratados com CTMs apresentaram uma redução de 3,6 vezes no número de linfócitos T CD4 nos pulmões ($15,4 \pm 1,4\%$ vs. $4,2 \pm 2,6\%$, $p < 0,05$) e um aumento de 2,4 vezes na proporção de linfócitos T CD4/CTLA-4⁺, de perfil imunossupressor ($6,6 \pm 3,9\%$ vs. $15,8 \pm 3,3\%$, $p < 0,05$). Por outro lado, a população de linfócitos T CD8 não foi modulada. Assim, demonstrou-se que as CTMs aceleram a progressão neoplásica por meio da promoção da vasculogênese tumoral e da imunossupressão *in situ*, sendo os linfócitos T CD4/CTLA4⁺ importantes efetores celulares da imunossupressão mediada pelas CTMs.

Palavras-chave: Células Estromais Mesenquimais Multipotentes. Células-tronco Mesenquimais. Câncer. B16F10.

Suporte financeiro: FAPESP. INCTC. Centro Regional de Hemoterapia de Ribeirão Preto.

CHANGES IN GLOMERULAR CAPILLARY WALLS FROM RATS EXPOSED TO LOSARTAN DURING LACTATION

Marin ECS¹, Costa RS², Silva CGA¹, Coimbra TM¹

Departments of ¹Physiology and ²Pathology, Faculty of Medicine, USP, Ribeirão Preto, SP, Brazil.

Rats exposed to angiotensin II antagonists during lactation present disturbances in renal function and structure. This study analyzed the changes in glomerular capillary walls components of pups from dams that received losartan during lactation. Male *Wistar* rat pups, from dams that received 2% sucrose ($n=11$) or losartan (100 mg/kg/day) diluted in 2% sucrose ($n=16$) during lactation were killed at 21 days. Blood and urine were collected to evaluate the renal function and kidney removed for histological, immunohistochemical, western blot and lipid peroxidation (malondialdehyde) studies. The losartan-treated rats presented increases in albuminuria and in fractional excretions of sodium and potassium, decreased glomerular area and glomerulosclerosis. These animals presented higher number of ED1-positive cells (macrophages/ monocytes) (35.17 ± 3.69 vs 13.52 ± 2.04 per area of 0.245 mm^2) and increased score for vimentin (1.07 ± 0.24 vs 0.11 ± 0.06) in tubulointerstitium. Desmin expression at the glomerular edge was higher (0.10 ± 0.02 vs 0.00 ± 0.00) and glomerular epithelial protein 1, GLEPP1 (3.86 ± 0.01 vs 3.94 ± 0.01) was decreased in experimental pups. These animals presented decreased podocin expression (70.66 ± 10.81 vs 100.00 ± 5.55) and higher levels of malondialdehyde (70.16 ± 8.37 vs 46.12 ± 3.73). Losartan-treated pups presented several changes in components of the glomerular capillary walls and albuminuria, which were associated with interstitial inflammatory infiltration and lipid peroxidation.

Keywords: Renal Development. Angiotensin II. Angiotensin II Receptor. Losartan. Lactation.

Financial Support: FAPESP

COMPARAÇÃO DO NERVO SURAL DE RATOS NORMOTENSOS, HIPERTENSOS E HIPERTENSOS DIABÉTICOS

Sanada LS¹, Tavares MR¹, Neubern MCM¹, Salgado HC², Fazan VPS^{1,3}

¹Departamento de Neurociência e Ciência do Comportamento, ²Departamento de Fisiologia, ³Departamento de Cirurgia e Anatomia. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP

O presente estudo investigou as possíveis alterações morfológicas e morfométricas do nervo sural de ratos espontaneamente hipertensos (SHR), e SHR com diabete crônico induzido experimentalmente (SHR+STZ), em relação aos ratos normotensos (*Wistar* - WR) e WR com diabete crônico induzido experimentalmente (WR+STZ). Doze semanas antes dos experimentos, 5 WR e 5 SHR fêmeas receberam uma injeção única de estreptozotocina (STZ) endovenosa enquanto 5 WR e 5 SHR receberam veículo. Após a dissecação dos nervos surais direito e esquerdo, estes foram preparados com técnicas histológicas convencionais para estudos de microscopia de luz. Os resultados mostraram que os ratos diabéticos, SHR+STZ (150 ± 8 g) e WR+STZ (265 ± 13 g), apresentaram peso significativamente menor que os ratos controles, SHR (310 ± 11 g) e WR (359 ± 8 g). Ao observar a pressão arterial, verificou-se que os ratos SHR e SHR+STZ (216 ± 4 mmHg e 137 ± 11 mmHg) apresentam-se

significativamente maiores que os ratos WR e WR+STZ (123 ± 7 mmHg e 116 ± 4 mmHg). As principais alterações morfológicas encontradas entre os grupos foram degeneração de fibras mielínicas, vasos capilares endoneurais colabados e com paredes espessas e redução dos parâmetros fasciculares nos grupos de hipertensos em relação aos normotensos. Além disto, observou-se que o diabetes crônico, induzido experimentalmente, pela injeção endovenosa única de STZ, foi capaz de promover uma neuropatia do tipo axonal, associada a uma provável neuropatia de fibras finas, nos nervos surais de SHR, acentuando as diferenças observadas entre os animais normotensos e hipertensos.

Palavras-chave: Nervo Sural. Morfometria. Rato. Hipertensão. Diabetes.
Suporte financeiro: CNPq. FAPESP

COMPORTAMENTO BIOLÓGICO DOS IMPLANTES DE MEMBRANA DE LÁTEX DA *HARCONIA SPECIOSA* NA NEOFORMAÇÃO TECIDUAL EM CAMUNDONGOS

¹Antoniassi M, ²Santana LA, ²Ramalho FS, ³Perussi JR, ⁴Souza RV, ¹Frade MAC

¹Divisão de Dermatologia do Departamento de Clínica médica; ²Departamento de Patologia. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP. ³Universidade de São Paulo, Instituto de Química de São Carlos, Departamento de Química e Física Molecular ⁴Departamento de Clínica Cirúrgica, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP

Sabe-se das atividades desbridante e neoangiogênica da biomembrana de látex natural da *Hevea brasiliensis* (BML), tornando-se interessante avaliar as propriedades do látex da mangabeira *Harconia speciosa* que, segundo relatos indígenas, apresenta propriedade cicatrizante, sendo sua biocompatibilidade desconhecida. Objetiva-se verificar a citotoxicidade da membrana de látex *Harconia speciosa* (MH) e avaliar sua biocompatibilidade por implantes em camundongos, comparando-a à cicatrização normal. A citotoxicidade foi avaliada pelo método difusão em agar com células McCoy e para análise *in vivo* foram utilizados 60 camundongos C57BL/6, por incisão no dorso (0,3cm), onde foram acomodados implantes de MH (n=30), comparando-os à cicatrização normal (SHAM) (n=30), seguidos nos tempos 2, 7, 14, 28 e 90 dias (n=6). À histologia (HE) as lâminas foram fotografadas para contagem duplo cega de células inflamatórias, fibroblastos e número de vasos. A MH não se mostrou citotóxica. Foi observado estímulo inflamatório da MH semelhante ao SHAM em todos os tempos. A MH estimulou a angiogênese no 7º, no 14º (p<0,05) e no 28º dias, tornando-se semelhante ao SHAM no 90º dia. A fibrogênese foi estimulada pela MH do 7º ao 28º dia e similar ao SHAM no 90º mostrando diferença estatística nos 7 e 14 dias de seguimento. Tais estímulos parecem não se relacionar às diferenças do processo inflamatório, como ocorre no estímulo gerado pela BML. Os resultados demonstraram a viabilidade da manufatura da biomembrana da *Harcônia sp*, comportando-se como provável agente estimulante da cicatrização, porém novos estudos são necessários para avaliar suas propriedades autócrinas e/ou parácrinas para as células envolvidas na cicatrização.

