

VALORES HEMATOLÓGICOS DE URUBUS-DA-CABEÇA-PRETA (*CORAGYPS ATRATUS*) DE VIDA LIVRE EM SÃO PAULO, SP

BARBARA, J.C.A.¹; FERREIRA, V.L.¹; GUIDA, F.J.V.²; PRIOSTE, F.E.S.¹; MATUSHIMA, E.R.¹; RASO, T.F.¹.

1. Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP. 2. Setor de Aves, Fundação Parque Zoológico de São Paulo (FPZ-SP), São Paulo, SP.

Introdução e objetivo: a espécie urubu-da-cabeça-preta (*Coragyps atratus*) ocorre em todo o Brasil e grandes grupos podem ser facilmente observados em regiões de lixões ou despejo de dejetos. Seu papel ecológico é bem conhecido, porém, as suas doenças e causas de morte ainda não foram elucidadas. A hematologia é um importante elemento fornecedor de informações complementares que auxiliam no diagnóstico de doenças. Para se fazer a interpretação dos exames hematológicos é necessário que os resultados sejam comparados a valores de referência, entretanto os dados hematológicos que sirvam de parâmetros normais para urubus são escassos na literatura. O presente trabalho descreve os valores hematológicos de urubus-de-cabeça-preta. **Métodos:** com a utilização de gaiolas, 61 urubus adultos e sem sinais clínicos de doença, foram capturados na área da Fundação Parque Zoológico de São Paulo. Das aves contidas fisicamente foram coletados 2 ml de sangue por punção da veia metatársica medial. As amostras de sangue foram armazenadas em tubos com EDTA, refrigeradas e levadas ao laboratório. Para quantificação de hemácias e leucócitos, uma alíquota do sangue foi diluída em solução de Natt e Herrinck (1:200) e a quantificação foi efetuada em hemocítmetro utilizando-se microscópio de luz convencional (100X). A hemoglobina foi determinada pelo método de cianometahemoglobina e a leitura foi realizada em espectrofotômetro (absorbância de 540nm). O hematócrito foi determinado pelo método do microhematócrito e a proteína plasmática total foi mensurada em refratômetro utilizando-se alíquotas de plasma obtidas por centrifugação do sangue. Após análise estatística foram calculados a média e desvios padrão dos parâmetros investigados.

Resultados e discussão: as médias e os desvios padrão dos parâmetros avaliados foram: $1,8 \pm 0,3 \times 10^6$ hemácias/mm³; 13874 ± 5385 leucócitos/mm³; $7,7 \pm 2,2$ g/dl de hemoglobina; hematócrito (Ht) de 48 ± 3 %; VCM de 270 ± 50 fL; HCM de $42 \pm 12,6$ pg; CHCM de $16 \pm 4,45$ g/dL; $3,76 \pm 0,51$ g/dl de proteína plasmática total (PPT). Os valores médios do Ht e da PPT são semelhantes ao Ht ($49,8 \pm 0,53$ %) e a PPT ($4,2 \pm 0,07$ g/dL) encontrado para *C. atratus* em um estudo desenvolvido nos EUA. Os demais resultados foram comparados com valores de referência para rapinantes. Foram observadas similaridades com valores de abutre-preto (*Aegyptius monachus*), urubus-de-cabeça-vermelha (*Cathartes aura*) e algumas espécies da família Accipitridae. Diferenças acentuadas foram notadas em comparações com valores de diversas espécies de rapinantes. **Conclusão:** os resultados obtidos fornecem dados hematológicos importantes para o estabelecimento de parâmetros hematológicos para *C. atratus*. A variação entre os dados deste trabalho com os de outros rapinantes ressalta a importância da padronização de valores de referência para a espécie. **Apoio financeiro:** CNPq.

