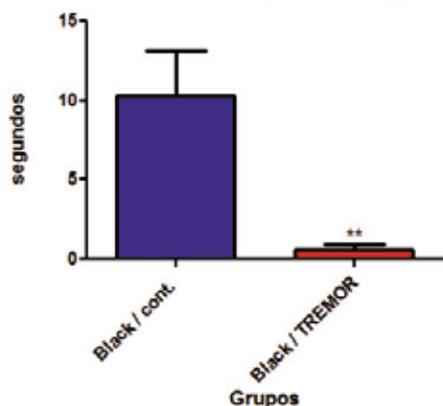


Reconhecimento de objetos - 2 (segundos)



Trave elevada

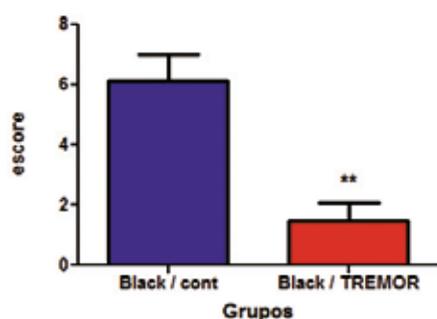


Figura 1 - Testes comportamentais utilizados para verificar a presença de ansiedade, coordenação motora a presença de sinais de depressão e a memória TREMOR em camundongos C57BL/6.

Conclusões: Concluiu-se que a caracterização das alterações comportamentais observadas foi importante para descrição do fenótipo do camundongo mutante fornecendo informações que auxiliaram no mapeamento genético. Além disso, essas informações são valiosas para o entendimento do que essa mutação pode vir a representar como modelo de estudo de doenças neurodegenerativas.

Referências

- [1] OLIVATO, M. C. M. et al. Caracterização morfológica e genética da mutação espontânea tr em camundongos causando tremores, ataxia e convulsões. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIÊNCIA EM ANIMAIS DE LABORATÓRIO, 13., Porto Alegre, 2014. *Anais...* Porto Alegre: SBCAL, 2014.
- [2] GARCIA GOMES, M. S. A. et al. Caracterização fenotípica do camundongo mutante espontâneo tremor utilizando uma bateria de testes comportamentais. *Rev. Educ. Contin. Med. Vet. Zootec. CRMV-SP*, São Paulo, v. 13, n. 1, p. 69, 2015. Trabalho apresentado na XXIII Semana Científica Benjamin Eurico Malucelli, São Paulo, 2015.
- [3] GARCIA GOMES, M. S. A. *Caracterização fenotípica do camundongo mutante espontâneo tremor utilizando uma bateria de testes comportamentais*. 2014. 41 f. Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas) - Universidade Presbiteriana Mackenzie, São Paulo, 2014.

APRESENTAÇÃO ORAL - CATEGORIA MESTRADO

ESTRESSE DE CONVIVÊNCIA COM COMPANHEIROS DOENTES: DA ATIVAÇÃO DO SISTEMA NERVOSO SIMPÁTICO AO SISTEMA IMUNE

MARGATHO, R. O.1; CRUZ, D. G.1; SANDINI, T. M.1; CALEFI, A. S.1; BORSOI, A.1; ZAGER, A.1; MASSOCO, C.1; PALERMO-NETO, J.1
1Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

Introdução: O Sistema Nervoso Simpático (SNS) contribui para os efeitos relacionados ao estresse com a síntese de catecolaminas. Já foi demonstrado que a coabitação com parceiros da mesma espécie portadores da forma ascítica do tumor de Ehrlich (T.A.E), um estresse psicológico, provoca mudanças em parâmetros comportamentais e imunes nos animais companheiros: leucopenia, redução da atividade imune inata, aumento da atividade locomotora em campo aberto, diminuição nos níveis e aumento do turnover de noradrenalina no hipotálamo, diminuição do burst oxidativo e da atividade de neutrófilos colhidos no sangue periférico, aumento da resposta alérgica pulmonar e ausência de alterações nos níveis de corticosterona. É conhecido que os tumores produzem componentes orgânicos voláteis, que são liberados para a atmosfera pela urina, suor e respiração. Analisando-se esta vertente, foi sugerido que os odores liberados pelos camundongos injetados com o tumor seriam responsáveis pelas mudanças neuroimunes relatadas nos conspecíficos saudáveis e que os roedores teriam a sua fisiologia e homeostase modificadas por esta estimulação olfativa aversiva. Desta forma, dentro de uma perspectiva neuroimunológica, o presente trabalho avaliou o envolvimento do sistema nervoso autonômico simpático com os efeitos desencadeados pela convivência usando-se como instrumento farmacológico o propranolol. **Objetivos:** Estudar os efeitos do bloqueio de receptores beta-adrenérgicos sobre parâmetros da imunidade inata em um modelo de indução do estresse pela coabitação (11 dias) com parceiros inoculados com T.A.E.

