



Programação de Pós-graduação em
Ciências Biomédicas

Fundação Hermínio Ometto

ANAIS

**IV Encontro Científico
do Programa de Pós-graduação em
Ciências Biomédicas
FHO**



**14 e 15 de junho de 2019
Araras/SP**

A APLICAÇÃO DA TERAPIA COM MICROCORRENTE NO *SCRATCH ASSAY* ESTIMULA A MIGRAÇÃO CELULAR

SILVA, D. F. D.^{1;2}; FUJII, L. O.^{1;2}; CHIAROTTO, G. B.^{1;2}; ANDRADE, T. A. M.^{1;2}; OLIVEIRA, C. A.^{1;2}; ESQUISATTO, M. A. M.^{1;2}; MENDONÇA, F. A. S.^{1;2}; SANTOS, G. M. T.^{1;2}; ARO, A. A.^{1;2}; OLIVEIRA, A. L. R.³.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas;

³Departamento de Biologia Estrutural e Funcional, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP.

O reparo tecidual é um processo biológico que envolve vários fatores sistêmicos e locais, onde ocorrem complexas interações para que a integridade tecidual se restabeleça. Estudos anteriores do nosso grupo demonstraram os efeitos benéficos da aplicação da terapia com microcorrente no reparo de lesões de diferentes tecidos, embora os mecanismos moleculares envolvidos ainda não estejam completamente elucidados. O objetivo do presente trabalho foi analisar o efeito da aplicação da terapia com microcorrente (10 μ A) até o quarto dia, com durações de 30 s, 60 s, 90 s, 120 s e 150 s, sobre a viabilidade de fibroblastos NHI/3T3 utilizados no *scratch assay* (modelo de cicatrização *in vitro*). Também foram analisados os efeitos da microcorrente (90 s a 10 μ A) sobre importantes genes envolvidos na migração celular, na síntese e no remodelamento de matriz extracelular durante processos de reparo, tais como Tgfb, Ctgf, Icam-1, Igf-1, Tnc, Tnm, Fmod, Fn e Scx. Sendo assim, foram estabelecidos dois grupos: fibroblastos (F) e fibroblastos+microcorrente (F+MC). Os resultados indicaram que, quando comparado aos outros tempos de aplicação, o aumento na viabilidade celular foi demonstrado, utilizando-se 90 s de terapia com a microcorrente aplicada até o fechamento do *scratch* no quarto dia. Na análise de migração celular, o grupo F+MC apresentou resultado superior ao grupo F, em que a terapia com a microcorrente (90 s) estimulou o fechamento do *scratch* no quarto dia. Com relação à análise molecular, a microcorrente não alterou o perfil de expressão gênica no quarto dia após a realização do *scratch*, tendo sido observada apenas algumas tendências à menor expressão de genes, tais como Igf-1, Tnc e Fmod, em relação ao grupo controle. Não foi detectada expressão dos genes Tnm e Icam-1. Concluiu-se que a aplicação da terapia com microcorrente modulou a viabilidade celular e estimulou a migração celular, embora os genes envolvidos não tenham sido identificados no quarto dia após a realização do *scratch*. Estudos posteriores deverão ser realizados, visando identificar os mecanismos moleculares envolvidos na resposta dos fibroblastos após estímulo com a microcorrente.

ALTERAÇÕES AGUDAS DA DISTROFIA MUSCULAR DE DUCHENNE NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL DE ANIMAIS DISTRÓFICOS E TRATADOS COM PREGABALINA

PETROVICH, A. C. Z.^{1;2}; FRANCO, L. S.^{1;2}; ALVES, G. A.^{1;2}; CARVALHO, S. C.^{1;2}; CHIAROTTO, G. B.^{1;2}.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas.

A distrofia muscular de Duchenne é uma doença neuromuscular degenerativa progressiva irreversível, de caráter genético, caracterizada pela falta da distrofina. Sabe-se que durante o curso da doença o terminal axonal, na junção neuromuscular, entra em um ciclo de denervação (retração) e reinervação (brotamento), e que essas alterações a nível muscular podem retrogradamente afetar o ambiente neuronal do sistema nervoso central. A pregabalina é um fármaco aprovado pela FDA análogo ao GABA, que atua como anticonvulsivante, reduzindo a liberação de noradrenalina e glutamato, e modulando a transmissão sináptica excitatória, promovendo efeitos antiapoptóticos e anti-inflamatórios. O objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos da pregabalina sobre a inflamação do sistema nervoso de animais distróficos (mdx) jovens. Como metodologia, foram utilizados 20 camundongos C57BL/10ScCr/Uni (controles = 10) e C57BL/10-Dmdmdx/PasUni (distróficos = 10), não tratados e tratados com pregabalina (20 mg/kg), diariamente, via gavagem. O tratamento foi iniciado na segunda semana de vida dos animais, com término na quarta semana de vida. Além do tratamento, foram monitorados o peso e o comprimento dos animais e realizado o teste de tela invertida (análise de força). Após a eutanásia, foram coletados a medula espinal e o encéfalo, sendo processados para técnicas histológicas e imunistoquímica para avaliação da resposta inflamatória, bem como um possível efeito neurotóxico da pregabalina no sistema nervoso. O presente trabalho foi aprovado pelo comitê de ética institucional, com Parecer n. 027/2019. Os resultados indicaram que, no período experimental estudado, a DMD não influenciou o ganho de peso dos animais mdx quando comparados aos animais controle. No entanto, o tratamento de animais controle com a PGB resultou na perda de peso quando comparados ao grupo controle e mdx ($p < 0.05$). Esses dados corroboram com a medida do comprimento dos animais, demonstrando que, nessa fase aguda, a doença não influencia no crescimento dos animais. Na análise da tela invertida, foi observado que a DMD resulta em perda de força muscular ($p < 0.05$) nos animais distróficos quando comparados aos controles e que o tratamento com PGB não foi eficaz em reduzir essa perda. Apesar de observada uma redução na força muscular dos animais distróficos, o peso dos músculos bíceps braquial, tibial anterior e quadríceps da coxa não apresentaram diferenças de peso entre os grupos experimentais. A nível de sistema nervoso central, constatou-se que a DMD não causa a morte de motoneurônios do corno anterior da medula espinal na fase aguda da doença. Esses dados corroboraram com a medida da área da medula espinal, que também não apresentou diferenças entre os grupos experimentais. Ainda será avaliada a reatividade das células gliais por imunofluorescência. Em conjunto, os resultados apresentados demonstram que, apesar de a fase aguda da DMD ser caracterizada por repetidos ciclos de degeneração e regeneração das fibras musculares, esses efeitos não afetam o microambiente do sistema nervoso central e não comprometem o desenvolvimento dos animais. Ainda, a PGB parece exercer efeitos prejudiciais em animais normais, uma vez que altera a homeostase normal do cálcio. Dessa forma, o presente estudo contribui para uma melhor compreensão dos mecanismos envolvidos na DMD, em termos de sistema nervoso, cooperando com o avanço dos estudos sobre distrofinopatias e o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas.

ALTERAÇÕES AGUDAS DA DISTROFIA MUSCULAR DE DUCHENNE NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL DE ANIMAIS DISTRÓFICOS E TRATADOS COM PREGABALINA

PETROVICH, A. C. Z.^{1;2}; FRANCO, L. S.^{1;2}; ALVES, G. A.^{1;2}; CARVALHO, S. C.^{1;2}; CHIAROTTO, G. B.^{1;2}.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas.

A distrofia muscular de Duchenne é uma doença neuromuscular degenerativa progressiva irreversível, de caráter genético, caracterizada pela falta da distrofina. Sabe-se que durante o curso da doença o terminal axonal, na junção neuromuscular, entra em um ciclo de denervação (retração) e reinervação (brotamento), e que essas alterações a nível muscular podem retrogradamente afetar o ambiente neuronal do sistema nervoso central. A pregabalina é um fármaco aprovado pela FDA análogo ao GABA, que atua como anticonvulsivante, reduzindo a liberação de noradrenalina e glutamato, e modulando a transmissão sináptica excitatória, promovendo efeitos antiapoptóticos e anti-inflamatórios. O objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos da pregabalina sobre a inflamação do sistema nervoso de animais distróficos (mdx) jovens. Como metodologia, foram utilizados 20 camundongos C57BL/10ScCr/Uni (controles = 10) e C57BL/10-Dmdmdx/PasUni (distróficos = 10), não tratados e tratados com pregabalina (20 mg/kg), diariamente, via gavagem. O tratamento foi iniciado na segunda semana de vida dos animais, com término na quarta semana de vida. Além do tratamento, foram monitorados o peso e o comprimento dos animais e realizado o teste de tela invertida (análise de força). Após a eutanásia, foram coletados a medula espinal e o encéfalo, sendo processados para técnicas histológicas e imunoistoquímica para avaliação da resposta inflamatória, bem como um possível efeito neurotóxico da pregabalina no sistema nervoso. O presente trabalho foi aprovado pelo comitê de ética institucional, com Parecer n. 027/2019. Os resultados indicaram que, no período experimental estudado, a DMD não influenciou o ganho de peso dos animais mdx quando comparados aos animais controle. No entanto, o tratamento de animais controle com a PGB resultou na perda de peso quando comparados ao grupo controle e mdx ($p < 0.05$). Esses dados corroboram com a medida do comprimento dos animais, demonstrando que, nessa fase aguda, a doença não influencia no crescimento dos animais. Na análise da tela invertida, foi observado que a DMD resulta em perda de força muscular ($p < 0.05$) nos animais distróficos quando comparados aos controles e que o tratamento com PGB não foi eficaz em reduzir essa perda. Apesar de observada uma redução na força muscular dos animais distróficos, o peso dos músculos bíceps braquial, tibial anterior e quadríceps da coxa não apresentaram diferenças de peso entre os grupos experimentais. A nível de sistema nervoso central, constatou-se que a DMD não causa a morte de motoneurônios do corno anterior da medula espinal na fase aguda da doença. Esses dados corroboraram com a medida da área da medula espinal, que também não apresentou diferenças entre os grupos experimentais. Ainda será avaliada a reatividade das células gliais por imunofluorescência. Em conjunto, os resultados apresentados demonstram que, apesar de a fase aguda da DMD ser caracterizada por repetidos ciclos de degeneração e regeneração das fibras musculares, esses efeitos não afetam o microambiente do sistema nervoso central e não comprometem o desenvolvimento dos animais. Ainda, a PGB parece exercer efeitos prejudiciais em animais normais, uma vez que altera a homeostase normal do cálcio. Dessa forma, o presente estudo contribui para uma melhor compreensão dos mecanismos envolvidos na DMD, em termos de sistema nervoso, cooperando com o avanço dos estudos sobre distrofinopatias e o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas.

ANÁLISE MORFOLÓGICA HEPÁTICA E SOROLOGIA DE FILHOTES DE RATAS SUBMETIDAS À RESTRIÇÃO PROTEICA DURANTE A GESTAÇÃO E A LACTAÇÃO

MASIERO, B. C.^{1;2}; CALSA, B. M.^{1;2}; SILVA, T. M. O.^{1;2}; RIBEIRO, J. R. S.^{1;2}; ANDRADE, T. A. M.^{1;2}; CATISTI, R.^{1;2}.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas.

A desnutrição proteica afeta diversos sistemas do organismo humano, altera o funcionamento de órgãos e pode provocar doenças. A fase da vida e o tempo de exposição que o indivíduo é submetido à restrição contribuem para a determinação da gravidade das alterações. Os mecanismos pelos quais a desnutrição proteica induz o surgimento de doenças ainda necessitam ser mais investigados. Nesse sentido, muitos grupos de pesquisa têm estudado processos fisiopatológicos em modelos experimentais de desnutrição, fornecendo assim dados importantes sobre o tema. O fígado é a maior víscera do corpo humano, responsável por desempenhar múltiplas funções, vitais à saúde, que se relacionam mutuamente. Apesar da existência de alguns estudos a respeito da interação entre programação fetal e alterações hepáticas, pouco se sabe sobre o assunto. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da dieta de baixa proteína em fígado de filhotes de ratas Wistar, submetidas à restrição proteica durante a gestação e lactação, aos 15 dias de idade. Ratas Wistar (n = 24), pesando de 250 g a 300 g, na 10ª semana de vida, foram submetidas ao acasalamento e, após constatação da presença de espermatozoides no esfregaço vaginal, foram divididas aleatoriamente em dois grupos: alimentadas com ração padrão para ratos (NP, n = 12, 17% de caseína) ou com ração hipoproteica (LP, n = 12, 6% de caseína) “*ad libitum*”. Após o nascimento, ratas paridas e sua prole foram subdivididas em dois novos grupos, durante a fase de amamentação: NPNP (alimentadas com ração NP durante a amamentação); NPLP (restrição proteica durante a amamentação); LPNP (alimentadas com ração NP durante a amamentação) e LPLP (restrição proteica durante a amamentação). Este procedimento foi realizado durante toda a lactação até o 15º dia (D15) de idade da prole. As ratas prenhes foram pesadas uma vez por semana, nos dias 0, 7, 14 e 21 da gestação, e, após o nascimento, os filhotes foram pesados nos dias 1, 8 e 15, para acompanhamento do ganho de massa corporal. No 15º dia de vida dos filhotes, após aprofundamento anestésico com ketamina (3,0 mL/kg) e xilazina (1,0 mL/kg), o sangue foi rapidamente coletado por punção cardíaca, para análise bioquímica sorológica. O fígado foi rapidamente pesado e fracionado para estudo histológico e bioquímico. No D15, animais machos e fêmeas não mostraram diferenças significativas em todos os parâmetros avaliados. A restrição proteica durante a lactação (animais NPLP e LPLP) diminuiu o ganho de massa do nascimento ao D15, diminuiu seu tamanho (medidos do focinho à cauda), e a massa hepática e cardíaca. O cérebro apresentou menor massa apenas nos animais LPLP. Dados bioquímicos sorológicos revelaram que a dieta LP durante a gestação e a lactação aumenta níveis de colesterol em fêmeas e em machos. Outros resultados também foram analisados.