CARACTERIZAÇÃO IMUNOFENOTÍPICA DE CÉLULAS-TRONCO/PROGENITORAS HEMATOPOIÉTICAS DA FRAÇÃO ESTROMAL VASCULAR DE TECIDO ADIPOSE DE CÃES

MAGALHÃES, A.I.; MASSOCO, C. O.

Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

A caracterização fenotípica e o isolamento de células-tronco hematopoéticas (CTH) podem fornecer informações relevantes quanto ao desenvolvimento biológico do sistema hematopoético. A habilidade em detectar e purificar essas células implica no desenvolvimento de condições para a sua manutenção e expansão em culturas in vitro. Na medicina veterinária, a purificação de células-tronco hematopoéticas caninas (CTHc) tem a finalidade de desenvolver terapias celulares, principalmente em doenças que levam à aplasia medular ou anemia aplástica nesta espécie animal. A escassez de informações sobre a caracterização fenotípica e a capacidade de proliferação e pluripotência celular de CTHc precisa ser superada. No presente trabalho com o emprego da análise imunofenotípica e de ensaios CFU, foi efetuado o isolamento, a caracterização e a expansão, de células-tronco/progenitoras hematopoéticas provenientes da fração estromal vascular (FEV) do tecido adiposo de cães. Os resultados obtidos demonstraram que, para o isolamento destas células o painel de imunofenotipagem CD45-/CD117+/CD34+ apresentou melhores resultados que o CD45-/CD38-/low/CD34+. Além disso, a detecção da atividade da enzima aldeído desidrogenase (ALDH) também pode ser uma grande aliada no enriquecimento desta fração celular. Por meio das técnicas empregadas no presente trabalho foi constatado que no tecido adiposo canino a frequência de CTH é baixa. **Apoio financeiro:** PROAP-VPT-FMVZ-USP.

ANÁLISE DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA FRENTE A ESTIRPES NEUROTRÓPICAS DO HERPESVÍRUS EQUINO TIPO 1 EM CAMUNDONGOS ISOGÊNICOS NOS SEGUNDO E TERCEIRO DIA APÓS INFECÇÃO POR MEIO DO MÉTODO DE CITOMETRIA DE FLUXO

TONIETTI, P.O.¹; MORI C.M.C.¹; MESQUITA, L.P.¹; ARÉVALO, A.F.¹; QUEIROZ, N.G.T.¹; GAMON, T.H.M.¹; LARA M.C.C.S.H.²; VILLALOBOS E.M.C.²; CUNHA E.M.S.²; MASSOCO, C.O.¹; MORI E.³; MAIORKA P.C.¹

1 Departamento de Patologia Experimental e Comparada, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo. 2. Instituto Biológico – São Paulo. 3. Instituto Pasteur, São Paulo - SP, Brasil.

Introdução e objetivos: o herpesvírus equino tipo 1 (EHV-1), importante patógeno para os equinos pode provocar quadros de rinopneumonia, abortamento, mortalidade perinatal e mieloencefalopatia herpética equina (EHM). Para o estudo desse vírus, devido às similaridades encontradas com a infecção e a resposta imune no cavalo, o camundongo tem sido utilizado como modelo biológico. No presente trabalho foi efetuada a quantificação das concentrações das citocinas pró-inflamatórias IL-6, IL-10, IFN- γ , TNF- α , IL-12p70, e da quimiocina CCL2 (MCP-1) em camundongos isogênicos inoculados por via intranasal com as estirpes brasileiras A4/72 e A9/92 do EHV-1. Material e **Métodos:** fêmeas de camundongos BALB/c, C57BL/6 e C3H/HeJ com oito semanas de idade foram inoculadas pela via intranasal com as estirpes A4/72 e A9/92 do EHV-1. Os camundongos dos grupos controle receberam apenas meio essencial de Eagle pela via intranasal. A coleta do sangue foi efetuada nos 2º e 3º dpi. As concentrações plasmáticas de IL-6, IL-10, IFN- γ , TNF- α , IL-12p70 e CCL2 foram mensuradas com o Cytometric Bead Array Mouse Inflammation Kit. Os resultados foram analisados com o programa estatístico

