Introdução: Mesmo com os avanços científicos de terapias para o tratamento do câncer, ainda existe a necessidade da busca de novos procedimentos destinados a prevenção e tratamento dessa patologia. Uma alternativa possível é a fitoterapia com o emprego de plantas que contenham substâncias quimiopreventivas. Um exemplo é o óleo extraído da árvore Copaifera reticulata Ducke, que apresenta várias indicações etnofarmacológicas entre as quais está incluído o tratamento de vários tipos de neoplasia. Já foi constatado que o óleo de copaíba in natura apresenta atividade antineoplásica. No presente trabalho, o óleo da planta foi fracionado em sua porção volátil e resinosa e o efeito citotóxico e pró-apoptótico de suas biomoléculas foram avaliados em cultivos de células cancerosas e não cancerosas de pulmão de camundongo, respectivamente E9 e E10. Material e Métodos: O óleo foi fracionado com o emprego da técnica de destilação por arraste a vapor. Quarenta mililitros do óleo foram colocados em um balão volumétrico junto a 100mL de água destilada e aquecido por 2h a 76,3°C. No teste de citotoxicidade, foram utilizadas seis placas de 96 poços das quais três placas para E9 e três placas para a E10. Para cada linhagem, uma com óleo de copaíba in natura (OC), uma com a fração resina (FR) e outra com a fração volátil (FV). As placas foram mantidas a 37°C. O teste de citotoxicidade das frações foi realizado por ensaio colorimétrico com o reagente MTT, e foi expresso como a concentração que inibiu 50% das células (IC50). A análise do ciclo celular será efetuada por citometria de fluxo. A taxa de apoptose será quantificada com a técnica de fluorescência com Laranja de Acridina e Brometo de Etídio. Resultados e Discussão: A análise de absorbância mostrou as IC50 do tratamento das E10 com (OC) 0,07872μL, (FR) 0,2137μL e com (FV) 125,4μL e das E9 com (OC) 0,09384µL, (FR) 0,1861µL e (FV) 73,59µL. Os resultados obtidos até o presente indicaram que (OC) possui atividade antineoplásica, porém, que também é muito citotóxico para células hígidas. Para (FR) na concentração de 0,1861µL nas células E9, houve melhor ação quando comparada ao cultivo das E10, onde a concentração inibitória foi de 0,2137µL. Para (FV) os valores de IC50 foram muito altos, inviabilizando o seu uso. Conclusões: O óleo de Copaifera reticulata Ducke in natura foi citotóxico para as duas linhagens celulares empregadas. Já com o emprego da sua fração resina, morreram mais células cancerosas. Nos ensaios efetuados com fração volátil (FV), não houve danos em quaisquer concentrações em ambos os cultivos, sugerindonos que as propriedades quimioterápicas com maiores possibilidades de uso possam estar na fração resina. Os experimentos serão repetidos e ainda serão efetuadas as análises do ciclo celular e da taxa de apoptose. Palavra-chave: Biomoléculas antineoplásicas. Copaifera reticulata Duke. Fitoterapia.

PROTOCOLO ANESTÉSICO E ANALGÉSICO PARA CAMUNDONGOS SUBMETIDOS À VASECTOMIA

ANTIORIO, ANA TADA FONSECA BRASIL1; MORI, CLÁUDIA MADALENA CABRERA1

 Departamento de Patologia. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (USP).
 Email: anatbrasil@usp.br

Introdução e Objetivos: A vasectomia em camundongos é um método utilizado para obtenção de machos não férteis empregados para a indução de pseudoprenhez em fêmeas receptoras de embriões. Em fêmeas de camundongos, o coito induz a pseudoprenhez, estado fisiológico necessário para a implantação dos embriões. Para o procedimento cirúrgico, os animais devem estar em plano anestésico e deve ser realizada analgesia pós-cirúrgica que assegure o bem-estar dos animais. Os agentes anestésicos injetáveis mais utilizados para a realização de procedimentos cirúrgicos em camundongos