Palavras-chave: Látex. *Harconia speciosa*. Cicatrização. Biomembrana. Implantes
Suporte financeiro: FAEPA-HCFMRP-USP

DOWN-REGULATION OF EXPRESSION OF CXCR4 IN MCF7 CELLS TREATED WITH SYNTHETIC DOUBLE-STRANDED RNA

Amarante MK, Oda JMM, Karlen-Amarante M, Watanabe MAE

Londrina State University/Department of Pathological Sciences, Biological Sciences Center, Laboratory of Molecular Genetics and Immunology - Londrina - PR/Brazil.

Introduction: The proliferative capacity of breast cancer cells is regulated by factors intrinsic to cancer cells and by secreted factors in the microenvironment. It has been verified that chemokine receptor CXCR4 and its ligand CXCL12 are involved in the migration, invasion and metastasis of breast cancer cells. Polyinosinic-polycytidylic acid [poly(I:C)], an analog of viral double-stranded RNA, interacts with Toll-like receptor 3 (TLR-3) and thereby elicits immunoinflammatory responses characteristic of viral infection. The effect of poly(I:C) on the expression of CXCR4, CXCL12, CCR5 and CCL5 in breast cancer MCF7 was investigated. **Methods:** Expression of the chemokines and chemokines receptors was evaluated by quantitative real-time PCR. **Results:** In the contrast for peripheral blood cells, poly(I:C)-induced up-expression of mRNA for TLR3 and reduced mRNA for CXCR4 ($1,73 \pm 0,14$), CXCL12 ($8,34 \pm 0,12$), CCR5 ($0,59 \pm 0,12$) and CCL5 ($5,2 \pm 0,28$) in the MCF7 cells. **Conclusions:** Poly (I:C) induced the down-regulation of expression of CXCR4 in MCF7 cells. It is known that CXCR4 is overexpressed in cancer and plays a role in invasion and metastasis. This knowledge may have subsequent application in cancer immunotherapy.

Keywords: Breast Cancer. CXCR4. dsRNA.
This study was supported by the CNPq, CAPES, Fundação Araucária and the PROPPG-UEL.

EFEITO DE EXTRATO DE LECTINA KM+ SOBRE A CICATRIZAÇÃO EPITELIAL

Balancin ML, Ramalho FS, Ramalho LN, Garcia SB, Ribeiro-Silva A, Roque-Barreira MC

Departamento de Patologia e Medicina Legal; Departamento de Biologia Celular e Molecular e Bioagentes Patogênicos. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP

KM+, uma lecitina ligante de D(+)-manose, extraída das sementes de *Artocarpus integrifolia* (jaca) que induz a migração de neutrófilos, um evento essencial à cicatrização cutânea pelo aumento de citocinas pró-inflamatórias e da sinalização à ativação precoce de fibroblastos. O escopo deste estudo foi avaliar o efeito KM+ sobre a cicatrização cutânea. O dorso de camundongos C57BL/6 foi submetido a duas áreas circulares de 1,77cm² de queimadura pelo contato com água a 80°C em tubos tipo Falcon após anestesia geral. Os animais experimentais receberam gel tópico sobre a área lesada a cada 8 horas contendo extrato de Km+ a 70µg/ml e veículo (Natrosol), enquanto os animais controle receberam veículo. Excisou-se a pele imediatamente antes do sacrifício, que ocorreu após 2 dias (grupo 1, n=10), 7 dias (grupo 2, n=10) e 14 dias (grupo 3, n=10) da queimadura. A pele foi analisada através de histologia (coloração de hematoxilina e eosina e reação imunohistoquímica a antígeno nuclear de proliferação celular (PCNA). Houve aumento significativo da quantidade de neutrófilos nas áreas em regeneração nos grupos de 2 dias e 7 dias. A formação de crosta foi maior nos grupos não tratados, exceto no grupo de 2 dias. Houve maior epitelização nos animais tratados por 7 e 14 dias. Não houve diferença na morfologia de vasos dentre os animais. Nos animais tratados agudamente houve maior evidência imunohistoquímica de fatores relacionados à cicatrização epitelial comparado aos controles. A aplicação tópica de KM+ nos primeiros dias após lesão facilitou a cicatrização agudamente; sua aplicação por períodos prolongados gerou epitélio de melhor qualidade, sendo o mecanismo responsável o aumento de influxo de neutrófilos à área lesada induzido pela lecitina.

Palavras-chave: Cicatrização de feridas. Resposta inflamatória. Infiltração neutrofilica. KM+.

Suporte financeiro: FAPESP. CNPq. FAEPA.

EFEITO DO COLESTEROL DIETÉTICO E DA ESTATINA NA ANGIOGENESE E NA EXPRESSÃO DA COX-2 EM CARCINOMAS MAMÁRIOS

Zanetti JS, Ribeiro-Silva A, Ramalho LN, Ramalho FS, Garcia SB

Departamento de Patologia e Medicina Legal - Patologia Experimental. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP

Estudos têm demonstrado que um aumento dos níveis séricos de colesterol proporciona um risco aumentado de desenvolvimento de carcinoma mamário e que a administração de drogas hipolipemiantes, inibe a proliferação de células mamárias cancerosas. A angiogênese, uma etapa essencial para a progressão tumoral, tem como principal mediador o VEGF. A COX-2 desempenha um papel chave na carcinogênese mamária por interagir com oncogenes, fatores de transcrição e com fatores reguladores tanto da apoptose quanto da angiogênese. Existem evidências de que a administração de uma dieta rica em gorduras diminui a expressão da COX-2, entretanto o papel das estatinas na expressão dessa enzima ainda é desconhecido. O presente projeto tem por objetivo avaliar, através de modelo experimental de carcinogênese mamária em 6 grupos de oito ratas Sprague-Dawley, o efeito da dieta rica em colesterol e da estatina na expressão da COX-2 e na angiogênese e linfangiogênese tumoral, avaliadas pela expressão do VEGF e pela contagem da microvasculatura sanguínea e linfática peritumoral.

Palavras-chave: Colesterol. Estatina, COX-2. Angiogênese. Carcinoma mamário.

Suporte financeiro: CNPq. FAPESP. CAPES.

