

colesterol, triglicérides, cálcio e fósforo). Foram utilizados camundongos C57BL/6, BALB/C e Swiss Webster e ratos Wistar, machos de dois a três meses de idade. As amostras de sangue total foram obtidas por punção do plexo axilar dos animais anestesiados com xilazina (16 mg/kg) e ketamina (120 mg/kg) e recolhidas utilizando-se como anticoagulante (EDTA) a 10%. As amostras de sangue recolhidas sem anticoagulante foram usadas para a obtenção dos soros utilizados para determinação de níveis de colesterol total, triglicérides, glicose, albumina e total de proteína. A dosagem de hemoglobina, hematócrito e contagem total de eritrócitos e leucócitos foram efetuadas no analisador de células sanguíneas ABC Vet (ABX Diagnostics). As dosagens de proteínas totais e albumina revelaram uma maior concentração dessas substâncias em ratos, bem como a contagem de leucócitos totais em relação às linhagens de camundongos. Os demais parâmetros hematológicos e bioquímicos não apresentaram diferenças significativas. No entanto, foi estabelecida uma variação normal dentro de cada espécie. Os resultados obtidos permitem a padronização dos intervalos de referência em animais criados em biotério, refletindo assim a condição esperada em roedores utilizados em pesquisas científicas. **Apoio financeiro:** CNPq; CAPES; FAPESP.

### **AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA DE FATORES DE TRANSCRIÇÃO ASSOCIADOS À TRANSIÇÃO EPITÉLIO-MESENQUIMAL EM CULTIVO DE CÉLULAS-TRONCO CANCEROSAS ORIUNDAS DE NEOPLASIAS MAMÁRIAS DE CADELAS (PROJETO EM ANDAMENTO)**

XAVIER, P.<sup>1</sup>; CORDEIRO, Y.<sup>1</sup>; ROCHETTI, A.<sup>1</sup>; FUKUMASU, H.<sup>1</sup>.

1. Laboratório de Oncologia Comparada e Translacional (LOCT), Departamento de Medicina Veterinária, FZEA-USP.

**Introdução e objetivos:** assim como em mulheres, as neoplasias mamárias representam o tipo mais frequente de câncer em cadelas. Esse tipo de neoplasia apresenta grande heterogeneidade celular o que torna complexa a sua classificação histopatológica, além de possivelmente ser o fator responsável pela grande diversidade de resposta aos tratamentos de eleição como exérese e quimioterapia. Recentemente tem sido estudado um grupo de células denominadas células-tronco cancerosas (CTCs), descritas como as principais responsáveis pelas falhas nas quimioterapias, formação de metástases e no aparecimento de recidivas tumorais, o que as torna um importante alvo para terapias específicas. Entretanto, alguns problemas são o seu isolamento e cultivo. Alguns estudos recentes realizaram indução do processo de transição epitélio-mesenquimal com a superexpressão de alguns fatores de transcrição como, Twist, Snail e ZEB, promovendo linhagens com capacidade de manutenção de características de CTCs. O presente trabalho foi delineado para a avaliação da expressão gênica dos fatores de transcrição associados à transição epitélio-mesenquimal em diferentes cultivos de células oriundas de neoplasias mamárias de cadelas, para futuramente ser utilizada a sua superexpressão como potencial indutor deste processo em cultivos celulares.

**Material e métodos:** quatro linhagens celulares foram caracterizadas quanto sua malignidade segundo o tempo de duplicação, cariótipo e expressão de marcadores como citoqueratina e vimentina. As células foram cultivadas em meio DMEM, suplementado com 1% MEGS, 0,5% de SFB e 1% de antibiótico. Ao ser atingido 80% de confluência tiveram seu RNA total extraído pelo reagente Trizol (Life Technologies). A quantidade e a qualidade do RNA total foram avaliadas (BioAnalyzer Agilent). A conversão de mRNA para cDNA foi realizada com o Kit SuperScript III Reverse Transcriptase (Life Technologies) que será utilizado para análise de expressão gênica por Real-Time PCR dos fatores de transcrição (FT) ZEB1, ZEB2, STAT3 e Slug.

