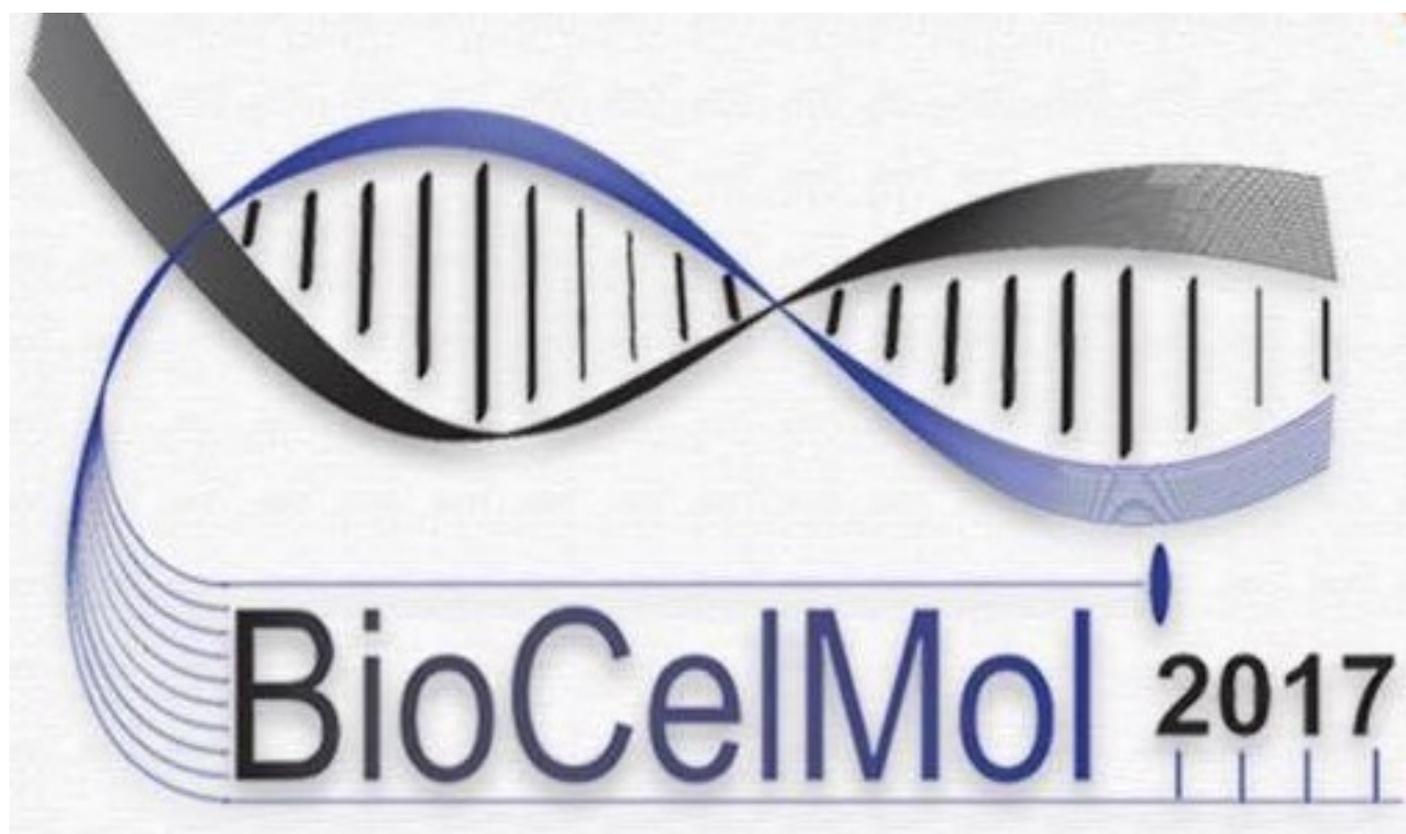
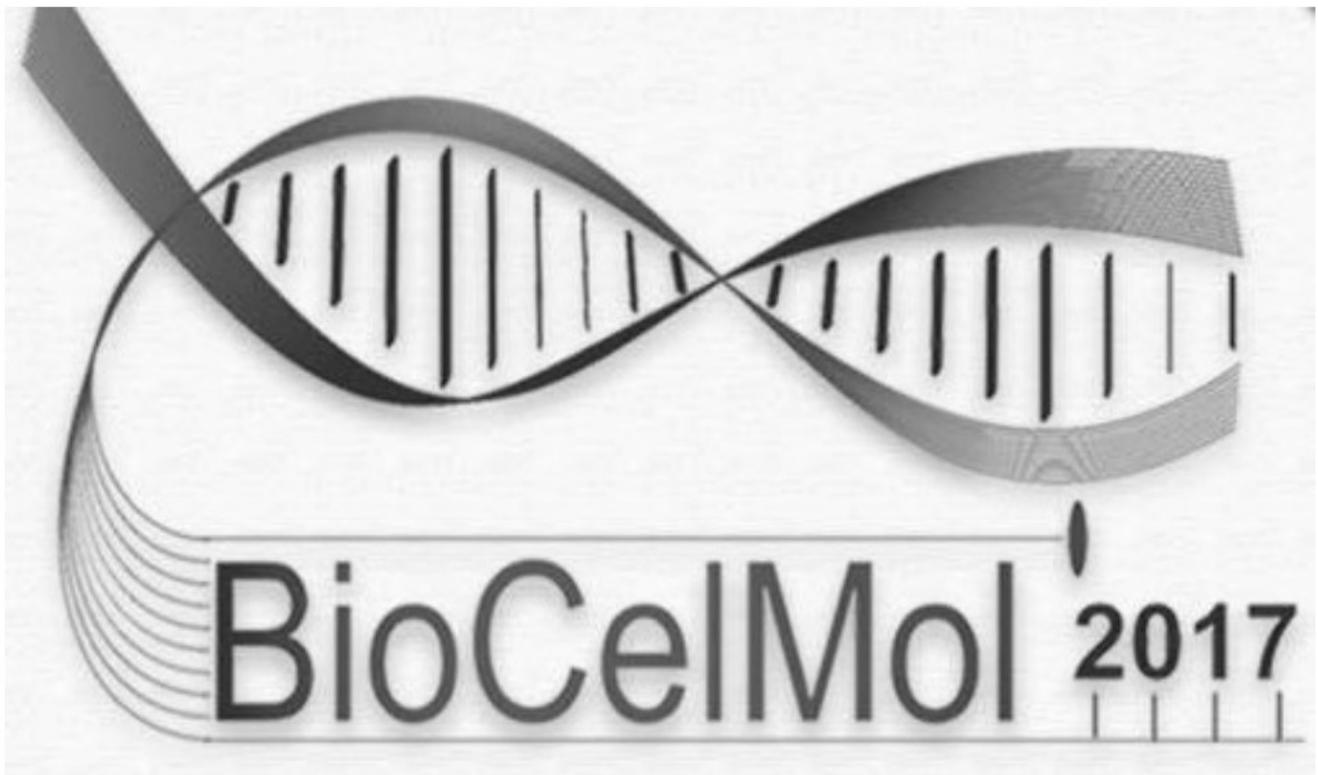


Anais do V Simpósio de Biologia Celular e Molecular



21 a 24 de Agosto de 2017

Anais do V Simpósio de Biologia Celular e Molecular



21 a 24 de Agosto de 2017

Simpósio de Biologia Celular e Molecular, 5., 2017
Anais do V Simpósio de Biologia Celular e Molecular /
realizado em Instituto de Biociências – Unesp – Campus de
Rio Claro/SP. – Rio Claro : UNESP – IB, 2017
47 p. : il.

Simpósio realizado em Rio Claro/SP de 21 a 24 de agosto
de 2017, na Universidade Estadual Paulista - Instituto de
Biociências

Disponível impresso e on-line

1. Citologia. 2. Biologia celular. 3. Biologia molecular. 4.
Biologia – Congressos. I. Unesp – Instituto de Biociências –
Campus de Rio Claro/SP. II. Título.

CDD 574.87

Ficha Catalográfica elaborada pela STATI – Biblioteca da UNESP
Campus de Rio Claro/SP

COMISSÃO ORGANIZADORA

A comissão organizadora do evento é composta por discentes (mestrandos e doutorandos) do **Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Biologia Celular e Molecular)** do Instituto de Biociências da UNESP de Rio Claro - SP tendo como presidente o atual Coordenador do Programa Prof. Dr. Diogo Cavalcanti Cabral de Mello

Presidente da Comissão Organizadora

Dr. Diogo Cavalcanti Cabral de Mello – Coordenador do PPG

Dra. Maria Aparecida Marin Morales - Vice coordenadora do PPG

Estudantes de Mestrado

Adna Suelen Dorigo

Franciele Grego Esteves

Laís Helena Silveira

Marina Rodrigues de Abreu

Marina Bonfogo Silveira

Mayara Cristina Pereira

Patricia Azevedo

Iago Bueno da Silva

Estudantes de Doutorado

Allison Kleiton dos Anjos

Amanda Aparecida de Oliveira

Ana Claudia de Castro Marcato

Caio Eduardo da Costa Domingues

José Ribamar Lima de Souza

Juan Parente dos Santos

Luís Adriano Anholeto

Luiza Rieder Cholak

Natalia Rubio Claret Pereira

Rafael Splendore de Borba

Thays de Andrade Guedes

Pâmela Decio

Pós-docs

Alexsandro Santana Vieira
Manuela de Oliveira Ramalho Sanchez

REALIZAÇÃO

Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Biologia Celular e Molecular) do Instituto de Biociências da UNESP de Rio Claro – SP.

APOIO

Pró-Reitoria de Pós-Graduação (PROPG), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Fundação CAPES).

PATROCÍNIO

Widecells, Easytech, Kasvi, Labcenter e Allcrom.

COORDENADOR

Prof. Dr. Diogo Cavalcanti Cabral de Mello

Departamento de Biologia – Unesp Rio Claro.

APRESENTAÇÃO

É com satisfação que a Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) recebe os participantes do V Simpósio de Biologia Celular e Molecular.

O evento, que visa discutir a aplicabilidade da Biologia Celular e Molecular nas diversas áreas de pesquisas, possibilitou ao longo de suas edições a integração entre alunos de ensino médio, graduação, pós-graduação e profissionais da área, proporcionando um ambiente adequado para o crescimento da suas formações acadêmica e profissional. O V Simpósio de Biologia Celular e Molecular apresenta estes Anais com 6 apresentações orais e 36 pôsteres.

Diogo Cavalcanti Cabral de Mello

Coordenador

PROGRAMAÇÃO

21/08/2015 – Segunda-feira

MINICURSOS

Período	Horário	Atividade	Tema	Palestrante
Manhã	8h	Minicursos	1, 2, 3, 4, 5	1, 2, 3, 4, 5
	10h	<i>Coffee break</i>		
	10h15	Minicursos	1, 2, 3, 4, 5	1, 2, 3, 4, 5
Tarde	12h	Almoço		
	14h	Minicursos	1, 2, 3, 4, 5	1, 2, 3, 4, 5
	16h	<i>Coffee break</i>		
	16h15	Minicursos	1, 2, 3, 4, 5	1, 2, 3, 4, 5
	18h	Jantar		

1) HSP 70

Dra. Roberta Cornélio Ferreira Nocelli (UFSCAR)

2) O Currículo Lattes nas práticas acadêmicas: conhecer, entender e aplicar.

Maria Clara Belchior

3) Implicações de danos e reparo de DNA na saúde humana

Dra. Angélica Bianchini Sanchez (UFOP)

4) Consultoria Ambiental

Msc. Leonardo Ramos Anacleto (ADVICE)

5) Técnicas de Imunologia

Dr. Luis Antônio Peroni (RHEA BIOTEC)

Programação científica

21/08/2017 – Segunda-feira			
Período	Horário	Atividade	Palestrante
Manhã	8h – 18h	Credenciamento	
	19h	Cerimônia de abertura	<u>Palestra: Biologia Celular e Molecular: Avanços e Desafios</u> Prof. Dr. Mário Sérgio Palma (UNESP/RC) Prof. Dr. Douglas Verrangia Corrêa (UFSCAR)
Tarde	20h	Coquetel de Abertura	

22/08/2017 – Terça-feira				
Período	Horário	Atividade	Tema	Palestrante
Manhã	9h	Palestra	<u>Enquitreídeos em estudos ecológicos, ecotoxicológicos e de biologia do desenvolvimento</u>	Dra. Cintia Carla Niva (EMBRAPA)
	10h	<i>Coffee break</i>		
	10h15	Palestra	<u>Poluição atmosférica e lesões em DNA: Implicações na saúde humana e técnicas de detecção</u>	Dr. Angélica Sanchez (UFOP)
	11h	Palestra	<u>Onde está o Wally? O DNA ambiental pode responder!</u>	Dra. Carla Lopes (UNESP-RC)
Tarde	12h	Almoço		
	13h30	<i>Apresentação de trabalhos – Oral 1</i>		
	14h30	Palestra da	<u>Ação de produtos</u>	Dra. Carmem Silvia

		casa	<u>empregados no cultivo da cana-de-açúcar sobre organismos não alvos</u>	Fontanetti Christofoletti (UNESP-RC)
	15h	Palestra	<u>Trajetória profissional: da pós-graduação a abertura da empresa Rhea Biotec através do projeto PIPE</u>	Dr. Luis Peroni (RHEA BIOTEC)
	16h	<i>Coffee break</i>		
	16h30	Mesa redonda	<u>Conservação de abelhas</u>	Dra. Roberta Cornélio Ferreira Nocelli (UFSCAR) (mediadora) Dra. Elaine Cristina Mathias da Silva Zacarin (UFSCAR) Msc. Rafael Alexandre da Costa Ferreira (SYNGENTA)
	18h	Jantar		
Noite	20h	<p>BIOCEVAMOL no Tortuga`s Music Pub de Rio Claro - SP</p> <p>Como as formigas chegaram em Rio Claro: causos de um pescador.</p> <p>Prof. Dr. Odair Correa Bueno (UNESP - RC)</p> <p>É verdade que todo mundo sabe o que é uma formiga, mas as curiosidades e histórias que envolvem este inseto famoso, só um grande pescador pode nos contar! Prof. Dr. Odair Correa Bueno compartilhará fatos e curiosidades sobre este inseto que convive diariamente conosco. Essas histórias se misturam com história do IB, da UNESP e da nossa cidade. Tudo isso em um Pub de Rio Claro, um ambiente bacana e com chopp gelado!</p>		

23/08/2017 – Quarta-feira

Período	Horário	Atividade	Tema	Palestrante
---------	---------	-----------	------	-------------

Manhã	9h	Palestra	<u>Biotecnologia e inovação no controle biológico de pragas agropecuárias</u>	Dr. Túlio Marcos Nunes (USP)
	10h	<i>Coffee break</i>		
	10h15	Palestra	<u>Introdução à Microscopia Confocal</u>	Dr. Pablo Henrique Nunes (UNILA)
	11h	Palestra	<u>Seleção do local da divisão em <i>Xanthomonas citri</i> subsp. <i>citri</i></u>	Prof. Dr. Henrique Ferreira (UNESP - RC)
Tarde	12h	Almoço		
	13h30	<i>Apresentação de trabalhos – Oral 2</i>		
	14h30	Palestra da casa	<u>Enzimas e o controle de formigas cortadeiras</u>	Dr. João Batista Fernandes (UFSCAR) Dra. Dulce Helena Ferreira de Souza (UFSCAR)
	15h	Palestra	A utilização de recursos biológicos como ferramenta na solução de crimes	Dra. Dalila Lapinha Silva Oliveira Rosa (Instituto de Criminalística do Estado de São Paulo)
	16h	<i>Coffee break</i>		
	16h30	Mesa redonda	<u>Evolução</u>	Dr. Diogo Cavalcanti Cabral de Mello (UNESP-RC (mediador)) Dra. Luciana Bolsoni Lourenço (UNICAMP) Dr. Charles Morphy Dias dos Santos (UFABC) Dra. Clarisse Palma da Silva (UNESP-RC)
	18h	Jantar		

24/08/2017 – Quinta-feira				
Período	Horário	Atividade	Tema	Palestrante
Manhã	9h	Palestra	<u>Armazenamento de Células-tronco: utilidades e perspectivas</u>	Dra. Ana Carolina Marchiori (WIDECCELLS)
	10h	<i>Coffee break</i>		
	10h15	Palestra	<u>Anomalias de Cromossomos Sexuais</u>	Dra. Andréa Guerra (UNICAMP)
	11h	Palestra	<u>Escrita científica</u>	Dr. Gustavo Habermann (UNESP-RC)
Tarde	12h	Almoço		
	13h30	<i>Apresentação de trabalhos – Oral 3</i>		
	14h30	Palestra da casa	<u>Entendendo o papel ativo da teia da aranha na captura de presas: uma abordagem de biologia de sistemas</u>	Dr. Mário Sérgio Palma (UNESP-RC)
	15h	<i>Apresentação de trabalhos – Painéis</i>		
	16h	<i>Coffee break</i>		
	16h30	Mesa redonda	<u>Experimentação animal</u>	Dra. Karen Cristiane Martinez de Moraes (UNESP-RC) (mediadora) Dr. Eduardo Pompeu (USP) Dra. Carine Cristiane Drewes (USP)
	18h	<i>Encerramento</i>		