EFICÁCIA DO LISINOPRIL NA CIRROSE HEPÁTICA ESTABELECIDA PELA ADMINISTRAÇÃO CRÔNICA DE TETRA-CLORETO DE CARBONO EM RATOS

Della Porta LM, Ramalho LN, Ramalho FS, Garcia SB, Silva AS, Zucoloto S

Departamento de Patologia e Medicina Legal. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP

A fibrose hepática é um processo dinâmico provocado pela lesão hepática crônica devido a diversas etiologias, culminando em cirrose. As células estreladas desempenham papel crucial nos mecanismos de injúria, regeneração e fibrose hepática. Os receptores AT1 da angiotensina II, determinam importante contração dessas células. O Lisinopril um inibidor da enzima conversora da angiotensina II, foi investigado no presente estudo juntamente com o Losartan, um bloqueador do receptor AT1 da angiotensina II, na cirrose hepática pré-estabelecida em ratos. **Metodologia:** Ratos machos *Wistar*, foram tratados com tetracloreto de carbono via oral por 10 semanas. Após este período, foram realizadas biópsias e avaliação do fluxo portal. A seguir, os animais foram alocados em 3 grupos distintos: o primeiro (n=12) recebeu losartan via intraperitoneal (i.p.), o segundo (n=12) recebeu lisinopril, i.p.; enquanto o terceiro (n=12) recebeu solução fisiológica, i.p.; 1 vez ao dia, durante

4 semanas. Após a indução, foi realizado biópsia e avaliação do fluxo portal. Terminado o tratamento com as drogas supracitadas foram submetidos a nova avaliação. Picro-sírius e imuno-histoquímico de dupla marcação para a α -actina de músculo liso e para a proteína ácida fibrilar glial, para verificar a população de células estreladas. **Resultados:** Não houve aumento do fluxo portal entre os animais dos dois grupos, comparando às medidas de fluxo pré e pós-tratamento, mas houve melhora significativa quanto ao grau de fibrose, nos animais tratados com lisinopril, em comparação aos controles. Não houve diferença entre os animais tratados com losartan e os controles. **Conclusão:** É possível que o lisinopril seja capaz de induzir regressão da cirrose e o losartan, apenas possa prevenir a fibrogênese, conforme demonstrado por estudos anteriores.

Palavras-chave: Lisinopril. Fígado. Cirrose. Célula Estreladas. Tetracloreto de Carbono.

ENVOLVIMENTO DO NÚCLEO PARAVENTRICULAR DO HIPOTÁLAMO NA RESPOSTA CARDIOVASCULAR AO ESTRESSE ORTOSTÁTICO EM RATOS NÃO ANESTESIADOS

Andrade O, Pinge MCM

Departamento de Ciências Fisiológicas - CCB - Universidade Estadual de Londrina.

O sistema nervoso autônomo tem como uma de suas principais funções, a manutenção dos níveis da pressão arterial durante os desafios ortostáticos. No entanto, pouco se sabe a respeito das áreas centrais envolvidas nessas adaptações cardiovasculares. O núcleo paraventricular do hipotálamo (NPH) está envolvido em muitas respostas reflexas cardiovasculares relacionadas com a volemia. Dessa forma, o principal objetivo deste trabalho foi avaliar o envolvimento do NPH, nas alterações da pressão arterial média (PAM) e da frequência cardíaca (FC) durante um estresse ortostático. Ratos machos adultos *Wistar* foram submetidos ao implante de cânulas-guia direcionadas ao NPH para microinjeção de drogas. Após 5 dias da recuperação os animais foram submetidos a uma nova cirurgia para a canulação crônica da artéria e veia femoral com o objetivo de monitorar a pressão arterial e administração de drogas. Após 24 horas, estando o animal acoplado ao sistema de registro cardiovascular, o estresse ortostático (tilt test) foi realizado elevando-se uma plataforma a 75 graus contendo o rato dentro de um tubo de restrição por 15 minutos. No grupo controle (microinjeção de salina) durante o tilt, a PAM e FC aumentaram (Δ PAM= 11 ± 2 mmHg, Δ FC= 101 ± 22 bpm). A microinjeção de muscimol no NPH não modificou as alterações cardiovasculares ao estresse ortostático. No entanto, a microinjeção de ácido quinurênico (inibidor dos receptores ionotrópicos para o glutamato) reverteu a taquicardia devido ao estresse em bradicardia (Δ FC= -49 ± 20 bpm). Nossos dados sugerem que o NPH esteja envolvido nas alterações cardiovasculares ao estresse ortostático e que o glutamato participe como neurotransmissor dessas respostas.

Palavras-chave: Estresse Ortostático. Núcleo Paraventricular do Hipotálamo (NPH). Tilt test.

Suporte financeiro: Capes

ESTRESSE OXIDATIVO SISTÊMICO NA DOENÇA PULMONAR OBSTRUTIVA CRÔNICA EXPERIMENTAL

Brunnquell CR, Guarnier FA, Masetto PE, Tonon J, Cecchini R

Departamento de Ciências Patológicas, UEL, Londrina/PR

Objetivo: avaliar a correlação do estresse oxidativo sistêmico com a perda de massa muscular, em ratos com enfisema pulmonar induzido experimentalmente. **Métodos:** foram utilizados 19 ratos *Wistar* machos (240-300g) distribuídos em dois grupos: Grupo enfisema (GE) – 9 animais submetidos à instilação intratraqueal de papaína. Grupo controle (GC) – 10 animais submetidos à instilação intratraqueal de NaCl 0,9%. Após 20 dias da indução, os animais experimentais e controle foram pesados, e, a coleta de sangue foi realizada para determinação da lipoperoxidação, proteínas carboniladas, glutatona reduzida (GSH), superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e pressões parciais de oxigênio e gás carbônico. O lobo médio do pulmão direito foi retirado para quantificação do número de interceptos e o gastrocnêmio para determinação da relação da massa muscular com a massa corporal total. **Resultados:** o GE mostrou número de interceptos significativamente menor ($p < 0,05$) no GE em relação ao GC. O GE mostrou índice de caquexia de $6,28 \pm 0,91\%$ com diminuição significativa ($p < 0,05$) da relação da massa muscular com a massa corporal total do GE. A lipoperoxidação de hemácias, carbonilação de proteínas, concentração de SOD e atividade da CAT do GE apresentou-se aumentada significativamente ($p < 0,05$) em relação ao GC. A quantificação de GSH e a média da pressão parcial de oxigênio e gás carbônico não apresentaram diferenças significantes. **Conclusão:** no enfisema experimental há aumento da lipoperoxidação das hemácias, da concentração de SOD, carbonilação proteica e atividade da catalase, acompanhado por perda de massa corporal e muscular. Este estudo sugere a correlação do estresse oxidativo sistêmico com a perda de massa corporal e muscular.

Palavras-chave: DPOC, Estresse Oxidativo Sistêmico. Massa Corporal. Massa Muscular.

EXPRESSÃO DA TOPOISOMERASE III β EM CARCINOMAS DUCTAIS MAMÁRIOS: FORTE ASSOCIAÇÃO COM SOBREVIDA ESPECÍFICA DA DOENÇA E METÁSTASES

Oliveira-Costa JP, Oliveira LR, Ramalho FS, Ramalho LNZ, Garcia SB, Ribeiro-Silva AR
Departamento de Patologia e Medicina Legal. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP

As topoisomerasas são enzimas nucleares que regulam a estrutura do DNA nas células eucarióticas. O papel da topoisomerase III β nos tumores mamários segue pouco compreendido. O objetivo deste estudo foi investigar o impacto prognóstico da expressão imunohistoquímica da topoisomerase III β nos carcinomas ductais de mama, e sua relação com a sobrevida dos pacientes, com achados clínico-patológicos e com fatores prognósticos do câncer de mama. Utilizando microarranjos teciduais contendo 171 casos de tumores mamários primários, nós analisamos a expressão da topoisomerase III β , receptores de estrógeno e progesterona, HER-2, p53, BRCA-1 e Ki67. Topoisomerase III β foi considerada positiva em 33.9% dos casos, e relacionou-se com metástases à distância ($p=0.036$) e óbito ($p=0.006$). Negatividade para topoisomerase III β relacionou-se com uma baixa expressão de Ki67 ($p<0.001$), p53 ($p<0.001$), BRCA-1 ($p<0.001$) e uma negatividade para HER-2 ($p<0.001$). Na análise multivariada, a expressão da topoisomerase III β mostrou-se um fator de prognóstico independente em relação à sobrevida livre da doença [hazard ratio 3.006 (intervalo de confiança a 95% 1.582-5.715); $p=0.001$]. Como conclusão, a topoisomerase III β pode ser, no futuro, um útil marcador de prognóstico para pacientes com cancer de mama.

