

## IMUNOMARCAÇÃO DE APAF-1 EM MASTOCITOMAS CUTÂNEOS CANINOS (PROJETO EM ANDAMENTO)

BARRA, C.<sup>1,2</sup>; PULZ, L.<sup>1</sup>; STREFEZZI, R.F.<sup>1</sup>

1. Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo. 2. Departamento de Medicina Veterinária, FZEA-USP. Laboratório de Oncologia Comparada e Translacional (LOCT), Departamento de Medicina Veterinária, FZEA-USP.

**Introdução e objetivos:** os mastocitomas representam aproximadamente 25% de todas as neoplasias malignas cutâneas em cães. O aspecto macroscópico e o comportamento extremamente variável destes tumores dificultam a elaboração de um prognóstico preciso e inclusive a prescrição de tratamentos específicos. Sabe-se que o processo de apoptose é um tema indispensável em oncologia por sua importância no desenvolvimento tumoral e metastatização. Alterações nesse mecanismo favorecem a progressão tumoral, pois permitem a sobrevivência das células neoplásicas na circulação e outros microambientes. As proteínas que participam da via intrínseca da apoptose são indispensáveis nesse processo, como a proteína APAF-1 (fator apoptótico de ativação de protease 1) que se liga à citocromo C liberada pela mitocôndria formando um complexo proteico denominado apoptossomo. Tal complexo contém na sua porção N terminal um domínio de recrutamento de caspases (CARD), que é responsável pela interação com a caspase 9. Uma vez ativada, segue-se o processo que culmina em morte celular. Pela importância desta via apoptótica na progressão tumoral e na morte celular induzida por grande parte dos antineoplásicos utilizados atualmente, as proteínas associadas a apoptose podem ser importantes marcadores prognósticos e preditivos em diversos tumores. O presente trabalho caracterizará a expressão imuno-histoquímica da APAF-1 em mastocitomas cutâneos canino procurando verificar o seu potencial para marcador prognóstico nesta neoplasia. **Materiais e métodos:** cinquenta casos de mastocitomas cutâneos caninos serão processados para histologia de acordo com as técnicas rotineiras de inclusão em parafina. Os cortes histológicos obtidos serão corados pela hematoxilina e eosina para gradação das lesões, e utilizados para processamento imuno-histoquímico. O processamento imuno-histoquímico será realizado com anticorpo primário anti-APAF-1 (Santa Cruz, SC-7231), na diluição 1:100, de acordo com as recomendações do fabricante. Como controle negativo, SERÁ utilizado IgG de camundongo em substituição ao anticorpo primário. A quantificação das marcações será determinada pela porcentagem de células positivas em cinco campos de marcação intensa ("hot spots"). Os resultados serão comparados à gradação histopatológica, mortalidade em função do tumor e sobrevida.

**Resultados:** Até o presente foi observada a existência da expressão citoplasmática em número variável de mastócitos neoplásicos por lesão, com padrão finamente granular. Novas amostras estão sendo processadas para a validação do protocolo e ampliação do número de casos analisados, de modo a viabilizar a quantificação das marcações e a realização da análise estatística.

**Apoio financeiro:** FAPESP (processo 2013/13252-8); CAPES.

## CORRELAÇÃO ENTRE AS MALFORMAÇÕES DE VIPERÍDEO NEOTROPICAL E O PADRÃO DE USO DO SOLO NO SUDESTE BRASILEIRO

SANT'ANNA, S.S.<sup>1,2</sup>; GREGO, K.F.<sup>2</sup>; RAMOS-NETO, M.B.<sup>3</sup>; CARVALHO, M.<sup>1</sup>; CATÃO-DIAS, J.L.<sup>1</sup>

1. Departamento de Patologia Experimental da FMVZ-USP; 2. Laboratório de Herpetologia, Instituto Butantan, 3. Laboratório de Ecologia da Paisagem – WWF-Brasil