O FT que apresentar menor expressão nas quatro linhagens será escolhido para a técnica de transgenia para sua superexpressão. **Resultados:** Quatro linhagens celulares oriundas de neoplasias mamárias (020/14; 025/14, 028/14 e 030/14) já foram isoladas e caracterizadas em testes de cariótipo, tempo de duplicação e expressão de marcadores citoqueratina e vimentina. Além disso, já foi realizada a padronização da técnica de expressão gênica para os genes ZEB1 e ZEB2. **Conclusão:** Pela padronização dos primers, pode-se sugerir a existência de baixa expressão dos genes ZEB1 e ZEB2 nas quatro linhagens estudadas. Porém, ainda é necessária a realização de estudos de análise de expressão gênica para confirmação dos dados. **Apoio financeiro:** CNPq e CAPES.

### **ESTUDO IMUNO-HISTOQUÍMICO DA EXPRESSÃO DE HIF1-A EM MASTOCITOMAS CUTÂNEOS CANINOS (PROJETO EM ANDAMENTO)**

CAMPOS, I.E.; BARRA, C.N.; PULZ, L.H.; STREFEZZI, R.F.

Laboratório de Oncologia Comparada e Translacional (LOCT), Departamento de Medicina Veterinária, FZEA-USP. Av. Duque de Caxias Norte, 225, CEP 13635-900, Pirassununga, SP, Brasil.

**Introdução e objetivos:** a malignidade e o alto poder metastático são características dos mastocitomas cutâneos dos cães o que torna cada vez mais importante o estudo de indicadores prognósticos que norteiem pesquisas em busca de novos tratamentos. A hipóxia tumoral é um evento frequente em neoplasias malignas, capaz de alterar o microambiente por meio de modificações na expressão de gênica. Para contornar a baixa oxigenação celular, este conjunto de modificações poderá piorar ou melhorar o prognóstico da neoplasia. O aumento da expressão do HIF1- $\alpha$  (Fator Induzível por Hipóxia do tipo 1 alfa), que pode ser encontrado na sua forma ativa e em grande quantidade no tecido submetido à hipóxia, permite a sobrevivência da célula neoplásica em ambiente hostil. Este fator de transcrição interage com a sequência de DNA HRE (Elementos de Resposta à Hipóxia), codificando inúmeros genes envolvidos com a angiogênese, como os das metaloproteinases de matriz e de importantes fatores de crescimento, como o VEGF e angiopoetinas. Desse modo, o HIF1- $\alpha$  pode ser responsável por conferir nova vasculatura à massa tumoral. Muitas vezes, as capacidades metastática e tecidual também são potencializadas pelo HIF1- $\alpha$ , sendo este relacionado por muitos autores à malignidade tumoral. A alta prevalência de mastocitomas em cães requer estudos que confirmem a natureza promotora ou supressora deste fator transcricional. Por isso, o presente projeto foi delineado para avaliar a presença de HIF1- $\alpha$  em mastocitomas de cães utilizando a técnica de imuno-histoquímica, de modo a serem estabelecidas relações que permitam a verificação se o HIF1- $\alpha$  é um bom indicador prognóstico para esta neoplasia.

**Material e métodos:** as amostras de mastocitomas serão processadas de acordo com as técnicas rotineiras de inclusão em parafina e os cortes histológicos serão corados pela hematoxilina e eosina para graduação das lesões e para processamento imuno-histoquímico. Este último será realizado com o anticorpo anti-HIF1- $\alpha$  (Abcam, ab463) e, para o controle negativo, a IgG de camundongo na mesma diluição. A quantificação das marcações será determinada pela porcentagem de células positivas em cinco campos de marcação intensa ("hot spots"). Os resultados serão comparados à graduação histopatológica, mortalidade em função do tumor e sobrevida. **Resultados preliminares:** a aplicação do anticorpo de acordo com as recomendações do fabricante ainda não apresentou resultados específicos e, por este motivo, encontram-se em teste novas variações do protocolo imuno-histoquímico.

**Apoio financeiro:** FAPESP (processos: 2013/13252-8 e 2014/06129-8).