Palavras-chave: Topoisomerase III β , Carcinoma Ductal Invasivo, Prognóstico, Imunoistoquímica.

Suporte financeiro: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

EXPRESSÃO DAS PROTEÍNAS KI-67, ALFA-SMA E VEGF NA PROGRESSÃO DA CARCINOGENESE BUCAL INDUZIDA PELA 4-NITROQUINOLINA 1-ÓXIDO

Fracalossi ACC¹, Miranda SR¹, Comparini L¹, Pozzi R², Oshima CTF¹, Ribeiro DA^{1,2}
¹Departamento de Patologia; ²Departamento de Biociências. UNIFESP

O objetivo do presente estudo foi investigar a imuno-expressão de Ki-67, alfa-SMA e VEGF durante a carcinogênese em língua de ratos induzida pela 4-nitroquinolina 1-óxido, com indicadores de proliferação celular, invasão e angiogênese, respectivamente. Machos *Wistar* foram distribuídos em três grupos de 10 animais cada e tratados com 50ppm de 4NQO em água de beber, nos períodos de 4, 12 e 20 semanas. Dez animais foram empregados como controle. Embora nenhuma anormalidade histopatológica tenha sido encontrada, após o período de 4 semanas de exposição ao cancerígeno (4NQO), expressão de Ki-67 foi observada nesse grupo. Em lesões pré-neoplásicas induzidas em 12 semanas de tratamento, os níveis de Ki-67 e alfa-SMA mostraram-se aumentados ($p<0.05$), quando comparados ao grupo controle. Expressão para o VEGF foi notada apenas em vasos na periferia das ilhotas tumorais. De acordo com os nossos resultados, podemos sugerir que a imuno-expressão das proteínas Ki-67, alfa-SMA e VEGF está envolvida na transformação e conversão maligna da mucosa oral.

Palavras-chave: Carcinoma Espinocelular. 4-nitroquinolina 1-óxido, Imuno-histoquímica, Ki-67, alfa-SMA e VEGF.

Suporte financeiro: FAPESP

FITOTERAPIA POR BARBATIMÃO (*STRYPHYNODENDRON ADSTRINGENS*) ESTIMULA CICATRIZAÇÃO DE ÚLCERAS CUTÂNEAS

Minatel DG¹, Andrade TAM², Frade MAC², Perez D³, França SC¹

¹Departamento de Biotecnologia, Universidade Federal do Amazonas (UFAM). ²Departamento de Clínica Médica (Divisão de Dermatologia), Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP. ³Departamento de Patologia, Odontologia, Universidade de Ribeirão Preto (UNAERP).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito cicatrizante da pomada de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*), nas úlceras cutâneas de ratos por meio de avaliação macroscópica e histomorfométrica. As pomadas foram confeccionadas no Laboratório Industrial Farmacêutico da Universidade de Ribeirão Preto (LIFAERP) a partir da tintura das cascas do barbatimão obtidas do Herbarium CPQBA 1276 nas concentrações de 1%, 3% e 10% de fenóis totais determinadas por espectrofotometria. Os animais ($n=12$) foram anestesiados intraperitonealmente com solução de pentobarbital sódico (40 mg/Kg), 2 úlceras cirúrgicas foram realizadas com punch de 1,5cm de diâmetro sobre o dorso depilado e foram divididos em 4 grupos: SHAM - úlceras tratadas por oclusão de gaze estéril com pomada base sem princípio ativo; P1%, P3% e P10% - úlceras tratadas com pomada de barbatimão a 1%, 3% e 10% de fenóis totais, respectivamente. Nos tempos de 2, 7 e 14 dias de seguimento foram sacrificados 4 animais, fotografadas as úlceras e em seguida foi coletada uma biópsia da úlcera com punch de 6 mm e mantido em formol a 10%. Pelo ImageJ foram calculadas as áreas das úlceras

(cm²) e o Índice de Cicatrização das Úlceras (ICU) (Af-Ai/Ai). A contagem do infiltrado inflamatório, vasos e fibroblastos foi realizada pelos cortes histológicos corados com HE e avaliados através do *plugin Cell Counter*; pelos cortes corados com tricrômio de Gomori foram avaliados a área colagênica com o *plugin Threshold Color* do ImageJ. Os resultados histológicos foram calculados pela média de 10 ROI's (*Region of Interest*) em 4 lâminas por grupo. Foi utilizado ANOVA e Bonferroni com valor de $p < 0,05$. Pela morfometria mostrou que P3% teve os maiores ICU quando comparado com os demais grupos. Estes resultados foram confirmados pelos resultados histomorfométricos, o qual P3% teve o menor infiltrado inflamatório, maior fibroplasia ($p < 0,05$ em 2 e 7 dias e $p < 0,001$ no 14^o dia) e colagênese ($p < 0,05$ em 14 dias). Os resultados demonstram que a pomada de barbatimão a 3% de fenóis totais estimula a fase proliferativa e remodelagem tecidual evidenciadas pela considerável formação de tecido de granulação, fibroplasia e colagênese.

Palavras-chave: Fitoterapia. Barbatimão. Cicatrização e Reparo Tecidual.

Suporte financeiro: CNPq

FOTOTERAPIA ACELERA A CICATRIZAÇÃO DE ÚLCERAS CUTÂNEAS DE RATOS DESNUTRIDOS

Leite SN¹, Minatel DG², Masson DS³, Andrade TAM³, Enwemeka CS⁴, Frade MAC^{1,3}

¹Programa de Pós Graduação Interunidades em Bioengenharia (Escola de Engenharia de São Carlos/Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto / Instituto de Química de São Carlos), ²Universidade Federal do Amazonas/Depto de Biotecnologia. ³Depto de Clínica Médica/Divisão de Dermatologia - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP, ⁴New York Institute of Technology/School of Health Professions/ Behavioral and Life Sciences