ANÁLISES DOS EFEITOS DA APLICAÇÃO TÓPICA DE GEL DE *Arnica montana* L. ASSOCIADA À ESTIMULAÇÃO COM MICROCORRENTE NO REPARO DE LESÕES CUTÂNEAS INDUZIDAS CIRURGICAMENTE EM RATOS WISTAR MACHOS

SANTOS, G. M. T.^{1;2}; ESQUISATTO, M. A. M.^{1;2}; ZACARIAS, C. A.^{1;2}; FLORENZIANO, R. R.^{1;2}.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas.

A cicatrização de feridas é uma cadeia complexa de eventos bioquímicos e celulares designados para restaurar a integridade e a função dos tecidos. A reparação cicatricial envolve, de modo dimênico, matriz extracelular, proteínas pró-inflamatórias, como citocinas, grupamento sanguíneo, além dos complexos conjuntos de fatores de crescimento. Diferentes modalidades de tratamento têm sido estudadas para promover a aceleração do processo de reparo em tecidos. A utilização de estímulos elétricos tem se mostrado eficaz nesses tratamentos. A estimulação elétrica pode oferecer uma opção de tratamento exclusiva para curar feridas complicadas e recalcitrantes, melhorar a sobrevida do enxerto, incluindo os resultados de cirurgia no processo de cicatrização através da nutrição energética sobre o metabolismo local. Os fitoterápicos apresentam várias indicações terapêuticas, sendo que alguns deles pertencem à farmacopeia; a *Arnica montana* L. possui a propriedade de acelerar o processo de cicatrização quando utilizada topicamente. Estudos *in vitro* e em animais demonstraram que os principais componentes ativos da arnica são as lactonas sesquiterpênicas, que possuem antimicrobiano, anti-inflamatório, analgésico e propriedades antirreumáticas. O objetivo do trabalho foi analisar os efeitos da aplicação tópica de gel de *Arnica montana* L. associada à estimulação com microcorrente na resposta tecidual, em especial da derme, durante o reparo de lesões cutâneas induzidas cirurgicamente em ratos Wistar machos. Como metodologia, foram utilizados 108 ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) machos. Todos os procedimentos experimentais e cirúrgicos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Uso Animal (CEUA), do Centro Universitário Hermínio Ometto (FHO). Os animais foram divididos em seis grupos e a eutanásia foi realizada com aprofundamento anestésico e posterior deslocamento cervical, no 2º, 6º e 10º dia após o procedimento experimental, para a coleta das amostras da área de lesão. Concluiu-se que, dentre as divergências fisiológicas no processo de reparo tecidual, nos grupos tratados com arnica gel em associação à microcorrente, houve efeito significativo na cicatrização dos modelos experimentais em seus parâmetros analisados, em comparação ao grupo controle.

APLICAÇÃO DA CROTAMINA ASSOCIADA COM HIDROGEL DE HIDROXIETILCELULOSE PARA O TRATAMENTO DE ÚLCERAS DA PELE

GENARI, M. C.^{1;2}; ALFÂNDEGA, A. A.^{1;2}; VITI, T. M.^{1;2}; GOMES, A. B.^{1;2}; SANTANA, D. S.^{1;2}; ANDRADE, T. A. M.^{1;2}; CAETANO, G. F.^{1;2}; ARO, A. A.^{1;2}; MAZZI, M. V.^{1;2}.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas.

A cicatrização de feridas resulta de uma resposta tecidual ao metabolismo alterado, com mecanismos moleculares altamente complexos. A crotamina (CTM), que pertence à família das miotoxinas de proteínas isoladas de *Crotalus durissus terrificus*, é um peptídeo penetrante de células (CPP), que tem sido demonstrado em amplo espectro de efeitos farmacológicos. Considerando o interesse em CPPs, em diferentes áreas de aplicação, esta pesquisa teve como objetivos avaliar o potencial da crotamina como agente cicatrizante por meio da terapêutica peptídica, utilizando estudos *in vivo*; analisar os mecanismos pelos quais o peptídeo desencadeia resposta de proliferação tecidual e investigar o envolvimento desse peptídeo na promoção do imunofenótipo em modelo animal. CEUA-FHO: 018/2018. Como metodologia, foram utilizados 54 ratos Wistar, machos (60 dias, ~ 300 g), os quais foram divididos aleatoriamente em seis grupos, com nove ratos (n = 9) em cada grupo, contendo um grupo controle de veículo (gel de hidroxietilcelulose) e grupos com diferentes concentrações de CTM (G1-0,05 e G2- 0,1%). Úlceras cutâneas de 1,5 cm de diâmetro foram realizadas no dorso dos animais com *punch* histológico e as lesões foram tratadas diariamente. Amostras de áreas de lesão / cicatriz foram coletadas após 2, 7 e 14 dias (n = 3 / grupo / tempo) e analisadas quanto a alterações nos parâmetros histológicos relacionados ao infiltrado inflamatório, número de fibroblastos, área de colágeno e angiogênese, frente à determinação de índice de cicatrização de úlceras (ICU). Queratinócitos (HaCaT) e fibroblastos murinos H3T3 foram utilizados para avaliar a citotoxicidade da CTM usando o ensaio MTT. Os resultados foram analisados por meio do teste t de *Student*, ANOVA e pós-teste de Tukey (p < 0,05) e expressos em média ± DP. Como resultados, a CTM apresentou capacidade de cicatrização de feridas em ratos e este efeito foi de concentração e tempo dependente. A crotamina induziu aumento na cicatrização, nas duas concentrações analisadas (0,05 e 0,1%), em comparação ao grupo controle. O tamanho da ferida dos grupos tratados com CTM (0,1%) foi de 49%, 86,5% e 100% contra 11%, 75,6% e 90% do tamanho original no controle após o tratamento durante 2, 7 e 14 dias, respectivamente. Todas as concentrações de CTM apresentaram uma resposta inflamatória local induzida associada a um aumento significativo de infiltrados inflamatórios no dia 7, e aumento na área de colágeno nos dias 7 e 14; o número aumentado de fibroblastos para o mesmo período de tratamento em 7 e 14 dias, comparado ao grupo controle, corrobora com os resultados. Por outro lado, o CTM (200, 500 e 1.000 µg / mL) não reduz a viabilidade das células HaCaT e 3T3. Concluiu-se que juntas, ICU e análises histológicas, sugerem que a contração tecidual e o fechamento acelerado da ferida estão relacionados com a reepitelização e remodelação da derme. Esses resultados se somam ao banco de dados de conhecimento molecular sobre CTM e fornecem novos *insights* sobre o desenvolvimento de uma terapia alternativa de cicatrização de feridas.

AVALIAÇÃO DA AÇÃO ANTIFÚNGICA E INIBIDORA DE BIOFILME EM LEVEDURAS DO TIPO *Candida spp.* POR FORMULAÇÃO À BASE DE PEPTÍDEO ISOLADO DE *Crotalus durissus terrificus*: crotoxina

CANELLI, A. P.^{1;2}; CAETANO, G. F.^{1;2}; MAZZI, M. V.^{1;2}; GOES, V. F. F.^{1;3}.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas;

³Programa de Pós-graduação em Odontologia.

As leveduras do tipo *Candida spp* tem aumentado sua incidência e colaboram com as patologias periodontais e a formação de cárie, especialmente por conta da sua capacidade de produzir biofilme. Esses dados trazem relevância para o desenvolvimento de novas formulações antimicrobianas. A crotoxina [CTX] é um peptídeo isolado do veneno de *Crotalus durissus terrificus*, que já possui relatos na literatura por desempenhar ação antimicrobiana. Este trabalho teve como objetivo avaliar a ação antimicrobiana e inibidora de aderência por formulação contendo crotoxina. O presente estudo foi aprovado pelo comitê de ética da Fundação Hermínio Ometto, pelo Parecer n. 008/2018. As leveduras *Candida tropicalis* (CBS94) e *Candida dubliniensis* (CBS7987) foram avaliadas para os testes antimicrobianos e quanto à inibição de aderência e formação de biofilme com as amostras de CTX, CTX em formulação de enxaguatório, formulação de enxaguatório e nistatina (antifúngico de mercado), em concentrações que variaram de $1,46 \times 10^{-5}$ a 0,03%. Foram analisadas a concentração inibitória mínima (MIC), a concentração fungicida mínima (MFC) e a inibição de biofilme, além de ter sido realizada a microscopia eletrônica de varredura (MEV) após exposição às amostras, na concentração de $1,17 \times 10^{-4}$ %, pelo período de 24 horas e 48 horas, para avaliação da morfologia leveduriforme após o tratamento. A atividade citotóxica foi determinada por ensaio de MTT com queratinócitos (HaCaT). Como resultados, o MIC e o MFC da CTX, isolada e em formulação, apresentaram uma forte ação antimicrobiana. A aderência de *C. tropicalis* e *C. dubliniensis* demonstraram maior sensibilidade à CTX, comparado ao controle positivo (nistatina). Mudanças morfológicas e de agregação também revelaram um agrupamento distinto das leveduras sobre diferentes tratamentos. A CTX apresentou menor citotoxicidade sobre as linhagens HaCaT em relação à formulação e ao controle positivo por 24 horas e 48 horas, além de ter demonstrado um perfil indutor de proliferação nas menores concentrações de CTX no período de 24 horas. Essas descobertas indicam respostas diferenciais de duas espécies de *Candida* com relação ao efeito antisséptico e contra biofilmes induzidos pela CTX. A partir dos resultados apresentados, pôde-se concluir que a CTX e sua formulação em enxaguatório apresentaram uma forte ação contra as leveduras testadas sem prejudicar os fibroblastos, colaborando para uma aplicação terapêutica.

AVALIAÇÃO DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA CRÔNICA NO SISTEMA NERVOSO DE ANIMAIS DISTRÓFICOS (MDX) E TRATADOS COM PREGABALINA

ADRIANO, L. C.^{1;2}; FRANCO, L. S.^{1;2}; ALVES, G. A.^{1;2}; CARVALHO, S. C.^{1;2}; CHIAROTTO, G. B.^{1;2}.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas.

A distrofia muscular de Duchenne (DMD) é uma patologia neuromuscular que acomete principalmente indivíduos do sexo masculino. A doença ocorre devido a uma alteração genética que afeta a síntese da proteína distrofina, ocasionando danos no tecido muscular, principalmente pelo aumento do influxo exagerado de íons cálcio dentro da fibra muscular. Por ser uma doença neuromuscular, a DMD resulta em alterações no sistema nervoso, uma vez que este é responsável pelo controle do sistema muscular. Poucos estudos da doença estão voltados para as alterações no sistema nervoso, sendo o tecido muscular o principal alvo das pesquisas. A pregabalina (PGB) é um fármaco aprovado pela FDA para o tratamento de diversos tipos de dores neurogênicas, incluindo neuropatias diabéticas e neuralgia. Além disso, por ter uma estrutura análoga ao neurotransmissor inibitório GABA, também é empregada no tratamento de depressão e ansiedade. Sabe-se que a PGB atua como um bloqueador de canais de cálcio, reduzindo o influxo do mesmo. Diversos estudos demonstraram efeitos neuroprotetores, anti-inflamatórios e antiapoptóticos no sistema nervoso após lesões medulares, isquemia cerebral e modelo experimental de esclerose múltiplas, tornando-se um promissor fármaco a ser explorado para o tratamento de injúrias que acometem o sistema nervoso. O estudo teve como objetivo avaliar a resposta inflamatória crônica no sistema nervoso central de animais distróficos (MDX) e o possível efeito terapêutico da pregabalina para o tratamento da DMD. Como método, foram utilizados 20 camundongos machos das linhagens C57BL/10ScCr/Uni (n=10) e C57BL/10-Dmdmdx/PasUnib (n=10), com 9 meses de idade, divididos em quatro grupos: Controle (CTR), tratados com água; e Controle + Pregabalina (CTRL+PGB), tratados com pregabalina – 20 mg/kg; MDX, tratados com água; e MDX+Pregabalina (MDX+PGB), tratados com pregabalina – 20 mg/kg). O tratamento teve início no 9º mês e foi contínuo (via gavagem) até o 10º mês. O peso dos animais foi monitorado semanalmente, durante os 30 dias experimentais. Os animais foram submetidos ao teste de grade invertida, no início e término do experimento, para avaliação da força muscular. Após a eutanásia, foram coletados a medula espinal, o encéfalo e o nervo isquiático, os quais foram processados para as seguintes técnicas: Coloração de Nissl, para avaliação da sobrevivência neuronal; Coloração de Hematoxilina/Eosina, para avaliação do infiltrado inflamatório no sistema nervoso central e periférico; e Imunofluorescência, para avaliação da reatividade glial na medula espinhal e encéfalo. Os protocolos experimentais foram aprovados pelo CEUA, sob o Parecer n. 065/2018. Nos resultados, observou-se a ativação de astrócitos e micróglia, no sistema nervoso dos animais MDX, caracterizando a resposta inflamatória crônica da DMD, e a pregabalina exerceu efeitos anti-inflamatórios e modular a gliose. Concluiu-se que o estudo contribui para mais conhecimento sobre as alterações desencadeadas pela DMD no sistema nervoso, além de fornecer resultados sobre os efeitos da PGB no tratamento da doença, auxiliando no desenvolvimento de novas terapias que possam proporcionar maior qualidade de vida aos pacientes acometidos.

AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE, PROLIFERAÇÃO E DIFERENCIAÇÃO DE CÉLULAS ESTROMAIS MULTIPOTENTES E POSSÍVEIS EFEITOS GENOTÓXICOS EM SCAFFOLDS DE POLICAPROLACTONA PRODUZIDOS COM NANOTUBOS DE CARBONO

SANTOS, A. D. S.^{1;2}; ROBERTO, M. M.^{1;2}; LOPES, Y. G. R.^{1;2}; CAETANO, G. F.^{1;2}.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas.

Novas terapias e utilização de biotecnologias na área da saúde são importantes para a melhoria da longevidade e qualidade de vida da população. Com enfoque no aumento da população idosa, surgiu uma demanda crescente pelo reparo ou substituição de tecidos danificados por traumas e patologias. Entre os muitos desafios da área médica nas últimas décadas está o desenvolvimento de uma nova abordagem para o tratamento de fraturas, osteoporose e, principalmente, o reparo de defeitos ósseos críticos. O método convencional é o transplante autólogo, abordagem invasiva que necessita de cirurgia secundária e promove dor pós-cirurgia. Uma proposta terapêutica promissora para o tratamento de lesões óssea críticas é a utilização de *scaffolds*, arcabouço tridimensionais porosos com o intuito de atuar como arcabouço para crescimento celular e tecidual. A policaprolactona (PCL) é um polímero sintético amplamente utilizado na produção de *scaffolds* devido às boas propriedades mecânicas, taxa de degradação lenta e ausência de citotoxicidade. No entanto, apresenta a desvantagem de ser de natureza hidrofóbica e não apresentarem bioatividade. Assim, os nanotubos de carbono (NTC), formados a partir do grafeno, tem sido estudado para serem empregados na engenharia tecidual devido à alta resistência mecânica e propriedade de condutividade elétrica e térmica. Sua associação à PCL incrementaria suas propriedades de condução, flexibilidade e adesão celular. No entanto, há trabalhos na literatura que descrevem possíveis efeitos citotóxicos e, ainda não investigados e descritos, possíveis efeitos genotóxicos. Esse trabalho teve como objetivo analisar *scaffolds* de PCL em associação com concentrações de 0,25%, 0,5%, 0,75% e 3,0% de NTC somados à terapia de microcorrente *in vitro*, uma vez que o NTC permite a condutividade elétrica, e assim averiguar se a combinação de PCL, NTC e microcorrente é segura para ser utilizada no reparo ósseo sem oferecer riscos quanto à sua citotoxicidade e genotoxicidade. Com esse propósito, como metodologia, foram realizados testes de viabilidade e proliferação celular (MTT, *alamar blue* e *kit* CCK-8), diferenciação osteogênica de células mesenquimais estromais (atividade da fosfatase alcalina e produção de matriz de cálcio) e ensaio cometa (genotoxicidade), que nos forneceram informações quanto à segurança biológica da proposta. Os ensaios *in vitro* constituem um meio excelente para avaliar os efeitos tóxicos de compostos, uma vez que são conduzidos sob um elevado grau de controle no que se refere às condições de exposição, e a determinação dos efeitos decorrentes da exposição aguda e crônica. O ensaio cometa se destaca por ser uma técnica rápida e eficiente muito utilizada para detectar e quantificar as lesões primárias no DNA causada pela exposição a agentes tóxicos. Como resultados, compreendeu-se, por meio de análises *in vitro*, os possíveis efeitos genotóxicos de *scaffolds* produzidos com pequenas concentrações de NTC e seu incremento ao PCL quanto à diferenciação osteogênica e produção de matriz extracelular de cálcio.

AVALIAÇÃO DO EFEITO DA HIALURONIDASE ISOLADA DO VENENO DE *CROTALUS DURISSUS TERRIFICUS* NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM RATOS WISTAR

AGUIAR, J.^{1;2}; RODRIGUES, T. F. S.^{1;2}; PIMENTEL, V. E.^{1;2}; MAZZI, M. V.^{1;2}.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas.

A Hialuronidase, também conhecida como “fator de espalhamento”, é uma enzima encontrada no veneno de vários animais, como serpentes, abelhas, escorpiões e aranhas, que possui como função a clivagem do ácido hialurônico, encontrado na matriz extracelular, facilitando a difusão de toxinas nos tecidos e na circulação sanguínea das vítimas. Essa enzima está envolvida em diferentes condições bioquímicas, fisiológicas e patológicas e tem demonstrado atividade anti-edematogênica, sendo explorada como possível alvo terapêutico, em diferentes áreas, como na cosmética e reparo tecidual, compondo uma ferramenta farmacológica promissora para auxiliar na infusão de medicamentos, alterando a permeabilidade e a absorção desses compostos. Os objetivos deste trabalho foram purificar uma hialuronidase da peçonha de *Crotalus durissus terrificus* e elucidar os seus efeitos na cicatrização de lesões induzidas em ratos Wistar, sob dois aspectos principais: (1) avaliar o potencial da enzima isolada como agente cicatrizante, por meio das abordagens de terapia peptídica *in vitro* e em modelo animal; (2) elucidar alguns dos mecanismos, a enzima desencadeia a resposta na proliferação celular e tecidual; (3) investigar o envolvimento dessa molécula na promoção de imunofenótipos em modelos experimentais de fibroblastos e queratinócitos. Em métodos, o isolamento e a caracterização do peptídeo foram realizados por meio de processos cromatográficos clássicos e de alta eficiência (HPLC). A terapia peptídica foi baseada com a molécula nativa, associada com diferentes concentrações, com polímero de hidroxietilcelulose. As análises funcionais incluíram quantificação da área da lesão através da determinação do Índice de Cicatrização das Úlceras (ICU), avaliação da resposta imunológica local e sistêmica, e avaliação da imunomodulação e da capacidade proliferativa em modelo animal. Como resultados, este estudo promoveu o conhecimento de aspectos funcionais ainda desconhecidos com a hialuronidase e o seu uso no tratamento de úlceras.

AValiação MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE ADRENAL DIREITA DE FÊMEAS JOVENS ADULTAS SUBMETIDAS À RESTRIÇÃO NUTRICIONAL DURANTE A GESTAÇÃO

TELLES, B. S.^{1;2}; REBELATO, H. J.^{1;2}; NEODINI, D. N. R.^{1;2}; CALSA, B. M.^{1;2}; MASIERO, B. C.^{1;2};
THOMAZINI, B. F.^{1;2}; CATISTI, R.^{1;2}.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas.

Durante o período gestacional, inúmeras alterações ocorrem no corpo da gestante para que suas necessidades, assim como as do feto, sejam supridas. A nutrição deficiente na gestação origina na prole uma adaptação metabólica e/ou estrutural permanente, que aumenta o risco de desenvolvimento de doenças na vida adulta. As adrenais desempenham um papel essencial na produção de vários hormônios, principalmente esteroides durante a gravidez. Qualquer alteração do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal tem influência direta sobre o desenvolvimento fetal. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a influência da dieta e da gestação sobre a morfologia das glândulas adrenais. Avaliamos o metabolismo bioquímico sérico e hematológico, e parâmetros histológicos e moleculares de adrenais de ratas prenhes e não prenhes, submetidas à restrição nutricional. Para isso, ratas fêmeas Wistar, de 10 semanas de idade, prenhes (p, n = 15) e não prenhes (np, n = 15) foram divididas em três grupos e receberam dieta normoproteica controle (C, 17% de caseína, n = 5); dieta hipoproteica isocalórica (RP, 6% de caseína, n = 5) ou restrição calórica de 50% (RC, 50% da dieta consumida pelo grupo C), durante um período de 21 dias. No 21º dia de gestação (21dG, animais p) ou no 21º dia de dieta (grupos np), após aprofundamento anestésico, o sangue foi coletado por punção da veia porta para análise hematológica e bioquímica. A adrenal direita foi coletada e preparada para inclusão em Paraplast® para análise histomorfológica e imuno-histoquímica. Os dados, expressos pela média ± DP, foram avaliados por análise de variância ANOVA *one way*, com pós-teste de Tukey (p < 0,05). A gestação aumentou a massa hepática, independentemente da dieta consumida. Corações de animais do grupo RP, prenhes e não prenhes são mais pesados em relação ao grupo RC. Ratas prenhes RC apresentaram diminuição de glicemia e de glicogênio muscular quando comparadas às prenhes C. A prenhez e/ou a dieta não alteraram a massa da adrenal direita. No sangue, a gestação promoveu diminuição do número de eritrócitos, da taxa de hemoglobina e do hematócrito, com aumento do número de leucócitos, principalmente de neutrófilos, independente da dieta. Outros dados estão sendo analisados.

CICATRIZAÇÃO DE LESÕES CUTÂNEAS TRATADAS COM *Azadirachta indica* EM RATOS DIABÉTICOS

SILVA, A. C. C.^{1;2}; EUGÊNIO, A. N.^{1;2}; TORREZAN, M.^{1;2}; RODRIGUES, A. L.^{1;2}; MARIANO, S. S.^{1;2}; POLETTI, S.^{1;2};
GASPI, F. G.^{1;2}; ESQUISATTO, M. A. M.^{1;2}; MENDONÇA, F. A. S.^{1;2}; ARO, A. A.^{1;2};
ANDRADE, T. A. M.^{1;2}; SANTOS, G. M. T.^{1;2}.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas.

Complicações associadas à cicatrização no diabetes tornam importante a busca por métodos alternativos que auxiliem na restauração tecidual. *Azadirachta indica*, popularmente “*Neem*”, pode ser uma inovação para o reparo tecidual de feridas diabéticas, por suas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, analgésicas, antidiabéticas e cicatrizantes. O objetivo do trabalho foi avaliar a cicatrização de lesões cutâneas tratadas com *A. indica* em ratos Wistar diabéticos. O estudo foi aprovado pelo CEUA-FHO (Parecer n. 025/2017) e utilizou 30 animais não diabéticos e 30 diabéticos aloxânicos (45 mg/kg aloxana, via intravenosa), que após sete dias da indução apresentaram glicemia acima de 200 mg/dL. As lesões foram realizadas por meio de um *punch* histológico (15 mm de diâmetro) sob efeito de anestesia (cetamina 3,0 mg/kg e xilazina 1,0 mg/kg). Os animais foram subdivididos em quatro grupos: (S) não diabéticos Sham, lesões tratadas com gel de carbopol; (N) não diabéticos, lesões tratadas com extrato hidroalcoólico de *A. indica*+gel de carbopol; (D) diabéticos, lesões tratadas com gel de carbopol; (ND) diabéticos, lesões tratadas com extrato hidroalcoólico de *A. indica*+gel de carbopol. Imagens foram obtidas no 2º, 7º e 14º dias após a lesão, para cálculo do Índice de Cicatrização Tecidual (ICU), e nesses períodos amostras foram coletadas para análises histomorfométrica, para quantificação de média do número de fibroblastos e de vasos sanguíneos, dosagem de mieloperoxidase (MPO), N-Acetilglicosaminidase (NAG), quantificação de Hidroxiprolina (HO) e de Glicosaminoglicanos (GAGs). Como resultados, as quantificações de neutrófilos se mostraram reduzidas ao longo do período experimental nos grupos ND, evidenciaram que a inflamação foi modulada, o que se reafirma no 7º período experimental com relação a macrófagos, favorecendo o reparo tecidual. O número de vasos sanguíneos foi aumentado em todo o período experimental nos grupos ND, o que revelou intensa atividade de neovascularização, imprescindível para o reparo tecidual. A aplicação tópica de *A. indica* também evidenciou aumento de fibroblastos e hidroxiprolina nos animais ND ao longo do período experimental, indicando grande potencial do extrato no reparo tecidual. Não foram observadas diferenças em relação à quantificação de GAGs. Observou-se que o fitoterápico favoreceu o processo de cicatrização dos animais desde o 2º dia experimental. Concluiu-se que a aplicação tópica do extrato hidroalcoólico de *A. indica* apresentou potencial anti-inflamatório e beneficiou a fibroplasia, angiogênese e colagênese no diabetes. Portanto, pode auxiliar no tratamento de lesões diabéticas, constituindo importante alternativa terapêutica.

COLD PLASMA: AÇÃO TERAPÊUTICA NA PERIODONTITE EXPERIMENTAL

LOPES, J.^{1;2}; SAMBO, M.^{1;2}; SANTAMARIA JUNIOR, M.^{1;2}; ANDRADE, T. A. M.^{1;2}; MENDES, M. F.^{1;2}.
¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas.

A doença periodontal é uma infecção bacteriana crônica caracterizada por inflamação persistente, que acomete os tecidos periodontais de proteção ou sustentação. Classifica-se em periodontite a condição imunoinflamatória que envolve todo o tecido periodontal, conduzindo a destruição progressiva das estruturas de suporte do dente, sendo uma das grandes responsáveis pela reabsorção óssea. A destruição periodontal é causada por fatores de virulência das bactérias que danificam diretamente os tecidos e induzem à reação inflamatória. O intenso infiltrado inflamatório no dente e no periodonto apresenta relevância na patogênese da periodontite, influenciando no perfil de citocinas produzidas e no processo de reabsorção óssea alveolar, caracterizando a doença periodontal. O plasma (quarto estado da matéria) é composto por um gás altamente ionizado na forma de feixe iônico, composto por moléculas, átomos, íons, elétrons, fótons e espécies reativas (ROS e RNS), demonstrando, dessa forma, capacidade de controlar e catalisar reações bioquímicas, efeitos terapêuticos e antimicrobianos, relacionados principalmente ao reparo tecidual, podendo controlar a lesão periodontal. Diante do exposto, torna-se relevante o estudo da utilização do *Cold Plasma* na periodontite, para conhecimento de seus efeitos nos processos imunológicos envolvidos na reabsorção óssea e com perspectivas futuras para aplicações clínicas em humanos.

DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÃO DE BIOMEMBRANA DE CELULOSE MICROBIANA CONTENDO CROTAMINA E APLICAÇÃO NA TERAPIA DE ÚLCERAS CUTÂNEAS *IN VIVO*

PAIVA, L. M.^{1;2}; AGUIAR, J.^{1;2}; RODRIGUES, T. F. S.^{1;2}; PIMENTEL, V. E.^{1;2}; BARUD, H. S.^{1;2};
ANDRADE, T. A. M.^{1;2}; MAZZI, M. V.^{1;2}.
¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas.

As úlceras cutâneas são um problema emergente, com tratamentos prolongados e altas taxas de recidiva, exigindo a busca de novas terapias. Um dos mecanismos propostos para modular a inflamação e proliferação celular no reparo de úlceras tópicas é o recrutamento temporal de TNF- α , interleucinas (IL-1, IL-6 e IL-10) e os respectivos fatores de crescimento endotelial vascular (VEGF) de crescimento transformante (TGF- α e TGF- β), e fator de crescimento de fibroblastos (PDGF), promovido pela participação ativa do sistema imune. Demonstramos, em nosso laboratório, que a Crotamina, um peptídeo básico forte do veneno de *Crotalus durissus terrificus* de penetração celular induz *in vitro* e *in vivo* significativa migração celular e redução da área de lesões cutâneas, quando associada ao gel de hidroxietilcelulose. Por interferir nesses processos, na cicatrização, a crotamina oferece a possibilidade de ação específica em diferentes vias de reparo e sinalização celular. A biocelulose é um polímero obtido a partir de espécies de micro-organismos com aplicabilidade em biocurativos em lesões cutâneas e como carreadora de fármacos. Assim, a associação da crotamina com a biocelulose sintetizada por *Gluconacetobacter* oferece uma nova estratégia para a cicatrização de lesões cutâneas. O estudo teve como objetivos: (1) avaliar o potencial imunomodulador do peptídeo (crotamina) associado com biomembrana de celulose bacteriana, *in vitro*, e em modelo animal; (2) dissecar os mecanismos pelos quais a formulação desencadeia a resposta na proliferação celular e tecidual; (3) investigar o envolvimento desse peptídeo na promoção de imunofenótipos em modelos experimentais de fibroblastos e queratinócitos e (4) estudar, *in vitro* e modelo animal, a influência da biomembrana na ação do peptídeo. Como métodos, o isolamento e a caracterização do peptídeo foram realizados por meio de processos cromatográficos clássicos e de alta eficiência (HPLC). A terapia peptídica foi realizada com o peptídeo nativo, associado com a membrana de biocelulose bacteriana. A análise do perfil de resposta no processo de reparo tecidual foi realizada *in vivo*, utilizando ratos machos Wistar. Os ratos foram separados em grupos controle e tratados, sendo SHAM (somente biocelulose); G1-Crotamina 0,05% (crotamina 0,05%-Biocelulose) e G2-Crotamina 0,1% (crotamina 0,1%-Biocelulose). Para o estudo, foram investigados o índice de cicatrização das úlceras (ICU) e a análise histológica de infiltrado inflamatório, vasos sanguíneos, colágeno e fibroblastos. A eficiência da formulação foi monitorada por meio de análises morfológicas, físico-químicas e cinética de permeação cutânea. As análises funcionais incluíram quantificação da resposta imunológica local e sistêmica, e avaliação da imunomodulação e capacidade proliferativa em modelo animal. Mecanismos moleculares, temporais e os efeitos sobre a dinâmica cicatricial foram avaliados por microscopia, citometria de fluxo e *immunoblotting*. A eficiência da formulação foi monitorada por meio de análises morfológicas, físico-químicas e cinética de permeação cutânea. As análises funcionais incluíram quantificação da resposta imunológica local e sistêmica, e avaliação da imunomodulação e capacidade proliferativa em modelo animal.

DESENVOLVIMENTO DE MICROPARTÍCULAS DE PLGA CONTENDO CROTAMINA E APLICAÇÃO NA TERAPIA DE ÚLCERAS CUTÂNEAS *IN VIVO*

RONQUE, F. S. F.^{1;2}; MAZZI, M. V.^{1;2}; PIMENTEL, V. E.^{1;2}; GOMES, A. B. S. P.^{1;2}; SANTANA, D. S.^{1;2}.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas.

O veneno de serpente é uma combinação complexa de componentes denominados toxinas, que podem ser proteínas/enzimas, peptídeos, ácidos nucleicos, dentre outros capazes de atuar no sistema cardiovascular e nos tecidos, principalmente na musculatura esquelética e no Sistema Nervoso Central. Um dos principais componentes presentes no veneno das serpentes *Crotalus durissus terrificus* é a crotamina, uma molécula versátil que apresenta habilidade de penetração celular, especificidade para componentes intracelulares, vetor para carreamento e ácidos nucleicos e outras moléculas, além de atividades antimicrobiana e citotóxica em células tumorais. A cicatrização de lesões cutâneas é um processo complexo de reparação, que envolve mecanismos inflamatórios, proliferativos e remodelamento tecidual. A dinâmica cicatricial envolve o recrutamento de células, fatores de crescimento, citocinas e quimiocinas especializados. O desenvolvimento de uma formulação tópica, segura e eficaz atuante no controle da cicatrização seria de grande valia para seu uso na clínica médica, como agente cicatrizante, inclusive de lesões infectadas por microrganismos diversos. Os poliésteres dos ácidos láctico e glicólico (PLGA) apresentam como vantagens a biocompatibilidade, a biodegradabilidade, as propriedades mecânicas ajustáveis e a baixa citotoxicidade. Os objetivos do estudo foram: (1) avaliar o potencial do peptídeo isolado (Crotamina) como agente imunomodulador e cicatrizantes, através das abordagens de terapia peptídica *in vitro*, *ex vivo* e em modelo animal, sob diferentes condições fisiológicas e patológicas; (2) dissecar os mecanismos pelos quais o peptídeo desencadeia a resposta na proliferação celular e tecidual e (3) estudar *in vitro* e modelo animal a influência da formulação Crotamina-PLGA na ação do peptídeo. Como métodos deste trabalho, a terapia peptídica foi baseada com o peptídeo nativo, associado com diferentes sistemas de liberação dérmica, em PLGA. A análise do perfil de resposta no processo de reparo tecidual foi realizada *in vivo*, utilizando ratos machos Wistar. Os ratos foram separados em grupos controle e tratados, sendo SHAM 1 (gel de natrosol 1% + PLGA); SHAM 2 (gel de natrosol 1% + crotamina 0,5%); Crotamina 0,05% (gel de natrosol 1% + crotamina-PLGA). Para este estudo, foram averiguados o índice de cicatrização das úlceras (ICU) e a análise histológica de infiltrado inflamatório, vasos sanguíneos, colágeno e fibroblastos. A eficiência da formulação foi monitorada por meio de análises morfológicas, físico-químicas e cinética de permeação cutânea. As análises funcionais incluíram quantificação da resposta imunológica local e sistêmica, e avaliação da imunomodulação e capacidade proliferativa em modelo animal. Mecanismos moleculares, temporais e os efeitos sobre a dinâmica cicatricial foram avaliados por microscopia, citometria de fluxo e *immunoblotting*. Parâmetros bioquímicos de estresse oxidativo local e sistêmicos foram determinados por fluorescência. Com isso, esperamos contribuir para a elucidação de novos mecanismos e desenvolvimento de estratégias terapêuticas dirigidas a úlceras teciduais, com perspectiva de aplicação específica da Crotamina no tratamento de úlceras cutâneas. Aprovado pelo CEUA, sob o Parecer n. 011/2018. Os resultados deste estudo contribuem para a elucidação de novos mecanismos e desenvolvimento de estratégias terapêuticas dirigidas a úlceras teciduais.

EFEITO DA APLICAÇÃO DO EXTRATO DE *Acmella oleraceae* NO REPARO DO TENDÃO CALCANEAR DE RATOS

MORO, S. D. S.^{1;2}; FUJII, L. O.^{1;2}; ARO, A. A.^{1;2}; FRAUZ, K.³; THEODORO, L. F. R.³; PIMENTEL, E. R.³; RODRIGUES, R. A. F.⁴.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas;

³Departamento de Biologia Estrutural e Funcional, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP;

⁴Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas, Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP.

Lesões tendíneas são consideradas um problema clínico sério devido à cicatrização lenta e complexa desse tecido. Dependendo da gravidade da lesão, a recuperação biomecânica e funcional do tendão pode levar vários meses. A utilização de extratos vegetais no tratamento de lesões tendíneas pode ser promissora devido à presença de princípios ativos que podem beneficiar o processo de reparo. O presente projeto teve como objetivo investigar, após 14 dias da lesão, os efeitos da aplicação tópica do extrato de *Acmella oleraceae* (20%) sobre tendões parcialmente transecionados de ratos. O grupo tratado com o extrato da *Acmella oleraceae* (20%) foi denominado de A14 e o controle, de C14. Foram realizadas as seguintes análises: dosagem de hidroxiprolina para quantificação de colágeno total, medidas de birrefringência para determinação da organização das fibras de colágeno na região transecionada do tendão, análise da distribuição de proteoglicanos na região lesionada, assim como análise biomecânica dos tendões para determinação da resistência tecidual após o tratamento com o extrato. Como resultado, a aplicação do extrato de *Acmella oleraceae* (20%) estimulou a síntese e organização de colágeno, contribuindo com uma maior recuperação biomecânica dos tendões no 14º dia do processo de reparo.

EFEITO DO JEJUM INTERMITENTE SOBRE A RESPOSTA GLIAL NO HIPOTÁLAMO DE CAMUNDONGOS C57BL/6 ALIMENTADOS COM DIETA HIPERLIPÍDICA

LOPES, L. E. F.^{1;2}; CAMARGO, A.^{1;2}; BERNARDES, D.^{1;2}; CHIAROTTO, G. B.^{1;2}.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas.

A obesidade induzida por dieta está associada a uma inflamação envolvendo células imunes em tecido adiposo e outros tecidos metabólicos, levando ao aumento da expressão de citocinas pró-inflamatórias e à reatividade de células gliais no hipotálamo. Essas células não neuronais podem desencadear e/ou modular processos que exacerbam ou protegem contra a neurotoxicidade. Recentemente, estudos relataram, pela primeira vez, que mecanismos imunológicos e fisiológicos do hipotálamo, em resposta ao excesso de dieta, são orquestrados por células da micróglia, atuando no controle da ingestão de alimentos, no gasto de energia e na massa corporal. No entanto, os mecanismos pelos quais a micróglia regula a patogênese da obesidade permanecem desconhecidos. O objetivo do estudo foi investigar os efeitos do jejum intermitente sobre a resposta glial no hipotálamo para melhor compreender o papel das células não neuronais no processo inflamatório induzido por dieta hiperlipídica. A metodologia adotada foi o jejum intermitente aplicado como estratégia dietética para o tratamento do excesso de peso e obesidade. Foram utilizados 20 camundongos C57BL/6, com dois meses de idade, divididos em quatro grupos (n = 5), CTR, CTR+JI, DH e DH+JI, alimentados por dois meses, com dieta padrão ou hiperlipídica, e, durante 30 dias, os grupos CTR+JI e DH+JI foram submetidos ao jejum proposto de 10 horas de alimentação livre, seguido por 14 horas de jejum. Durante o período de jejum, a privação ocorreu das 18 horas às 8 horas, e o acompanhamento do peso e do consumo alimentar ocorreu diariamente durante os 30 dias. No momento da eutanásia, foi coletado o comprimento naso-anal para indicar o estado nutricional, calculado pelo índice de Lee. Em seguida, foram coletados os tecidos adiposos retroperitoneal e epididimal para a pesagem. O hipotálamo foi dissecado e processado para histologia (coloração hematoxilina/eosina) e imunofluorescência anti-GFAP e anti-Iba1. Cortes coronais de 4 µm do encéfalo foram corados, imunomarcados e fotografados, e as imagens foram quantificadas para obtenção dos dados de infiltrado inflamatório e reatividade glial de astrócitos e micróglia. Nos resultados, observou-se ativação de astrócitos e micróglia nos grupos alimentados com dieta hiperlipídica, e aumento de peso corporal e aumento de tecido adiposo nos animais. Concluiu-se que o estudo contribuiu com a compreensão do papel de células não neuronais na inflamação hipotalâmica induzida por dieta hiperlipídica e que pôde contribuir com o desenvolvimento de estratégias dietéticas seguras e eficazes para o tratamento da obesidade.

EFEITOS DA PREGABALINA NOS TESTÍCULOS DE CAMUNDONGOS C57/B110

ALVES, G. A.^{1;2}; FRANCO, L. S.^{1;2}; FERREIRA, J. S.^{1;2}; JÚNIOR, L. C. G.^{1;2}; CARVALHO, S. C.^{1;2}.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas.