Métodos: Código de aprovação no Comitê de ética da FMVZ-USP: 8317270114. Animais: foram utilizados camundongos da linhagem Swiss fêmeas com oito semanas e pesando por volta de 35 gramas. Formação dos grupos: No grupo controle, um par de camundongos por trio foi tratado intraperitonealmente (i.p) com salina; o outro animal foi mantido sem manipulação e denominado CHP *companion of health partners*. No grupo experimental, um par de camundongos por trio foi inoculado com 5×10^6 células de tumor ascítico de Ehrlich (T.A.E) por via i.p.; o outro animal foi mantido sem manipulação e foi denominado de CSP *companion of sick partners*. O dia da injeção do tumor foi denominado EDo (dia experimental o) e a convivência foi efetuada por 11 dias, entre ED6 a ED11 houve o tratamento ou não dos camundongos CHP e CSP. Desta forma em cada grupo os camundongos CHP ou CSP foram sub-divididos em outros grupos: CHP e CHP+P; CSP e CSP+P. Os camundongos dos grupos CSP e CHP foram injetados (i.p) diariamente com solução salina NaCl 0,9% (1mg/kg/dia); os camundongos CSP+P e CHP+P foram injetados (i.p) diariamente com propranolol (20 mg/kg/dia) ou ICI-118,551 (10 mg/kg/dia). No ED12, foram efetuadas as análises comportamentais ou as coletas de sangue para estudos. Fármacos: Propranolol - antagonista β -adrenérgico não seletivo diluído em solução de NaCl 0,9%; usado na dose 20 mg/kg/dia por via i.p.; ICI-118,551 β 2-adrenérgico não seletivo diluído em solução de NaCl 0,9%; usado na dose 10 mg/kg/dia por via i.p.

Coleta de Sangue: a coleta de sangue foi realizada no ED12 de convivência e imediatamente após a decaptação em tubos de polipropileno contendo EDTA 10%.

Obtenção de NKs sanguíneas: Em relação à avaliação das células NK esplênicas, os baços dos animais foram removidos cirurgicamente após anestesia e mantidos em solução de RPMI estéril e gelado. Este órgão foi, então, lavado três vezes em RPMI estéril e macerado. Eppendorfs foram utilizados para a realização da contagem de células em câmara de Neubauer e só foram utilizadas as amostras que apresentaram viabilidade maior que 95%. A partir desta contagem, as células foram marcadas com anticorpos conjugados a fluorocromos para análise por citometria de fluxo. Células NK foram marcadas com CD49b conjugado com APC, CD3 conjugado com FITC e NpK46 conjugado com PE BD PharMingen (San Jose, CA). **Análise dos níveis séricos de IFN- γ :** os níveis séricos de IFN- γ foram analisados pela técnica de Elisa. **Análise estatística:** Os dados foram avaliados pelo teste de Bartlett para determinação da homogeneidade das variâncias, ou seja, se são paramétricos ou não paramétricos. Os dados paramétricos foram analisados por análise de variâncias (ANOVA) de uma via seguida pelo teste de Newman-Keuls de comparações múltiplas, para avaliação de contrastes. Os resultados não paramétricos foram analisados pelo teste "U" de Mann-Whitney ou por Kruskal-Wallis com sua própria resolução. O nível de significância adotado foi de 0,05. Todos os cálculos foram realizados com o emprego do *Software* estatístico *GraphPad Prism*. **Resultados:** O bloqueio dos receptores beta-adrenérgicos afeta a migração de NKs para o baço e o estresse modifica o perfil de citocinas. **Conclusões:** No modelo de estresse psicológico murino de convivência com companheiros doentes há uma supressão da imunidade inata, dados também observados em humanos, tais como em caregivers. Neste trabalho foi constatado que a migração de NKs foi afetada por uma via beta-adrenérgica dependente que altera os níveis de citocinas séricas nos animais que conviveram com coespecíficos doentes. **Apoio financeiro:** CAPES e FAPESP

MORFODIFERENCIAÇÃO DO ÓRGÃO DE GENÉ, DURANTE O PROCESSO REPRODUTIVO DO CARRAPATO *AMBLIOMMA SCULPTUM* (ACARI:IXODIDAE)

SANTOS, MARCELO FRANCISCO DOS^{1,2}; SOARES, MAGNA APARECIDA MALTAURO¹; LALLO, MARIA ANETE²; BARROS-BATTESTI, DARCI MORAES³; SPADACCI-MORENA, DIVA DENELLE¹
 1 Laboratório de Fisiopatologia, Instituto Butantan, São Paulo, SP, Brasil.
 2 Universidade Paulista - UNIP, São Paulo, SP, Brasil.
 3 Laboratório Especial de Coleções Zoológicas, Instituto Butantan, São Paulo, SP, Brasil.