Objetivo: O estudo avaliou os efeitos da fototerapia por LEDs combinados na cicatrização de úlceras cutâneas dorsais de ratos nutridos e desnutridos (marasmo). Métodos: Foram utilizados 40 ratos *wistar* em controle dietético, dos quais vinte foram selecionados aleatoriamente para receber metade da dieta diária para indução do marasmo, confirmado pela perda de peso, sinais clínicos e dosagem de albumina sérica. Os animais nutridos (N) e desnutridos (D) foram distribuídos em grupos (n=10) tratados com LEDs desligados (Sham) e ligados (LEDs), sendo designados GNS; GNL; GDS e GDL, respectivamente. Duas úlceras cutâneas foram realizadas com punch 8mm no dorso e irradiadas (4 LEDs 660nm e 32 LEDs 890nm, 500mW), 3 vezes por semana durante 14 dias. O programa ImageJ[®] foi utilizado para análise das imagens das úlceras para cálculo do índice de cicatrização no 7^o e 14^o dias, além da análise histológica (Tricrômio de Gomori) para o cálculo da colagênese no 14^o dia. **Resultados:** No 7^o dia de acompanhamento, o GDS apresentou menor média dos ICUs em relação aos demais grupos, sendo diferente dos grupos GNS ($p < 0,01$), GNL ($p < 0,05$) e GDL ($p < 0,001$). No 14^o, o GDS apresentou menor média dos ICUs entre os grupos com diferença estatística de GNS ($p < 0,001$), GNL e GDL ($p < 0,01$). Histologicamente, o GDS apresentou menor percentual de colágeno em relação ao GNS ($p < 0,01$) e ao GDL ($p < 0,001$). **Conclusão:** Os resultados evidenciaram que a fototerapia por LEDs combinados (660/890nm) apresentou efeito bioestimulador da cicatrização e produção de colágeno nas úlceras cutâneas de ratos marasmáticos em comparação à cicatrização natural e fotoestimulada no grupo nutrido.

Palavras-chave: Análise de Imagem Assistida por Computador. Cicatrização de Feridas. Desnutrição. Fototerapia.

Suporte financeiro: CNPq. FAEPA. Dynatron.

FRAÇÃO F1 DO LATEX DA SERINGUEIRA HEVEA BRASILIENSIS ACELERA A CICATRIZAÇÃO DE ÚLCERAS DIABÉTICAS EM RATOS

Andrade TAM, Masson DS, Frade MAC

Departamento de Clínica Médica (Divisão de Dermatologia); Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP

Inúmeros trabalhos têm demonstrado o efeito cicatrizante da biomembrana de látex da seringueira *Hevea brasiliensis* em pessoas com diabetes *mellitus* principalmente quanto às propriedades desbridante e angiogênica relacionadas diretamente à fração protéica F1. Seu mecanismo de ação ainda é desconhecido, sendo importante avaliar a eficácia da F1 na cicatrização de úlceras cutâneas em ratos diabéticos comparando com os normais. Foram utilizados 80 ratos *Wistar* (40 normais e 40 induzidos ao diabetes por streptozotocina 45 mg/Kg), submetidos a úlceras dorsais por punch (1,5 cm de diâmetro), tratadas com CarboxiMetilCelulose (CMC) Gel 4% (grupo sham) e CMC + F1 0,01%, seguidas no 2^o, 7^o, 14^o e 21^o dia, sendo sacrificados 10 animais por tempo de cada grupo. Foram calculados os Índices de Cicatrização das Úlceras (ICU) e contados à histologia o número de células inflamatórias, vasos neoformados e fibroblastos pelo software ImageJ. No 2^o dia o grupo normal sham apresentou maiores ICU's que F1 ($p = 0,0009$), enquanto entre o diabético F1 foi maior do que o sham ($p = 0,003$). Quanto ao infiltrado inflamatório o estado metabólico do diabetes induziu maior quimiotaxia na pele que aumentou com a injúria até o 2^o dia principalmente quando associado ao F1 e se manteve no 14^o e 21^o dia de seguimento superior aos normais. Quanto ao número de vasos o estado diabético parece estimular a angiogênese constatada na análise inicial da pele ($p < 0,05$). A angiogênese no grupo normal foi mais estimulada por F1 no 2^o dia em relação a sua estimulação do grupo diabético ($p < 0,05$). A fibroplasia foi significante-

mente menor nos grupos diabéticos em relação aos normais. Os resultados demonstram que o processo inflamatório desencadeado pelo estresse metabólico do diabetes *mellitus* parece se somar e interagir ao estímulo induzido por F1 acelerando a cicatrização das úlceras cutâneas em relação aos normais.

Palavras-chave: Cicatrização. *Hevea Brasiliensis*. Diabetes *Mellitus*.

Suporte financeiro: FAPESP. FAEPA. CAPES. CNPq.

GERAÇÃO DE UM MODELO DE LESÃO HEPÁTICA INDUZIDA POR MONOCROTALINA EM CAMUNDONGOS PORTADORES DE HEMOFILIA A

Melo FUF^{1,2}, Fontes AM^{1,2}, Souza LEB^{1,2}, Fernandes AC^{1,2}, Bonfim-Silva R^{1,2}, Covas DT^{1,2}

¹Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Células-Tronco e Terapia Celular (INCTC). ²Centro Regional de Hemoterapia de Ribeirão Preto, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP

Promover o domiciliamento de células transplantadas para reparar a estrutura e função de órgãos lesados é o principal objetivo da terapia celular. Neste contexto, o desenvolvimento de modelos pré-clínicos pautados na indução do desbalanço fisiológico de certos órgãos é essencial, a fim de promover as condições necessárias para enxertia das células implantadas. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial do alcaloide pirroizilidínico monocrotalina (MCT) em promover o desbalanço fisiológico e/ou estrutural no fígado de camundongos hemofílicos. Para tanto, camundongos B6.129S4-*F8^{tm1Kaz}*/J, portadores de hemofilia A, receberam 200mg/kg de MCT por via intraperitoneal. Após 48 horas, a integridade fisiológica e estrutural do fígado dos animais foi avaliada por meio de análises histopatológicas e dos níveis séricos das enzimas hepáticas alanina aminotransferase (ALT) e aspartato transaminase (AST) por espectrofotometria. A infusão de MCT não resultou em lesões evidentes no endotélio ou parênquima hepático, visto que a morfologia dos lóbulos apresentou-se normal e não foram encontrados focos de hemorragia. No entanto, nos animais infundidos com MCT, as concentrações séricas de ALT e AST foram 1,8 e 4 vezes maior em relação aos animais não infundidos, respectivamente (ALT: 15,05±0,25 vs. 27,20±0,33 U/mL, p<0,0001; AST: 1,07±0,40 vs. 4,37±0,56 U/mL, p=0,0031). Em um ensaio complementar, a infusão de 3 doses de MCT (200mg/kg) em intervalos de 7 dias ao longo de 21 dias acarretou lesões no endotélio hepático resultando em hemorragia e fibrose, conforme constatado em análises histopatológicas. Assim, o modelo gerado em camundongos hemofílicos poderá ser utilizado em ensaios de repopulação celular do fígado visando à correção experimental da hemofilia A. Além disso, este estudo demonstra que a lesão hepática induzida por MCT constitui um modelo viável e que a extensão da lesão pode ser facilmente modulada por meio da variação do número de infusões do referido alcaloide.

Suporte financeiro: FAPESP, INCTC e Centro Regional de Hemoterapia de Ribeirão Preto.

Palavras-chave: fígado, monocrotalina, alanina aminotransferase, aspartato transaminase, lesão hepática.