ÍNDICE

Apresentações Orais	14
POPULATION STUDY OF THE B CHROMOSOME FREQUENCY IN THE GRASSHOPPER <i>ABRACRIS FLAVOLINEATA</i>	14
EFEITOS DO SENSORIAMENTO NUTRICIONAL NO PROCESSAMENTO ALTERNATIVO DE GENES EM DERMATÓFITOS	14
POTENCIAL IMUNOMODULADOR DO EXTRATO DE GLÂNDULAS SALIVARES DE CARRAPATOS <i>RHIPICEPHALUS SANGUINEUS L. S.</i> SOBRE A LINHAGEM J774	15
RESISTÊNCIA A FLUOROQUINOLONAS EM CEPAS CLÍNICAS DE <i>MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS</i> E PESQUISA DE MUTAÇÕES ATRAVÉS DO KIT GENOTYPE MTBDRSL	16
HORMÔNIO T3 MODULA GENES ALVOS DA REMODELAÇÃO ÓSSEA EM OSTEOBLASTOS HUMANOS DERIVADOS DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS	17
ALTERAÇÕES METABÓLICAS DE NEURÔNIOS MIOENTÉRICOS DE SPHOEROIDES TESTUDINEUS COMO RESPOSTA A POLUIÇÃO AMBIENTAL	17
Apresentações de Painéis.....	19
 <u>Tema: Biologia Celular e do Desenvolvimento</u>	
CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DO INTEGUMENTO DE FÊMEAS ADULTAS DA BROCA-DO-CAFÉ	19
EFEITO SINERGÍSTICO DOS FATORES DE TRANSCRIÇÃO SCRATCH E NEUROM NA PROLIFERAÇÃO CELULAR	19
IN VITRO EVALUATION OF DESIGNED-LIPOSOME FOR GENE THERAPY	20
T3 COMO POSSÍVEL MODULADOR DA DIFERENCIAÇÃO DE MACRÓFAGOS M1 E M2..	21
ALTERAÇÕES NA SÍNTESE E SECREÇÃO DA FOSFATASE ÁCIDA NAS GLÂNDULAS SALIVARES DE <i>RHIPICEPHALUS SANGUINEUS L. S.</i> ALIMENTADOS EM HOSPEDEIROS IMUNIZADOS	22
ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS NOS RINS DE CAMUNDONGOS (<i>MUS MUSCULUS</i>) PROVOCADAS PELO USO DOS ACARICIDAS: FIPRONIL E TIMOL	22
EFEITO DA POLUIÇÃO AMBIENTAL SOB A PLASTICIDADE NEURAL ENTÉRICA DE BAIACÚS <i>SPHOEROIDES TESTUDINEUS</i>	23

ALTERAÇÕES NO TRATO GASTROINTESTINAL DE BAIACÚS EXPOSTOS A CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL	24
DESCRIÇÃO DA OOGÊNESE DE MELANORIVULUS ROSSOI	25
EFEITOS DO TRATAMENTO COM INSULINA SOBRE FATORES REGULATÓRIOS MIOGÊNICOS PÓS LESÃO TÉRMICA EM MODELO EXPERIMENTAL	26
EFEITOS DA TRANSFERÊNCIA ADOTIVA DE CÉLULAS DENDRÍTICAS SOBRE A SECREÇÃO DE CITOCINAS EM MODELO DE COLITE EXPERIMENTAL	27
TEMPO DE SOBREVIVÊNCIA DE ABELHAS SEM FERRÃO BRASILEIRA EM LABORATÓRIO: PARÂMETROS PARA TESTES ECOTOXICOLÓGICOS	27

Tema: Biologia Molecular e Estrutural

A BIOLOGIA MOLECULAR-ENSINO, IMPORTÂNCIA E APLICAÇÕES NOS DIAS ATUAIS	28
ANÁLISE ULTRAESTRUTURAL DO CÉREBRO DE ABELHAS CAMPEIRAS <i>APIS MELLIFERA</i> EXPOSTAS A DOSES SUBLETAIS DE TIAMETOXAM	29
ANÁLISE DOS EFEITOS DA ANGIOTENSINA-(1-7) NAS CÉLULAS HEPÁTICAS TUMORAIS SK-HEP-1 E HEPG2	30
OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO E PURIFICAÇÃO DA PROTEÍNA MORFOGENÉTICA ÓSSEA 2 RECOMBINANTE HUMANA	31
RIBOSWITCH THEO/MET COMO FERRAMENTA GENÉTICA PARA SILENCIAMENTO GÊNICO EM <i>XANTHOMONAS CITRI</i>	32
EFEITO DO USO TÓPICO DO EXTRATO ETANÓLICO DE FOLHAS DE <i>MAYTENUS ILICIFOLIA</i> NO REPARO DE FERIDAS CUTÂNEAS	32
SUPLEMENTAÇÃO DE NITROGÊNIO EM <i>ATTA SEXDENS RUBROPILOSA</i> PODE SER COMPOSTA POR AÇÃO COOPERATIVA DE DUAS VIAS	33
DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO LETAL MÉDIA (CL50) DO INSETICIDA TIAMETOXAM PARA <i>SCAPTOTRIGONA POSTICA</i> LATREILLE, 1807	34
ANÁLISE DA AÇÃO DA SILIMARINA E SEUS EFEITOS NA ADESÃO E MIGRAÇÃO DE CÉLULAS TUMORAIS HEPÁTICAS	35
TOXICIDADE DO TIAMETOXAM PARA <i>MELIPONA SCUTELLARIS</i> LATREILLE, 1811 (HYMENOPTERA, APIDE, MILIPONINI)	36
AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DA VINHAÇA TRATADA UTILIZANDO FÍGADO DE PEIXES <i>OREOCHROMIS NILOTICUS</i> COMO MODELO	36
PRESENÇA DA BACTÉRIA <i>MESOPLASMA</i> EM <i>ATTA SEXDENS RUBROPILOSA</i> (HYMENOPTERA: FORMICIDAE)	37
EXPRESSÃO HETERÓLOGA, PURIFICAÇÃO E ANÁLISE DA IMUNOREATIVIDADE DO ALÉRGENO AG5 DO VENENO DE <i>POLYBIA PAULISTA</i> (HYMENOPTERA, VESPIDAE)	38

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO PERCOLADO DA VINHAÇA EM <i>OREOCHROMIS NILOTICUS</i> (PISCES): HISTOPATOLOGIA E IMUNOMARCAÇÃO DE PROTEÍNAS	
HSP70	39
ASCORBATOPEROXIDASE EM GENOMAS DE DICOTILEDÔNEAS: ASPECTOS EVOLUTIVOS E TRANSCRICIONAIS	39
EFEITOS DO EXTRATO DE CASEARIA SYLVESTRIS NA INFLAMAÇÃO CRÔNICA INDUZIDA POR IMPLANTES SINTÉTICOS EM CAMUNDONGOS	40
AVALIAÇÃO DO TENDÃO CALCANEAR SUBMETIDO À DOXORRUBICINA E TRATAMENTO COM EXERCÍCIOS E HORMÔNIO DA TIREÓIDE (LEVOTIROXINA)	41
MAPEAMENTO DO INTEGUMENTO E CICLO DE INFECÇÃO DE <i>ISARIA FUMOSOROSEA</i> EM NINFAS DE 3º INSTAR DE <i>DIAPHORINA CITRI</i>	42
ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS NO SINGÂNGLIO DE FÊMEAS DA ESPÉCIE <i>RHIPHICEPHLUS SANGUINEUS</i> SENSO LATO EXPOSTAS AO TIMOL	43
FUNGOS ENDOFÍTICOS DE <i>ACALYPHA WILKESIANA</i> -MUSAICA' RELACIONADOS ÀS FORMIGAS-CORTADEIRAS	43

Tema: Citogenética e Mutagênese

EXPRESSÃO DO MARCADOR DE CÉLULAS TRONCO DE CÂNCER ALDH1 EM CARCINOMA EPIDERMÓIDE DE BOCA E LINFONODOS CERVICAIS METASTÁTICOS ...	44
AVALIAÇÃO DA FITOTOXICIDADE DO HERBICIDA TORDON® EM SEMENTES DE ALFACE (<i>LACTUCA SATIVA</i> L.)	45
EFEITOS CITOGENOTÓXICOS EM CULTURAS DE CÉLULAS SPEEDY EXPOSTAS À POLIAMINA PUTRESCINA	46
EFEITOS CITOGENOTÓXICOS DA ASSOCIAÇÃO DAS AMINAS BIOGÊNICAS DE PUTREFAÇÃO (CADAVERINA E PUTRESCINA) SOB O ORGANISMO <i>ALLIUM CEPA</i>	47

**Anais do V Simpósio de Biologia Celular e
Molecular**

Apresentações Orais

POPULATION STUDY OF THE B CHROMOSOME FREQUENCY IN THE GRASSHOPPER *ABRACRIS FLAVOLINEATA*

SILVA, A. E. G.; C. CABRAL-DE-MELLO, D.; MILANI, D.

Additional parasitic elements known as B chromosomes have been described in approximately 15% of eukaryotic species. They have primary characteristics that define their origin, composition, ways of accumulation and evolution, such as irregular modes of inheritance, pairing incapacity with standard A chromosomes during meiosis and accumulation of distinct repetitive DNAs as multigenic families, satellite DNAs, microsatellites and transposition elements. The grasshopper *Abracris flavolineata* presents diploid number $2n = 23$, X0 (male) and $2n = 24$, XX (female) and presence of one or two B submetacentric chromosomes were reported exclusively in Rio Claro/SP population, varying in frequency temporally from 13.5% to 31.5% in males. In this work aiming to understand the spatial variation of B chromosome we investigated presence and frequency of B chromosomes in males belonging to three populations, Santa Bárbara do Pará/PA, Cabo/PE and Posadas/Misiones/Argentina using 61, 19 and 14 individuals, respectively. For Argentina population the frequency estimated was only 7,14% (one individual), while for Pernambuco it was higher with about 21,05% (four individuals), and for Pará none of the individuals presented B chromosomes. None of the populations presented individuals with 2B chromosome as reported in Rio Claro/SP, suggesting differential drive and accumulation. The fluctuation of B chromosome frequency and accumulation in these natural populations could be explained by several factors, like differences in parasitism rate, genetic drift or else by negative effects for host development. Moreover local environment characteristics, associated to possible reproductive isolation, caused by vicariance processes, could also influence B chromosome frequency variation. Here we expanded the knowledge of B chromosome geographic distribution in *A. flavolineata*. The next step is to check if the B chromosome is the same variant in distinct populations, using for example the U2 snDNA as probe, which is present in the B chromosome from Rio Claro/SP population and could be helpful in a first step to analyze the origin and diversification of supernumerary chromosomes in this species.

Palavra(s) chave(s): Supernumerary chromosomes, cytogenetics, evolution

EFEITOS DO SENSORIAMENTO NUTRICIONAL NO PROCESSAMENTO ALTERNATIVO DE GENES EM DERMATÓFITOS

RIBEIRO, Y. A.; SILVA, J. O.; MARTINS, M. P.

Dermatófitos são fungos filamentosos patogênicos que utilizam a queratina de pele, unha ou cabelos como fonte de nutrientes durante a infecção. Pertencem a três gêneros, *Trichophyton*, *Microsporum* e

Epidermophyton, e estão agrupados de acordo com seu hospedeiro preferencial em antropofílicos, zoofílicos ou geofílicos. As dermatofitoses constituem uma das infecções fúngicas mais frequentes, sendo *Trichophyton rubrum* o maior responsável por casos de infecções em hospedeiros humanos. O processo infeccioso se deve, entre outros fatores, à capacidade destes fungos de se adaptar aos nutrientes disponíveis e a estresses ambientais, favorecendo a invasão e perpetuação no tecido do hospedeiro. Para o sucesso da infecção, durante a colonização, diversos mecanismos moleculares importantes sofrem modulação, como fatores de virulência ou os genes reguladores do processo de adaptação ao ambiente do hospedeiro, eventos moleculares ainda não totalmente elucidados. No presente trabalho analisamos a ocorrência de eventos de splicing alternativo de mRNA em dois dermatófitos do gênero *Trichophyton*, *Trichophyton equinum* e *Trichophyton rubrum* em resposta à suplementação de aminoácidos em meio de cultivo contendo queratina bovina e água, ambiente que mimetiza o processo infeccioso. Análises comparativas entre os genomas dos dermatófitos indicam que as espécies apresentam poucas diferenças com relação ao conteúdo gênico e à organização de seus genomas. Embora apresentem significativo grau de conservação entre as sequências, cada espécie está adaptada a um hospedeiro específico e a diferentes substratos preferenciais. Por nossos resultados observamos que, a despeito da grande similaridade genômica, o processamento do pré-mRNA pode ser influenciado pela disponibilidade de aminoácidos nos organismos analisados, sugerindo que estes utilizam diferentes mecanismos de adaptação frente às condições nutricionais testadas.

Palavra(s) chave(s): Splicing alternativo, dermatófitos, microambiente, adaptação.

POTENCIAL IMUNOMODULADOR DO EXTRATO DE GLÂNDULAS SALIVARES DE CARRAPATOS *RHIPICEPHALUS SANGUINEUS* L. S. SOBRE A LINHAGEM J774

PEREIRA, M. C.; CAMARGO-MATHIAS, M. I.; NODARI, E. F.; ABREU, M. R.; PAIATTO, L. N.; SIMIONI, P. U.

A espécie *Rhipicephalus sanguineus* lato sensu, popularmente conhecida como "carrapato do cão", tem adquirido cada vez mais destaque no cenário mundial por ser o principal vetor de diversos patógenos do homem e de outros animais. Estes agentes patogênicos se beneficiam das ações anticoagulante, antiplaquetária, anti-inflamatória e imunomodulatória de compostos presentes na saliva do carrapato para sua instalação no hospedeiro. A secreção de óxido nítrico é conhecidamente um fator modulador do crescimento de tumores in vitro. Assim, o presente estudo avaliou a atividade in vitro do extrato das glândulas salivares de fêmeas de *R. sanguineus* l. s. alimentadas por 2 dias sobre células derivadas do sistema imune-inflamatório, especificamente sobre a linhagem tumoral J774, estimuladas com e sem lipopolissacarídeo. As culturas foram expostas a diferentes concentrações de extrato glandular (2, 1, 0.5, 0.1 e 0.05 µg/mL) e submetidas a ensaios de viabilidade celular e secreção de óxido nítrico para avaliação das possíveis alterações em decorrência da exposição ao extrato. Os resultados obtidos revelaram que o extrato, nas concentrações testadas, não exibiu ação citotóxica. Ainda, o mesmo não inibiu a resposta secretora de óxido nítrico em culturas de células não estimuladas. Já em cultura de células estimuladas com lipopolissacarídeo, o

extrato reduziu significativamente a secreção de óxido nítrico, principalmente quando na concentração de 0,1µg/mL. Considerando estes dados obtidos foi possível concluir que o extrato de glândulas salivares de carrapatos desta espécie e nestas concentrações, quando em condições inflamatórias e através da redução na síntese de óxido nítrico, tem potencial modulador de uma das principais vias de defesa do sistema imune. Estes resultados poderão ainda auxiliar na busca e desenvolvimento de novas estratégias para o controle de carrapatos, tais como a formulação de vacinas com bases em componentes imunossupressores presentes na saliva destes ectoparasitas.

Palavra(s) chave(s): carrapatos saliva viabilidade celular óxido nítrico

RESISTÊNCIA A FLUOROQUINOLONAS EM CEPAS CLÍNICAS DE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* E PESQUISA DE MUTAÇÕES ATRAVÉS DO KIT GENOTYPE MTBDRSL

RIBEIRO, C. M.; BELLATO, D. L.; PAVAN, F. R.

Tuberculose é uma doença infecciosa bacteriana causada principalmente pelo *Mycobacterium tuberculosis*. Estima-se que em 2015, 10,4 milhões de pessoas contraíram esta doença no mundo e 1,8 milhão de pessoas morreram devido à doença. O principal agravante neste cenário é a emergência de cepas resistentes aos antibióticos disponíveis para o tratamento. Cepas clínicas XDR-TB (tuberculosis extensively drug resistant), resistentes a isoniazida, rifampicina, fluoroquinolonas e pelos menos um fármaco injetável (aminoglicosídeos, por exemplo) já foram relatados em 117 países¹. As fluoroquinolonas se destacam pelo seu potencial antibacteriano e por este motivo, propomos determinar a prevalência de resistência fenotípica a fluoroquinolonas em 80 cepas clínicas e pesquisar através do kit GenoType MTBDRsl mutações no gene *gyrA* que podem ser responsáveis por tal resistência. A metodologia empregada para selecionar as cepas clínicas resistentes foi o método de microdiluição em placa de 96 poços utilizando a resazurina como revelador de viabilidade celular². Concentrações críticas superiores a 0,5 µg / mL para moxifloxacina e gatifloxacina e 2,0 µg / mL para ofloxacina foram consideradas resistentes a FLQ. Dos 80 isolados clínicos, onde, 32,5% apresentou resistência a moxifloxacina e a gatifloxacina e 33,3% foram resistentes a ofloxacina. Para as cepas resistentes a FLQ, o DNA foi extraído e uma amplificação multiplex foi realizada com os primers do kit GenoType MTBDRsl. O último passo foi uma hibridização dos amplicons com sondas específicas biotinizadas que resultam em uma faixa colorida indicando a presença da mutação. Das 80 cepas clínicas, encontramos 26 resistentes a FLQ. Cinco deles mostraram a mutação A90V, quinze o D94G e apenas um no D94N / D94Y e D94H de acordo com o kit GenoType. Nenhuma delas apresentou mutação S91P e D94A, que também são avaliadas através desta metodologia. Das 26 cepas resistentes, 4 não apresentam mutações com base no kit, sugerem o envolvimento de outros mecanismos de resistência, que serão investigados nestas 4 cepas. O estudo da prevalência e dos mecanismos de e resistência é importante para direcionar medidas de saúde pública destinadas a otimizar o tratamento e melhorar sua eficácia.