Atualmente, a pregabalina (PGB) é um bloqueador de canais de cálcio altamente utilizada para tratamentos de dores neuropáticas, epilepsia e fibromialgia. Tal medicamento age ligando-se ao canal de cálcio voltagem-dependente tipo L, no sistema nervoso central, reduzindo a emissão de neurotransmissores dependentes de cálcio. Estes canais de cálcio são encontrados, também, nos túbulos seminíferos, mais especificamente em sua superfície, nas células peritubulares que possuem características contráteis e auxiliam no transporte dos espermatozoides imóveis até o epidídimo. Tais canais também são encontrados nos próprios espermatozoides, sendo assim chamado de canal iônico de Catsper. O objetivo deste trabalho foi verificar os efeitos da pregabalina nos testículos de camundongos C57BL/10ScCr/Uni, de 30 dias e 10 meses de idade, a fim de analisar os efeitos da PGB no período pré e pós- puberdade. Como metodologia, foram utilizados camundongos machos C57BL/10ScCr/Uni, divididos em dois grupos: CTRL (n = 8, tratados com água) e CTRL-PGB (n = 8, tratados com PGB de 20 mg/kg) – Parecer n. 093/2017 e Parecer n. 065/2018. O tratamento foi realizado via gavagem, do 14º dia de vida ao 30º, para os animais de 30 dias; e do 9º ao 10º mês de vida, para os animais de 10 meses. Os testículos do lado direito foram coletados, lavados em PBS e imediatamente mergulhados em solução fixadora de formalina 10%, onde seguiram para uma bateria de desidratação até a sua inclusão em parafina Paraplast®. A microtomia dos testículos foi realizada em 4 µm, com intervalo entre os cortes de 24 µm, e coradas em Hematoxilina e Eosina, para a análise de diâmetro tubular e altura de epitélio e também para a análise de estereologia. Os testículos do lado esquerdo foram coletados e congelados a -80°C, para a análise de produção diária de espermatozoides, conforme descrito por Blazak *et al.* (1993) e Robb *et al.* (1978). O teste estatístico foi feito por Teste t *student*, considerado significativo quando p < 0,05. Como resultados, esperou-se a atuação da droga de modo negativo nos testículos dos camundongos tratados (CTRL-PGB), já que os canais de cálcio estão amplamente distribuídos pelo mesmo e são essenciais para o funcionamento normal do órgão. Este estudo foi de extrema importância para a compreensão de possíveis alterações nos testículos dos pacientes tratados com PGB.

EFEITOS DA PREGABALINA SOBRE A DEGENERAÇÃO DO MÚSCULO CARDÍACO DISTRÓFICO (mdx)

FRANCO, L. S.^{1;2}; FERREIRA, J. S.^{1;2}; JÚNIOR, L. C. G.^{1;2}; CARVALHO, S. C.^{1;2}; MARQUES, M. J.³.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas;

³Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural, Instituto de Biologia – Unicamp.

A Distrofia Muscular de Duchenne (DMD) é uma doença muscular de caráter degenerativo e progressivo ocasionada pela ausência da proteína distrofina, esta que exerce função estabilizadora do sarcolema da fibra muscular durante a contração muscular. Na DMD e em seu modelo experimental, camundongo mdx, a ausência da distrofina resulta em microrrupturas da membrana, levando ao influxo exacerbado de íons cálcio e consequente ativação de vias inflamatórias. Os sucessivos ciclos de degeneração-regeneração esgotam o *pool* de células satélites, células responsáveis pela regeneração muscular, o que resulta em *deficit* da capacidade regenerativa e, portanto, substituição do tecido muscular por tecido fibroadiposo, que não possui função contrátil. O deflazacorte (DFZ) é padrão ouro na tentativa de minimizar os danos da DMD, entretanto, o uso contínuo reflete em inúmeros efeitos colaterais para os pacientes. A pregabalina (PGB) é um fármaco anticonvulsivante, com propriedades bloqueadoras de canais de cálcio, logo, sugere-se que a PGB tenha efeito benéfico na DMD. O estudo objetivou verificar os efeitos da PGB na degeneração, inflamação e fibrose dos músculos cardíaco (COR) e diafragma (DIA) de camundongos mdx com 10 meses de vida. No método, foram utilizados 32 animais machos e fêmeas, divididos em quatro grupos experimentais: Grupo CTRL (n = 8; normal tratado com água), Grupo mdx (n = 8; distrófico com água), Grupo CTRL-PGB (n = 8; controle tratado com PGB) e Grupo mdxPGB (n = 8; distrófico tratado com PGB). O tratamento ocorreu do 9º ao 10º mês de vida. Os animais foram tratados via gavagem (diariamente), sendo o volume administrado de 0,01 ml e 20 mg/kg de PGB (Parecer n. 065/2018). Os animais foram pesados semanalmente, com realização de teste de força (grade invertida) no início e no fim do tratamento, assim como de medição do comprimento naso-anal. O sangue foi coletado por punção cardíaca para análise de creatina quinase, indicativo de degeneração muscular, e os músculos foram dissecados para a análise histológica (HE: áreas de inflamação e degeneração e Tricrômico de Masson: áreas de fibrose). Adicionalmente, as proteínas relacionadas ao processo de inflamação (NFkB, TNF- α) e fibrose (fibronectina e TGF- β 1), bem como a análise do tamponamento do cálcio (calsequestrina) foram quantificadas por meio do *western blotting*. A análise estatística foi realizada pelo teste de análise de variância (ANOVA; $p \leq 0,05$). Os resultados indicaram que tanto a massa corpórea, quanto o comprimento naso-anal não diferiram entre os grupos. Os mdx tiveram redução da força em comparação com os CTRL e o tratamento com PGB, tanto nos animais distróficos quanto nos controles, não interferiu na força. Qualitativamente, nos músculos distróficos, diafragma e cardíaco, observou-se áreas de degeneração (núcleo central: DIA), infiltrado inflamatório e tecido fibroadiposo. Para os mdx, o tratamento com PGB aparentemente reduziu a inflamação e preservou o tecido muscular. Nos animais controles tratados com PGB aparentemente não houve alteração nos parâmetros analisados. Como conclusão e com base nos resultados qualitativos apresentados, sugerimos que a PGB apresenta potencial terapêutico para o tratamento da DMD, atenuando a progressão da doença.

EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO REGULAR DE NATAÇÃO SOBRE ANSIEDADE E ALTERAÇÕES CORTICAIS DE RATOS SUBMETIDOS À DESMIELINIZAÇÃO POR CUPRIZONA

GAIO, A. E.^{1,2}; BERNARDES, D.^{1,2}.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas.

A Esclerose Múltipla (EM) é uma doença autoimune e neurodegenerativa, caracterizada pela desmielinização do Sistema Nervoso Central (SNC). Os pacientes acometidos pela EM apresentam sintomas cognitivos, como a ansiedade, associados com alterações histopatológicas e moleculares em Córtex Pré-Frontal (CPF). O exercício físico tem sido apontado com importante fator de atenuação de sintomas cognitivos. No entanto, os mecanismos pelos quais o exercício poderia atuar em vias de desmielinização corticais e, assim, atenuar esses sintomas em pacientes com EM permanece por ser elucidado. É importante notar que a desmielinização cortical é observada em roedores submetidos ao tratamento por cuprizona (CPZ), tornando-se este um importante modelo para estudos dos efeitos de estratégias terapêuticas, como o exercício físico. O objetivo deste estudo foi investigar os níveis de ansiedade, bem como as alterações histopatológicas e moleculares em córtex pré-frontal de ratos submetidos à desmielinização por cuprizona e ao exercício físico regular de natação. Nos métodos, foram utilizados 60 ratos machos Wistar, com idade de 4 semanas, fornecidos pelo Centro de Experimentação Animal (CEA), da Fundação Hermínio Ometto – FHO, após devida aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da mesma instituição. Esses animais foram mantidos sob condições ambientais padrão. Os animais foram divididos em quatro grupos: sedentários (n = 15), exercitados (n = 15), sedentários-cuprizona (n = 15) e exercitados-cuprizona (n = 15). Os animais exercitados realizaram protocolo de oito semanas de exercício regular de natação. Os animais dos grupos tratamento receberam a dose de cuprizona (CPZ), que esteve em fase de padronização por nosso grupo (200, 450 ou 900 mg/Kg – CEUA, Parecer n. 081/2018). A CPZ foi administrada por gavagem, diariamente, durante seis semanas. Após o período experimental, os animais foram anestesiados por injeção intraperitoneal contendo cetamina e xilazina, seguido da coleta do sangue por punção do ventrículo esquerdo e perfusão do animal com PBS. Os tecidos adiposos retroperitoneal e epididimal, fígado, músculo gastrocnêmio e encéfalo foram coletados e pesados. O sangue foi centrifugado para coleta do soro, o qual foi analisado com *kits* padrão da Labtest, para avaliar glicose, triacilglicerol, colesterol e enzimas transaminases (TGO e TGP). O fígado e o músculo gastrocnêmio foram avaliados quanto ao conteúdo de glicogênio. O encéfalo de cada animal também foi coletado em meio de inclusão contendo paraformaldeído 4% (n = 7 animais por grupo) ou congelado a -80°C (n = 8 animais por grupo). Os encéfalos armazenados em meio de inclusão foram incluídos em parafina e analisados por procedimentos histológicos. Nesse caso, fatias corticais de 4 µm foram coradas com hematoxilina e eosina (HE), para análise morfológica, por *Luxol Fast Blue*, para analisar a desmielinização e a impregnação pela prata para observar o dano neuronal. Os tecidos armazenados a -80°C foram processados para análise do conteúdo de proteínas da mielina e de reatividade glial por *western blot*. Os dados foram avaliados por análise de variância de duas vias, seguido de pós-teste de comparação das médias. Os resultados do presente estudo fornecem subsídios aos mecanismos do pré-condicionamento do SNC frente às doenças desmielinizantes e suas alterações cognitivas.

EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO REGULAR DE NATAÇÃO SOBRE COORDENAÇÃO MOTORA E ALTERAÇÕES CEREBELARES DE RATOS SUBMETIDOS À DESMIELINIZAÇÃO POR CUPRIZONA

PAIXÃO, A. C.^{1,2}; BERNARDES, D.^{1,2}.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas.

O cerebelo possui funções de complexidade variada, entre elas, o controle da coordenação e a aprendizagem motora. Estudos recentes têm demonstrado atrofia e desmielinização cerebelares em pacientes portadores de Esclerose Múltipla, denotando sintomas de ataxia e perda de equilíbrio. Alterações cerebelares similares são observadas em roedores submetidos ao tratamento por cuprizona, tornando-se um importante modelo para estudo dos efeitos de estratégias terapêuticas. Entre estas, tem-se destacado o exercício físico de natação como protocolo de pré-condicionamento do sistema nervoso central (SNC). O objetivo do estudo foi investigar a coordenação motora e as alterações histopatológicas e moleculares em cerebelo de ratos submetidos à desmielinização por cuprizona e ao exercício físico regular de natação. Como métodos, foram utilizados 60 ratos machos Wistar, com idade de 4 semanas, fornecidos pelo Centro de Experimentação Animal (CEA), da Fundação Hermínio Ometto – FHO, após devida aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da mesma instituição. Esses animais foram mantidos sob condições de temperatura e umidade controladas e ciclo claro-escuro de 12h12. Após período de adaptação ao experimentador, os animais foram divididos em quatro grupos: sedentários (n = 15), exercitados (n = 15), sedentários-cuprizona (n = 15) e exercitados-cuprizona (n = 15). Os animais exercitados realizaram protocolo de exercício regular de natação durante oito semanas. A partir da terceira semana de exercícios, os animais dos grupos tratamento receberam a dose de cuprizona (CPZ), que esteve em fase de padronização pelo nosso grupo (200, 450 ou 900 mg/Kg – CEUA, Parecer n. 081/2018). A CPZ foi administrada por gavagem, diariamente, num total de seis semanas. Ao final do período experimental, os animais foram analisados pelo teste de equilíbrio em vigas graduadas, para investigação da coordenação motora. Em seguida, foram anestesiados profundamente por mistura contendo cetamina e xilazina e perfundidos com tampão fosfato. Antes da perfusão, o sangue foi coletado por punção cardíaca e centrifugado, a fim de se avaliar os conteúdos de glicose, triacilglicerol, colesterol, TGO e TGP. Após a perfusão, foram coletados fígado e músculo gastrocnêmio, para análise de conteúdo de glicogênio. Os tecidos adiposos foram coletados, pesados e descartados. Esses parâmetros metabólicos foram utilizados para padronização do condicionamento físico dos animais frente ao protocolo de exercício físico regular. O cerebelo de cada animal também foi coletado em meio de inclusão contendo paraformaldeído 4% (n = 7 animais por grupo) ou congelado a -80°C (n = 8 animais por grupo). Os cerebelos armazenados em meio de inclusão passaram pelo processo de desidratação, diafanização, inclusão em parafina, corte e foram analisados por procedimentos histológicos, tendo como foco a análise de desmielinização, dano neuronal e reatividade glial. Os cerebelos armazenados a -80°C foram processados para análise do conteúdo de proteínas da mielina e de reatividade glial por *western blot*. Os dados foram avaliados por análise de variância de duas vias, seguido de pós-teste de comparação das médias. Com os resultados, foram observados os efeitos benéficos do exercício físico de natação sobre os processos de perda de coordenação motora, desmielinização e reatividade glial no cerebelo de animais submetidos ao tratamento por cuprizona. Os resultados fornecem subsídios aos mecanismos do pré-condicionamento do SNC frente às doenças desmielinizantes.

EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO REGULAR DE NATAÇÃO SOBRE MEMÓRIA E ALTERAÇÕES HISTOLÓGICAS HIPOCAMPAIS DE RATOS SUBMETIDOS À DESMIELINIZAÇÃO POR CUPRIZONA

LUBRECHET, F.^{1,2}; BERNARDES, D.^{1,2}.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas.