HISTOLOGICAL ANALYSIS OF 4-NITROQUINOLINE-1-OXIDE INDUCED CHANGES IN RAT DIGESTIVE TRACT

Gomes TS, Ribeiro DA, Neto RA, Franco MF, Oshima CTF

Federal University of Sao Paulo – UNIFESP. Paulista Medical School – EPM

The drug 4-Nitroquinoline-1-Oxide (4NQO) is an effective carcinogen to induce oral cancer in rat model. Dissolved in drinking water, the 4NQO is distributed in all digestive tract. However, the changes that can occur in digestive tract has small been investigated. The aim of the present study was to investigate the microscopic changes that occurs in rat digestive tract following chronic administration of associated with 4-nitroquinoline 1-oxide (4NQO), a potent carcinogen comonly used in medium-term oral carcinogenesis assay. A total of 40 *Wistar* rats were used in this study, in which were treated with carcinogen 4NQO dissolved in drinking water, was administrared to 40 *Wistars* rats. The drug was administrared during four, 12, and 20 weeks and after to experiment samples from esophagus, stomach and colon were excised. Then 10 rats were used as to with samples of the negative control group. All samples were fixed in 10% formalin, embedded in parafin, 4 µm sections prepared and stained with hematoxylin and eosin (H&E). The results showed that presence of inflammation in esophagus, stomach and colon after four and 12 weeks of exposure to 4NQO. In group experimental of 04 and 12 weeks were observed the presence of inflammation in esophagus, stomach and colon. Mitotic figures and apoptotic bodies were also observed in stomach and colon, but did not in the mucosa of the esophagus. Hyperplasia and hyperkeratosis were observed in esophageal mucosa in group of 12 weeks. After In group experimental of 20 weeks-treatment, various stages dysplastic changes in esophageal mucosa, antro gastric or colonic mucosa ranging from mild to severe degree, antro gastric and colonic mucosa wereas observed. However, carcinoma was not noticed for all groups evaluated did not was diagnosed in none groups the presence of carcinoma in situ (CIS). Taken together, our results demmonstrate that In conclusion, the water-dissolved- 4NQO is able to induce can cause histopathological changes in rat digestive tract.

Keywords: 4-Nitroquinoline-1-oxide. Histopathological. Digestive Tract

IDENTIFICAÇÃO DE CÉLULAS DERIVADAS DA MEDULA ÓSSEA NO ESTROMA TUMORAL EM UM MODELO MURINO DE MELANOMA

Bonfim-Silva R^{1,2}, Fontes AM¹, Souza LEB¹, Oliveira HF¹, Melo FUF¹, Covas DT¹

¹Instituto Nacional de Ciências e Tecnologia em Células Tronco e Terapia Celular. ²Mestrado em Ciências Biológicas (Genética), Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP

Evidências experimentais indicam que células derivadas da medula óssea (CDMO) migram para o tumor e participam do estroma tumoral. Neste estudo desenvolvemos um modelo experimental para identificação de CDMO no estroma de um melanoma murino. Camundongos C57BL/6 (n=8) foram irradiados com uma dose de 10Gy e resgatados (n=6) com o transplante de 4×10^6 células da MO de C57BL/6-GFP. Vinte dias pós-transplante de MO (TMO) os animais (n=6) foram infundidos com células de melanoma B16F10/luciferase. Animais receberam 3×10^5 células via veia caudal (n=3) e 1×10^6 células via subcutânea (n=3). Duas semanas após a infusão, os animais foram primeiramente escaneados no sistema de captura de imagem IVIS, para haver a detecção das células tumorais infundidas, e posteriormente o baço e os nódulos tumorais (subcutâneos e pulmonares) foram coletados, dissociados e digeridos (colagenase 0,5%). Por citometria de fluxo foram analisados os baços, os quais mostraram elevada porcentagem de células GFP+ (85,8±4,5%) indicando pega do TMO. Na análise dos tumores, verificou-se a presença de células GFP+ (3,5±1,7% e 14,6±4,7%), sendo que, para o CD11b/GFP+ houve uma porcentagem de 65,3±13,9% e 80±21%, sugerindo uma abundante infiltração de macrófagos. Quanto ao CD3, designado como marcador de linfócito, houve uma porcentagem de 6,2±2,3% e 21,7±3,9%. Dentre os linfócitos, obteve-se 1,3±0,8% e 2,8±0,7% de CD4 e 3,1±0,04% e 13,9±0,2% de CD8. Para o CD31/GFP+, identificadas como células endoteliais, houve uma proporção de 4,2±1,1% e 7,6±1,4%. Este trabalho mostrou que o modelo experimental desenvolvido foi eficaz para o estudo da participação de CDMO na formação dos tumores. Macrófagos, linfócitos e células endoteliais derivados da MO foram detectados nos tumores, demonstrando constituir parte do estroma tumoral.

Palavras-chave: Estroma Tumoral. Melanoma. Medula Óssea.

Suporte financeiro: INCTC, CAPES, Departamento de Genética-FMRP

INFLUENCE OF FREQUENCY AND INTENSITY OF SWIMMING ON RAT COLON CARCINOGENESIS

Marini T, Demarzo MMP, Cardoso VK, Fernandes CR, Frajacomo FT, Garcia SB

Department of Pathology – School of Medicine of Ribeirão Preto – University of São Paulo

The risk for colon cancer is reduced by appropriate levels of physical exercise. However, the effects of frequency and intensity of exercise on carcinogenesis are little known. Our aim was to study different frequency and intensity of physical exercise on colon carcinogenesis biomarkers induced by 1-2- dimethylhydrazine (DMH). *Wistar* rats were divided into five groups with eighteen animals each: Sedentary (S), Light episodic exercise (LE), Intense episodic exercise (IE), Light training exercise (LT), Intense training exercise (IT). Each one of these groups was subdivided into groups with DMH treatment (D) or not (control). The exercise was performed by swimming for 60 min without load (light exercise) and 20 min with 6% of load (intense exercise) once a week (episodic exercise) and 5 times per week (training exercise), during eight weeks. After the sacrifice, the serum was collected for oxidative stress analyses (malondialdehyde-MDA, reduced glutathione-GSH and vitamin-E). The distal colon was processed for analysis of aberrant crypt focus (ACF) formation, and immunohistochemistry for evaluation of cell proliferation (by the PCNA method), and cyclooxygenase-2 (COX-2) expression. When compared to SD group, ACF formation was decreased in LTD group (67,9%); exercise groups LTD, IED and LED presented an attenuation on DMH-induced increase in cell proliferation (55,5%, 31,8%, 16,2%, respectively) and the LTD was the only group to present an attenuation of the DMH-induced increase in COX-2 expression. Biomarkers levels of oxidative stress were not change by exercise in the presence of DMH, apart from the LED that provoked significant increased of 76.5% in the GSH levels compared to the control group. The LT presented significant reduced levels of MDA when compared to the sedentary group (S) ($p < 0.05$). We concluded that the light training exercise highly effective in reducing parameters of colon carcinogenesis and this may be related to an attenuation of the expression of cyclooxygenase-2 in the colon and not to systemic oxidative stress; episodic exercise may exert a mild anti-carcinogenic effect.

Keywords: Episodic Exercise. Colon Cancer. 1-2 Dimethylhydrazine. Oxidative Stress.

INFLUÊNCIA DA DENSIDADE CORPORAL NA MÁXIMA FASE ESTÁVEL DE LACTATO DE RATOS CONTROLES E OBESOS AVALIADOS EM NATAÇÃO

dos Reis IGM, Beck WR, de Araujo GG, Gobatto CA

Departamento de Educação Física, Instituto de Biociências. UNESP campus de Rio Claro.