Palavra(s) chave(s): tuberculose resistência a antibióticos fluoroquinolonas mutação

HORMÔNIO T3 MODULA GENES ALVOS DA REMODELAÇÃO ÓSSEA EM OSTEOBLASTOS HUMANOS DERIVADOS DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS

RODRIGUES, B. M.; OLÍMPIO, R. M. C.; MATHIAS, L.S.; OLIVEIRA, M.; MORETTO, F.C.F.; SIBIO, M. T.; GOLÇALVES, B. M.; NOGUEIRA, C. R.

Os osteoblastos regulam diretamente a síntese de matriz óssea através de mecanismos de ação próprios e controlam indiretamente o processo de reabsorção através da indução da osteoclastogênese, sendo células fundamentais para a manutenção da remodelação óssea [1]. O hormônio tireoideano T3 também possui papel importante para a integridade do sistema esquelético, afetando os processos de formação e reabsorção óssea [2]. Além disso, pacientes com hipertireoidismo possuem maior risco de desenvolver osteoporose devido à diminuição da densidade mineral óssea [3]. Embora T3 aumente a atividade de osteoblastos e osteoclastos *in vivo* e *in vitro*, pouco é conhecido sobre seus efeitos na transcrição de genes alvo, tais como RANKL e OPG, estimulador e protetor da osteoclastogênese induzida por osteoblastos. Com isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a ação do T3 sobre a matriz mineralizada de culturas de osteoblastos humanos e a expressão gênica e proteica de RANKL e OPG. Para tal, osteoblastos derivados de células-tronco mesenquimais de tecido adiposo humano foram tratados por 72 horas, nas doses de T3: Infracirológica - T3Infra (10-10M), Fisiológica - T3Fisio (10-9M) e Supracirológica - T3Supra (10-8M). A matriz mineralizada foi avaliada pela coloração Alizarin Red e quantificada com cloreto de cetilpiridínio. A expressão de mRNA foi avaliada por qRT-PCR e a síntese proteica por Western Blot. Para a análise estatística, foi considerado o teste ANOVA seguida de pós-teste Tukey com nível de significância mínimo de 5%. Os resultados obtidos mostraram que a quantidade de matriz mineralizada nos grupos T3Fisio e T3Supra apresentou-se diminuída em relação ao controle e que o T3 (T3Infra, T3Fisio e T3Supra) elevou os níveis gênicos e proteicos de RANKL, enquanto somente T3Fisio elevou os níveis de OPG. Desta forma, concluímos que o T3 possui efeito modulatório sobre os genes alvo analisados e sobre a formação da matriz óssea, demonstrando tendência à reabsorção óssea com o aumento das concentrações hormonais. O T3 possivelmente atua nos osteoblastos através do RANKL, que aumentado, estimularia a osteoclastogênese resultando em aumento da reabsorção óssea.

Palavra(s) chave(s): Reabsorção óssea Osteoclastogênese RANKL OPG

ALTERAÇÕES METABÓLICAS DE NEURÔNIOS MIOENTÉRICOS DE SPHOEROIDES TESTUDINEUS COMO RESPOSTA A POLUIÇÃO AMBIENTAL.

GONÇALVES, A. R. N.; MARINSEK, G. P.; ABESSA, D. M. S.; MARI, R. B..

O sistema nervoso entérico é formado por uma rede de neurônios e células da glia responsável por controlar as funções do trato gastrointestinal. Esses sistemas estão em constante contato com o meio externo por meio da ingestão de alimentos, o que os deixa expostos a contaminantes disponíveis na dieta ou no ambiente. Estudos já demonstraram alterações morfofisiológicas nesses sistemas em roedores expostos a pesticidas organoclorados. Portanto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar se contaminantes disponíveis no ambiente aquático apresentam efeitos sobre o sistema nervoso entérico. Para isso foram coletados dez baiacus *Spherooides testudineus* em duas regiões do litoral paulista: Estação Ecológica Jureia - Itatins (área não impactada) e Complexo Estuarino de Santos - São Vicente (área impactada). Os segmentos intestinais foram coletados e submetidos às técnicas histoquímicas de NADH-dr e Giemsa, para evidenciação das populações neuronais metabolicamente ativa e geral, respectivamente. Com auxílio de microscópio de luz foram realizadas análises quantitativas dos neurônios mioentéricos, contabilizados em 60 campos aleatórios. O plexo mioentérico dos animais da área não impactada apresentou organização do plexo semelhante ao descrito para peixes, com agrupamentos neuronais conectados por fibras nervosas, e presença de neurônios isolados. Já o plexo dos animais da área impactada apresentou neurônios mais espaçados, formando uma rede nervosa mais difusa. Sugere-se que o desarranjo neuronal dos animais da área impactada tenha ocorrido por meio da plasticidade neuronal, uma resposta fenotípica do plexo como forma de manter a homeostase intestinal em um ambiente poluído. Com base na análise quantitativa foi estimada a densidade neuronal/mm² da população metabolicamente ativa (área não impactada: $5,89 \pm 2,4$; área impactada: $6,69 \pm 2,86$) e população geral (área não impactada: $31,08 \pm 6,57$; área impactada: $24,45 \pm 9,11$). Foi observada redução significativa ($p < 0,05$) na população geral de neurônios entéricos dos animais da área impactada. Com base nesses dados, observou-se aumento de 8% na quantidade de neurônios metabolicamente ativos nos animais da área impactada ($p > 0,05$), o que sugere aumento do metabolismo neuronal como forma compensatória aos agentes estressores presentes no ambiente. Sendo assim, as alterações morfofisiológicas encontradas no plexo mioentérico sugerem respostas adaptativas do sistema nervoso entérico em animais que habitam ambiente impactado.

Palavra(s) chave(s): baiacu, sistema nervoso entérico, metabolismo neuronal

Apresentação de Painéis

Tema: Biologia Celular e do Desenvolvimento

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DO INTEGUMENTO DE FÊMEAS ADULTAS DA BROCA-DO-CAFÉ

FERREIRA, A. R. F.; CAMARGO-MATHIAS, M. I.; ARNOSTI, A.; TRAVAGLINI, R. V.; CONCESCHI, M. R.; JÚNIOR, Í. D.

A *Hypothenemus hampei* é uma praga agrícola que ataca cafezais em toda a América do Sul, um microcoleoptera causador de grandes prejuízos aos produtores de café. Devido sua importância e as atuais restrições do uso do químico sintético utilizado para o seu controle, tem-se buscado métodos que sejam eficientes, entre eles aquele com fungos entomopatogênicos, os quais se instalam no integumento do inseto, levando-o à morte. Esse tipo de estudo é importante, visto ser o integumento o órgão que confere ao inseto uma barreira protetora e isolante contra agressões do meio ambiente. No presente trabalho, realizou-se o mapeamento das regiões mais frágeis do integumento de *H. hampei* fazendo uso de técnicas ultramorfológicas. Para tanto foram utilizadas 10 fêmeas adultas provenientes do Laboratório de Patologia e Controle Microbiano de Insetos da ESALQ/USP, que foram mantidas sob condições controladas. Para a análise da organização do integumento aplicou-se técnicas histológicas (inclusão em resina e coloração pela HE) e ultramorfológicas (MEV). Os resultados histológicos mostraram que a partir da superfície o integumento está organizado em: a) cutícula subdividida em epicutícula e procutícula (endo e exocutícula) fundidas e b) por um epitélio simples pavimentoso. Na região dorsal, especificamente no élitro verificou-se que: a) a endo e exocutícula estão completamente esclerotizadas e são mais espessas em comparação aquelas da região abdominal, bem como observou-se a presença de cerdas espatuladas e filiformes, distribuídas uniformemente. Na região ventral segmentar, observou-se cerdas espatuladas e filiformes ocorrendo com maior frequência. Com vistas ao controle biológico com fungos, confirmou-se que o integumento da região ventral segmentar, por ser mais delgado e menos esclerotizado, é a região mais adequada para a ação do entomopatógeno, pois sua entrada fica facilitada quando se compara com as características da região dorsal, que apesar de ter apresentado maior superfície de contato, tem o élitro como barreira a penetração dos conídios.

Palavra(s) chave(s): broca-do-café élitro cutícula controle biológico

EFEITO SINERGÍSTICO DOS FATORES DE TRANSCRIÇÃO SCRATCH E NEUROM NA PROLIFERAÇÃO CELULAR

SOUZA, A. G. B.; BACALU DE SOUZA, A. G.

Tanto SCRATCH quanto NEUROM agem sobre a diferenciação e migração em células no tubo neural do embrião, além de possuírem um padrão de expressão similar sendo possivelmente regulados pelas mesmas vias gênicas. Hipotetizava-se que tais fatores, em conjunto ou sozinhos, poderiam modular o egresso do ciclo celular durante o desenvolvimento. Pensou-se primeiramente em utilizar o tubo neural como ambiente de estudo. Contudo, essa estratégia foi substituída, dado à impraticidade do tubo neural. Essa impraticidade deve-se ao fato de que nesse ambiente ocorre muita migração celular, além de haverem muitas células proliferantes e em diferentes estados de diferenciação, o que faz com que a população celular seja muito heterogênea e, desse modo, dificulte o estudo. Tendo isso em vista, resolveu-se fazer uso de cultura celular. As células escolhidas foram as HEK293T e sua escolha foi realizada com base no fato de que elas são de relativa fácil manutenção, não se diferenciam naturalmente, possuem a capacidade de proliferar por um longo intervalo de tempo e realizam pouca migração. Foram realizados experimentos de transfecção, com o uso de PEI, dos fatores SCRATCH ou NEUROM, isoladamente, e posteriormente SCRATCH + NEUROM em conjunto. As transfecções das células com SCRATCH ou NEUROM separadamente demonstrou que ambos os fatores são capazes de reduzir a proliferação celular. A co-transfecção de SCRATCH + NEUROM resultou em efeito sinérgico, uma vez que a ação conjunta desses dois fatores em uma mesma célula levou à um efeito mais acentuado do que quando os fatores haviam sido transfectados isoladamente. Isso leva à conclusão que tanto SCRATCH, quanto NEUROM não só reduzem a proliferação celular, como quando estão agindo em conjunto sobre uma mesma célula, apresentam ação sinérgica.

Palavra(s) chave(s): Transfecção, Cultura celular, HEK293T, Proliferação

IN VITRO EVALUATION OF DESIGNED-LIPOSOME FOR GENE THERAPY

RODRIGUES, B. D. S.; SINGH, J.

Gene therapy is a potential new form of molecular medicine, holding promise for many genetic disorders, especially for Central Nervous System disorders such as Alzheimer's disease and it is based on the introduction of a functional copy of the defective gene to replace the missing function. However, genes are unable to access brain cells due the protective function of blood brain barrier (BBB) and, additionally, they are susceptible to cellular degradation. Our goal is to design liposome nanoparticles capable to cross the BBB, protect the therapeutic gene from cellular degradation with further targeting the neuronal cells, and simultaneously enhancing the success of transfection to elicit potent gene replacement with restoration of cellular functions. Receptor-targeted and cell penetrating peptide modified liposomes were designed for targeting transferrin receptors present on brain endothelial and neuronal cell surface with additional ability to overcome receptor saturation by conjugating cell penetrating peptide. Plasmid Green Fluorescence Protein (pGFP) was the model gene used to study the cell transfection. The plasmids were coupled to chitosan to protect from degradation and helping in endosomal escape. Liposome-plain, Liposome-Tf, Liposome-Pen and Liposome-PenTf particles loaded plasmid with an average efficiency above 80%, diameter and surface charge approximately 160 nm and 21 mV, respectively. The association efficiencies of the

polyplexes were ~ 80% at N/P ratio 5. Chitosan demonstrated protective effect against nuclease degradation. Naked GFP was completely digested as indicated by the absence of band. Considering the protective activity against enzyme degradation, the liposomes can be used as efficient vector for transporting pGFP into the cell without degradation. Cytotoxicity of liposome formulations was evaluated on primary neuronal cells using MTT assay and was concentration dependent, cell viability was above 90% at 100 nM phospholipid concentration. The mechanisms involved in liposome internalization are primarily ATP/energy dependent uptake. Clathrin-mediated endocytosis and caveolae formation are the main endocytic mechanisms involved. In vitro BBB model was designed to analyze liposome ability to overcome this barrier layer and further to transfect primary neuronal cells. Astrocytes were seeded on the bottom of culture inserts, and bEnd3 cells were seeded on the inside of culture inserts. Bifunctionalized liposome (Liposome-TfPen) showed significant transport through in vitro BBB (15%) compared to plain-, Tf- and Pen-liposomes. Liposome-TfPen also showed significant transfection efficiency in primary neuronal cells in a triple cell unit in vitro model. While the observed enhanced transfection, further investigation is needed to determine the extent at which the desired gene modification were induced and were capable to change the neuronal damage and restore the cellular functions.

Palavra(s) chave(s): blood brain barrier, cell-penetrating peptide, bifunctional liposomes, gene delivery

T3 COMO POSSÍVEL MODULADOR DA DIFERENCIAÇÃO DE MACRÓFAGOS M1 E M2

RODRIGUES, B. M.; TOLEDO, K. A.; NOGUEIRA, C. R.

A existência de uma relação bidirecional entre os sistemas endócrino e imunológico já foi comprovada e é modulada por moléculas sinalizadoras, como hormônios e citocinas. O hormônio tireoidiano T3 está presente em diversas células imunes - sendo os macrófagos uma destas - podendo modular funções celulares [1,2]. Macrófagos podem ser classicamente ativados (M1) desenvolvendo um perfil pró-inflamatório ou alternativamente ativados (M2) com perfil anti-inflamatório. Diversas moléculas modulam a diferenciação dos macrófagos: lipopolissacarídeos e citocinas Th1 ativam M1 enquanto glicocorticóides e citocinas Th2 ativam M2 [3]. Neste contexto, o objetivo do estudo foi avaliar a capacidade do T3 como modulador da diferenciação de macrófagos M1 e M2. Para o desenvolvimento, monócitos foram isolados de sangue humano e diferenciados em macrófagos. Os tratamentos de T3 foram aplicados nas concentrações: T3Infra [1nMol/l], T3Fisio [10nMol/l] e T3Supra [100nMol/l] - por 12h, 24h e 48h. Avaliou-se a citotoxicidade do hormônio sintético sobre os macrófagos (MTT) e presença de marcadores para ambos os fenótipos: produção de NO (M1), perfil de liberação das citocinas TNF- α (M1), IL-6 (M1), TGF- β (M2), IL-10 (M2) (ELISA) e expressão gênica de ALOX15 (M2) (qRT-PCR). As análises estatísticas aplicadas foram ANOVA seguida de Tukey para dados paramétricos e Kruskal Wallis seguida de Dunn para dados não paramétricos, o nível de significância adotado foi de 5%. O teste citotóxico mostrou que o T3 sintético não afeta a viabilidade celular em nenhuma das concentrações testadas. Quanto aos marcadores M1, não houve produção de NO e IL-6 não apresentou diferença estatística entre os grupos, enquanto TNF- α em 24h mostrou-se reduzido pelos grupos T3Fisio e T3Supra. Para os marcadores M2, o grupo T3Supra

elevou a produção de IL-10 em todos os tempos e de TGF- β em 12h. A expressão de ALOX15 não mostrou diferenças estatísticas entre os grupos. O conjunto de dados reunidos nesta investigação não permite concluir sobre a modulação funcional do T3 em macrófagos, no entanto, é possível sugerir que T3 em doses elevadas poderiam favorecer a diferenciação de macrófagos M2.

Palavra(s) chave(s): Triiodotironina, macrófago pró-inflamatório e anti-inflamatório

ALTERAÇÕES NA SÍNTESE E SECREÇÃO DA FOSFATASE ÁCIDA NAS GLÂNDULAS SALIVARES DE *RHIPICEPHALUS SANGUINEUS* L. S. ALIMENTADOS EM HOSPEDEIROS IMUNIZADOS

NODARI, E. F.; CAMARGO-MATHIAS, M. I.; JULIANO, L.; PEREIRA, M. C.; HEBLING, L. M. G. F.; ABREU, M. R.; PEREIRA, N. R. C.

Os carrapatos, ectoparasitas de grande sucesso biológico tem nas suas glândulas salivares a base para esse sucesso, visto as mesmas desempenharem várias funções, produzindo substâncias necessárias à sua fixação e à alimentação. As glândulas salivares, são também os locais de produção de antígenos e devido a isso, a aquisição de resistência por parte dos hospedeiros vem sendo foco de importantes estudos, utilizando métodos que incluem sucessivas infestações de carrapatos ou a inoculação de extratos produzidos a partir do carrapato inteiro ou de partes destes¹. O presente estudo detectou e posteriormente avaliou a presença da fosfatase ácida nos ácinos da glândula salivar de fêmeas de carrapatos *R. sanguineus* l. s. alimentadas por 2 e 4 dias em coelhos hospedeiros previamente imunizados com extratos glandulares EGS2 e EGS4. Nas fêmeas alimentadas em hospedeiros imunizados foi possível observar os primeiros sinais de degeneração glandular, tal como a morfologia irregular dos ácinos, o aparecimento dos primeiros ácinos indeterminados, bem como o aumento na intensidade da marcação para a fosfatase ácida. Estatisticamente, esse aumento foi significativo apenas para os ácinos granulares das fêmeas alimentadas por 4 dias em hospedeiros imunizados com EGS2 (ácinos II) e EGS4 (ácinos II e III), provavelmente devido ao fato dos ácinos II e III serem responsáveis pela secreção de moléculas antigênicas, bem como por modularem o sistema imune-inflamatório do hospedeiro, enquanto que o I agiria na osmorregulação e no balanço hídrico do ectoparasita^{2,3}. Assim, os resultados demonstraram que a resistência adquirida pelo hospedeiro influenciou no processo de síntese e secreção da fosfatase ácida o que conseqüentemente interferiu na fisiologia da glândula salivar das mesmas, uma vez que se observou a diminuição da eficiência na alimentação do ectoparasita através da redução da capacidade secretora da glândula, bem como indução da degeneração precoce deste órgão o que interferiu indiretamente na oviposição. Essas informações somadas ao que já é conhecido vem trazer novas informações na implementação de estratégias de controle dessa espécie de carrapato.