O hipocampo é uma estrutura arco cortical complexa envolvida funcionalmente em processos de aprendizagem e memória. Disfunções do hipocampo podem, portanto, levar à défices cognitivos, que são comumente observados em pacientes com esclerose múltipla (EM). Inúmeros estudos vem sendo realizados com a finalidade de entender, *in vivo*, o complexo mecanismo patológico que resultam na EM. O modelo cuprizona (CZ), um quelante de cobre que inibe a dependência de cobre das enzimas mitocôndrias, levando à apoptose de oligodendrócitos, tem sido amplamente aplicado para identificar, descrever e entender esses mecanismos. O exercício físico regular tem sido sugerido como fator de atenuação de sintomas cognitivos na EM. No entanto, os mecanismos pelos quais o exercício poderia atuar sobre a arquitetura do hipocampo e, assim, atenuar sintomas cognitivos na EM permanecem por serem elucidados. Este estudo teve como objetivo investigar a memória espacial e as alterações histopatológicas e moleculares em hipocampo de ratos submetidos à desmielinização por cuprizona e ao exercício físico regular de natação. Nos métodos, foram utilizados 60 ratos machos Wistar, com idade de 4 semanas, fornecidos pelo Centro de Experimentação Animal (CEA), da Fundação Hermínio Ometto – FHO, após devida aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da mesma instituição (projeto submetido). Esses animais foram mantidos sob condições de temperatura e umidade controladas e ciclo claro-escuro de 12h12. Os animais foram divididos em quatro grupos: sedentários (n = 15), exercitados (n = 15), sedentários-cuprizona (n = 15) e exercitados-cuprizona (n = 15). Os animais exercitados realizaram protocolo de exercício regular de natação durante oito semanas. A partir da terceira semana de exercícios, os animais dos grupos tratamento receberam a dose de cuprizona (CPZ), que esteve em fase de padronização por nosso grupo (200, 450 ou 900 mg/Kg – CEUA, Parecer n. 081/2018). A toxina cuprizona foi administrada diariamente, em horário preestabelecido, por gavagem, em conjunto com o veículo carboximetilcelulose, sob um protocolo de quarenta e dois dias. Ao final do período experimental, foi aplicado um teste de reconhecimento de objetos, no dia anterior ao procedimento de eutanásia. Para eutanásia, houve anestesia intraperitoneal, com cetamina e xilazina, seguida da coleta do sangue por punção do ventrículo esquerdo e perfusão do animal com PBS. Posteriormente, foi coletado o tecido adiposo retroperitoneal, tecido adiposo epididimal, fígado, músculo gastrocnêmio esquerdo e encéfalo. O sangue foi centrifugado, o soro coletado e analisado por meio de kits padrão da Labtest, para avaliar glicose, triacilglicerol, colesterol e enzimas transaminases (TGO e TGP). O fígado e o músculo gastrocnêmio foram analisados quanto ao conteúdo de glicogênio. Os encéfalos coletados e armazenados em meio de inclusão (n = 7/grupo) foram processados por procedimentos histológicos, tendo como foco a análise de desmielinização, dano neuronal e reatividade glial no hipocampo. Os hipocampus armazenados a -80°C (n = 8/grupo) foram processados para análise do conteúdo de proteínas da mielina e de reatividade glial por *western blot*. Os dados foram avaliados por análise de variância de duas vias, seguido de pós-teste de comparação das médias. Nos resultados, foram observados os efeitos benéficos do exercício físico de natação sobre os processos mnemônicos, desmielinização e reatividade glial no hipocampo de animais submetidos ao tratamento por cuprizona.

EFEITOS DO JEJUM INTERMITENTE SOBRE A INFLAMAÇÃO HIPOTALÂMICA INDUZIDA POR DIETA HIPERLIPÍDICA EM CAMUNDONGOS C57BL/6

CAMARGO, A. O.^{1;2}; LOPES, L. E. F.^{1;2}; AMARAL, M. E. E.^{1;2}; CHIAROTTO, G. B.^{1;2}.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas.

A homeostase energética depende da função integrada de neurônios hipotalâmicos que detectam mudanças na disponibilidade de nutrientes através de hormônios e coordenadamente controlam o comportamento alimentar e a taxa metabólica. A obesidade induzida por dieta está associada a uma forma de inflamação envolvendo macrófagos e outras células imunes em tecido adiposo, além de outros tecidos metabólicos, e está implicada no desenvolvimento de resistência à insulina. Esse processo é acompanhado por uma resposta mais rápida envolvendo o acúmulo de células gliais (gliose) no hipotálamo, tanto em camundongos quanto em humanos, o que resulta no consumo excessivo de alimentos e ganho de peso. A restrição calórica é a estratégia mais amplamente prescrita para o tratamento do excesso de peso e obesidade. Em vez de reduzir a ingestão calórica total diária, o jejum intermitente tem recebido grande atenção como uma possível abordagem para perda de peso a curto e longo prazo. A influência do jejum intermitente no controle hipotalâmico da homeostase energética na obesidade fornece um caminho investigativo a partir do qual podem ser elucidadas estratégias baseadas em pesquisa para reduzir a fome durante os períodos de jejum. O objetivo deste trabalho foi investigar os efeitos do jejum intermitente sobre a inflamação hipotalâmica induzida por dieta hiperlipídica em camundongos C57BL/6. Na metodologia, foram utilizados 60 camundongos (C57BL/6), machos, com dois meses de idade, divididos em quatro grupos: Controle normal (CN) – alimentados com dieta padrão e água livre, todo o período; Controle + jejum intermitente (CJI) – alimentados com dieta padrão livre, durante dois meses, seguida de 30 dias de jejum intermitente (jejum de 14 horas) e água livre todo o período; Dieta hiperlipídica (DH) – alimentados com dieta hiperlipídica e água livre, todo o período; Dieta hiperlipídica + jejum intermitente (DHJ) – alimentados com dieta hiperlipídica, durante dois meses, seguida de 30 dias de jejum intermitente (jejum de 14 horas) e água livre todo o período. Durante os 30 dias experimentais, foram monitorados diariamente o peso do animal e consumo de ração. Após a eutanásia, foram coletados o tecido adiposo (para pesagem) e o hipotálamo, o qual foi processado para as seguintes técnicas: Coloração com Hematoxilina/Eosina, para avaliação do infiltrado inflamatório; Imunofluorescência anti-GFAP e anti-Iba1, para análise da gliose; *Western Blotting*, para análise expressão proteica de NF β ; e RT-qPCR, para análise da expressão gênica de citocinas pro e anti-inflamatórias. Todos os protocolos experimentais foram conduzidos de acordo com as diretrizes para experimentação animal de nossa instituição e foram aprovados pelo CEUA (Parecer n. 004/2019). Nos resultados, a alimentação hiperlipídica resultou no ganho de peso dos animais e na indução da inflamação no hipotálamo, com ativação das células gliais e o protocolo de jejum intermitente proposto teve efeitos positivos na redução do peso dos animais e, principalmente, modulou a resposta inflamatória no hipotálamo. Concluiu-se que o nosso estudo fornece importantes dados sobre os mecanismos moleculares envolvidos na inflamação hipotalâmica induzida por dieta hiperlipídica e contribui com o desenvolvimento de abordagens terapêuticas seguras e eficazes para o tratamento da obesidade.

EFEITOS SISTÊMICOS DO *COLD PLASMA* NA CICATRIZAÇÃO EM RATOS INDUZIDOS AO DIABETES: ESTUDO DAS GALECTINAS 1 E 3

LIMA, A. C. S.^{1;2}; ALVES, N.^{1;2}; HUMMEL, L. H.^{1;2}; MARIANO, S. S.^{1;2}; EUGENIO, A. N.^{1;2}; SANTOS, G. M. T.^{1;2}; ANDRADE, T. A. M.^{1;2}; BARUFFI, M. D.³; RODRIGUES, L. C.³; LOPES, B. B.⁴.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas;

³Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo;

⁴Surface - Engenharia e Soluções a Plasma Ltda.

Diversas são as terapias que melhoram o reparo tecidual, até mesmo quando comprometido pela patologia do diabetes. As galectinas, proteínas da família da lectina, correspondem a importantes marcadores e reguladores da inflamação. Apesar de pertencerem à mesma família, as galectinas 1 e 3 exercem funções contrapostas nos tecidos. A galectina-1 regula o processo inflamatório, aumenta a expressão e ativação dos miofibroblastos induzidos por ROS, acelerando a cicatrização associadas ou não ao diabetes. Entretanto, a galectina 3 assume efeito pró-inflamatório e pró-fibrótico, correlacionando-se com a prevalência de diabetes e suas condições metabólicas. O *Cold Plasma* embasa-se no princípio de descargas iônicas e na emissão de ROS. Trata-se de uma tecnologia inovadora, que vem sendo utilizada como indutora da cicatrização de úlceras, mesmo quando associadas ao diabetes. Apesar da intensificação do interesse, inéditas são as pesquisas que investigaram os efeitos sistêmicos do *Cold Plasma* na cicatrização de úlceras cutâneas. Devido ao crescente número mundial de indivíduos acometidos com os efeitos sistêmicos do diabetes, torna-se relevante avaliar os efeitos sistêmicos (nos rins, pâncreas e soro) do *Cold Plasma* no reparo de úlceras cutâneas em ratos diabéticos e não diabéticos, principalmente por meio das galectinas 1 e 3 nesses locais. O estudo objetivou avaliar os efeitos sistêmicos do *Cold Plasma* no reparo de úlceras cutâneas em ratos diabéticos e não diabéticos, principalmente por meio das galectinas 1 e 3. Aprovado pelo CEUA-FHO (n. 077/2018). Para o estudo com os animais induzidos ao diabetes, os mesmos foram compartilhados do projeto intitulado “*Cold Plasma* no reparo de lesões cutâneas excisionais em ratos induzidos ao diabetes”, aprovado no CEUA-FHO sob n. 061/2017. O diabetes foi induzido em 48 ratos Wistar (± 280 g), utilizando 45 mg/Kg de aloxana intravenosa. A glicemia foi aferida sete dias pós-indução e incluídos apenas animais com glicemia acima de 200 mg/dL (glicemia de jejum). Foram realizadas lesões cutâneas excisionais utilizando *punch* de 1,5 cm de diâmetro. Os grupos foram SHAM: lesões tratadas topicamente por todos os dias com aparelho desligado; e CP: *Cold Plasma* (1,0 min, 30 kHz, 50 W, 1,0 L/min de gás argônio). As lesões foram fotografadas no início e fim do seguimento para quantificação do ICU-índice de cicatrização das úlceras por meio da fórmula [(área inicial-área final)/área inicial]. Foram coletadas amostras da área da lesão, pele/lesão/cicatriz, rins, pâncreas e soro dos animais, no 2º, 7º, 14º e 21º dias (n = 6/grupo/tempo) para serem posteriormente analisados por imunofluorescência e *Western blotting* (expressão de galectina 1 e 3). Os resultados (MED \pm SEM) foram analisados pelo t-Student (p < 0,05). Foram utilizados ainda 40 ratos Wistar, machos (± 280 g) (n = 5/grupo/tempo), apenas para a realização do experimento em ratos não diabéticos, pelos mesmos métodos descritos.

EMPREGO DE PREGABALINA NO TRATAMENTO DA ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA EM CAMUNDONGOS TRANSGÊNICOS SOD1G93A

POLIDO, L.^{1;2}; TOMIYAMA, A. L.^{1;2}; BERNARDES, D.^{1;2}; CARTAROZZI, C. P.^{1;2}; CHIAROTTO, G. B.^{1;2}; OLIVEIRA, A. L. R.³.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas;

³Departamento de Biologia Estrutural e Funcional, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP

A esclerose lateral amiotrófica (ELA) é uma doença neurodegenerativa de início adulto, caracterizada pela seletiva e progressiva degeneração dos motoneurônios do córtex cerebral, tronco encefálico e medula espinal. A ELA foi descrita em 1869 e, ainda hoje, sua etiologia permanece desconhecida. O processo de morte neuronal é irreversível, culminando em intensa atrofia muscular e paralisia, levando os pacientes a óbito, geralmente entre 2 e 5 anos após o aparecimento dos sintomas, na maioria dos casos, por comprometimento do sistema respiratório. Dentre os principais mecanismos envolvidos na patogênese da doença, destacam-se a neuroinflamação, caracterizada por intensa reatividade glial e morte neuronal. Os tratamentos empregados no tratamento da doença, não são curativos, sendo de extrema urgência a busca por novas estratégias terapêuticas para o tratamento da ELA, visando encontrar efeitos mais significativos e promover melhor qualidade de vida aos pacientes. O estudo objetivou verificar se a pregabalina apresenta potencial terapêutico em camundongos transgênicos SOD1G93A. Na metodologia, foram utilizados 10 animais, divididos em dois grupos: transgênicos tratados com água e transgênicos tratados com PGB (60 mg/kg), via gavagem. O tratamento teve início na fase assintomática da doença (14^a semana) e ocorreu diariamente até o estágio final da doença. O peso corporal, o *score* neurológico e o teste de equilíbrio e coordenação motora (Rotarod) foram realizados duas vezes por semana, durante o período experimental. Após eutanásia, a medula espinhal dos animais foi coletada e processada para as técnicas de coloração de Nissl, para avaliação da sobrevivência neuronal, e imunofluorescência, para análise da reatividade glial. Como resultados, o acompanhamento do peso dos animais foi utilizado para detectar o início da ELA, assim como acompanhar a progressão para o estágio sintomático. No presente trabalho, a perda de peso em camundongos SOD1G93A ocorreu de maneira semelhante em ambos os grupos experimentais e foi progressiva até o estágio final da doença. O tratamento com pregabalina não influenciou a perda de peso dos animais. Do mesmo modo, a evolução dos sintomas acompanhada pela avaliação clínica, conforme sugerido no manual da linhagem, por meio do *score* neurológico, não apresentou diferenças estatísticas entre os grupos. A doença teve início na 13^a semana de vida dos animais em ambos os grupos. A análise da sobrevivência dos animais mostrou uma tendência do tratamento com pregabalina aumentar a sobrevivência dos animais, quando comparados ao grupo veículo. No entanto, não foram observadas diferenças estatísticas entre os grupos, sendo a média de sobrevivência de: 133 dias no grupo veículo e 141 dias no grupo pregabalina ($p = 0.0478$). Os resultados obtidos pelo teste Rotarod mostraram que o tratamento com pregabalina retardou o *deficit* motor nos animais quando comparados aos animais veículo a partir da 14^a semana. Diferenças estatísticas foram observadas na 17,5^a semana dos animais ($p < 0.05$). Concluiu-se que os resultados preliminares demonstraram que o tratamento com pregabalina não exerceu efeito sobre o início da doença, perda de peso e evolução dos sintomas, mas foi eficaz em retardar o *deficit* motor dos animais quando comparados ao grupo veículo, o que foi tendencial ao aumento de sobrevivência. As análises de sobrevivência neuronal e reatividade glial foram fundamentais para melhor compreensão dos resultados.