**Introdução:** as espécies de répteis têm sofrido um declínio global, sendo que as razões para esse fenômeno muitas vezes tem relação com as ações antropogênicas. Perda ou degradação do habitat e poluição ambiental estão entre as principais causas para este declínio. O presente trabalho pesquisou a existência de correlação entre o padrão de uso do solo e malformações no viperídeo neotropicais, *Bothrops jararaca*, conhecida popularmente como jararaca. **Métodos:** malformações em filhotes desta espécie nascidos em cativeiro no Instituto Butantan (IB), mas de mães recém-capturadas na natureza, foram correlacionadas com o padrão de uso do solo (urbanização, agricultura, pecuária e vegetação nativa) por município, utilizando-se o Coeficiente de Spearman. Para que a amostragem fosse representativa da população dos municípios, foram utilizados apenas municípios que enviaram sete ou mais fêmeas prenhes ao IB (acima 100 filhotes por município). **Resultados:** o registro de malformações em *B. jararaca* apresentou correlação positiva com as áreas agrícolas ( $rs = 0,67$ ;  $p = 0,01$ ). Municípios com maiores áreas percentuais de atividade agrícola apresentaram um maior número de filhotes com malformações. Por outro lado, houve uma correlação negativa quanto às áreas de vegetação nativa ( $rs = -0,57$ ;  $p = 0,03$ ). Neste caso os municípios com maiores áreas percentuais de áreas nativas apresentaram os menores índices de filhotes com malformações. Não houve correlação entre a pecuária ou urbanização e malformações em jararaca. **Conclusão:** Os fatores que podem estar influenciando o maior índice de malformações em áreas com percentagens maiores de agricultura não são conhecidos, entretanto diversas substâncias utilizadas na agricultura tais como defensivos agrícolas e fertilizantes tem ação teratogênica. Este estudo, a nosso ver, contribui significativamente para a discussão da influência antropogênica sobre a fauna de vertebrados terrestres no Brasil no que tange à sua relação com a agropecuária, abrindo perspectivas para pesquisas futuras. **Apoio Financeiro:** INCTTOX.

## DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS GLICÊMICOS EM SAGUIS (*CALLITHRIX SP.*): UMA SUGESTÃO RÁPIDA E EFICIENTE PARA AVALIAÇÃO DA SANIDADE DOS CALITRIQUÍDEOS

CARVALHO, L.; PRIOSTE, F.E.S.; MATUSHIMA, E.R.

Laboratório de Patologia Comparada de Animais Selvagens – LAPCOM da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

Estima-se que a cada dia uma espécie animal ou vegetal é extinta no mundo, seja pela perda de seu habitat, alterações climáticas, introdução de fauna exótica ou tráfico ilegal. Dentre os animais ameaçados é destacam-se os primatas do novo mundo. No Brasil, 30% dos primatas estão ameaçados de extinção, principalmente devido à perda de seu habitat. Comprovando esta realidade, constata-se que os animais do gênero *Callithrix* ocupam a segunda posição na lista dos mamíferos mais apreendidos nos Centros de Triagem de Animais Silvestres do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Renováveis. Como resultado do tráfico ilegal destes animais, muitos apresentam sinais clássicos de desidratação, subnutrição, ferimentos