Palavra(s) chave(s): imunização, controle imunológico, carrapatos, fêmeas

ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS NOS RINS DE CAMUNDONGOS (*MUS MUSCULUS*) PROVOCADAS PELO USO DOS ACARICIDAS: FIPRONIL E TIMOL

CUNHA, E. L. R.; CAMARGO-MATHIAS, M. I.; MATOS, R. S.; PEREIRA, N. R. C.; OLIVEIRA, P. R.; DAEMON, E.

O controle de carrapatos da espécie *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, que apresentam o gado como hospedeiro preferencial é realizado com produtos contendo diferentes bases químicas. Seu uso indiscriminado causa desde a seleção de populações resistentes até danos ao meio ambiente, como a contaminação do solo e cursos d'água. O fipronil é um químico sintético, e é o ingrediente ativo de um acaricida amplamente comercializado. Estudos têm sido realizados buscando alternativas que sejam eficientes no controle destes ectoparasitas, porém, menos agressivas ao meio ambiente e aos organismos não alvos. O timol é um monoterpeneo com comprovada ação carrapaticida, além de ser um químico natural que pode representar uma possível alternativa. No campo, a aplicação dos carrapaticidas no gado dá-se por meio de banho de aspersão, no entanto, pouco se sabe sobre os efeitos causados por eles nos organismos não-alvo, entre eles o próprio hospedeiro natural. No entanto, os efeitos causados por esses produtos nos organismos não-alvo são desconhecidos. Avaliar a toxicidade de uma substância química por meio das alterações nos rins torna-se uma alternativa que fornece resposta rápida e precisa. Assim, no presente estudo fêmeas de camundongos *Mus musculus* foram expostas aos acaricidas fipronil e timol por meio de banho de aspersão. Os camundongos foram divididos em 5 grupos de tratamento/5 indivíduos cada. A exposição se deu ao fipronil 2% e ao timol 2 mg/mL. Após os animais foram anestesiados e eutanasiados por superdosagem de anestésicos (CEUA - UNESP Rio Claro, protocolo nº 4243). Os camundongos foram então dissecados para a retirada dos rins, que foram encaminhados à análise morfohistológica. Os resultados obtidos mostraram que as exposições tanto ao fipronil, quanto ao timol causaram alterações nos tecidos renais, tais como regiões de congestão sanguínea no córtex renal, vacuolização, intra e extracelular e aumento do diâmetro do lúmen dos túbulos contorcidos nos rins dos camundongos; Os dados indicaram que as alterações morfológicas nos rins representam indícios de toxicidade sistêmica dos organismos não-alvo dos acaricidas, quando expostos ao fipronil e ao timol, além disso, verificou-se que os efeitos do acaricida químico natural, timol, foram menos agressivos que os do químico sintético, fipronil, para os camundongos.

Palavra(s) chave(s): Carrapaticida Morfologia Roedores Tecido renal

EFEITO DA POLUIÇÃO AMBIENTAL SOB A PLASTICIDADE NEURAL ENTÉRICA DE BAIACÚS *SPHOEROIDES TESTUDINEUS*

MARINSEK, G. P.; GONÇALVES, A. R. N.; GUSSO-CHOUERI, P. K.; ABESSA, D. M. S.; MARI, R. B.

O trato gastrointestinal é um órgão de elevada complexidade que possui um sistema nervoso próprio, denominado de sistema nervoso entérico, o qual é responsável pelo controle da absorção, motilidade e secreção local. O trato gastrointestinal encontra-se em contato direto com o meio externo por meio da ingestão de alimento e água e, portanto é um dos primeiros órgãos, juntamente com as brônquias, a entrar em contato com os contaminantes disponíveis no meio. Assim, este estudo teve por objetivo avaliar se os neurônios do sistema nervoso entérico estão sofrendo alterações morfofisiológicas diante da presença de compostos xenobióticos presentes nos estuários. Para tanto, baiacus (*Spherooides testudineus*) foram coletados em duas regiões distintas da baixada santista, sendo a primeira a estação ecológica da Juréia-Itatins (Área não impactada - estuário do Rio Verde) e a

segunda uma região altamente impactada por processos antrópicos (área impactada - Estuário Santos - São Vicente). Os animais foram transportados até o laboratório e mantidos por 24 horas para aclimação. Após, foram eutanasiados com solução de benzocaina 50 ppm e amostras do intestino foram retiradas e processadas para as técnicas de marcação neuronal NADPH-dp (neurônios nitrérgicos) e acetilcolinesterase (neurônios colinérgicos). A densidade de neurônios NADPH - dp diminuiu cerca de 50% na área não impactada [Estuário do Rio Verde = $38,3 \pm 8,8$; Estuário de Santos-São Vicente = $71,2 \pm 19,0$] enquanto a densidade de neurônios colinérgicos aumentou cerca de 30% nesta mesma região [Estuário do Rio Verde = $6,8 \pm 0,9$; Estuário de Santos-São Vicente = $4,8 \pm 0,4$]. O aumento da subpopulação nitrérgica sugere que os neurônios NADPH-dp são mais resistentes aos efeitos causados pela poluição aquática, como morte celular e estresse oxidativo, uma vez que o óxido nítrico, neurotransmissor expressado por esta subpopulação, está envolvido nos mecanismos de defesa contra radicais livres. Sugere-se, então, que os neurônios de AI podem estar alterando seu código químico, reduzindo a síntese de acetilcolina e aumentando a expressão de óxido nítrico, como uma resposta fenotípica aos contaminantes disponíveis no ambiente aquático. A alteração do código químico neuronal pode acarretar em disfunções na motilidade intestinal, levando a alterações nutricionais que podem comprometer a cadeia trófica a médio e longo prazo.

Palavra(s) chave(s): Sistema nervoso entérico, contaminantes, óxido nítrico, acetilcolina.

ALTERAÇÕES NO TRATO GASTROINTESTINAL DE BAIACÚS EXPOSTOS A CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL

MARINSEK, G. P.; BORTOLOTTI, L. B.; GUSSO-CHOUERI, P. K.; ABESSA, D. M. S.; MARI, R. B.

Considerando que o trato gastrointestinal (TGI) é um órgão complexo e está em contato direto com os contaminantes do ambiente aquático por meio da água e da dieta ingerida, este estudo teve por objetivo realizar uma análise morfométrica e histopatológica do TGI de baiacus *Sphoeroides testudineus* a fim de avaliar se os contaminantes presentes no ambiente podem comprometer a morfofisiologia do mesmo. Para tanto, dez animais foram coletados em uma área conhecidamente impactada (Complexo Estuarino de Santos - São Vicente - AI) e em uma área referência (Estação Ecológica da Juréia - ANI), ambas localizadas no estado de São Paulo, Brasil. Para tanto, dez animais de cada região foram coletados e eutanasiados em solução de benzocaina 50 ppm. Após, os intestinos foram retirados e destinados à rotina histológica. Cortes semi-seriados do intestino foram corados com Hematoxilina-Eosina para a mensuração das vilosidades intestinais (μm) e espessura da túnica muscular (μm) e com periodic acid-Schiff (PAS) contra-corado com hematoxilina para a contagem das células mucossecretoras (PAS+) e linfócitos intra-epiteliais (IELs). Para as análises morfoquantitativas foram utilizados três cortes por animal, na qual foi aplicado um sistema teste de quadrantes, sendo capturados 12 campos por animal. A espessura da túnica muscular dos animais de ANI se apresentou 48% maior em relação a AI (ANI = $218,49 \pm 55$; AI = $115,41 \pm 33$) e a altura das vilosidades foi 50% maior em ANI (ANI = $904,09 \pm 35$; AI = $457,6 \pm 34$). A densidade de células caliciformes e sua relação com enterócitos foi 35% maior em ANI (ANI = $45,4 \pm 6,3$; AI = $29,9 \pm 18,7$) e a densidade de IELs foi 47% menor em ANI ($30,4 \pm 6,3$; AI = $56 \pm 19,5$). Sabe-se que existe um equilíbrio entre o processo de renovação e extrusão celular (turnover) que ocorre no ápice das vilosidades, determinando seu tamanho e manutenção e, portanto, a capacidade digestiva e

absortiva do organismo. Além disso, a presença de contaminantes pode - assim como observado no presente estudo - alterar o processo de turnover, reduzindo a altura das vilosidades e a densidade de células caliciformes. A maior densidade de IELs observada em AI sugere maior recrutamento de células de defesa e, portanto, um processo inflamatório mais expressivo. A liberação de citocinas por estas células pode alterar o metabolismo dos demais tecidos, acarretando na redução da parede intestinal. Desta forma, assume-se que os contaminantes presentes em AI estão alterando a morfofisiologia do TGI podendo assim acarretar em disfunções nos processos de digestão e absorção de *S. testudineus*.

Palavra(s) chave(s): Histologia, trato digestório, poluição aquática, baiacu.

DESCRIÇÃO DA OOGÊNESE DE MELANORIVULUS ROSSOI.

SILVA, G. S. B.; MEHANNA, M.; NETO, F. S.; FERREIRA, A.

Os estudos sobre biologia da reprodução de peixes possuem diversas abordagens. Fizemos a descrição da oogênese de *Melanorivulus rossoi*, com a descrição das fases de maturação. Os exemplares foram coletados no município de Sidrolândia, no estado de Mato Grosso do Sul, mensalmente de abril de 2015 a março de 2016. As gônadas foram retiradas e fixadas em solução de glutaraldeído 2% e paraformaldeído 4% em tampão Sorensen (0,1M a pH 7,2) por pelo menos 24 horas, foram desidratados em uma série de álcool (70% por 2 horas, 95% por 4 horas), infiltrados e incluídos em resina do tipo metacrilato glicol. Feitos cortes a 3µm e corados com azul de toluidina a 1%. Fotografadas em microscópio com sistema de captura de imagem. Os *M. rossoi* apresentam oogônias envolvidas em ninhos, composto por um agrupamento de outras oogônias. Quando as oogônias são envolvidas pelas células do epitélio, iniciando a foliculogênese, as oogônias iniciam seu período pré-folicular. Na fase pré-folicular, as células que se destacaram do epitélio e rodearam a oogônia começam a individualizar e se transformam em oócitos precoces. Estes podem ser reconhecidos pelo seu oócito precoce, membrana basal, teca interna e externa, neste estágio eles continuam presos ao epitélio germinal. Com a foliculogênese completa os oócitos iniciam seu primeiro crescimento, já na fase pré-vitelogênica. Além do aumento na largura do oócito, é visível em seu núcleo múltiplos nucléolos, os alvéolos corticais começam a aparecer na periferia da célula e eles vão aumentando ainda mais o tamanho do oócito. O que caracteriza o fim da fase pré-vitelogênica e do seu primeiro crescimento. A fase vitelogênica se inicia com um novo aumento na largura do oócito e acúmulo de vitelo, a quantidade de alvéolos corticais também aumenta, o núcleo apresenta um formato irregular, seus múltiplos nucléolos se instalam nas reentrâncias formadas de encontro ao citoplasma. Os alvéolos corticais são empurrados para a periferia da célula, devido ao acúmulo de gema e tamanho da célula. A maturação é completa quando todos os alvéolos corticais são empurrados para a periferia e o núcleo, que também migra para a periferia, apenas aguardando ser liberado do folículo. Assim como os peixes *Pimelodus maculatus* (Quagio-Grassiotto et al., 2011), os *M. rossoi*, também apresentam células epiteliais responsáveis por envolver e individualizar cada oogônia. García-Alonso, et al. (2009), descreve em detalhes a presença de alvéolos corticais e presença de vitelo no oócitos das fêmeas de *Alphanius iberus*, um teleostei Cyprinodontidae. Fazendo uma comparação no mesmo gênero, os *Melanorivulus punctatus* apresentam a mesma morfologia dos *M. rossoi*, com todas os oócitos juntos formando ninhos e todas as fases até a

maturação ocorrendo de forma muito semelhante, corroborando com o conhecimento sobre a oogênese do grupo (Cassel et al., 2013). Em etapas futuras desse projeto estaremos indicando o período de aptidão reprodutiva dessa espécie nessa localidade.

Palavra(s) chave(s): Oogênese, peixes, histologia.

EFEITOS DO TRATAMENTO COM INSULINA SOBRE FATORES REGULATÓRIOS MIOGÊNICOS PÓS LESÃO TÉRMICA EM MODELO EXPERIMENTAL

QUINTANA, H. T.; BAPTISTA, V. I. A.; LAZZARIN, M. C.; DE OLIVEIRA, F.

Lesões térmicas em crianças estão entre os maiores problemas epidemiológicos no mundo¹, aquelas acima de 40% da superfície corporal são consideradas extensas e estão associadas ao hipermetabolismo e catabolismo proteico no músculo esquelético². A administração de insulina pode reverter o catabolismo e estimular a síntese proteica³. Assim, o objetivo do estudo foi avaliar o tratamento com insulina, a curto e longo prazo, no músculo estriado esquelético de ratos Wistar jovens após lesão térmica. Após aprovação pela CEUA-UNIFESP (4857080514) 64 ratos Wistar, machos, com 21 dias de vida, foram distribuídos nos grupos: Controle (C) e submetidos à Lesão Térmica por Escaldadura (LTE). Após à lesão, os animais receberam tratamento diário de insulina a curto prazo e longo prazo (C+I e LTE+I) e simulação do tratamento com soro (C e LTE). Aos animais que receberam insulina foi oferecido água ad libitum com adição de 5% de sacarose, a fim de manter a euglicemia. A eutanásia ocorreu aos 4 e 14 dias após a lesão e o músculo gastrocnêmio foi dissecado para avaliações: histopatológicas e imunoistoquímicas das proteínas MyoD e Miogenina. Foi usado ANOVA com dois fatores (grupo e tratamento) para estatística. Os resultados histopatológicos evidenciaram alterações nos animais lesionados quando comparados aos Controles. Observou-se ainda presença de novas miofibras de pequena área de perfil e fibras com núcleo centralizado nos animais que receberam tratamento com insulina independente do período. A imunoistoquímica evidenciou maior número de marcações nucleares nos grupos LTE e LTE+I, para MyoD independente do período de tratamento e para Miogenina aos 14 dias pós lesão, em comparação aos Controles. Ainda para essa proteína, foi possível verificar maior número de marcação nuclear nos músculos dos animais com tratamento a longo prazo (LTE+I) em relação aos lesionados não tratados (LTE); no controle com tratamento a curto prazo (C+I) houve extravasamento da proteína para o citoplasma formando vacúolos citoplasmáticos contendo a proteína. Conclui-se que o tratamento com insulina induziu a formação de miofibras e, apenas no tratamento a longo prazo, houve aumento da imunexpressão da miogenina, a qual atua na fase tardia da regeneração muscular.

Palavra(s) chave(s): insulina, miogênese, MyoD, Miogenina

EFEITOS DA TRANSFERÊNCIA ADOTIVA DE CÉLULAS DENDRÍTICAS SOBRE A SECREÇÃO DE CITOCINAS EM MODELO DE COLITE EXPERIMENTAL

PAIATTO, L. N.; SILVA, F. G. D.; YAMADA, Á. T.; TAMASHIRO, W. M. S. C.; SIMIONI, P. U.

Diferentes estratégias têm sido propostas na busca de tratamentos para as doenças autoimunes, entre as quais se destaca a transferência adotiva de células dendríticas tolerogênicas^{1,2}. Neste trabalho analisamos os efeitos da transferência adotiva de células dendríticas isoladas de baços de camundongos BALB/c, que se tornaram tolerantes a ovalbumina pela ingestão prévia da proteína, sobre a colite induzida por ácido 2,4,6-trinitrobenzenosulfônico. Três doses de 3×10^5 células dendríticas isoladas de camundongos tolerantes e de controles naïve foram injetadas intravenosamente em camundongos singênicos, em intervalos de 48 horas. Após a última dose, foi instilado 100µg de ácido 2,4,6-trinitrobenzenosulfônico em etanol a 50% por via intrarectal, para a indução de colite. Os animais controles receberam apenas ácido ou veículo. Os sinais clínicos da doença como perda de peso, prolapso retal e sangue nas fezes foram acompanhados. No quinto dia após a indução da colite, os animais foram sacrificados para avaliação de alterações histológicas do tecido colônico, proliferação de células esplênicas em cultura, porcentagem de linfócitos T auxiliares e reguladores, bem como de secreção de interleucinas nos sobrenadantes das culturas. Os resultados obtidos indicam que a transferência adotiva de células dendríticas tolerogênicas foi capaz de reduzir a resposta proliferativa e imune *in vitro*. Essa redução pode ser estar associada à expressão reduzida de moléculas co-estimulatórias expressas nas células dendríticas bem como à diminuição de frequência de linfócitos T helper 17. Os dados aqui apresentados mostram que os níveis de interleucinas 9 e 17 foram reduzidos significativamente nos sobrenadantes das culturas de células esplênicas de animais tratados com células dendríticas tolerogênicas em comparação com as culturas do grupo controle colítico.

Palavra(s) chave(s): tolerância, ovalbumina, doenças autoimunes.