Introdução e Objetivos: Carrapatos ixodídeos apresentam grande importância na transmissão de doenças infecciosas para o homem e para os demais animais, sendo considerado como o segundo vetor mais prevalente [1]. A oviposição, essencial para a disseminação desse artrópode, envolve uma estrutura especializada denominada órgão de Gené, encontrada exclusivamente em carrapatos. [2]. Trata-se de uma estrutura em forma de saco, que se everte durante a oviposição e que está localizada na região anterior do idiossoma dorsal das fêmeas, entre a base do gnatossoma e o escudo, na emarginação [3]. Esse órgão produz uma secreção cerosa que fornece aos ovos proteção contra a perda de água e o crescimento de microorganismos [4]. Ainda, tem a propriedade de manter os ovos agrupados e reduzir a absorção de pesticidas do ambiente [5]. Quando esse órgão é impedido de secretar essa substância sobre os ovos, a taxa de eclosão diminui notavelmente, mesmo em condições adequadas de temperatura e umidade [6]. Apesar do órgão de Gené já ter sido descrito em algumas espécies de carrapatos, o conhecimento da sua morfologia, desenvolvimento e função ainda não foram esclarecidos na

espécie *A. sculptum*. Portanto, este trabalho teve como objetivo a descrição morfológica do órgão de Gené, nas etapas iniciais do processo reprodutivo da espécie *A. sculptum*. Adicionalmente, técnicas histoquímicas permitiram a identificação de substâncias presentes no citoplasma das células que compõem esse órgão e que podem constituir a sua secreção. **Materiais e Métodos:** Foram utilizados carrapatos *A. sculptum*, adultos, provenientes de uma colônia mantida no laboratório. Os carrapatos foram alimentados em coelhos (CEUAIB 1279/14). As fêmeas, ingurgitadas, foram utilizadas no momento que caíram do hospedeiro (oh de queda) e no 5º dia de queda. Foram utilizadas também fêmeas virgens/jejum. O órgão de Gené foi dissecado e fixado em formol-cálcio, para avaliação da morfologia (azul de metileno), para localização de glicoproteína (PAS) e de proteína total (azul bromofenol), e incluídos em historesina. A demonstração de lipídeos foi realizada pelo Sudan Black. Para tanto, o material foi fixado em formol-cálcio e pós-fixado em solução aquosa de tetróxido de ósmio a 1%. Para impedir a extração dos lipídeos o material não foi desidratado, passando imediatamente para uma mistura de água e historesina (1:1) e, em seguida, para historesina, quando foi incluído. O órgão foi disposto em molde de inclusão contendo historesina de tal forma que ficou distendido para a obtenção de cortes ao longo do maior eixo. Para o exame ao microscópio eletrônico de varredura (MEV), o órgão foi fixado em glutaraldeído a 2% em tampão cacodilato de sódio, pós-fixado em OsO₄ a 1% e processado de forma rotineira. No 5º dia de queda, o órgão também foi processado para microscopia eletrônica de transmissão (MET). Para tanto, foi fixado em glutaraldeído a 2% em tampão cacodilato de sódio, pós-fixado em OsO₄ a 2%, desidratado em etanol, em concentrações crescentes, e incluído em Epon. **Resultados e Discussão:** Os resultados obtidos revelaram que o órgão de Gené das fêmeas virgens/jejum, sob lupa e ao MEV, era uma estrutura saculiforme, constituída de um corpo e dois cornos posteriores (Figura 1A e 1B). Tanto ao MEV como nos cortes histológicos, foi observada a presença de um par de glândulas não desenvolvidas (broto glandular), em cada lado do órgão, que correspondia às glândulas cranial e caudal (Figura 1C, 1D e 1E). Nos cortes histológicos foi constatado que a estrutura saculiforme era constituída por células epiteliais e uma camada amorfa, cuticular, além de uma luz em direção à emarginação (Figura 1E). A reação para PAS foi positiva na região dos brotos glandulares (Figura 1F). Não foram observadas inclusões lipídicas. Em oh de queda, na região do broto glandular, foi registrado o início de desenvolvimento de glândulas constituídas por túbulos simples, contíguos ao corpo do órgão de Gené (Figura 2A). As células aí presentes eram cúbicas, com núcleo contendo um ou dois nucléolos proeminentes e citoplasma com poucas inclusões lipídicas, como observadas com o Sudan Black (Figura 2B, 2C e 2D). Na região de transição entre as células de revestimento do órgão e aquelas que estão formando as glândulas, foi observada reação positiva para PAS (Figura 2E), mas não para Sudan (Figura 2D). No 5º dia de queda, as glândulas se apresentaram em maior número, mais desenvolvidas e ramificadas (Figura 3A e 3B). As células que compunham as glândulas, colunares, apresentaram núcleo com cromatina condensada e presença de nucléolo (Figura 3C). Na luz das glândulas foi observada a presença de uma substância amorfa (Figura 3C e 3E). Entre essas células havia uma região mais clara que correspondia a interdigitações, como observada ao MET (Figura 3D). No citoplasma, a reação para PAS era positiva na maioria das células (Figura 3E). A reação para Sudan Black positiva foi observada principalmente na região apical das células (Figura 3F). Com relação às análises histoquímicas para proteínas totais (Azul de Bromofenol), o resultado foi negativo para os três grupos estudados. **Conclusões:** Os resultados obtidos mostraram que a morfologia do órgão de Gené de *A. sculptum*, em animais virgens, é semelhante à de outros ixodídeos já estudados e que o desenvolvimento das glândulas se faz de maneira contínua e progressiva até o início da oviposição.