EMPREGO DE SCAFFOLDS CERÂMICOS DE POLICAPROLACTONA, HIDROXIAPATITA E TRI-CÁLCICO FOSFATO EM DEFEITOS ÓSSEOS CRÍTICOS EM MODELO ANIMAL DE CALVÁRIA

LOURENÇO, C. B.^{1;2}; CAETANO, G. F.^{1;2}.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas.

Defeitos ósseos representam importante problema de saúde e são um dos maiores desafios clínicos no campo da cirurgia óssea reconstrutiva, especialmente quando há patologia associada. Os tratamentos convencionais necessitam de transplantes e abordagens extremamente invasivas e, na maioria das vezes, não correspondem às expectativas. Uma proposta promissora é o emprego de *scaffolds*, arcabouço para adesão e crescimento celular (osteocondução), em especial à diferenciação de células mesenquimais estromais multipotentes e apropriada neovascularização. *Scaffolds* à base de policaprolactona (PCL) têm sido empregados em diversas áreas da medicina regenerativa devido às boas propriedades mecânicas, biocompatibilidade e ausência de citotoxicidade. No entanto, são ausentes de bioatividade e hidrofóbicos. Constituintes cerâmicos inorgânicos, como hidroxiapatita (HA) e fosfato tri-cálcico (TCP), semelhantes aos do osso natural, podem ser associados ao PCL. A adição de HA pode favorecer à osteocondução, enquanto o TCP, à osteoindução, tornando-se importante o estudo visando a aplicabilidade clínica. Uma vez que o tecido ósseo responde favoravelmente à aplicação da corrente elétrica de baixa intensidade (microcorrente), promovendo síntese de proteínas estruturais, citocinas e de fatores de crescimento, espera-se que a utilização dessa terapia associada a *scaffolds* bioativos e com propriedades piezoelétricas possam trazer vantagens promissoras para a utilização na área da medicina regenerativa. O objetivo desta proposta foi investigar a aplicação de *scaffolds* cerâmicos eletroativos produzidos por fabricação aditiva submetida à aplicação de microcorrente na osteogênese experimental. Justifica-se que a policaprolactona é considerada material não bioativo e a adição de componentes cerâmicos, como HA e TCP, pode proporcionar bioatividade aos *scaffolds* tornando-os osteoindutores. Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal, do Centro Universitário Hermínio Ometto, sob Parecer n. 075/2017. Sendo assim, foram utilizados 120 ratos Wistar, obtidos do Centro de Experimentação Animal, do Centro Universitário Hermínio Ometto. Os *scaffolds* empregados na experimentação animal foram de PCL, PCL/HA a 20%, PCL/TCP a 20%, e PCL/HA/TCP, ambos a 20%. Após a enxertia, os animais foram divididos em grupos de 30, 60 e 120 dias, e divididos randomicamente em dez grupos. Destes, cinco grupos foram SHAM (controle), PCL; HA; TCP e HA+TCP sem tratamento, e cinco grupos foram SHAM (controle), PCL; HA; TCP e HA+TCP com tratamento pela microcorrente. Nas análises histomorfológicas, foram utilizadas para a aferição do número de fibroblastos e de infiltrado inflamatório, a coloração de Hematoxilina e Eosina, e para avaliação da organização e maturação das fibras colágenas e vasos neoformados, a coloração Tricrômio de Masson. Para análise imuno-histoquímica foram utilizadas para verificação de proteínas a TRAP, RANK-L e OPG, importantes para a verificação da atividade osteogênica; e a aplicação do *Western-Blotting*, para verificação da expressão gênica. Para análise estatística, foi utilizado o *GraphPad Prism 5* e comparados pelo teste ANOVA e pós-teste de Tukey ($p < 0,05$). Resultados parciais: até o presente momento, a pesquisa encontra-se no processo de cortes das amostras para análise histologia e imunohistoquímica.

ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA E ELETROMAGNÉTICA: TERAPIAS PARA O MELHORAMENTO DE DIFERENTES ENXERTOS NO REPARO ÓSSEO

BAGNE, L.^{1;2}; OLIVEIRA, M. A.^{1;2}; PEREIRA, A. T.^{1;2}; CAETANO, G. F.^{1;2}; ARO, A. A.^{1;2}; OLIVEIRA, C. A.^{1;2}; MENDONÇA, F. A. S.^{1;2}; SANTAMARIA JUNIOR, M.^{1;2}.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas.

Diversas terapias têm sido usadas na tentativa de estimular o reparo ósseo. Eletroestimulação (ES) e eletromagnetismo (EM) atuam em vias intra e extracelulares, estimulando o processo de osteogênese e favorecendo a incorporação de enxertos. Este trabalho teve como objetivo investigar as terapias com ES e EM combinadas a enxertos de osso bovino e biovidro no processo de reparo ósseo em defeitos críticos. Defeitos ósseos de 25 mm² foram induzidos na calvária de 81 ratos Wistar, machos (90 dias/±350 g), com sistema piezoelétrico. Estes foram divididos em nove grupos (n = 9) – (SHAM): sem tratamento; (ES): tratados com eletroestimulação (10 µA/5 min); (EM): tratados com eletromagnetismo (500 Hz/2 min); (BV): preenchidos com biovidro; (BV+ES): preenchidos com biovidro e eletroestimulação; (BV+EM): preenchidos com biovidro e eletromagnetismo; (OB): preenchidos com osso bovino; (OB+ES): preenchidos com osso bovino e eletroestimulação; (OB+EM): preenchidos com osso bovino e eletromagnetismo. As amostras foram coletadas no 30°, 60° e 120° dias após a cirurgia, para análises histológicas (H&E e TM), histoquímicas (TRAP) e imuno-histoquímica (TNAP, RANKL e OPG). Os dados foram comparados por ANOVA *two-way* e pós-teste de Bonferroni (p < 0,05) (CEUA-FHO – Parecer n. 010/2017). A angiogênese foi mais eficiente no grupo SHAM do que nos grupos tratados nos três períodos analisados. Já as fibras colágenas apresentaram redução no período de 120 dias nos grupos que receberam enxertia. Houve aumento no número de osteoclastos em todos os grupos que receberam a aplicação das terapias e enxertia. Os grupos tratados com enxerto e eletroestimulação tiveram um aumento expressivo dessas células em 60 dias. A imunomarcagem da fosfatase alcalina (TNAP) indicou que o número de osteoblastos foi maior que o SHAM nos períodos de 30 dias e 60 dias nos grupos que receberam a combinação dos enxertos e das terapias com eletroestimulação e eletromagnetismo. A quantificação do RANKL mostrou um aumento desse biomarcador nos grupos sem enxertia e no grupo OB+EM. Por outro lado, houve diminuição dessa proteína nos grupos BV+ES e OB+ES. Houve aumento de OPG no grupo BV+EM e nos defeitos ósseos preenchidos com osso bovino em relação ao SHAM, em todos os períodos analisados. Em OB+ES e BV+EM, a regeneração óssea foi mais efetiva no 120° dia. A análise dos osteoclastos e osteoblastos indicou que os grupos com os enxertos tratados com eletroestimulação e eletromagnetismo apresentaram maior potencial para remodelação óssea nos períodos iniciais. Os biomarcadores RANKL/OPG correlacionam esses resultados indicando uma modulação favorável da osteoclastogênese nos grupos de enxertos tratados com as terapias. Eletroestimulação e eletromagnetismo favorecem a osteogênese e remodelação óssea em defeitos com enxerto, indicando que podem ser utilizados em procedimentos clínicos envolvendo cirurgias e lesões ósseas.

ESTRESSE OXIDATIVO MUSCULAR NA ARTRITE REUMATOIDE: A INFLUÊNCIA DOS PROTOCOLOS DE EXERCÍCIO FÍSICO E LASERTERAPIA

PEDERSEN, M.^{1;2}; LIMA, R. D.^{1;2}; BRUCIERI, L.^{1;2}; ROCHA, T. T. S.^{1;2}; ALMEIDA, A. S.^{1;2}; ANDRADE, T. A. M.^{1;2}; ESQUISATTO, M. A. M.^{1;2}; BOMFIM, F. R. C.^{1;2}; FELONATO, M.^{1;2}.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas.

A artrite reumatoide (AR) é definida como uma doença inflamatória, de etiologia autoimune, que destrói as articulações. O processo inflamatório responde com aumento de citocinas e intensa formação de espécies reativas de oxigênio e radicais livres. Esses mediadores desencadeiam estresse oxidativo, que amplifica a inflamação. Sabe-se que diferentes protocolos de exercícios físicos e laserterapia modulam citocinas pró e anti-inflamatórias (VIACAVA *et al.*, 2014). Levando em consideração o quanto os protocolos poderiam induzir dano muscular, este estudo avaliou o estresse oxidativo no modelo experimental de AR tratados com exercício físico e laserterapia. Como método, por oito semanas, ratos Wistar foram divididos em 10 grupos – CTL: grupo controle com injeção de salina, na articulação; ZYM: grupo com injeção de 200 µg de zymosan, na articulação; ZYM+A: grupo zymosan submetido ao protocolo de exercício aeróbio, com duração de uma hora, cinco dias/semana, com sobrecarga aumentada semanalmente em 5% do peso do animal (NAVARRO *et al.*, 2010); ZY+R: grupo zymosan submetido ao protocolo de exercício resistido com 4x10 saltos, com 30 segundos de descanso, três dias/semana (MILARES *et al.*, 2016; MUNIZ-REMO *et al.*, 2005), a carga foi proporcional à massa corporal para cada animal, com início em 20% da massa corporal a 80%; ZYM+CON100%: grupo zymosan com protocolo de exercício concorrente (exercício resistido e aeróbio), com 100% do volume total do protocolo; ZYM+CON50%: grupo zymosan com protocolo de exercício concorrente, com 50% do volume total do protocolo. Todos os protocolos de treinamento foram subdivididos em tratamento com e sem fotobiomodulação, com um *laser* de diodo de arseneto de gálio-alumínio, de 808 nm. A fibra óptica foi posicionada perpendicularmente à pele do animal, com potência de 50 mW, 1.4 J de energia total, por 56 segundos. Os animais foram eutanasiados, tendo o joelho coletado para análise histológica. Os resultados foram analisados por meio do Teste de Análise de Variância (ANOVA/*two way*). Quando necessário, foi utilizado o teste “*post-hoc*” de Tukey, com nível de significância de 5%. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da FHO (n. 067/2018). Como resultados, 100% dos animais do grupo concorrente apresentaram aumento dos níveis de Tbars em relação aos demais grupos. Por outro lado, em relação aos níveis do grupo Sh, os animais do grupo zymosan apresentaram níveis menores quando comparados ao grupo controle. Em relação aos grupos treinados, o grupo aeróbio *laser* apresentou níveis menores quando comparado ao grupo aeróbio. Os grupos resistido e concorrente 50% com *laser* apresentaram aumento de níveis do grupo Sh quando comparados aos grupos resistido e concorrente 50%, respectivamente. O grupo concorrente 100% apresentou aumento dos níveis de Sh quando comparado ao grupo concorrente 100% *laser*. Concluiu-se que, no modelo de AR experimental, o tratamento com exercício físico concorrente 100% induz estresse oxidativo, enquanto que o protocolo de exercício físico aeróbio induz maior atividade antioxidante muscular. Em associação com a laserterapia, todos os protocolos de exercícios físicos estimulam a produção da atividade antioxidante muscular. Dessa forma, levando em consideração a melhor terapêutica voltada ao protocolo de exercício físico, o protocolo aeróbio parece exercer melhor efeito em reduzir a fadiga muscular ocasionada pela patologia.

ESTUDO DOS EFEITOS DA QUERCETINA SOBRE A EXPRESSÃO GÊNICA DE CONEXINAS EM RATOS HIPERTENSOS

VASCONCELOS, T.^{1,2}; OLIVEIRA, C. A.^{1,2}.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas.