TEMPO DE SOBREVIVÊNCIA DE ABELHAS SEM FERRÃO BRASILEIRA EM LABORATÓRIO: PARÂMETROS PARA TESTES ECOTOXICOLÓGICOS.

SOARES, S. M. M.; SALOMÉ LOURENCETTI, A. P.; NOCELLI, R. C.F.

Atualmente a maioria dos testes de toxicidade de agrotóxicos é realizada com o híbrido *Apis mellifera* africanizada, existindo poucos dados a respeito da toxicidade para abelhas sem ferrão. Com o intuito de fornecer subsídios para o desenvolvimento de testes em abelhas, o presente trabalho buscou verificar a sobrevivência em regime de laboratório de operárias de quatro espécies de abelhas sem ferrão, sendo elas: *Melipona quadrifasciata*, *Scaptotrigona postica*, *Tetragonisca angustula* e *Frieseomellitta silvestre*. Para tal, abelhas operárias foram coletadas diretamente da entrada das colônias localizadas no Meliponário do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de São Carlos, campus Araras. Foram utilizadas no experimento 30 abelhas de cada espécie, sendo três

repetições de dez indivíduos de três colônias diferentes não parentais, garantindo a variabilidade genética. Após a coleta os indivíduos foram transferidos para potes plásticos previamente furados, a fim de facilitar a circulação de ar, e colocadas em estufas de demanda bioquímica de oxigênio (BOD), mantidas a 28°C e 74% de umidade relativa do ar. Diariamente as abelhas foram alimentadas com xarope a base de água e açúcar cristal (1:1 v/v), oferecidos em microtubos tipo eppendorf. A cada 24 horas as abelhas foram observadas quanto a mortalidade e comportamento, sendo anotados o número de abelhas mortas com a finalidade de se constituir a curva de sobrevivência. Com a obtenção e análise da curva de sobrevivência podemos identificar e separar as abelhas em dois grupos, aquele que possuiu uma mortalidade inicial alta com tempo de sobrevivência mais curto e aquele que possuiu uma mortalidade inicial baixa com tempo de sobrevivência mais longo. O primeiro é o grupo das espécies *Melipona quadrifasciata* e *Scaptotrigona postica*, que tiveram um tempo de sobrevivência total em horas menor que as outras espécies, já o segundo grupo foram das espécies *Tetragonisca angustula* e *Frieseomellitta silvestre*, que resultaram em uma sobrevivência total em horas maior e estatisticamente significativa em relação à *Scaptotrigona postica*. Porém, nos dois casos, a sobrevivência total foi maior do que a relatada para *Apis mellifera* africanizada. Tais resultados nos mostram que existem diferentes ciclos de vida conforme a espécie de abelha sem ferrão, portanto, conclui-se que esse fator possa influenciar na capacidade metabólica dos indivíduos. Apesar do trabalho não apresentar análises celulares e moleculares, ele se torna fundamental, estabelecendo parâmetros importantes e inexistentes até o momento, os quais podem ser utilizados no planejamento de futuros testes toxicológico, uma vez que a determinação do tempo de coleta está diretamente relacionada à fisiologia de cada uma das espécies.

Palavra(s) chave(s): curva de sobrevivência capacidade metabólica fisiologia agrotóxico

Tema: Biologia Molecular e Estrutural

A BIOLOGIA MOLECULAR-ENSINO, IMPORTÂNCIA E APLICAÇÕES NOS DIAS ATUAIS.

ZURRON , A. C. B. P. Z.; SANTIAGO, S; PASETTO, S.

No estudo da biologia molecular, as informações genéticas contidas no DNA são de grande relevância no aprendizado estando relacionados a saúde das pessoas e aquelas à preservação ambiental. Assim, os conceitos e a aplicabilidade dos mecanismos moleculares envolvidos nos processos de replicação do DNA, transcrição e processamento do RNA, assim como as mutações, são caminhos valiosos para colaborar com o diagnóstico , prevenção e tratamento de patologias diversas. O objetivo deste trabalho visa identificar a importância e a relevância do aprendizado de conceitos, aplicações de técnicas de biologia molecular para alunos de graduação através da metodologia ativa, ou seja sala de aula invertida. Assim como treinar um aluno para que este possa trabalhar com a biologia molecular e a biotecnologia em sua área de atuação. A Kroton Educacional tem como metodologia de ensino-aprendizagem o KLS (Kroton Learning System), que segue os

princípios da Sala de Aula Invertida (Flipped Classroom). De acordo com Bergmann e Sams (2016), nesta metodologia, o aluno passa a ter papel ativo, pois será personagem principal. No modelo de sala de aula invertida, o aluno estuda antes da aula e a aula se torna o lugar de aprendizagem ativa, com momentos para perguntas, discussões e atividades práticas. O trabalho do professor concentra-se em sanar as dificuldades dos alunos, e o tempo da aula não é ocupado somente com a exposição do conteúdo da disciplina, com participação apenas do professor. O material didático utilizado pode ser disponibilizado online, e é oferecido de acordo com a instituição. Algumas Instituições de Ensino Superior preferem a criação de uma sequência de materiais didáticos direcionando o aluno, para os pontos de aperfeiçoamento profissional, procurando, preferencialmente, não suprimir os estudos dos livros didáticos de referência de cada conteúdo. No modelo de sala de aula invertida, são baseados em três tempos (a) pré-aula, (b) aula e (c) pós-aula. Na pré-aula o aluno tem acesso ao material didático para se preparar para aula; no tempo da aula são fundamentais as atividades que envolvem uma quantidade significativa de questionamentos, resolução de problemas e discussões, já no pós-aula, os alunos são incentivados a desenvolver atividades online, que podem ser computadas como diagnósticos de deficiência de aprendizagem. No modelo de aprendizagem utilizado, KLS 2.0, os alunos receberam o material antes da aula preparando-se para a aula presencial (pré-aula). Na sala de aula o aluno aprendeu, tirou dúvidas e realizou as aulas práticas. Na pós aula obteve resultados bastante satisfatórios, tendo maior autoconfiança, curiosidade em aprender, motivação, com iniciativa para atuação no mercado de trabalho. O modelo de aprendizagem KLS 2.0 favoreceu o aprendizado de biologia molecular e biotecnologia quando discutido e comparado ao metodologia de aula teórica sem prévia preparação por parte dos alunos.

Palavra(s) chave(s): Biologia Molecular, metodologia ativa, DNA, RNA, biotecnologia

ANÁLISE ULTRAESTRUTURAL DO CÉREBRO DE ABELHAS CAMPEIRAS *APIS MELLIFERA* EXPOSTAS A DOSES SUBLETAIS DE TIAMETOXAM

REIS, A. L. M. D. ; ROAT, T. C.; MIOTELO, L.; MALASPINA, O.

Os pesticidas mantêm um lugar central no processo de enfraquecimento das colônias, destacando-se entre os mais utilizados os da classe dos neonicotinóides, e entre eles está o tiametoxam. Sua ação agonista ao neurotransmissor acetilcolina, faz com que o inseticida mimetize a acetilcolina nos receptores de nicotina presentes no cérebro dos insetos, no entanto o inseticida não é degradado pela acetilcolinesterase ocasionando hiperexcitabilidade, paralisia, e conseqüentemente a morte do indivíduo. A acetilcolina é um importante neurotransmissor no cérebro dos insetos cujos sítios de ligação estão amplamente presentes no cérebro de abelhas incluindo as áreas que estão envolvidas na aprendizagem e memória. Evidências mostram que doses subletais dos inseticidas podem não implicar na mortalidade direta do inseto, mas ainda têm o potencial de induzir uma variedade de alterações comportamentais em abelhas. Portanto, o objetivo do trabalho foi de analisar as possíveis alterações morfológicas de doses subletais do tiametoxam, nas células de Kenyon no cérebro de abelhas *Apis mellifera*, sob microscópio eletrônico de transmissão. As abelhas campeiras foram coletadas e expostas a doses subletais DL 50/10 e DL50/100, por 1,3,5 e 7 dias (tempos de exposição

baseados tempo letal médio obtivo em trabalho prévio). Foram dissecados 6 indivíduos vivos de cada grupo experimental (controle e expostos a doses subletais). Os cérebros então foram processados para microscopia eletrônica de transmissão de acordo com o protocolo do Laboratório de Microscopia Eletrônica da UNESP - campus Rio Claro. As análises ultraestruturais mostraram que as células de Kenyon do grupo controle apresentaram características típicas. Já as abelhas expostas ao tiametoxam, apresentaram principalmente danos nas mitocôndrias, com perda de cristas e rompimento de dupla membrana, interferindo na produção de energia; um aumento do espaçamento entre as células de Kenyon, que sofreram alteração em suas formas típicas; condensação cromatínica; além de levar a indução da morte celular em diversas células do tecido. Assim os resultados nos permitem confirmar a citotoxicidade do tiametoxam, sendo que mesmo administrado em doses subletais é capaz de levar a alterações que estão afetando o funcionamento das células, levando a perda da capacidade energética das mitocôndrias e perda de células nervosas responsáveis pelo processamento cognitivo, e assim interferindo no bom funcionamento do cérebro e eventualmente do organismo como um todo.

Palavra(s) chave(s): doses subletais, cérebro, ultraestrutura

ANÁLISE DOS EFEITOS DA ANGIOTENSINA-(1-7) NAS CÉLULAS HEPÁTICAS TUMORAIS SK-HEP-1 E HEPG2

ZIMERER, A. P. M.; FERRARI DE MORAIS, P.; CRISTIANE MARTINEZ D, K.

A angiotensina-(1-7) [ang-(1-7)] é um heptapéptido gerado pelo sistema renina-angiotensina, evidenciado inicialmente por atuar nos processos homeostáticos do sistema cardiovascular e recentemente tem sido alvo de estudos elucidando sua característica no controle do crescimento tumoral. O carcinoma hepatocelular é o quinto tipo de câncer mais comum em homens e o sétimo em mulheres, diagnosticado todos os anos em mais de meio milhão de pessoas por todo o mundo¹. Suas taxas de incidência aumentam rapidamente, em cerca de 3% ao ano nas mulheres e 4% nos homens². Considerando-se essas informações, o presente estudo vem avaliando os efeitos da ang-(1-7) no metabolismo células hepáticas tumorais. OBJETIVOS: O desenvolvimento da proposta visa analisar os efeitos metabólicos do heptapéptido angiotensina-(1-7) nas células hepáticas HepG2 e Sk-Hep-1. MATERIAIS E MÉTODOS: Para os ensaios, células das linhagens tumorais hepáticas HepG2 (American Type Culture Collection, ATCC® HB-8065™) e SK-Hep-1 (ATCC® HTB-52™) foram crescidas em garrafas de 75 cm² na presença ou ausência do peptídeo e utilizadas em análises de viabilidade celular, utilizando-se o clássico ensaio de MTT (Mosmann, 1983). Em seguida, as diferentes culturas foram submetidas a análises de microscopia. Para se avaliar a densidade das gotículas lipídicas pela a coloração de Oil Red O (Sigma-Aldrich) foi utilizada a técnica de microscopia de campo claro; para a análise da distribuição dos filamentos de actina pela marcação da faloidina-Trict (Sigma-Aldrich), foi utilizada a microscopia de fluorescência. RESULTADOS: Os ensaios de MTT revelaram a concentração de 10⁻⁷ µL do peptídeo como ideal para os ensaios, corroborando dados da literatura. As análises de microscopia revelaram a atuação direta da ang-(1-7) no metabolismo de lipídeos, pela alteração da distribuição e densidades das gotículas lipídicas existentes nas linhagens celulares; já a microscopia de fluorescência revelou resultados interessantes referente a distribuição dos filamentos de actina quando do tratamento com o peptídeo.

CONCLUSÃO: Nas células tumorais investigadas, a angiotensina-(1-7) atua modulando o metabolismo celular. Ensaios futuros irão detalhar mecanismos moleculares e bioquímicos que sustentam tais alterações celulares.

Palavra(s) chave(s): angiotensina (1-7), células hepáticas tumorais, ensaios de viabilidade celular, análises de microscopia

OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO E PURIFICAÇÃO DA PROTEÍNA MORFOGENÉTICA ÓSSEA 2 RECOMBINANTE HUMANA

OLIVEIRA, C. S.; COLANGE, A. L.; ARAÚJO, H. S. S.; IEMMA, M. R. C.

As Proteínas Morfogenéticas Ósseas são glicoproteínas homodiméricas com forte capacidade de induzir a formação de osso e cartilagem a partir de células troncos mesenquimais. O uso dessas proteínas como agente osteoindutor é crescente, e sua associação a diferentes biopolímeros vem sendo evidenciada na literatura, para possível melhora na enxertia óssea. Na atualidade, são descritas mais de 20 ocorrências sendo que a Proteína Morfogenética Óssea 2 é a mais bem caracterizada na questão osteoindutora, apresentando excelente potencial na engenharia de tecidos. Esta proteína humana pode ser obtida por meio de organismos geneticamente modificados, tanto procariotos como eucariotos, para ser incorporada a suportes biológicos para a viabilização da diferenciação celular visando acelerar e incrementar o processo de reparo ósseo em modelos de fratura. Neste contexto, o objetivo do presente trabalho foi a otimização da produção e purificação da Proteína Morfogenética Óssea 2 Recombinante Humana em sistema procarioto expressa em diferentes linhagens de *Escherichia coli*. O gene que codifica a proteína alvo foi previamente clonado no plasmídeo de expressão pET32a sob controle do operon lac Z resultando na produção da Proteína Recombinante Humana em fusão com a proteína tiorredoxina e um peptídeo N-terminal contendo seis resíduos de histidinas para posterior purificação em cromatografia de afinidade por íons metálicos imobilizados. A melhor condição da produção foi avaliada quanto à temperatura, concentração do indutor, tempo de indução e solubilidade, nas diferentes linhagens. Foram estabelecidas as etapas de purificação com diferentes condições, em colunas contendo resinas imobilizadas de níquel e cobalto, visando a obtenção de um grau de pureza satisfatório para imobilização da proteína em suportes de ácido polilático e de fibrina. O grau de pureza foi analisado por eletroforese em gel de poliacrilamida. De acordo com os resultados parciais, a Proteína Recombinante foi obtida na forma solúvel, sem a necessidade do processo de refolding, possibilitando a purificação parcial com grau de pureza satisfatório. Ensaios de atividade biológica sobre a proliferação de células tronco mesenquimais e células pré-mioblásticas, ambas de rato, mostraram que a proteína apresentou atividade, podendo ser utilizado para a imobilização nos suportes biológicos.

Palavra(s) chave(s): Regeneração Óssea, Clonagem, Medicina Regenerativa.

RIBOSWITCH THEO/MET COMO FERRAMENTA GENÉTICA PARA SILENCIAMENTO GÊNICO EM *XANTHOMONAS CITRI*

BUENO, D.; FERREIRA, H.

Estudos genéticos em qualquer organismo requerem ferramentas eficazes para se alterar a expressão gênica. Dentre estas, riboswitches oferecem uma alternativa bastante atrativa para modulação da expressão de genes de interesse, onde é possível ligar e desligar tais genes sem a remoção dos mesmos dos genomas através de conformação estrutural do riboswitch sem a necessidade de um fator auxiliar, apenas com o reconhecimento de um metabólito alvo (Henkin, 2008). Esta alternativa permite o estudo direto de um gene e a avaliação da sua falta (quando desligado ou "OFF"), bem como permite o reestabelecimento do selvagem sem a necessidade da complementação padrão (estado "ON"). Os riboswitches tem sido utilizados nos últimos anos em estudos envolvendo o controle da expressão gênica em diversas espécies de bactérias, arqueas e vírus (Berens e Sues, 2015). Na busca por melhores condições de caracterização genética e do desenvolvimento de ferramentas dedicadas para estudos de genes essenciais ou de difícil caracterização em *Xanthomonas citri*, pretendemos avaliar o uso de um sistema de riboswitch (theo/metE) para o controle de expressão gênica nesta bactéria. Nosso objetivo principal é provar que o riboswitch theo/metE é uma ferramenta genética eficiente para controle da expressão gênica em *Xanthomonas citri*. Neste presente trabalho, geramos cinco mutantes de *Xanthomonas citri* contendo a sequência parA_riboswitch_parB integrada em seus genomas, e quando submetidos a crescimento em meio de cultura com teofilina - o metabólito alvo do riboswitch theo/metE - estes mutantes possivelmente serão capazes de abortar a transcrição do gene parB devido a uma alteração da conformação estrutural deste ribowitch na presença do metabólito. Agora, a próxima etapa neste estudo é provar o controle da expressão gênica de parB pela ação do riboswitch. Para tanto, inicialmente, realizaremos um RT-PCR para poder confirmar que o RNA mensageiro do gene parB é abortado de acordo com a concentração de teofilina aplicada na cultura de *Xanthomonas citri*. O sucesso desta construção poderá levar a uma perturbação da segregação cromossômica neste microrganismo, já que parB é um gene que pertence ao operon ParA-ParB-parS responsável pela segregação cromossômica não apenas de *Xanthomonas citri*, mas também de muitas bactérias. A utilização do riboswitch theo/metE como ferramenta genética para estudos envolvendo genes relevantes para a sobrevivência desta bactéria é uma alternativa por melhores condições de caracterização genética e do desenvolvimento de ferramentas dedicadas para estudos de genes essenciais em *Xanthomonas citri*, agente etiológico do Cancro Cítrico.

Palavra(s) chave(s): RNA sintético cancro cítrico ferramenta genética

EFEITO DO USO TÓPICO DO EXTRATO ETANÓLICO DE FOLHAS DE *MAYTENUS ILICIFOLIA* NO REPARO DE FERIDAS CUTÂNEAS.