No modelo de natação para ratos, a associação das intensidades de exercício determinadas através da lactacidemia com as suas respectivas sobrecargas podem ser passíveis de crítica, uma vez que a quantificação

dos pesos atados ao animal pode ser imprecisa e não representar efetivamente o esforço real do animal para sua manutenção na superfície da água. Por esse motivo, o principal objetivo desse estudo foi discriminar a influência da densidade corporal (DC) na natação de roedores. Foram utilizados 24 *rattus norvegicus albinus*, machos, com 150 dias de idade, divididos em animais controles (GC) e induzidos à obesidade (GO) por meio da redução de ninhada somada a uma dieta hiperlipídica. Os animais tiveram a DC determinada por meio de um aparato de pesagem hidrostática utilizando um sistema de aquisição de dados. Posteriormente todos os ratos foram avaliados no teste de máxima fase estável de lactato (MFEL) adaptado para o modelo animal. Foi utilizado o teste t de *student* para amostras independentes com $p < 0,05$ para significância entre os grupos. O GC apresentou DC significativamente superior ao GO, $1,0302 \pm 0,0104$ e $1,0179 \pm 0,0059$ (g/cm^3) respectivamente. A carga associada a MFEL expressa em valor absoluto do GC foi significativamente inferior ao GO, $15 \pm 3,1$ e $19,2 \pm 2$ (g) respectivamente. No entanto, quando corrigida em função da DC as cargas de MFEL não apresentaram diferenças significativas entre os grupos, $32,8 \pm 6,2$ e $32,8 \pm 3,7$ (g) para GC e GO respectivamente. Já quando as cargas foram relativizadas pelo peso corporal não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos tanto para carga normal quanto para corrigida em função da DC. As concentrações de lactato demonstraram que a capacidade aeróbia não diferiu significativamente entre os grupos, $3,6 \pm 1,5$ e $3 \pm 1,2$ (mM) para GC e GO respectivamente. Assim, nos estudos de natação com ratos é importante considerar que a DC dos animais pode influenciar na avaliação.

Palavras-chave: Densidade Corporal. Máxima Fase Estável de Lactato. Modelo de Natação para Ratos.

Suporte financeiro: Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)

INFLUÊNCIA DA GLÂNDULA PINEAL SOBRE CARCINOGENESE COLÔNICA EXPERIMENTAL EM RATOS SUBMETIDOS AO EXERCÍCIO FÍSICO

Frajacomo FTT, Fernandes CR, Marini T, Cardoso VK, Demarzo MMP, Jordão Junior AA, Garcia SB
Departamento de Patologia e Medicina Legal, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP

O exercício físico tem sido proposto como uma terapia não farmacológica eficaz para a prevenção e tratamento de neoplasias, com destaque ao câncer de cólon. O presente estudo visa investigar o papel da glândula pineal sobre carcinogênese colônica experimental de ratos submetidos ao exercício físico. Dessa forma, propusemos investigar os biomarcadores colônicos de câncer, foco de cripta aberrante (FCA) e antígeno nuclear de proliferação nuclear (PCNA, além de parâmetros oxidativos hepáticos, como a enzima glutatona (GSH) e o marcador de peroxidação lipídica malonaldeído (MDA). O Estudo foi conduzido através dos grupos experimentais controle (C), luz contínua (L), Exercício (E) e luz contínua associada ao Exercício (LE), e os mesmos grupos expostos ao carcinógeno químico 1,2-Dimetilhidrazina (DMH). Exercício físico foi realizado pelo modelo de natação, 5 dias por semana durante 10 semanas. Após o período de treinamento, os animais foram sacrificados e coletadas amostras de sangue, fígado e colón para análises. O estudo do fígado revelou uma significativa influência do DMH na modulação dos parâmetros oxidativos. Já as análises colônicas dos FCAs e do PCNA mostraram-se controlados pelo exercício físico realizado em condições normais do ritmo circadiano ao passo que em condições de desbalanço fisiológico da glândula pineal pela exposição pela luz constante, esses mesmos efeitos foram revertidos em comparação ao demais grupos ($\text{LED} > \text{LD} > \text{D} > \text{ED}$, $p < 0,001$), aumento este acompanhado pela redução dos níveis plasmáticos de melatonina nesse grupo. Em conclusão, nossos dados alertam para a forte influência da glândula pineal sobre o complexo de adaptações do exercício físico no tecido colônico de ratos expostos a um carcinógeno químico.

Palavras-chave: Glândula Pineal. Luz Contínua. Câncer de Cólon. Exercício Físico. Biomarcadores do Câncer.

MAST CELL MATURATION AND NEOVASCULARIZATION CORRELATES WITH TUMOR PROGRESSION

Souza Junior D, Oliver C, Jamur MC

Department of Cellular and Molecular Biology and Pathogenic Bioagents, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - University of São Paulo.

Although here is evidence pointing to an association between mast cells and tumor progression and angiogenesis, the role of these cells in neo-vascularization and tumor progression remains obscure. This study aims to understand the involvement of mast cells in these processes. Tumors were induced by chemical carcinogenesis using a topical application of DMBA and TPA on the skin of BALB/c mice. Tumors were removed and processed for routine histology and sections were stained with toluidine blue or hematoxylin and eosin. Tissue samples were also processed for biochemical analysis. Since tumor formation and development is a dynamic and complex process, tumor progression was divided into three phases (I, II and III). Our results showed

significant differences in the number of mast cells as well as in their stage of maturation during tumor progression. While the mast cell population increased at the beginning of tumor progression, the histamine content and enzymatic activity (tryptase and chymase) of the mast cell granules increased in the late stages of tumor progression, reflecting mast cell maturation. The analysis of new blood vessel formation showed an increase in the quantity of new blood vessels, particularly in phase I. Whereas, in phases II and III there was no significant increase in new blood vessels, only an enlargement of existing blood vessels. These data suggest that mast cells participate in blood vessel formation and modulation during tumor progression, inducing angiogenesis in the early stages of tumor formation and modulating blood vessel growth in the later stages of tumor progression.

Keywords: Tumor. Mast Cell. Angiogenesis.

Financial Support: FAPESP and CNPq

MODULAÇÃO NEGATIVA DA ALERGIA CAUSADA PELA INFECÇÃO COM *Mycobacterium tuberculosis*

Campos LW, Fonseca DM, Sérgio CA, Gembre AF, Silva CL, Bonato VLD

Departamento de Bioquímica e Imunologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP

Vários estudos, utilizando modelos animais, mostraram que o contato com diferentes micobactérias ambientais e até mesmo a BCG pode resultar em modulação negativa de respostas alérgicas. Entretanto, não há nenhum estudo, de nosso conhecimento, utilizando infecção ativa pelo *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb). Nosso objetivo foi avaliar a interferência da infecção com Mtb no desenvolvimento da resposta alérgica em um modelo murino de co-inflamação Alergia X Tuberculose. Camundongos BALB/c (n = 10) foram previamente submetidos a um protocolo de indução da alergia através da sensibilização com ovalbumina (OVA), por via subcutânea e intraperitoneal, seguida por desafio com o mesmo alérgeno, por via intranasal. Após 72h do desafio, os animais foram infectados por via intranasal com Mtb e desafiados novamente com OVA 15 e 30 dias após a infecção. Camundongos alérgicos e infectados (co-inflamados) apresentaram recrutamento eosinofílico significativamente menor no lavado broncoalveolar (LBA) em relação aos apenas alérgicos. Esses camundongos co-inflamados também apresentaram redução nas concentrações de eotaxina no homogenato do pulmão e reduzida produção de muco, (morfométricamente analisado através de cortes histológicos de pulmão corados com Ácido Periódico-Shiff - PAS) em comparação com camundongos apenas alérgicos. Além disso, camundongos alérgicos e infectados apresentaram significativamente menos IL-4 e IL-5 no LBA, quando comparados com camundongos apenas alérgicos. A análise do soro mostrou que camundongos co-inflamados produziram quantidades significativamente mais elevadas de IgG2a e mais baixas de IgE específicas para OVA, quando comparados aos apenas alérgicos. Deste modo, podemos concluir que a co-inflamação Alergia X Tuberculose, em um modelo murino de infecção ativa com Mtb, resulta em modulação negativa das respostas alérgicas.