e traumatismos. Porém, poucas informações são conhecidas sobre a sua fisiologia e enfermidades, o que dificulta a avaliação de sua sanidade. Um parâmetro ainda pouco explorado e que permite a avaliação do estado de saúde dos animais apreendidos é a glicemia, que apresenta resultados rápidos e é obtida com procedimentos de baixo custo, sensíveis e por métodos pouco invasivos. Os primatas não humanos são susceptíveis a uma série de doenças que causam distúrbios no metabolismo da glicose, que poderiam ser identificados por essa metodologia, como a diabetes mellitus, hipertireoidismo, hiperadrenocorticismo, hiperpituitarismo, pancreatite, insuficiência hepática e lesões no sistema nervoso central. Neste trabalho foram avaliados 70 animais das espécies *Callithrix jacchus*, *Callithrix penicillata* e híbridos mantidos em Criadouro Comercial na Grande São Paulo. Os animais estavam em jejum de quatro horas e as coletas foram realizadas no período da manhã. As amostras foram obtidas por meio da punção da veia femoral com seringas de 1mL (BD®) e agulhas 30G (0,30mm) e com leve compressão posterior do local, para evitar a formação de hematomas. A glicemia foi determinada colocando-se uma gota de sangue na tira do aparelho portátil para leitura de glicose Accucheck® Active (Roche) de uso humano. A média obtida na população em estudo foi de 127,5mg/dL, com desvio padrão de 39,58mg/dL (Anderson-Darling,  $p > 0,005$ ). Comparando-se os gêneros, as fêmeas (N=7) apresentaram uma média de 114,6mg/dL com desvio padrão de 22,7mg/dL e os machos (N=17) uma média de 132,9mg/dL e desvio padrão de 44,2mg/dL (Teste "t"). Os resultados obtidos no presente trabalho poderão contribuir tanto para a avaliação dos animais apreendidos, quanto para os programas de reabilitação e soltura de animais provenientes do tráfico, avaliação de animais *ex situ* e *in situ* e programas de conservação. **Apoio financeiro:** FAPESP (processo 2013/07780-1).

## ASPECTOS HISTOPATOLÓGICOS E IMUNO-HISTOQUÍMICOS DA INFECÇÃO PELO HERPESVÍRUS BOVINO TIPO 5 (BOHV-5) NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL DE CAMUNDONGOS BALB/C

MESQUITA, L.P.<sup>1</sup>; TONIETTI, P.O.<sup>2</sup>; FUSUMA, M. M.<sup>2</sup>; PITUCO, E.M.; MORI, E.<sup>1,3</sup>; MORI, C.M.C.<sup>1</sup>; MAIORCA, P.C.<sup>1</sup>

1. Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade de São Paulo. 2. Laboratório de Vírus de Bovídeos, Instituto Biológico, São Paulo. 3. Instituto Pasteur, São Paulo.

**Introdução e objetivos:** o herpesvírus bovino tipo 5 (BoHV-5) é um importante agente infeccioso responsável por causar meningoencefalite em bovinos jovens. O BoHV-5 induz infecções no sistema nervoso central (SNC) de camundongos, especialmente naqueles com deficiências genéticas, que tem sido utilizados como modelos experimentais. Entretanto, pouco se sabe a respeito da patogênese da infecção em camundongos com o sistema imune intacto. Portanto, o presente trabalho avaliou as lesões histológicas e a distribuição antigênica viral no sistema nervoso central de camundongos BALB/c (H2d) infectados pelo vírus BoHV-5. **Material e métodos:** 54 camundongos BALB/c, fêmeas, com três semanas de idade foram utilizados, dos quais 27 foram inoculados com 20µL de suspensão viral contendo o BoHV-5 com título de 108,0 DICT<sub>50</sub>/mL, por via intracraniana, sob anestesia inalatória com sevoflurano. Os 27 animais do grupo controle foram tratados de forma idêntica aos experimentais e receberam 20µL de EMEM. Três camundongos de cada grupo foram eutanasiados por overdose de sevoflurano, nos dias 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 15 e 20 após inoculação (dpi). O encéfalo foi coletado e processado para histologia. Secções de 5µm também foram submetidas à imuno-histoquímica (IHQ) para detecção de antígenos virais de BoHV-5 com anticorpo primário monoclonal (cedido pelo prof. Rudi Weiblen). **Resultados:** Nos