MUNIZ, E. H.; MOURA, F. B. R.; RODRIGUES, R. A. F.; DECONTE, S. R.; LANDIN, B. C.; VIANA, N. L.; ARO, A. A.; RIBEIRO, D. L.; FERREIRA, B. A.; ARAUJO, F. A.; TOMIOSSO, T. C.

Maytenus ilicifolia é amplamente difundida como antiulcerogênica, analgésica, antisséptica, cicatrizante e anti-inflamatória. No entanto, suas comprovações científicas são direcionadas apenas ao seu efeito antiulcerogênico. Desta forma, este estudo avaliou o efeito do uso tópico do extrato etanólico de folhas de *Maytenus ilicifolia* no reparo de feridas cutâneas, com 3 e 7 dias de tratamento. O experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética (062/2016) e quatro feridas foram realizadas no dorso de 64 camundongos BALB/C machos. Os tratamentos foram: (vaselina/lanolina) para o grupo controle e pomada com *Maytenus ilicifolia* nas concentrações de 2%, 4% e 6%. Avaliações morfológicas foram realizadas através de processos histológicos resultando na quantificação de colágeno total e tipos I e III pela coloração Picrosirius Red e número de mastócitos por Azul de Toluidina. Avaliações bioquímicas sobre atividade de neutrófilos, macrófagos, hemoglobina total, colágeno solúvel e atividade das enzimas metaloproteases 2 e 9, também foram realizados. A estatística utilizada foi ANOVA, two-way e pós-teste Bonferroni, com $p \leq 0.05$. Todas as concentrações apresentaram uma melhora no fechamento de feridas. Durante a etapa inflamatória, 3 dias de tratamento, foi observado o aumento do número de mastócitos nas feridas tratadas com 4% e 6% do extrato. Neste mesmo período, estes grupos apresentaram redução sobre a atividade de neutrófilos, enquanto o tratamento com 4% do extrato foi capaz de reduzir também a atividade de macrófagos. Ainda no terceiro dia de tratamento, feridas tratadas com 4% do extrato apresentaram número elevado de hemoglobina, colágeno depositado sobre a matriz e colágeno solúvel. No sétimo dia, feridas tratadas com 4% do extrato apresentaram redução de hemoglobina e permaneceram com uma alta deposição de colágeno sobre a matriz, mantendo também altos valores para colágeno solúvel. Feridas tratadas com extratos na concentração de 4% e 6% apresentaram aumento sobre a atividade da metaloprotease-9, no sétimo dia, característica da fase proliferativa. A metaloprotease-2 foi avaliada e identificada apenas nas amostras de feridas tratadas por 3 dias. Não houve diferença estatística sobre a deposição dos tipos colágenos dos tipos I e III durante os dois tempos de tratamento. Em conclusão, a pomada contendo 4% de *Maytenus ilicifolia* pode ser considerada mais eficaz, sendo capaz de otimizar o reparo em feridas cutâneas. Esta concentração apresentou um efeito anti-inflamatório (redução da atividade de neutrófilos e macrófagos), além de aumentar a deposição de colágeno e níveis de pro e metaloprotease 9. O aumento de colágeno, observado neste grupo (4%) reforça a resistência da matriz, além de promover a migração e proliferação de células essenciais para a resolução da ferida, processo que conta também com a participação das metaloproteases.

Palavra(s) chave(s): espinheira-santa, cicatrização, pele, colágeno.

SUPLEMENTAÇÃO DE NITROGÊNIO EM *ATTA SEXDENS RUBROPILOSA* PODE SER COMPOSTA POR AÇÃO COOPERATIVA DE DUAS VIAS

AMARAL, G.; RAMALHO, M. O.; BUENO, O. C.

Bactérias da ordem Rhizobiales (gênero Bartonella) são abundantes em espécies de formigas herbívoras, cujas dietas costumam ser pobres em nitrogênio. Assim, há evidências de que esses microrganismos estão envolvidos na suplementação nutricional de seus hospedeiros, por meio da fixação de N₂ atmosférico. Em formigas-cortadeiras a suplementação ocorre da mesma forma, mas

as bacterianas fixadoras são da ordem Enterobacteriales (gêneros *Klebsiella* e *Pantoea*) e se encontram em simbiose com o jardim de fungo. Um estudo recente, no entanto, encontrou Rhizobiales aparentemente ativas no processo de fixação de N₂ em formigas do gênero *Acromyrmex*, sugerindo a existência de duas vias de suplementação de nitrogênio nessas espécies. O objetivo do presente trabalho foi a identificação de Rhizobiales em formigas da espécie *Atta sexdens rubropilosa*. Para isso, operárias e líquido fecal foram submetidos à extração de DNA e posterior amplificação gênica com iniciadores específicos, através da reação em cadeia da polimerase (PCR). Após detecção de bandas por eletroforese em gel de agarose, as amostras foram sequenciadas e editadas manualmente. A presença de representantes da ordem Rhizobiales (identidade $\geq 98\%$) tanto nas operárias inteiras quanto no líquido fecal foi detectada com auxílio da ferramenta de alinhamento Basic Local Alignment Search Tool, do National Center for Biotechnology Information. Esses dados indicam que o mesmo mecanismo cooperativo de suplementação de nitrogênio observado para espécies do gênero *Acromyrmex* pode ocorrer em colônias do gênero *Atta*. Nesse cenário, o líquido fecal contribui para a deposição das bactérias fixadoras no jardim de fungo, agindo como via de transmissão de simbioses de um indivíduo para outro. Mais estudos são necessários para confirmação das hipóteses levantadas e compreensão de suas implicações ecológicas.

Palavra(s) chave(s): formigas-cortadeiras, simbioses, fixação de N₂

DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO LETAL MÉDIA (CL₅₀) DO INSETICIDA TIAMETOXAM PARA SCAPTOTRIGONA POSTICA LATREILLE, 1807

TOFIL, G. M.; MIOTELO, L.; ROAT, T. C.; MALASPINA, O.

As abelhas sem ferrão, como a *Scaptotrigona postica*, são importantes agentes polinizadores de plantas nativas e cultivadas. No entanto o uso de inseticidas pode atingir insetos não alvos, como as abelhas. O tiametoxam é um inseticida neurotóxico que age nos receptores nicotínicos de acetilcolina dos insetos levando a hiperexcitação e morte. Estudos toxicológicos de inseticidas para abelhas utilizam em sua grande maioria como espécie modelo a abelha *Apis mellifera*, na qual doses subletais de inseticidas causam alterações comportamentais relacionadas a tarefas fundamentais para a colônia, como alimentação e forrageamento. No entanto, diferenças quanto a sensibilidade entre as espécies de abelhas aos inseticidas poderiam estar expondo as abelhas nativas a um maior risco. Por ser um inseticida sistêmico, o tiametoxam pode também ser encontrado no pólen e no néctar das plantas, assim, o tegumento não é a única rota de exposição das abelhas aos pesticidas, mas também a ingestão de pólen e néctar contaminados. Neste caso a toxicidade oral do composto é um importante parâmetro, podendo ser determinada pela concentração média letal (CL₅₀). Desse modo, o objetivo desse trabalho foi determinar a CL₅₀ oral do inseticida tiametoxam para abelhas sem ferrão *S. postica*. Abelhas adultas da espécie *S. postica* foram coletadas no Biotério do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) campus Rio Claro. Todos os bioensaios foram realizados nos laboratórios do LECA- Laboratório de Ecotoxicologia e Conservação de Abelhas, localizado no Centro de Estudos de Insetos Sociais (CEIS) seguindo os padrões da Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD, 1998a; 1998b), com adaptações para abelhas sem ferrão. As abelhas foram mantidas em gaiolas plásticas descartáveis de 250 ml com um alimentador do tipo eppendorf de 1,5 ml, contendo um orifício central e dois laterais por onde as abelhas se alimentavam de uma solução de sacarose a

50%, com ou sem contaminação com o tiametoxam. As gaiolas foram mantidas em estufas do tipo B.O.D, com temperatura ajustada em $290\text{ C} \pm 1^\circ\text{C}$ e umidade relativa de $70\% \pm 5\%$. Foi preparada uma solução mãe de tiametoxam (1000ng) a partir da formulação técnica do produto, inicialmente diluído em acetona (Concentração final 1000 mg) e a partir dessa solução foi realizada uma diluição em cascata utilizando solução de sacarose em água 1:1, para obtenção das concentrações desejadas. As abelhas foram observadas 24 horas após o início do experimento para contabilizar mortalidade ou comportamentos fora de sua rotina. Os dados obtidos foram submetidos à análises estatística do tipo dose-resposta, empregando-se o modelo log-logistic do programa BioStat 2008 Professional. O valor da CL50 para o inseticida tiametoxam para operarias campeiras da espécie *S. postica* foi de: 1.447ng de ingrediente ativo (i.a)/ μL de alimento, para 24 horas. Esse resultado mostra que a abelha sem ferrão *S. postica* é mais tolerante ao tiametoxam que *Melipona scutellaris*, outra abelha sem ferrão, que apresentou CL50 oral de 0,0543 ng de ingrediente ativo (i.a)/ μL de alimento (Miotelo et al, 2015). Evidencia-se assim a necessidade de realizar testes de toxicidade com diferentes espécies de abelhas, que apresentam diferenças na sensibilidade aos agrotóxicos. Este resultado ainda é considerado parcial e, serão realizadas novas repetições dos experimentos a fim de confirmar o dado obtido.

Palavra(s) chave(s): abelha sem ferrão, neonicotinóide, toxicidade, ecotoxicologia

ANÁLISE DA AÇÃO DA SILIMARINA E SEUS EFEITOS NA ADESÃO E MIGRAÇÃO DE CÉLULAS TUMORAIS HEPÁTICAS

SANTELO, L. C.; MARTINEZ DE MOARES, K. C.; DA SILVA, C. M.

O hepatocarcinoma é um câncer característico das células do fígado, sendo umas das doenças mais frequentes e agressivas ao corpo humano, apresentando assim alto índice de mortalidade. É caracterizado principalmente pelo crescimento celular desordenado, principalmente dos hepatócitos, e também a sua grande capacidade de metástase, podendo atingir outros tecidos, diferentes daquele de sua origem. Devido a isso, neste projeto foram utilizadas as linhagens celulares SK-Hep-1 e Hep-G2, as quais apresentam algumas características similares dos hepatócitos. Portanto, este projeto tem como objetivo avaliar os efeitos da substância silimarina, presente na planta *Cardo-leiteiro* (*Silybum marianum*), nos aspectos celulares e moleculares da migração e adesão dessas células tumorais, já que essa planta apresenta potencial na proteção dos hepatócitos, além de seus efeitos no controle do processo metastático. Avaliar aspectos celulares e moleculares do efeito da silimarina na modulação dos processos da migração e adesão em linhagem tumoral Sk-Hep-1. Foram avaliados os potenciais citotóxicos da silimarina nas culturas de células tumorais hepáticas Hep-G2 (American Type Culture Collection, ATCC® HB-8065™) e SK-Hep-1 (American Type Culture Collection, ATCC® HTB-52™), através do ensaio de viabilidade celular, também conhecido como MTT. As culturas foram submetidas às análises de microscopia, para então analisar seus efeitos na linhagem celular tumoral, também análises estatísticas. A planta medicinal apresenta elevado potencial terapêutico, contudo mais estudos são necessários para entender os mecanismos que controlam essas alterações.

Palavra(s) chave(s): hepatocarcinoma silimarina viabilidade celular adesão e migração.

TOXICIDADE DO TIAMETOXAM PARA *MELIPONA SCUTELLARIS* LATREILLE, 1811 (HYMENOPTERA, APIDE, MILIPONINI)

MIOTELO, L.; REIS, A. L. M.; MALASPINA, O.; ROAT, T. C.

A classe dos inseticidas neonicotinoides é utilizada atualmente devido à sua eficiência no controle de pragas. O tiametoxam pertence à segunda geração de neonicotinoides, resultante da molécula de nicotina e causa o colapso do sistema nervoso, pois mimetiza a ação da acetilcolina nos receptores nicotínicos durante as sinapses. Estes produtos oferecem riscos à saúde humana e ao meio ambiente, contaminam os solos, águas e os alimentos produzidos, além de afetar os indivíduos não alvo, como os agentes polinizadores, que sofrem diretamente as consequências do uso de agrotóxicos. Um exemplo disso acontece com as abelhas, que são vulneráveis a contaminação devido o forrageamento de áreas agrícolas contaminadas. Assim, esse trabalho visou analisar as possíveis alterações morfológicas no cérebro de *M. scutellaris* expostas a concentrações subletais do inseticida tiametoxam, através de microscopia eletrônica de transmissão. Foram utilizados exemplares de abelhas da espécie *Melipona scutellaris*, coletadas a partir de três colônias provenientes do meliponário do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP) campus Rio Claro. Seguindo-se a metodologia recomendada pela OECD (1998) para avaliar a toxicidade de agrotóxicos para abelhas a partir de testes de laboratório, calculou-se o valor da CL50 para campeiras, sendo o valor encontrado: 0,0543 ng de ingrediente ativo (i.a.)/ μ L de alimento, para 24 horas após contaminação. Assim como, estipulou-se o Tempo Letal Médio (TL50), sendo os dados obtidos: Controle - 192 horas; CL50/10 - 96 horas e CL50/100 - 264 horas. E baseando-se nesses dados foi estabelecido que os dias 1, 4 e 8 seriam usados para dissecação dos órgãos. Os cérebros foram submetidos à rotina de processamento e inclusão para microscopia eletrônica de transmissão. As análises mostram que as células de Kenyon de abelhas expostas por 4 e 8 dias à CL50/10 apresentaram alterações em seus núcleos e mitocôndrias e o grupo exposto à CL50/100, apenas no oitavo dia de exposição apresentaram início de condensação da cromatina. Estes resultados mostram que concentrações subletais de tiametoxam podem alterar a fisiologia dos órgãos de *M. scutellaris*, podendo então, comprometer a sobrevivência dos indivíduos.

Palavra(s) chave(s): Inseticida, abelha sem ferrão, neonicotinóide, células de Kenyon.

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DA VINHAÇA TRATADA UTILIZANDO FÍGADO DE PEIXES *OREOCHROMIS NILOTICUS* COMO MODELO

SARDINHA, L. F.; MARCATO, A. C. C.; FONTANETTI, C. S.

A vinhaça, subproduto da produção de álcool, utilizada como fertilizante, pode alcançar corpos d'água por lixiviamento. Diante de seu alto poder poluente atribuído à quantidade de matéria orgânica e pH ácido, estudos sobre alternativas que diminuam sua toxicidade, como a correção do pH, são necessários. Os peixes são considerados excelentes bioindicadores visto sua sensibilidade às alterações no ambiente e seu potencial em detectar riscos associados à contaminação, sendo o fígado, portanto, um órgão bastante indicado para a marcação de alterações metabólicas. Neste contexto, este estudo realizou análises histoquímicas e histológicas em fígados de tilápias para observação de possíveis alterações fisiológicas após exposição à vinhaça. Para avaliação da toxicidade da vinhaça após correção de pH, foi montado o bioensaio com vinhaça de cana-de-açúcar, cujo pH foi ajustado para 7, por meio da adição de cal (CaO). Foram utilizados 25 espécimes juvenis de *Oreochromis niloticus*, conhecida como tilápia do Nilo, divididos em cinco grupos de cinco indivíduos; cada grupo foi transferido para aquários de prova estática. O grupo controle foi exposto à água limpa de poço artesiano; os outros aquários receberam água de poço artesiano misturada à vinhaça tratada nas diluições de 1, 2.5, 5 e 10%. O tempo de exposição dos animais foi de 96 horas, a fim de se obter a resposta aguda. Após este período, os cinco animais de cada aquário foram anestesiados com benzocaína e eutanasiados para a retirada do fígado. O material coletado e fixado seguiu a rotina histológica, sendo desidratado em série alcoólica, colocados em resina de embebição e em seguida, em resina contendo catalisador. As amostras foram seccionadas em micrótomo e os cortes tiveram espessura de até 6 µm. Os cortes foram hidratados e recolhidos em lâminas e corados por duas técnicas histológicas e histoquímicas para a detecção de alterações morfológicas e proteínas totais e polissacarídeos neutros e ácidos, respectivamente. As alterações morfológicas observadas foram degeneração hidrópica, vacuolização, perda de limite celular e desorganização tecidual. Os padrões histoquímicos para a detecção de proteínas e polissacarídeos não sofreram alterações, quando comparados grupo controle aos expostos. Apesar dos resultados das análises histoquímicas e da análise físico-química das águas contendo as diferentes diluições da vinhaça tratada, comprovarem a diminuição de seu poder poluente, a análise histopatológica dos fígados dos animais expostos, demonstrou ainda, constituintes tóxicos ao organismo utilizado como modelo.

Palavra(s) chave(s): tilápia histopatologia ecotoxicologia

PRESENÇA DA BACTÉRIA *MESOPLASMA* EM *ATTA SEXDENS RUBROPILOSA* (HYMENOPTERA: FORMICIDAE)

CALMANOVICI, M. L.; RAMALHO, M. O.; VIEIRA, A. S.; BUENO, O. C.

