

### PROJETO: UTILIZAÇÃO DOS ANTICORPOS GFAP E VIMENTINA COMO MARCADORES DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL POR MEIO DA IMUNOISTOQUÍMICA

PORDEUS, DÂMARIS CUEVAS, SILVIA SIQUEIRA, ADRIANA DE; MAIORKA, PAULO CÉSAR

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

**Introdução e Objetivos:** A Proteína Glial Fibrilar Ácida (GFAP) é uma subunidade dos filamentos intermediários de células gliais, como os astrócitos, e do epêndima (componente que reveste o encéfalo) e está em processos funcionais da célula (movimento, comunicação), sendo o principal componente estrutural astrócitário de animais adultos. A vimentina é uma proteína embrionária que faz parte dos filamentos intermediários de células mesenquimais (importantes na regeneração tecidual), estando presente também nos astrócitos e que se perde com o desenvolvimento celular. A marcação proteica com anticorpos pode ser um instrumento de avaliação da perda da integridade dessas células devido a inflamações fisiológica e patológica, traumas e envelhecimento. O presente trabalho é uma revisão bibliográfica da expressão dos anticorpos GFAP e vimentina em lesões cerebrais. **Material e Métodos:** Casuística do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, um grupo de animais com lesão de sistema nervoso central e um grupo-controle. Na necropsia, o encéfalo será colhido, fixado em formol, cortado craniocaudalmente em seis partes, processado e corado com hematoxilina-eosina. Para a imunistoquímica, serão efetuados banhos para desparafinar as lâminas, depois recuperação antigênica com tampão citrato, bloqueio das reações inespecíficas com PBS e leite desnatado e incubação com os anticorpos GFAP e vimentina. A seguir as lâminas serão incubadas com os anticorpos secundários (amarelo, vermelho e cromógeno) e será realizado um banho para desidratar as lâminas para a leitura. As análises dos resultados serão efetuadas com o software Prism. **Relevância:** Os astrócitos são componentes da macróglia e respondem a agentes agressores, liberando citocinas pró ou antiinflamatórias, proliferando-se e hipertrofiando-se, causando aumento na quantidade de filamentos intermediários. O anticorpo GFAP é largamente utilizado para localizar astrócitos alterados, verificando astrocitose e astrogliose. A vimentina se reexpressa quando há lesões no tecido, assim, o anticorpo vimentina poderá localizar possíveis proliferações e hipertrofias astrocitárias, que comprometem a sustentação e a nutrição dos neurônios da região, bem como a quantidade e distribuição de células mesenquimais. A GFAP tem maior expressão em torno da lesão, mas também se expressa a distância da lesão e cria um gradiente, já a vimentina se evidencia apenas nas bordas da lesão. **Conclusões:** A utilização dos anticorpos GFAP e vimentina constitui um importante instrumento para o estudo de agressões ao tecido nervoso, nas quais se observa maior intensidade de marcação da GFAP e reexpressão da vimentina, quando é efetuada a comparação com marcações realizadas em animais saudáveis. **Palavras-chave:** Proteína Glial Fibrilar Ácida. Vimentina. Lesão cerebral.

### APRESENTAÇÕES DE PÔSTER - CATEGORIA MESTRADO

#### PROJETO EM ANDAMENTO - AVALIAÇÃO MUTACIONAL DOS ÉXONS 8, 9 E 11 DO GENE C-KIT EM MASTOCITOMAS CANINOS: CORRELAÇÃO COM ASPECTOS CLÍNICOS E HISTOPATOLÓGICO

FREYTAG, JENNIFER OSTRAND<sup>1</sup>; COGLIATI, BRUNO<sup>1</sup>; GUERRA, JULIANA MARIOTTI<sup>1</sup>; SILVA, TEREZA CRISTINA DA<sup>1</sup>

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

**Introdução:** A prevalência das neoplasias entre os animais de estimação tem aumentado consideravelmente. O mastocitoma representa de 7 a 21% das neoplasias cutâneas observadas em cães. A graduação histológica do tumor, de grande importância para o prognóstico e diretamente relacionada ao tempo de sobrevivência dos animais, é baseada na diferenciação celular. Um refinamento da avaliação do comportamento e prognóstico dessa neoplasia é atualmente realizado por meio da avaliação imunistoquímica dos marcadores Ki67 e KIT. O c-KIT é o gene que codifica o receptor de tirosina quinase KIT e é um importante alvo terapêutico, pois o desenvolvimento tumoral pode estar associado a desregulação dessas proteínas. O presente trabalho foi delineado para avaliar a presença de mutações nos exons 8, 9 e 11 do gene c-KIT e a expressão dos principais receptores de tirosina quinase; VEGFR, EGFR, PDGFR-β e KIT e correlacionar os resultados obtidos com os aspectos clínicos e histopatológicos. **Material e métodos:** O trabalho está sendo realizado com blocos de parafina de 65 amostras de tumores com diagnóstico de mastocitoma cutâneo. As amostras estão sendo submetidas às reações de imunistoquímica e imunofluorescência para avaliação da expressão dos principais receptores de tirosina quinase e o marcador de proliferação Ki-67. Foi realizado o processo de padronização para os receptores EGFR, VEGFR1(Flt1), VEGFR2(Flk1), VEGFR2(Flt4) que serão avaliados por meio da imunofluorescência e para os receptores PDGFR-β, KIT, Ki67 e VEGF por meio da imunistoquímica. Foram incluídos fragmentos de 25 tumores coletados no momento cirúrgico, com diagnóstico de mastocitoma cutâneo e que foram acondicionados em solução de RNAlater para preservação do material genético e congelados em freezer -80°C para a extração e quantificação de DNA seguida da reação em cadeia da Polimerase (PCR) para a amplificação dos exons 8, 9 e 11 do gene c-KIT e posteriormente será realizado o sequenciamento para verificar a presença de mutações nos exons. **Relevância:** A alta incidência do mastocitoma cutâneo canino e a dificuldade encontrada para o estabelecimento do seu controle tem fomentado a busca de novas alternativas terapêuticas. O melhor entendimento das alterações apresentadas nos mastocitomas é fundamental para a compreensão do seu comportamento e para a busca de novos alvos terapêuticos em função do seu envolvimento com a diferenciação, proliferação celular e transdução de sinais. As proteínas tirosina quinases parecem ser importantes alvos terapêuticos, pois, por mutação gênica, o desenvolvimento tumoral pode estar associado a desregulação de proteínas que promovem a superexpressão ou o comprometimento dos inibidores endógenos. **Palavras-chave:** Éxons. Cães. Mastocitoma.