camundongos inoculados com BoHV-5, foram visualizadas lesões histológicas até o 10ºdpi. As lesões localizavam-se principalmente no diencéfalo caudal e eram caracterizadas por espongiase focalmente extensa com áreas liquefeitas (necrose de liquefação) do neurópilo, associada à grande quantidade de células da glia (gliose) e a uma menor quantidade de linfócitos, macrófagos e raros neutrófilos. No 4º e 5º dpi, na periferia e associado à área de inoculação, foram visualizados manguitos perivascularares, compostos por uma a três fileiras de linfócitos, macrófagos e plasmócitos. Periventriculite e meningite, composta por macrófagos, linfócitos, plasmócitos e neutrófilos também foram visualizadas de forma mais acentuadas no 5º dpi. Na IHQ, antígenos de BoHV-5 foram detectados em todos os camundongos inoculados com o vírus. A marcação foi mais intensa nos dias 3, 4, 5, 6 e 7 pós-inoculação. Os antígenos virais foram visualizados no neurópilo, em citoplasma de neurônios, células inflamatórias e células da glia. As marcações para BoHV-5 também estavam presentes no citoplasma de macrófagos, nas áreas de periventriculite e meningite. **Conclusão:** O presente estudo demonstrou que o BoHV-5 pode causar lesões no SNC em camundongos BALB/c, e que antígenos virais estavam presentes em células do SNC e células inflamatórias, principalmente macrófagos. **Apoio:** FAPESP.

## EFEITO DA SEPARAÇÃO MATERNA SOBRE O COMPORTAMENTO DEPRESSIVO E O DESENVOLVIMENTO DO TUMOR EHRLICH EM CAMUNDONGOS

FERNANDES, K. R.<sup>1</sup>; NETO, E. B.<sup>1</sup>; FREITAS, T. A.<sup>1</sup>; KLEEB, S. R.<sup>1</sup>

1. Núcleo de Pesquisa – Universidade Metodista de São Paulo.

A depressão tem sido associada a alterações neuroquímicas e neuroplásticas em mediação neuroendócrina via eixo hipotálamo-Hipófise-Adrenal. Há a hipótese que além das alterações neuroquímicas, a depressão possa surgir a partir de alterações neuroplásticas. O presente trabalho investigou o efeito do estresse desencadeado na separação materna sobre a gênese da depressão e o desenvolvimento do tumor de Ehrlich. Os procedimentos foram aprovados pelo CEUA-Metodista sob protocolo 121/14. Foram utilizados 18 casais de camundongos da linhagem Swiss, provenientes do Biotério do Núcleo de Pesquisa da FacSaúde /UMESP. As ninhadas foram padronizadas com no máximo oito machos, que foram monitorados e pesados diariamente. No grupo experimental (E), do 3º ao 12º dia após o nascimento os filhotes foram separados da mãe por três horas diárias, em temperatura controlada, após este período foram recolocados com a mãe. No grupo controle (C) os animais foram mantidos com a mãe. Os animais foram avaliados no teste de natação forçada (NF) e campo aberto (CA). Para a inoculação os grupos foram subdivididos: metade do grupo controle (CT) e metade do grupo experimental (ET) receberam 0,1ml de suspensão do tumor de Ehrlich, e a outra metade de ambos os grupos controle (CPBS) e experimental (EPBS) receberam solução salina tamponada. Na avaliação do peso corporal houve diferença significativa individualmente do 3º dia de vida grupo C(4,022 ± 0,08085) E(3,634 ± 0,1466) ao 11º dia de vida grupo C(9,157 ± 0,2550) E(8,280 ± 0,1565). Após a inoculação do tumor Ehrlich houve significância CPBS(39,32 ± 0,2244) CT(40,92 ± 0,2932) EPBS(40,78 ± 0,2974) e ET(38,27 ± 0,3367). A diferença apresentada foi entre as médias dos grupos CPBS vs CT; CPBS vs EPBS; CT vs ET; EPBS vs ET. Na avaliação pré inoculação do Tumor Ehrlich foi constatada a imobilidade do NF C(75,41 ± 9,16) E(75,00 ± 10,88) e locomoção do CA C(152,9 ± 7,908) E(173,0 ± 8,680), ambos resultados sem diferença significativa. Após vinte e um dias de evolução da neoplasia, os animais foram avaliados novamente nos testes comportamentais, na locomoção do CA CPBS(122,3 ± 10,86) CT(138,4 ± 13,04) EPBS(97,44 ± 10,53) ET(146,4 ± 11,35). Na avaliação da imobilidade em NF não