Atta sexdens rubropilosa é também uma espécie de formiga cortadeira essencial para o meio ambiente, além disso, apresenta importância econômica, já que são consideradas pragas na agricultura e no reflorestamento. Adicionalmente, o uso de agrotóxicos para seu controle é prejudicial ao meio ambiente. Essas formigas também possuem relações com diversos simbiossiontes, entre eles estão as bactérias do gênero *Mesoplasma* as quais já foram encontradas em *Atta*, porém não se sabe a função dessas, nem a sua distribuição e frequência. O presente estudo aborda a relação endossimbiótica entre formigas da espécie *Atta sexdens rubropilosa* e bactérias do gênero

Mesoplasma, para identificação, verificação da frequência e distribuição em diferentes castas da colônia adulta. Foi feita a coleta de uma operária e uma rainha na Floresta Estadual Edmundo Navarro de Andrade em outubro de 2014. Em seguida foi realizada a extração do DNA total de cada indivíduo e a amplificação da região alvo por meio de PCR, utilizando primers EntomoNewF (5'CTTGACCTCAGTGGCGAAC3') e EntomoNewR (5'ACGGGCGGTGTGTACAAGAC3') específicos para gênero *Mesoplasma*. A confirmação da amplificação foi realizada por meio da eletroforese em gel de agarose. Subsequentemente, foi feita a purificação e, em seguida, quantificação do material genético. Então, as amostras foram submetidas à reação de sequenciamento, para que por fim fossem lidas pelo sequenciador 3130 Genetic Analyzer da Applied Biosystems. Os resultados gerados foram editados manualmente no programa computacional BioEdit Sequence Alignment Editor e então comparados com sequências já depositadas no banco de dados BLAST. Nossos resultados revelaram a mesma bactéria na rainha e na operária. Essas sequências obtiveram 96% de similaridade com a bactéria *Mesoplasma lactucae* (NR041813.1). A partir dos resultados pode ser sugerido que existe um forte indicativo de que a passagem desta bactéria seja vertical, já que tanto na rainha quanto na operária foi encontrada a mesma bactéria. Considerando que a função desse microorganismo não está estabelecida, sobretudo em relação às formigas, portanto são necessárias novas informações nessa área. Estudos que envolvem as interações simbióticas e ambientais dessa espécie de formiga podem revelar informações importantes para o desenvolvimento de métodos alternativos de controle menos danosos ao meio ambiente.

Palavra(s) chave(s): formigas relação endossimbiótica microorganismo

EXPRESSÃO HETERÓLOGA, PURIFICAÇÃO E ANÁLISE DA IMUNOREATIVIDADE DO ALÉRGENO AG5 DO VENENO DE *POLYBIA PAULISTA* (HYMENOPTERA, VESPIDAE)

BROCHETTO-BRAGA, M. R.; BAZON, M. L.; PEREZ-RIVEROL, A.; DOS SANTOS-PINTO, J. R. A.; PALMA, M. S.; ROMANI FERNANDES, L. G.; ZOLLNER, R. L.

A vespa social *Polybia paulista* é responsável por muitos acidentes de importância médica. Os alérgenos majoritários de seu veneno, fosfolipase (PLA1), hialuronidase (Hyal) e antígeno 5 (Ag5), foram caracterizados por estudos proteômicos. Entretanto, os estudos em nível molecular estão sendo realizados por nosso grupo. O Ag5 (~23 kDa) é descrito em venenos de algumas vespas (*Vespula vulgaris* e em *Polistes versicolor*) como um dos mais abundantes e importantes alérgenos com alta prevalência de ligação de IgE em pacientes alérgicos, enquanto que em outras (*Polybia scutellaris*), como uma molécula hipoalergênica. No Brasil, não existem extratos alergênicos ou componentes padronizados para o tratamento e diagnóstico de alergia aos venenos de Hymenoptera. Usando soros de pacientes alérgicos ao veneno de *P. paulista*, este trabalho teve como objetivo analisar a imunoreatividade deste alérgeno (nas formas nativa e recombinante) pela detecção de IgE. O Ag5 de *P. paulista* foi clonado, sequenciado, expresso em levedura *Pichia pastoris* X-33, purificado e analisado por imunodetecção de IgE. Os mais altos níveis de expressão extracelular de rPoly p 5 (alérgeno recombinante) foram obtidos em meio BMMY a 28°C, 220rpm e 120h de indução com metanol a 1% final. rPoly p 5 foi purificado por cromatografia de afinidade em Ni⁺² agarose, seguido por Sephadex G-100 acoplada a AKTA-FPLC, rendendo 158 µg/mL. Em paralelo, o Ag5

nativo (nPoly p 5) extraído de glândulas do veneno, foi purificado por cromatografia de troca catiônica. Análise de Western Blotting usada para avaliar a reatividade de IgE, de soros de 10 pacientes alérgicos ao veneno de *P. paulista*, ao rPoly p 5 e nPoly p 5, demonstrou o mesmo nível de reação a ambas proteínas. Os resultados mostraram que *P. pastoris* é um sistema muito adequado para a produção heteróloga de rPoly p 5. Este alérgeno foi capaz de se ligar ao IgE de todos os soros dos pacientes alérgicos testados. rPoly p 5 demonstrou ser um componente antigênico de elevado potencial para melhorar o diagnóstico e a imunoterapia específica contra a alergia ao veneno de *Polybia paulista*.

Palavra(s) chave(s): *Polybia paulista*, Antigen 5, heterologous expression, *Pichia pastoris*

AValiação DA TOXICIDADE DO PERCOLADO DA VINHAÇA EM *OREOCHROMIS NILOTICUS* (PISCES): HISTOPATOLOGIA E IMUNOMARCAÇÃO DE PROTEÍNAS HSP70

COELHO, M. P. M.; CORREIA, J. E.; VASQUES, L. I.; MARCATO, A. C. C.; GUEDES, T.; SOTO, M. A.; BASSO, J. B.; KIANG, C. H.; FONTANETTI, C. S.

A vinhaça de cana-de-açúcar é um resíduo gerado em uma proporção quinze vezes maior que à produção de etanol¹. Esse resíduo é utilizado como fertilizante da própria monocultura de cana-de-açúcar devido a sua grande carga orgânica e presença de metais utilizados pelas plantas como micronutrientes^{1,2}. Entretanto, as elevadas quantidades lançadas podem encharcar o solo e chegar aos corpos hídricos por percolação/lixiviação³. Diante do comprovado potencial tóxico da vinhaça in natura foi objetivo deste estudo avaliar o potencial tóxico do percolado da vinhaça, utilizando tilápias (*Oreochromis niloticus*) como organismos teste. Após percolação em colunas de solo, realizou-se um bioensaio, em réplica, constituído por um grupo controle, com exposição dos peixes à água limpa; um grupo com exposição ao percolado da vinhaça a 2,5%; e outro com exposição à vinhaça bruta também a 2,5%. Após exposição, os fígados foram utilizados para análise histopatológica e marcação de proteínas HSP70. Tanto a vinhaça in natura como o percolado causaram alterações histopatológicas estatisticamente significativas nos fígados dos animais expostos como degeneração hidrópica, perda de limite celular, núcleo picnótico e desorganização tecidual. Houve também um aumento significativo na imunomarcação de proteínas de estresse celular HSP70 nos órgãos analisados, tanto no grupo exposto à vinha in natura quanto no percolado, sendo maior para a vinhaça in natura. Estes resultados sugerem que o percolado da vinhaça é menos tóxico do que a vinhaça in natura, porém ainda capaz de causar importantes alterações hepáticas nos peixes expostos, assim como apresentar ação proteotóxica. Tendo isso em vista é necessária muita cautela na disposição desse resíduo no ambiente, visando a redução de seu impacto ambiental.

Palavra(s) chave(s): tilápia, fígado, cana-de-açúcar, estresse celular.

ASCORBATOPEROXIDASE EM GENOMAS DE DICOTILEDÔNEAS: ASPECTOS EVOLUTIVOS E TRANSCRICIONAIS

CALZADO, N. F.; DOVIGO, D. R.; DOMINGUES, D. S.

O peróxido de hidrogênio (H₂O₂) é uma das espécies reativas de oxigênio (EROs) mais estáveis, que em baixas concentrações atua como sinalizador molecular no metabolismo vegetal. As espécies reativas de oxigênio atuam na regulação de vários processos biológicos das células, como crescimento celular, morte celular, sinalização hormonal e respostas a estresse. Entretanto, níveis elevados de H₂O₂ podem ser prejudiciais para a célula. Os níveis de EROs são controlados por vias enzimáticas e não enzimáticas. As vias enzimáticas são denominadas sistema antioxidante e possuem como principais enzimas de detoxificação de EROs a glutathione peroxidase (GPX), ascorbato peroxidase (APX) e a catalase (CAT). Nas plantas, o ciclo do ascorbato-glutathione é particularmente importante nos cloroplastos, os quais são importantes fontes produtoras de H₂O₂. A redução do peróxido de hidrogênio a água (H₂O) pode utilizar o ascorbato como doador de elétrons; esta reação é mediada pela enzima ascorbato peroxidase (APx). Em plantas, esta enzima é codificada por famílias multigênicas que são divididas em três grupos: APx, APx-R e APx-L. Estes grupos podem ser codificados por um número variável de genes em angiospermas. O objetivo deste trabalho foi analisar o número de genes e padrões filogenéticos da família gênica ascorbato peroxidase em 13 espécies de plantas eudicotiledôneas e monocotiledôneas com genomas sequenciados e disponíveis em bancos de dados públicos. Para todas as espécies analisadas foram identificados genes codificantes para APx e APx-R, entretanto nem todas espécies apresentaram sequências relacionadas à APx-L. Para os grupos APx e APx-R, foi identificado que a evolução molecular destes genes é purificadora, mas em APx-L a evolução é neutra. Estes dados permitem inferir preliminarmente que pressões evolutivas atuam de maneira diferencial tanto entre grupos de APx como entre espécies de plantas angiospermas. Futuras etapas deste trabalho pretendem correlacionar padrões de evolução molecular destes genes com padrões transcricionais disponíveis em dados públicos de RNA-seq.

Palavra(s) chave(s): antioxidante, seleção purificadora, análises genômicas

EFEITOS DO EXTRATO DE CASEARIA SYLVESTRIS NA INFLAMAÇÃO CRÔNICA INDUZIDA POR IMPLANTES SINTÉTICOS EM CAMUNDONGOS

VIANA, N. L.; VIANA, N. L.; SIMONE, R. D.; BRUNO, A. F.; MOURA, F. B. R.; FERNANDA, A. A.; TATIANA, C. T.

A inflamação é um evento natural do corpo cujo objetivo é exterminar o agente nocivo. Os neutrófilos são as primeiras células a migrar para o tecido, e na medida em que elas morrem, o tecido é dominado por macrófagos cuja função é remover os tecidos mortos e corpos apoptóticos. Quando o agente nocivo não é removido, o processo cronifica-se e o processo passa a ser caracterizado pela persistência do agente nocivo (AMORIM, 2014). O resultado da cura com uma inflamação crônica é a formação do tecido fibrótico. Neste trabalho foi realizado um estudo para avaliação da inflamação crônica usando o extrato de *Casearia sylvestris*: uma espécie de planta popularmente conhecida por seu efeito anti-inflamatório (BOU, et al., 2013). A eficácia desta planta foi avaliada na resposta inflamatória crônica induzida por implantes sintéticos em camundongos (CAMPOS et al., 2006). Para este propósito, foram utilizados 60 camundongos, C57/B1/6, machos, com 8 semanas de vida,

divididos em 5 grupos: (1) controle (salina), (2) controle (Dimetilsufóxido- DMSO1%), (3) tratado com doses de 10ng do óleo essencial extraído da *Casearia sylvestris*, (4) tratado com doses de 100ng deste óleo e (5) tratado com doses de 1000ng do mesmo óleo. Os animais foram submetidos a uma resposta inflamatória crônica, induzida pelo implante sintético e tratados diariamente com estas doses nos tempos 0-8dias. Após 9 dias de tratamento, o implante foi removido e submetido a análises bioquímicas e histológicas onde avaliou-se o componente inflamatório pela atividade das enzimas mieloperoxidase (MPO), que corresponde à enzima presente em neutrófilos, da N-acetil-β-D-glicosaminidase (NAG), presente em macrófagos e pela análise quantitativa de mastócitos presentes no tecido fibrovascular. Por sua vez, avaliou-se o componente angiogênico pelo conteúdo de hemoglobina, bem como pela quantificação de vasos sanguíneos. Por último, a fase de reparo foi avaliada pela quantificação de colágeno solúvel e também por meio da quantificação de colágenos do tipo I e III depositados no tecido fibrovascular. Os experimentos que analisaram o efeito da *Casearia sylvestris* revelaram que apesar de a ação anti-inflamatória da *Casearia sylvestris* ser difundida e evidenciada pela medicina popular, as doses utilizadas no presente trabalho via injeção local, sob o modelo de inflamação crônica, induzida por implante sintético não apresentaram alterações significativas sobre os componentes avaliados em nenhum dos tratamentos utilizados comparação com o grupo controle salina, e, portanto, não exibiu efeitos anti-inflamatórios na inflamação crônica. Contudo, nós acreditamos que a presente pesquisa contribui cientificamente na compreensão da atividade do extrato bruto de *Casearia sylvestris* e sugere que o extrato da planta seja investigado em outras formas de administração. Além disso, sugere-se que as dosagens sejam avaliadas em outras concentrações de modo que as mesmas sejam ajustadas adequadamente para avaliação do processo.

Palavra(s) chave(s): reparo tecidual, matriz fibrovascular, colágeno, anti-inflamatório

AValiação DO TENDÃO CALCANEAR SUBMETIDO À DOXORRUBICINA E TRATAMENTO COM EXERCÍCIOS E HORMÔNIO DA TIREÓIDE (LEVOTIROXINA)

VIANA, N. L.; VIANA, N. L.; MOURA, F. B. R.; JERANICE, S. B.; DE SOUZA, F. R.; PULICI, E. C. C.; RESENDE, E. S.; TATIANA, C. T.

A Doxorrubicina é uma droga antineoplásica de uso corrente em oncologia humana. Apesar dos efeitos benéficos contra o câncer, seu uso clínico tem vários efeitos colaterais (STEWART & RATAIN, 1997) podendo afetar os tendões. Esta complicação ocorre mais frequentemente quando a administração do fármaco ocorre no dorso das mãos onde é comum o aparecimento de contraturas articulares e lesões permanentes com alterações sensomotoras (LANGER, 2010). A tendinite de Aquiles é considerada um efeito colateral e pode ser causada por drogas como o norfloxacin. No entanto, até então, não são relatados os efeitos da doxorrubicina neste tecido. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da doxorrubicina (DX), administrada via intraperitoneal (7,5 mg / kg), no tendão calcâneo sob o efeito dos seguintes tratamentos: exercício de natação com peso adicional correspondente a 5% do peso corporal (EX), Hormônio levotiroxano (TH) 10 g / 100g, doxorrubicina associada ao exercício (DXEX) e doxorrubicina associado ao exercício e hormônio (DXHTEX). A análise estatística foi avaliada por ANOVA não paramétrica, Kruskal-Wallis e Dunn com $p < 0,05$.

As seções histológicas foram coradas com hematoxilina/eosina e Sirius Red. A quantificação da proteína total foi avaliada com Bradford. O tratamento com exercício de natação com peso adicional (EX) mostrou maior número de fibroblastos em comparação com o grupo tratado com doxorrubicina. A quantificação do colágeno total não foi diferente entre os grupos, porém houve maior desorganização das fibras de colágeno no grupo doxorrubicina (DX) em relação aos grupos tratados. O hormônio associado ao exercício (DXHTEX) foi capaz de reverter o nível de colágeno do tipo I em animais tratados com doxorrubicina (DX), semelhante ao grupo controle (CO). O exercício ajuda a fortalecer a estrutura do tendão calcâneo. A organização das fibras de colágeno é imprescindível para que este tecido exerça a força de tração e tensão. A doxorrubicina interfere na disposição das fibras de colágeno, portanto pode comprometer a resistência do tendão.

Palavra(s) chave(s): reparo tecidual, colágeno, inflamação

MAPEAMENTO DO INTEGUMENTO E CICLO DE INFECÇÃO DE *ISARIA FUMOSOROSEA* EM NINFAS DE 3° INSTAR DE *DIAPHORINA CITRI*

TRAVAGLINI, R. V.; CAMARGO-MATHIAS, M. I.; ARNOSTI, A.; FERREIRA, A. R. F.; CONCESCHI, M. R.; D'ALESSANDRO, C. P.; DELALIBERA JUNIOR, I.

Diaphorina citri Kuwayama (Hemiptera: Liviidae), é considerada praga na citricultura por disseminar as bactérias *Candidatus Liberibacter asiaticus* e *Candidatus Liberibacter americanus*, causadoras da doença conhecida por huanglongbing (greening). Diferentemente da fase adulta, as ninfas apresentam pouca mobilidade, dada sua morfologia, o que favorece a susceptibilidade quando exposta a entomopatógenos. No presente estudo realizou-se o mapeamento do corpo de ninfas de 3° instar, fazendo uso de análises ultramorfológicas (MEV) e histológicas (HE) para identificar as áreas mais susceptíveis de ação do fungo *Isaria fumosorosea*. Para tanto foram utilizadas 30 ninfas provenientes do Laboratório de Patologia e Controle Microbiano de Insetos da ESALQ/USP, as quais foram mantidas em sala de criação, sob condições controladas. Os resultados da microscopia eletrônica de varredura confirmaram que os conídios do fungo se aderem, penetram e extrusam preferencialmente na região dorsal do corpo (torax). Histologicamente nestas mesmas regiões verificou-se por meio da coloração pela hematoxilina e eosina (HE), que o integumento é organizado em: a) cutícula subdividida em epicutícula e procutícula (endo e exocutícula) e b) por um epitélio simples pavimentoso que teve todas essas camadas ultrapassadas pelas hifas do fungo *I. fumosorosea*, que chegaram ao epitélio no período de 24h, passando pelo mesmo e se alojaram no interior do inseto no tempo de 48 horas. O Processo de extrusão (saída das hifas do fungo) foi observada no período de 72 horas. Acredita-se que todo esse processo tenha sido facilitado devido a aplicação do adjuvante KBRAj 0,075%, que além de auxiliar no processo de adesão dos conídios também auxiliou na sua germinação, proporcionando um microambiente adequado para que esses processos ocorressem. Em trabalho anterior realizado com adultos, ficou demonstrado que os sítios de deposição e germinação do fungo estariam na região ventral do abdomen, ao contrário do que foi aqui observado para os imaturos desta espécie, sugerindo que táticas de controle quando usado entomopatógenos, deva ser específico de acordo com o estágio do inseto praga.