Graph Pad InStat (versão 3.01, 32 bit for Windows 95/NT). **Resultados e discussão:** no 2º dpi todas as linhagens de camundongos apresentaram aumento significativo ($p < 0,05$) de IL-6, IFN- γ e TNF- α e CCL2 quando infectados com a estirpe A4/72 do EHV-1. A exceção foi a linhagem C57BL/6 que não apresentou aumento apenas de CCL2. Já os animais inoculados com A9/92 apresentaram aumento apenas de IFN- γ e CCL2. Já no 3º dpi todas as linhagens de camundongos apresentaram aumento de IL-6, TNF- α e CCL2 quando inoculados com A4/72. A exceção foi a linhagem C3H/HeJ que não apresentou aumento significativo de TNF- α . Observou-se ainda que todas as linhagens inoculadas com A4/72 apresentaram elevações nos valores de TNF- α superiores aos observados nas infectadas com A9/92. Esse achado ressalta a variação das características intrínsecas das estirpes virais. De um modo geral, a comparação da concentração das citocinas pró-inflamatórias do 2º dpi para o 3º dpi apresentou aumento significativo de IL-6 e diminuição de IFN- γ , TNF- α e CCL2, havendo pouca ou nenhuma diferença entre as três linhagens isogênicas estudadas. **Conclusão:** Os achados do presente estudo indicaram que o desafio viral com as estirpes neurotrópicas do EHV-1 em camundongos induziu a produção de IFN- γ que estimulou a produção de TNF- α , IL-6 e CCL2. A diminuição da concentração de IFN- γ , TNF- α e CCL2 do 2º dpi para o 3º dpi sugere que este fato pode estar relacionado a um mecanismo de escape do EHV-1 ou à sua capacidade de modificar a resposta imune do hospedeiro. Portanto, eles devem desempenhar um papel importante na fisiopatogenia da EHM. **Apoio Financeiro:** Projeto FAPESP nº 2012/24769-9.

EFEITOS NEUROIMUNOMODULADORES DE UM MODELO DE ESTRESSE AGUDO DE CONTENÇÃO

LIMA, A.P.N.; DA CRUZ, D. S. G.; MASSOCO, C. O.

Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

Introdução e objetivos: a ativação prolongada do sistema nervoso simpático e do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal na resposta ao estresse pode gerar alterações no comportamento e no sistema imune de um indivíduo. No entanto, os efeitos imunomoduladores de um estresse agudo são ainda controversos e pouco investigados. As células dendríticas e os linfócitos são elementos essenciais para a resposta imune adaptativa, atuando como células apresentadoras de antígenos e células efetoras respectivamente. O presente trabalho investigou as alterações na atividade locomotora, na ansiedade e no fenótipo de DCs e de linfócitos esplênicos de camundongos BALB/c machos estressados por um modelo de estresse agudo de contenção (protocolo do comitê de ética 2568/2012). **Métodos:** o grupo experimental foi submetido a três sessões (em dias alternados) de contenção em tubos plásticos (14x7cm) por duas horas em cada sessão. Imediatamente após a última sessão de estresse, os animais foram avaliados em testes comportamentais (campo aberto e labirinto em cruz-elavado) e em seguida eutanasiados para a coleta de sangue e remoção do baço. A análise do fenótipo de linfócitos e DCs foi realizada por citometria de fluxo com os marcadores: MHCII, CD11c, CD80, CD86, CD40, CCR-7 CD3, CD4, CD8 e CD28. **Resultados:** os resultados obtidos demonstraram que os animais estressados apresentaram aumento da ansiedade e diminuição da expressão de moléculas CD28 em linfócitos CD8+ e de moléculas CD40 em células dendríticas. **Conclusões:** um estresse moderado e de curta duração além de causar alterações comportamentais também altera o fenótipo das células imunes. **Apoio financeiro:** FAPESP.