são: cloridrato de quetamina (dissociativo) associado com o cloridrato de xilazina (alpha -2 agonista) e acepromazina como sedativo. Neste protocolo foi testado o opióide fentanil como analgésico. O presente trabalho avaliou o protocolo anestésico injetável com a associação de cloridrato de quetamina, cloridrato de xilazina e acepromazina para a realização de vasectomia em camundongos e promoveu a analgesia pós-cirúrgica com o fentanil. Materiais e Métodos: Foram utilizados nove camundongos SPF, machos, F1B6xCBA, criados no Biotério de Matrizes, Instituto de Ciências Biomédicas/USP. Os anestésicos (quetamina 100 mg/kg, xilazina 10 mg/kg e acepromazina 1mg/kg) foram administrados em uma mesma seringa, via intraperitoneal conforme o peso do animal. Após o término do procedimento, o fentanil foi administrado via subcutânea, na dose de 0,4 mg/kg e 0,2 mg/Kg. Os parâmetros avaliados foram reflexo podal e caudal e aumento da frequência da taxa respiratória. Os animais foram mantidos sob placa aquecida a 37°C durante a cirurgia e até recuperação. Resultados e discussão: Não houve período excitatório durante a indução da anestesia. Os reflexos podal e caudal permaneceram por 5 a 10 minutos. Dentro desse período, a frequência respiratória ficou alterada frente aos estímulos dolorosos de pinçamento. Os animais apresentaram boa tolerância cirúrgica por aproximadamente 30 minutos, período em que foi realizado o procedimento. Três animais morreram após a administração do fentanil e então a dose desta droga foi reduzida pela metade. Os animais não respondiam a estímulos dolorosos, mas a frequência respiratória dos mesmos apresentou-se muito reduzida e superficial. Os opioides promovem analgesia profunda, entretanto, provocam efeitos adversos que incluem depressão respiratória, hipotensão e bradicardia. Conclusão: A associação dos agentes anestésicos testados mostrou-se eficiente e segura para a realização da vasectomia, entretanto, a dose do fentanil destinada a promoção da analgesia pós-cirúrgica deve ser reavaliada com o emprego de medicação pré-anestésica, como, por exemplo, a atropina. CEUA ICB/USP: no 04, fls.124 do livro 02. Palavras-chave: Camundongos. Vasectomia. Anestésicos. Analgésicos.

REDERIVAÇÃO DE LINHAGENS DE CAMUNDONGOS POR TRANSFERÊNCIA EMBRIONÁRIA PARA OBTENÇÃO DE COLÔNIAS LIVRES DE PATÓGENOS ESPECÍFICOS (SPF)

ANTIORIO, ANA TADA FONSECA BRASIL1; MASSIRONI, SÍLVIA MARIA GOMES2; CARVALHO, MÁRCIO AUGUSTO CALDAS ROCHA2; MORI, CLÁUDIA MADALENA CABRERA1

- Departamento de Patologia. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de Sao Paulo (USP).
- 2. Departamento de Imunologia. Instituto de Ciencias Biomedicas da Universidade de Sao Paulo (USP).

Email: anatbrasil@usp.br

Introdução e Objetivos: O Biotério de Camundongos do Departamento de Imunologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (ICB/USP) é adaptado para manter a colônia de criação em condições livre de patógenos específicos (SPF) por meio de barreiras sanitárias restritas. Todos os materiais e insumos utilizados dentro do biotério devem ser esterilizados por meios físicos ou químicos. Linhagens recebidas de outros biotérios devem passar pelo processo de rederivação por transferência embrionária, que é um método utilizado para se eliminar patógenos de colônias de roedores de laboratório. A transferência embrionária é um procedimento padrão utilizado para se rederivar linhagens de camundongos em biotérios mantidos sob condições SPF, sendo uma prática empregada para evitar a transmissão vertical de infecções pós-implantacionais. O presente trabalho relata o resultado da implantação da técnica de rederivação por transferência

embrionária no biotério de camundongos do Departamento de Imunologia do ICB/USP. Materiais e Métodos: As transferências embrionárias foram realizadas para rederivar linhagens de camundongos procedentes de diferentes biotérios nos quais havia sido detectada a presença de patógenos. Os embriões foram obtidos pelos métodos naturais (in vivo), por meio do acasalamento das fêmeas doadoras superovuladas, com machos férteis da mesma linhagem. Os embriões foram coletados por flushing e lavados em meio estéril por dez vezes. Dez a 15 embriões no estágio de duas células foram transferidos para fêmeas receptoras SPF, F1B6xCBA, nulíparas, pseudoprenhas no dia 0,5 pós coito (dpc). Todos os procedimentos cirúrgicos foram realizados em condições assépticas sob o fluxo laminar. Resultados e Discussão: As transferências embrionárias foram realizadas em 30 fêmeas receptoras. Foram rederivadas 13 linhagens. Após o desmame dos filhotes o controle microbiológico realizado nas fêmeas receptoras comprovou a eficácia da rederivação, pois não foram mais registrados os patógenos inicialmente identificados nas fêmeas doadoras. Conclusão: O método possibilitou a introdução de novas linhagens na criação, em condições SPF, com a consequente disponibilização de modelos animais com nível sanitário adequado à experimentação para a comunidade científica. CEUA ICB/USP: no 04, fls.124 do livro 02. Palavras-chave: Rederivação de linhagens. Camundongos. Transferência de embriões animal.