Palavra(s) chave(s): ninfa, fungo, controle biológico, citricultura

**ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS NO SINGÂNGLIO DE FÊMEAS DA ESPÉCIE
RHIPHICEPHALUS SANGUINEUS SENSO LATO EXPOSTAS AO TIMOL**

MATOS, R. S.; CAMARGO-MATHIAS, M. I.; DAEMON, E.; CUNHA, E. L. R.; CRUZ, P. B.; NOVATO, T. P. L.

A espécie *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato é responsável pela transmissão de patógenos como *Ehrlichia canis* e *Rickettsia rickettsii* (agente causador da febre maculosa). O controle deste carrapato tem sido realizado com produtos construídos a partir de diferentes bases químicas, porém a busca por novas alternativas de controle devido ao surgimento da resistência, a contaminação do meio ambiente e dos organismos ditos não alvos tem aumentado significativamente. O timol é um monoterpeneo presente nos óleos essenciais de plantas Lamiaceae e Apiaceae e possui comprovada ação acaricida. O objetivo deste trabalho foi o de avaliar as alterações morfológicas causadas pelo timol (em diferentes concentrações) sobre o singânglio de fêmeas de *R. sanguineus* (s.l.) com quatro dias de alimentação. Utilizou-se fêmeas com quatro dias de alimentação que foram divididas em cinco grupos (10 indivíduos/grupo) e submetidas ao teste de imersão em timol diluído em solução hidroetanólica 30% (v.v) nas concentrações: III) 1,25 mg/mL, IV) 2,25 mg/mL e V) 5,0 mg/mL. Um grupo tratado com água destilada (I) e outro com etanol 30% (II) foram utilizados como controles. Os grupos foram mantidos em câmara climatizada ($27\pm 1^{\circ}\text{C}$ e UR $80\pm 10\%$) por cinco dias e na sequência foram analisados histologicamente (hematoxilina/eosina). As análises mostraram que os singânglios das fêmeas dos grupos controle I e II apresentaram aspecto íntegro semelhante ao já descrito na literatura. Aqueles alocados no grupo III mostraram o singânglio com muitos núcleos picnóticos, dispostos principalmente na região do córtex, além de ter sido também observadas várias regiões apresentando células com extensa vacuolização citoplasmática. A região da neurópila também foi analisada e nela observou-se a presença de pequenos vacúolos no tecido. No grupo IV foram observadas células com vacúolos citoplasmáticos, localizadas na região do córtex, bem como aglomerados de núcleos picnóticos, foram observadas áreas com descolamento do neurilema. No grupo V as células corticais apresentaram citoplasma vacuolizado, bem como algumas células da neurópila localizadas próximas ao córtex. Observou-se que a camada neurilema e a membrana perineuro apresentaram-se descoladas devido ao rompimento destas áreas. Os dados histológicos aqui apresentados evidenciaram que o timol pode ser uma alternativa química natural para o controle de carrapatos *R. sanguineus* (s.l.).

Palavra(s) chave(s): Monoterpeneo, carrapato-vermelho-do-cão, histopatologia, acaricida.

**FUNGOS ENDOFÍTICOS DE *ACALYPHA WILKESIANA* -MUSAICA' RELACIONADOS
ÀS FORMIGAS-CORTADEIRAS**

SILVA, T. N.; RAMALHO, M. O.; OLIVEIRA, A. A.; HARAKAVA, R.; BUENO, O. C.

As plantas possuem interações simbióticas com diversos micro-organismos, muitas delas com fungos endofíticos. As formigas-cortadeiras por serem consideradas insetos herbívoros, participam dessa simbiose entre a planta e o fungo endofítico, tornando-a ainda mais complexa¹. Essas formigas realizam intensa atividade de corte às plantas, que acarreta em prejuízos significativos e, por isso, são consideradas importantes pragas agrícolas na América Latina². Estudos recentes mostraram que existe uma grande quantidade de fungos endofíticos nas plantas que essas formigas cortam, e que alguns desses fungos não são bem-vindos dentro do ninho, exigindo das formigas um expressivo gasto energético na tentativa de reduzir a sua atividade dentro do formigueiro³. Os fungos endofíticos que chegam no interior do ninho por meio das folhas cortadas são pouco conhecidos; assim como suas relações com as formigas-cortadeiras e com o fungo mutualista. Neste trabalho, buscou-se identificar e verificar a diversidade de fungos endofíticos presentes no interior dos tecidos foliares e peciolares de *Acalypha wilkesiana* -Musaica', uma planta atrativa às formigas-cortadeiras. Para isso, foi realizada a extração do material genético total do vegetal pelo método Brometo de Cetiltrimetilamônio, seguida da Reação em Cadeia da Polimerase, utilizando-se os primers universais ITS1-F e ITS4. As sequências obtidas foram editadas manualmente. Para a verificar a espécie do endofítico, as sequências foram submetidas à ferramenta Blast do NCBI para a comparação com as demais depositadas no GenBank. Os resultados preliminares mostraram, a presença de fungos do gênero *Cladosporium* (similaridade de 97% com a sequência do fungo KX839305.1). Esse gênero abrange muitas espécies, sendo várias delas fitopatogênicas, e já foi encontrado associado à formigas-cortadeiras, dos gêneros *Atta* spp. e *Acromyrmex* spp. Novos estudos serão necessários para avaliar o potencial entomopatogênico desses fungos, podendo resultar em um futuro método alternativo de controle dessas formigas.

Palavra(s) chave(s): Interações simbióticas Cladosporium herbívoros

Tema: Citogenética e Mutagênese

EXPRESSÃO DO MARCADOR DE CÉLULAS TRONCO DE CÂNCER ALDH1 EM CARCINOMA EPIDERMÓIDE DE BOCA E LINFONODOS CERVICAIS METASTÁTICOS.

GOIS, G. G.; ORTIZ, R. C.; LOPES, N. M.; AMÔR, N. G.; BUZO, R. F.; MOYSES, R. A.; RODINI, C. O.

O carcinoma epidermóide de boca é uma das neoplasias mais comuns da região de cabeça e pescoço, cuja evolução envolve a presença de metástase em linfonodos cervicais. A metástase pode ser resultado da invasão de uma subpopulação de células tumorais, denominadas células-tronco de câncer, uma pequena população de células com fenótipo tronco responsável pela progressão tumoral

devido a maior taxa de migração e potencial metastático comparado à outras células tumorais¹. A enzima Aldeído Desidrogenase 1 (ALDH1) é considerada marcador de células-tronco de câncer e caracterizar seu perfil de expressão, associado à metástase em linfonodos cervicais, pode ser um marcador promissor para o prognóstico do câncer. O objetivo do estudo foi avaliar a expressão de ALDH1 nos tumores primários de carcinoma epidermóide de boca e metástases linfonodais correspondentes, por meio da imuno-histoquímica para elucidar a relação entre a expressão desse marcador e metástase em linfonodos cervicais. Foram obtidos 50 blocos de carcinoma epidermóide de boca parafinados provenientes do Hospital das Clínicas, Universidade de São Paulo. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Bauru. Para avaliar a expressão de ALDH1, a porcentagem de células imunomarcadas no fronte de invasão (células tumorais mais profundas, livres ou em ilhotas), bem como nas metástases linfonodais foram contadas semi-quantitativamente em todos os campos microscópicos (ampliação 400x). O escore final foi obtido de acordo com a proporção e intensidade das células ALDH1+ em toda a amostra: 0, <5% de células positivas; 1, 5-25% de células positivas; 2, 26-50% de células positivas e 3, mais de 50% de células positivas². A intensidade da marcação foi classificada como negativa (sem expressão), fraca (castanho), moderada (marrom) ou forte (marrom escuro). Então, a imunoexpressão de ALDH1 foi dicotomizada em Baixa (0-2) ou Alta (>3). A imunomarcagem citoplasmática positiva de ALDH1 foi observada em 23 dos 50 casos de tumores primários (46%) e 19 dos 25 casos de metástases em linfonodos cervicais (76%). Observou-se uma tendência na prevalência de células ALDH1+ correlacionadas com metástases linfonodais, embora esta diferença não tenha sido estatisticamente significativa ($p=0,14$). Nossos resultados indicam que a prevalência de células tumorais ALDH1+ em carcinoma epidermóide de boca provavelmente está associada com a presença de metástase em linfonodos cervicais e pior prognóstico.

Palavra(s) chave(s): Aldeído desidrogenase 1, Biomarcador, Imuno-histoquímica.

AVALIAÇÃO DA FITOTOXICIDADE DO HERBICIDA TORDON® EM SEMENTES DE ALFACE (*LACTUCA SATIVA* L.)

MARTINS, H.; CAMPOS-PEREIRA, F. D.

Os herbicidas são usados extensivamente para controlar plantas indesejáveis em terras de cultivo e em terras florestais¹. O Tordon® é um herbicida amplamente utilizado no controle de dicotiledôneas de tamanho arbustivo, e que possui em sua formulação compostos químicos como o Picloram e o ácido 2,4-Diclorofenoxiacético (2,4-D). O picloram é um herbicida com alto potencial de contaminação e apresenta longa persistência no solo². Já o 2,4-D tem sido amplamente utilizado desde a década de 40. O agroquímico abordado, causa a morte de abelhas, danos sobre a microbiota, e inclusive, já foram relatados casos em que o Tordon® foi encontrado no leite de bovinos, o que pode representar um sério risco a saúde humana. Diante disso o objetivo desse trabalho foi determinar a velocidade média de germinação das sementes de *Lactuca sativa* L. expostas a diferentes concentrações do herbicida Tordon®. Para o teste de fitotoxicidade (germinação), 30 sementes de alface foram colocadas para germinar em placas de petri forradas com papel filtro à temperatura ambiente. Foram avaliadas 9 diferentes diluições do produto (100, 10, 1, 0,1, 0,01, 0,001, 0,0001, 0,00001, 0,000001%). O bioensaio foi realizado em triplicata e após 8, 16, 24, 32, 48

e 96 h foram contabilizados o número de sementes germinadas. O índice de velocidade de germinação foi calculado de acordo com Palmieri et al. (2014)³. De acordo com os resultados, em todas as concentrações avaliadas, nenhuma semente germinou em 8 e 16 horas. Em 24 horas o controle teve uma velocidade de germinação de 5,43; a concentração de 0,0001% apresentou uma velocidade de 3,1 enquanto as concentrações de 0,00001 e 0,000001% foram de 4,43. Para 48 horas foram observadas as velocidades de 3,72 (controle); 0,33 (0,01%); 1,83 (0,001%); 3,48 (0,0001%); 3,89 (0,00001%); 4,39 (0,000001%). Já com 96 horas os resultados foram, 4,18 (controle); 0,92 (0,1%); 2,46 (0,01%); 2,70 (0,001%); 4,03 (0,0001%); 4,22 (0,00001%) e 4,32 (0,000001%). Diante desses resultados podemos inferir que as diluições de 100%, 10%, 1% foram tóxicas para as sementes de *Lactuca sativa* L e que quanto maior a diluição menor a interferência do Tordon® sobre os índices de germinação das raízes.

Palavra(s) chave(s): agroquímicos, ecotoxicologia, velocidade de germinação

EFEITOS CITOGENOTÓXICOS EM CULTURAS DE CÉLULAS SPEEDY EXPOSTAS À POLIAMINA PUTRESCINA

CAGNONI, L. B.; CAMPOS-PEREIRA, F. D.; MARIN-MORALES, M. A.

O principal contaminante associado aos cemitérios é o necrochorume, um líquido derivado da putrefação de cadáveres, que causa, além de contaminação ambiental, risco à saúde humana. Este composto é rico em substâncias químicas, como a poliamina putrescina (C₄H₁₂N₂). Essa substância, em quantidades fisiológicas, desempenha importantes funções na síntese e replicação do DNA nos processos de crescimento, diferenciação celular e apoptose. O modelo celular Speedy, proveniente do anfíbio *Xenopus tropicalis*, representa um ótimo modelo para ser usado em estudo de qualidade ambiental. Diante disso, este trabalho teve como objetivo avaliar a citotoxicidade e a genotoxicidade de diferentes concentrações de putrescina em células Speedy mantidas em cultura, por meio do teste de redução da resazurina e do ensaio do cometa. Para a determinação da citotoxicidade, cerca de 2,34 x 10⁴ células foram plaqueadas em microplacas de 96 poços e expostas, por 24 horas, às concentrações de 100%, 40%, 30%, 20%, 10%, 1%, 0,1%, e 0,01% da DL₅₀ de putrescina. (463 mg/kg para ratazanas) O controle negativo (CN) foi realizado somente com meio de cultura e o controle positivo realizado com Triton X-100 (1%). Para o ensaio do cometa, das oito concentrações testadas com resazurina foram selecionados 4 (10%, 1%, 0,1% e 0,01% da DL₅₀), por estas apresentarem viabilidade celular superior a 80%. O ensaio do cometa foi realizado em triplicata e em frascos de cultura de 25cm². Aproximadamente 5 x 10⁶ células foram expostas por 24 horas às concentrações citadas. As lâminas foram submetidas ao processo de eletroforese em tampão alcalino (pH>13) por 20 minutos a 25 V e 300 mA. Foram contabilizados em microscópio de fluorescência 600 nucleóides por tratamento. Os resultados foram avaliados por meio do software CometAssay, para três parâmetros distintos (Tail Moment, Tail Intensity e Tail Length). Os resultados foram analisados pelo teste ANOVA, pós teste de Tukey, p<0,05. No teste de redução da resazurina, foram observadas citotoxicidade para as concentrações de 100%, 40%, 30%, 20%. No ensaio do cometa alcalino, a concentração de 1% mostrou resultados significativos, em relação ao CN, para todos os

três parâmetros analisados, enquanto que a concentração de 10 % foi significativa apenas para o parâmetro Tail Length. Estes resultados demonstram que a putrescina é capaz de induzir efeito genotóxico sobre o material genético das células Speedy na concentração de 1 e 10%, representando assim um potencial risco ao meio ambiente e aos organismos expostos a esta substância.

Palavra(s) chave(s): Necrochorume; Citotoxicidade; Genotoxicidade; Ensaio Do Cometa

EFEITOS CITOGENOTÓXICOS DA ASSOCIAÇÃO DAS AMINAS BIOGÊNICAS DE PUTREFAÇÃO (CADAVERINA E PUTRESCINA) SOB O ORGANISMO *ALLIUM CEPA*

GIGECK, L. S.; HARA, R. . V.; MARIN-MORALES, M. A.

Durante o processo de putrefação é produzido um líquido denominado de necrochorume, que é composto de 60% de água, 30% de sais minerais e 10% de substâncias orgânicas, como as aminas biogênicas cadaverina (C₅H₁₄N₂) e putrescina (C₄H₁₄N₂)^{1,2,3}. Atualmente, tem se discutido a presença dessas aminas no necrochorume e o seu potencial de contaminar o solo e corpos d'água superficiais e/ou subterrâneos. No entanto, há poucas informações sobre os efeitos citogenotóxicos da cadaverina e da putrescina na literatura. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico dessas aminas biogênicas, em diferentes combinações, por meio dos testes de aberrações cromossômicas e do micronúcleo em células meristemáticas de *A. cepa*. Para a realização deste estudo, foram testadas, isoladamente, concentrações das aminas putrescina à 7,5%, 5% e 2,5% e cadaverina a 45%, 30% e 15%, e também associações de ambas, nas concentrações de 45% e 2,5% (solução I), 30% e 5% (solução II) e 15% e 7,5% (solução III), respectivamente de cadaverina e putrescina. Todas as concentrações foram calculadas de acordo com a DL50 de cada amina. Para o controle negativo, as sementes foram germinadas em água de osmose reversa e para o controle positivo foi realizado em solução aquosa de metilmetano sulfonato (MMS - 4x10⁻⁴M) e Trifluralina (0,84 ul). Após a germinação, as raízes foram coletadas, fixadas, hidrolisadas e coradas com reativo de Schiff. As lâminas foram confeccionadas, por esmagamento suave, com a região meristemática das raízes, e contracoradas com carmim-acético (2%). Foram analisadas 500 células/lâmina (10)/tratamento. Os resultados foram submetidos ao teste estatístico de Kruskal-Wallis. Pela análise de aberrações cromossômicas, foi observado a presença de aderências cromossômicas, pontes e células binucleadas, que são indicativos de genotoxicidade. Assim, foi observado que todas as associações de cadaverina e putrescina testadas apresentaram um aumento estatisticamente significativo nos índices de aberrações cromossômicas, indicando efeito genotóxico. Quanto ao efeito mutagênico, nenhuma das concentrações apresentaram resposta significativa. Por esses resultados, ressaltamos a importância de estudos que avaliam o potencial citogenotóxico do necrochorume, para estimar os danos que este contaminante ambiental pode promover nos organismos eventualmente ou ocupacionalmente expostos a ele.

Palavra(s) chave(s): cemitério, necrochorume, citotoxicidade, aberrações cromossômicas, micronúcleo