ANÁLISE TEMPORAL DO COMPORTAMENTO DOENTIO INDUZIDO POR LIPOPOLISSACARÍDEO EM RATAS VIRGENS E LACTANTES

NASCIMENTO, A.F.¹; BERNARDI, M.M. B; MASSOCO, C.¹; PECORARI, V.²; FELÍCIO, L.F.¹

1 Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo. 2 Universidade Paulista, Instituto de Ciências da Saúde, São Paulo, Brasil.

Introdução e objetivo: o lipopolissacárido (LPS), uma endotoxina que se origina da parede celular de bactérias Gram-negativas, ativa o sistema imune dos hospedeiros infectados que libera citocinas pró-inflamatórias indutoras de comportamento doentio. O presente trabalho caracterizou os efeitos do LPS dependentes do tempo, analisando a temperatura e peso corporais, o consumo de água de alimentos em ratas virgens e lactantes expostas a uma dose de LPS anteriormente relatada como capaz induzir o comportamento doentio em ratas prenhas. **Métodos:** ratas Wistar, virgens na fase estro e lactantes no terceiro dia da lactação receberam 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de LPS ou solução salina. A temperatura timpânica, peso corporal e consumo alimentar e de água foram avaliados 0, 2, 24, 48, 72, 96, e 120 horas após o tratamento. **Resultados:** em ratas lactantes, a temperatura timpânica foi atenuada em comparação a observada nas ratas virgens. O consumo alimentar e ganho de peso corporal diminuiu em ambos os grupos, mas as ratas lactantes consumiram mais alimentos do que as virgens. O consumo de água aumentou nos diversos tempos. **Conclusão:** a exposição ao LPS determinou o aparecimento de sinais de comportamento doentio representados por: diminuição no consumo alimentar e do ganho de peso e aumento de consumo de água tanto em fêmeas virgens como nas lactantes. O curso e perfil de hipertermia variaram ao longo do tempo entre lactantes e virgens, pareceu depender do estado fisiológico dos animais.

UNCARIA TOMENTOSA (UNHA-DE-GATO) POSSUI ATIVIDADE IMUNOMODULATÓRIA SOBRE A RESPOSTA IMUNE HUMORAL DE RATOS

MENDES, P.F.¹; PONCE, F.¹; HUEZA, I.M.^{1,2}

1. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP) - Departamento de Patologia - Universidade de São Paulo, São Paulo. 2. Instituto de Ciências Ambientais, Químicas e Farmacêuticas da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP) - Campus Diadema.

Introdução e objetivos: a *Uncaria tomentosa* é uma planta medicinal mundialmente empregada na forma de fitoterápico devido às suas propriedades anti-inflamatórias e imunomodulatórias. O presente trabalho empregou o protocolo proposto pelas principais agências internacionais de regulamentação toxicológica para investigar a possível modulação das respostas imune humorais de ratos que receberam este fitoterápico por 90 dias. **Métodos:** quarenta ratos machos foram divididos em quatro grupos iguais e tratados, pela via oral (gavagem), com as doses de 0, 15, 75 e/ou 150mg/kg de extrato seco de *Uncaria tomentosa* diluído em água. Sete dias antes do final do período experimental, todos os animais foram sensibilizados intraperitonealmente com 1 mL de eritrócitos de carneiro (SRBC) ($2,0 \times 10^9$ eritrócitos/mL). No final do período experimental, os animais foram eutanasiados e tiveram os seus esplenócitos coletados, contados e ajustados para a concentração de $12,0 \times 10^6$ células/mL. Para realização do ensaio do PFC, os esplenócitos, juntamente com os SRBC e o soro de cobaia (fonte de sistema complemento), foram adicionados a uma solução de bacto ágar a 0,5% e plaqueados em lâminas de