Palavras-chave: *Mycobacterium tuberculosis*. Modulação Negativa. Lavado Broncoalveolar (LBA). Resposta Alérgica. BCG.

Suporte financeiro: FAPESP, FAEP, CAPES

O PAPEL DAS METALOPROTEINASES 2 E 9 DURANTE A CARCINOGÊNESE EM RATOS INDUZIDA PELA 4-NITROQUINOLINA 1-OXIDO

Miranda SR¹, Fracalossi ACC¹, Oshima CTF, Franco M, Ribeiro DA^{1,2}

¹Departamento de Patologia; ²Departamento de Biociência, UNIFESP

As metaloproteinases estão envolvidas em vários processos fisiológicos e patológicos, incluindo morfogênese, cicatrização, reparo, angiogênese, inflamação e câncer. A proposta do trabalho foi caracterizar a expressão de MMP-2 and MMP-9 durante a carcinogênese em língua induzida pela 4-nitroquinolina 1-óxido, na concentração de 50ppm em bebedouro, nos períodos de 4, 12 e 20 semanas. Dez animais foram empregados como grupo controle. Nenhuma anormalidade histopatológica foi encontrada no epitélio após o período de 4 semanas de exposição ao carcinógeno, entretanto, expressão positiva foi observada para MMP-2 e MMP-9. Notou-se também positividade para estes marcadores em lesões pré-neoplásicas e em carcinomas espinocelulares bem diferenciados, respectivamente, nos períodos de 12 e 20 semanas. De acordo com os nossos resultados podemos sugerir que as MMP-2 e MMP-9 possuem um importante papel durante a transformação e conversão maligna da mucosa oral.

Palavras-chave: Carcinoma Espinocelular. 4-nitroquinolina 1-óxido. Imuno-histoquímica. Metaloproteinase.

Suporte financeiro: FAPESP

PADRONIZAÇÃO DA TÉCNICA PARA DETECÇÃO DO ÓXIDO NÍTRICO POR QUIMILUMINESCÊNCIA NA PELE DE CAMUNDONGOS

Souza Neto FP, Terra VA, Panis C, Cecchini R, Cecchini AL

Laboratório de Fisiopatologia de Radicais Livres, Departamento de Patologia, Universidade Estadual de Londrina, Londrina-PR

Óxido nítrico (NO) é um importante mediador biológico de processos fisiológicos e patológicos, instável e de curta meia-vida, que é rapidamente convertido em nitrato e nitrito na presença de oxigênio. O modelo experimental de irradiação aguda por UVB é utilizado para evidenciar as propriedades antioxidantes de fármacos e os padrões oxidativos do modelo já foram caracterizados. Tendo em vista que a participação do NO na lesão oxidativa da pele provocada pela irradiação não está bem estabelecida, estudos complementares serão necessários. Partindo de concentrações diferentes (0,05mg-5mg de tecido/ml), nosso objetivo foi padronizar a técnica de detecção do NO na pele por quimiluminescência, avaliando qualitativamente os perfis das curvas obtidas nas concentrações utilizadas. Estudos têm demonstrado que a reação de quimiluminescência do NO em sistemas anaeróbios contendo H_2O_2 e luminol permitem a detecção desta molécula na sua forma não oxidada de maneira altamente sensível. Os resultados foram comparados com a técnica padrão para mensuração indireta de NO, Reação de Griess. De acordo com os resultados obtidos a melhor concentração para detecção do NO por quimiluminescência foi 0.5mg de tecido/ml com emissão em torno de 50.000URL, sendo que a concentração de 0,25mg de tecido/ml é a melhor a ser utilizada para detecção do NO na pele. Utilizamos também o inibidor de NO (cpTio) e observamos total inibição da reação de quimiluminescência da pele o que comprova a especificidade do método para a molécula de NO.

PAPEL DE UM ÁCIDO POLIFENÓLICO NA LESÃO HEPÁTICA POR ISQUEMIA E REPERFUSÃO NORMOTÉRMICA EM RATOS

Pasta AAC, Gulin FS, Ramalho LNZ, Augusto MJ, Zucoloto S, Ramalho FS

Departamento de Patologia e Medicina Legal; Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP

Investigar o efeito de um ácido polifenólico (APF) na lesão hepática por isquemia e reperfusão normotérmica em ratos. Ratos adultos machos *Wistar* foram submetidos a isquemia normotérmica dos lobos hepáticos lateral esquerdo e mediano por meio do clampeamento seletivo da tríade portal durante um período de 60 minutos. Ao final do período isquêmico, o clipe metálico foi removido e a parede abdominal suturada. Os animais foram divididos em 2 grupos: ao grupo experimental (n=6) foi administrado o APF à dose de 50 mg/kg de peso corporal, via intraperitoneal (i.p.), 30 minutos antes da isquemia, 30 minutos antes da reperfusão e 2 horas após a reperfusão, enquanto o grupo controle (n=8) recebeu volume correspondente de solução glicofisiológica, via i.p., nos mesmos intervalos de tempo. Os ratos foram sacrificados seis horas após a reperfusão, sendo colhidas amostras de plasma e do fígado para posteriores análises. A intensidade da lesão hepatocelular foi estimada por meio da dosagem das aminotransferases AST e ALT, glutatona reduzida (GSH) e do estudo histológico das amostras hepáticas coradas pela hematoxilina/eosina, enquanto a resposta inflamatória hepática foi mensurada através da dosagem dos níveis de mieloperoxidase tecidual (MPO). O grau de lesão hepática foi significativamente reduzido nos animais submetidos ao tratamento com o APF em comparação ao grupo controle, tanto sob o aspecto bioquímico, por meio da redução dos níveis séricos das aminotransferases e manutenção dos níveis de GSH reduzida; quanto sob a análise histológica, por meio da quantificação morfológica do dano tecidual. O estudo da MPO revelou que o APF foi capaz de diminuir significativamente o aporte de neutrófilos para o fígado em relação ao grupo controle. O tratamento com APF demonstrou importante atividade hepatoprotetora frente à lesão por isquemia e reperfusão normotérmica, atuando possivelmente por meio da redução da atividade inflamatória aguda hepática.

Palavras-chave: Isquemia/Reperfusão. Aminotransferases. Ácido Polifenólico.

Suporte financeiro: FAPESP. CAPES.

Ao grupo CR foi administrado soro fisiológico glicosilado 0,9%