PROJETO: AVALIAÇÃO MUTACIONAL DOS GENES BRCA1 E BRCA2 EM TUMORES MAMÁRIOS DE GATAS E CORRELAÇÃO COM ASPECTOS CLÍNICOS, HISTOPATOLÓGICOS E IMUNOISTOQUÍMICOS

BRUNO COGLIATI1; VERÔNICA MOLLICA GOVONI1; EVELYN VIEIRA ZANESCO1; FABRIZIO GRANDI2

- 1-DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA DA FMVZ-USP:
- 2-DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA DA FACULDADE DE MEDICINA DE BOTUCATU

Introdução e Objetivo: O câncer de mama é uma neoplasia de grande importância em mulheres e também apresenta alta prevalência em pequenos animais. Estes tumores são classificados histologicamente e subclassificados de acordo com marcadores imunoistoquímicos e moleculares, que, em humanos, estão diretamente relacionados a fatores preditivos e prognósticos. Em gatas, a maior parte dos tumores mamários não expressa os receptores para estrógeno (ER) e progesterona (PG), assim como não apresenta superexpressão do fator de crescimento epidermal 2 (HER-2), e são classificados como tumores triplo-negativos. Em mulheres, as neoplasias mamárias com este mesmo fenótipo são consideradas mais agressivas, resistentes às terapias instituídas e comumente apresentam mutações nos genes BRCA1 e BRCA2. Como os tumores de mama em gatas são, em sua maioria, malignos e com alto grau de agressividade, o presente trabalho foi delineado para investigar a presença de mutações nos genes BRCA1 e BRCA2, correlacionando estes dados com os achados clínicos, histopatológicos e imunohistoquímicos. Material e Métodos: Serão incluídas no estudo 52 gatas atendidas e submetidas a procedimentos cirúrgicos no Serviço de Cirurgia do Hospital Veterinário Público de São Paulo. Os dados clínicos e laboratoriais serão obtidos dos prontuários dos animais. Será realizada avaliação histológica, imunoistoquímica, extração de DNA de material parafinado, com posterior Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e sequenciamento de diversos exons dos genes felinos BRCA1 e BRCA2. A investigação de novos marcadores imunoistoquímicos e moleculares em neoplasias mamárias de gatas poderá fornecer informações relevantes para o manejo clínico destes pacientes, além de permitir uma melhor compreensão de sua patogênese, bem como, da realização de estudos em oncologia comparada. **Palavras-chave:** Gene BRCA1. Gene BRCA2. Neoplasias mamárias. Gatos, fêmea.

PROJETO: PESQUISA DIAGNÓSTICA POST MORTEM DE AFOGAMENTO E BAROTRAUMA PULMONAR EM TARTARUGAS MARINHAS EMARANHADAS EM REDES DE PESCA NA REGIÃO DE UBATUBA (SP)

CRUZ-OCHOA, PABLO F.1; MATUSHIMA, ELIANA REIKO1 1Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

Introdução e Objetivos: As tartarugas marinhas são habitantes importantes dos oceanos, e a sua população representa um índice de saúde desses ecossistemas. Atividades socioeconômicas e culturais dos seres humanos estão causando uma diminuição drástica nas populações de tartarugas marinhas e a pesca com redes de arrasto e de espera é uma das práticas que tem ocasionado transtornos importantes para estes animais. O afogamento é um tipo de asfixia que ocorre em meio aquático, pela entrada ou não de água no espaço pulmonar. O objetivo do presente trabalho é caracterizar as lesões decorrentes de afogamento em tartarugas marinhas presas nas redes de pesca na região de Ubatuba. Materiais e Métodos: Os animais entregues ao Projeto Tamar serão submetidos à necropsia, análise histopatológica, pesagem de órgãos (pulmão e estômago). Além disso, serão efetuadas análises de salinidade do líquido celomático, bronquial e do conteúdo estomacal, junto com dosagem de magnésio (Mg) e cálcio (Ca), em líquido pericárdico, celomático e no sangue. Apoio financeiro: CAPES. Palavras-chave: Tartarugas marinhas. Ferimentos e lesões. Afogamento. Ubatuba (SP).

PROJETO: AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DE GALECTINAS EM MELANOMA ORAL CANINO E SUA CORRELAÇÃO COM O ESTADIAMENTO CLÍNICO

GARCIA, JÉSSICA1; MASSOCO, CRISTINA1

1Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

Introdução: O melanoma oral, neoplasia frequente em cães, tem caráter maligno, invasivo, com potencial metastático. Na atualidade, muitas modalidades de tratamento estão sendo estudadas para essa neoplasia. Estudos recentes têm se voltado para a compreensão do microambiente tumoral e das formas disponíveis para a sua manipulação. As galectinas são proteínas ligadas a carboidratos da família das lectinas presentes no núcleo, citoplasma e superfície de células que são secretadas em diversos tecidos. Nos mamíferos já foram identificadas 15 galectinas, porém a galectina-1 e a galectina-3 parecem ser as mais fortemente relacionadas com a progressão neoplásica e formação de metástases. Acredita-se que estas duas galectinas estejam associadas à transformação neoplásica, sobrevivência da célula neoplásica, angiogênese, evasão do sistema imune e formação de metástases. A galectina-1 está principalmente relacionada com a transformação tumoral, evasão do sistema imune e está sendo estudada em alguns tipos de tumores humanos como de pulmão, ovário, mama e gástrico. A galectina-3 está particularmente associada com a adesão entre as células neoplásicas e a adesão entre as células neoplásicas e o endotélio, além de aumentar a sobrevivência dessas células na corrente sanguínea contribuindo assim para a formação de metástases. A galecitna-3 já foi identificada em diversos tumores humanos: colorretal, gástrico, carcinoma pancreático, pulmonar, prostático e no