A Hipertensão Arterial Sistêmica está entre as principais doenças cardiovasculares responsáveis por muitos óbitos, sendo considerada um dos principais problemas de saúde pública atualmente. A hipertensão renovascular é considerada a segunda causa de hipertensão e um dos modelos experimentais mais utilizados atualmente, que resulta da obstrução parcial ou total, uni ou bilateral, da artéria renal ou de seus ramos principais com consequente liberação de renina e isquemia renal. Em situações de hipertensão arterial e hipertrofia ventricular, há a ocorrência do remodelamento na distribuição das junções comunicantes, assim como diminuição na expressão das proteínas que as constituem, as conexinas. As junções *gap* são regiões de contato intercelular que interligam células adjacentes, permitindo o acoplamento metabólico e elétrico. Este acoplamento metabólico é de extrema importância, uma vez que atua na manutenção da organização celular, regulando processos biológicos. Nos rins, as conexinas facilitam processos como sinalização de cálcio no aparelho justa glomerular e condução vascular, assim como em mecanismos regulatórios; em níveis sistêmicos, as conexinas auxiliam na regulação da pressão sanguínea e podem estar envolvidas em diversas patologias, incluindo hipertensão arterial. Sabe-se da relação entre a hipertensão arterial e as espécies reativas de oxigênio (EROs), e que ratos tratados com antioxidantes apresentam uma diminuição das EROs e das metaloproteinases de matriz, melhorando as complicações cardiovasculares induzidas pela hipertensão. Antioxidantes obtidos em uma dieta saudável estão sendo usados para diminuir o estresse oxidativo em modelos experimentais de hipertensão. Sendo assim, o presente estudo teve por objetivo analisar os efeitos antioxidantes da quercetina sobre a expressão gênica de conexinas em ratos hipertensos. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Uso de Animais (Protocolo n. 013/2019). Foram utilizados 32 ratos machos, Wistar (180 a 200 g), com 50 dias de idade. A hipertensão arterial foi induzida experimentalmente pela técnica de Goldblatt, 2K1C (2-rins, 1-clipe) e os animais foram divididos em quatro grupos: Sham = animais submetidos apenas à laparotomia; Sham+QCT = animais Sham tratados com quercetina (10 mg/kg/dia, Sigma-Aldrich); 2K1C = animais hipertensos; 2K1C+QCT = animais hipertensos tratados com a quercetina. Os animais receberam doses diárias de quercetina ou veículo (carboxymetil-celulose, CMC, 0,05%), via gavagem, por três semanas. O início do tratamento com quercetina ocorreu após duas semanas da cirurgia de indução da hipertensão. A avaliação semanal da pressão arterial sistólica foi realizada pelo método de plestimografia caudal e, após o período experimental, os animais foram eutanasiados, e o coração e os rins foram removidos. Em seguida, o RNA total foi isolado e o cDNA foi sintetizado. A análise semi-quantitativa dos níveis de expressão dos genes Cx37, Cx40 e Cx43 foram avaliados por RT-PCR. A quantificação densitométrica da intensidade das bandas em gel de agarose foi determinada pelo *Software Image J*. Os níveis de TBARS e grupos-SH foram mensurados para a avaliação do estresse oxidativo. Os dados foram expressos como média±erro padrão e a comparação entre os grupos foi testada por ANOVA, seguido de Bonferroni, com nível de significância $p < 0,05$.

EXERCÍCIOS DE INTENSIDADES BAIXA E MODERADA ATENUAM ÁREAS INFLAMATÓRIAS DA MEDULA ESPINHAL EM MODELO ANIMAL DE ESCLEROSE MÚLTIPLA

LEONI, G. H.^{1;2}; OLIVEIRA, A. L. R.^{1;2}; BERNARDES, D.^{1;2}.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas.

A esclerose múltipla é uma doença incurável, caracterizada por uma ativação autoimune que destrói a bainha de mielina. A encefalomielite autoimune experimental (EAE) é um modelo animal usado para compreender a doença, bem como mecanismos associados a diversificadas estratégias terapêuticas. O presente estudo investigou os efeitos das intensidades baixa, moderada e alta de exercício em esteira na apresentação clínica e inflamação medular em animais com EAE. Como método, após a aprovação do Comitê de Ética (n. 3844-1/2015), o Centro Multidisciplinar de Pesquisa Biológica (CEMIB/UNICAMP, Campinas, SP, Brasil) forneceu os 22 camundongos fêmeas C57BL/6J (4-6 semanas de idade) utilizados no presente estudo. Os animais foram mantidos em um ciclo claro/escuro de 12/12 h e receberam alimentos e água *ad libitum*. Após uma semana de adaptação ao ambiente, cinco desses animais foram mantidos em condição sedentária, enquanto os 17 restantes foram forçados a se exercitar em uma das três diferentes intensidades de exercício em esteira (baixa: 10,68 m/min [n = 6]; moderada: 18,78 m/min [n = 6]; alta: 26,8 m/min [n = 5]). Em todos os casos, o exercício foi realizado durante uma hora por dia, cinco dias por semana. Após cinco semanas de exercício físico, todos os animais foram imunizados para o modelo EAE por injeção subcutânea de uma emulsão contendo o peptídeo MOG35-55. Os protocolos de exercícios foram mantidos até 10 dias após a indução (dpi), completando seis semanas. Todos os animais foram acompanhados quanto à apresentação clínica, desde o dia da indução até 16 dpi, quando foram submetidos à perfusão cardíaca. A medula espinhal lombossacral de cada animal foi coletada e preparada para inclusão em parafina. No laboratório de micromorfologia, do Centro Universitário, da Fundação Hermínio Ometto (FHO), as medulas espinhais foram seccionadas transversalmente e coradas utilizando o protocolo hematoxilina e eosina (HE). Posteriormente, as imagens foram capturadas e analisadas as áreas do infiltrado inflamatório utilizando o *software Image J*. Os dados de escore clínico e áreas de infiltrado inflamatório foram analisados pelo teste t de *Student*, com nível de significância estabelecido em $p < 0,05$, além de ter sido utilizado o *software GraphPad Prism*. Como resultados, a apresentação clínica da doença não foi diferente entre os grupos (EAE: $2,80 \pm 0,20$; EAE-Baixo: $2,75 \pm 0,25$; EAE-Moderada: $3,42 \pm 0,16$; EAE-Alta: $3,20 \pm 0,20$; $P > 0,05$). No entanto, exercícios de intensidade baixa e moderada foram eficazes em promover a redução da porcentagem de áreas de infiltrado inflamatório na medula espinhal lombossacral de animais EAE (EAE: $16,30 \pm 1,52\%$; EAE-Baixa: $9,21 \pm 2,10\%$ com $P < 0,05$ vs EAE EAE-Moderada: $10,76 \pm 1,18\%$ com $P < 0,05$ vs EAE e; EAE-Alta: $9,14 \pm 4,33\%$ com $P > 0,05$ vs EAE). Concluiu-se que nossos dados mostram que exercícios de baixa e moderada intensidade foram efetivos para reduzir a porcentagem de áreas de infiltrado inflamatório na medula lombossacral de animais com EAE.

EXTRATO DE *Casearia sylvestris* NO REPARO DE QUEIMADURAS EM RATOS DIABÉTICOS E NÃO DIABÉTICOS

MARTELLI, A.^{1;2}; THEODORO, V.^{1;2}; ZANIBONI, V. E.^{1;2}; PASTRE, G. M.^{1;2}; MELO, K. M.^{1;2}; GASPI, F. O. G.^{1;2}; AMARAL, M. E. C.^{1;2}; ARO, A. A.^{1;2}; ANDRADE, T. A. M.^{1;2}; SANTOS, G. M. T.^{1;2}.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas.

As complicações associadas ao diabetes são várias, principalmente quanto à dificuldade de reparo de queimaduras. Diante disso, torna-se de grande relevância o estudo da *C. sylvestris*, alternativa no reparo de lesões associadas ao diabetes. O objetivo deste estudo foi investigar a ação do extrato hidroalcoólico das folhas da *Casearia sylvestris* no reparo de queimaduras de 2º grau, em ratos diabéticos e não diabéticos. O estudo foi aprovado no Comitê de Ética em Uso de Animais da FHO (n. 023/2015). Foram utilizados 40 ratos não diabéticos e 40 induzidos ao diabetes (150 mg/Kg de aloxana intravenosa). Foram incluídos no estudo apenas os que apresentaram glicemia acima de 200 mg/dL, 30 dias após a indução. As queimaduras de 2º grau na pele do dorso dos animais foram realizadas com placa metálica (2,0 cm de diâmetro/120°C/20 segundos), após anestesia (cetamina: 1,0 ml/kg e xilazina: 0,2 ml/Kg). Os grupos experimentais foram – C: animais não diabéticos tratados topicamente com gel de carbopol 4%; G: não diabéticos tratados com extrato de *C. sylvestris* 70% em carbopol; DM-C: diabéticos tratados com carbopol; DM-G: diabéticos tratados com *C. sylvestris* em carbopol. Amostras da lesão/cicatriz foram coletadas no 3º, 7º, 14º e 21º dias após a lesão, para análise histomorfométrica (infiltrado inflamatório, fibroblastos e colágeno) e expressão proteica por meio da técnica de *Western blotting* – Colágeno III e I. Os resultados foram analisados utilizando ANOVA e pós-teste de Tukey ($p < 0,05$) e expressos como média \pm erro padrão da média. Como resultados, no 3º, 7º e 14º dias experimentais observou-se que *C. sylvestris* favoreceu aumento de infiltrado inflamatório no grupo DM-G (3º: 161,60 \pm 38,65; 7º: 199,93 \pm 46,21; 14º: 137,58 \pm 20,50) em relação aos demais grupos. A fibroplasia no grupo DM-G foi superior no 7º (70,25 \pm 17,16) e 21º dia (132,50 \pm 17,90) em relação ao grupo C (7º: 19,86 \pm 11,31; 21º: 66,53 \pm 13,97) e no 14º dia foi superior ao DM-C (93,33 \pm 19,27). A colagênese apresentou-se superior principalmente no DM-G (3º: 81,47 \pm 3,62; 7º: 77,71 \pm 6,85; 14º: 79,91 \pm 1,58 e 21º: 82,61 \pm 6,53) em relação aos demais grupos. Na expressão proteica por *Western blotting*, o Colágeno tipo III, nos 3º e 14º dias, o grupo G (3º 21081,86 \pm 3535,98; 14º 20800,87 \pm 1360,41) foi superior aos demais, e o grupo DM-G (3º 13599 \pm 2299) foi superior ao grupo DM-C. No 7º dia, o grupo G (7º 16589 \pm 705) foi superior ao grupo C (7º 7205 \pm 52,42). No 14º e 21º dias, foi observado aumento no grupo C (14º 12273 \pm 2001; 21º 10719 \pm 5191) em relação ao grupo DM-G. O grupo G, no 21º dia (15127 \pm 1126), foi superior aos grupos DM-C e DM-G. Na análise do Colágeno tipo I, observou-se aumento gradativo nos grupos G e DM-G durante todo o período experimental, sendo superior em DM-G no 14º dia (17143 \pm 566) em relação a C e G. No 21º dia G (14001 \pm 1481), foi superior a C e DM-C e DM-G (18766 \pm 1343) superior aos demais grupos. Concluiu-se que o extrato hidroalcoólico da *Casearia sylvestris* estimulou intensamente a inflamação nos períodos iniciais do reparo da queimadura de 2º grau, estimulando a fibroplasia e colagênese em todos os períodos experimentais, principalmente nos animais diabéticos.

FILME DE *Allium cepa* NO REPARO DE LESÕES CUTÂNEAS EXCISIONAIS EM RATOS

RAMOS, E. S.^{1;2}; MARIANO, S. S.^{1;2}; ADRIANO, L. C.^{1;2}; ANDRADE, T. A. M.^{1;2}; DIAS, D.³; BARUD, H. S.⁴.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas;

³BioSmart Nanotechnology Ltda.; ⁴Universidade de Araraquara – UNIARA.

O processo de cicatrização é uma resposta biológica à lesão tecidual, altamente controlado, caracterizado por uma cascata de eventos celulares e moleculares que interagem, a fim de que ocorra a reconstrução do tecido. Várias são as terapêuticas para cicatrização cutâneas, porém muitas possuem valor elevado e se caracterizam como de difícil acesso para a população de forma geral. A procura por tratamentos que auxiliem a cicatrização varia, desde mecanismos complexos, como câmaras barométricas de CO₂, a outros mais simples, como biofilmes e películas. Dentre estes, o filme de *Allium cepa* tem demonstrado ser um biomaterial promissor para tratamento de úlceras, favorecendo a cicatrização, além do baixo custo e fácil aplicação. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do filme de *Allium cepa* na cicatrização de úlceras cutâneas dorsais em ratos. O estudo foi aprovado pelo CEUA-FHO (nº 009/2018). Foram utilizados 60 ratos machos, da linhagem Wistar, com 60 dias de idade, que foram divididos em três grupos: tratados topicamente (uma única vez, até a eutanásia), com filme de *Allium cepa*; Nexfill® – filme de biocelulose bacteriana (controle positivo); e grupo sham (controle negativo), que foi mantido sem tratamento. Foram realizadas excisões em *punch* de 1,5 cm de diâmetro no dorso dos ratos. As úlceras foram fotografadas nos dias 0, 2, 7, 14 e 21, para cálculo do índice de cicatrização das úlceras (ICU). Por meio das biópsias da pele/úlcera/cicatriz, foi realizada a histologia em HE tricrômio de Gomori para quantificações de infiltrado inflamatório, vasos sanguíneos, fibroblastos e colágeno. Foi realizado imuno-histoquímica/*Western blotting* para IL-1 β , IL-10, VEGF, TGF- β 1, colágenos I e III e estudos bioquímicos: MPO (mieloperoxidase – neutrófilo), NAG (N-acetilglicosaminidase – macrófago), OHP (hidroxiprolina – colágeno), GAG (glicosaminoglicanos), TBARS (oxidante), grupos – SH (antioxidantes). Como resultados, o filme de *Allium cepa* apresentou influência positiva na cicatrização tecidual experimental.

GEL DE BIOCELULOSE COM ALGINATO NA CICATRIZAÇÃO TECIDUAL EM RATOS

NOGUEIRA, J. R.^{1;2}; MARIANO, S. S.^{1;2}; ADRIANO, L. C.^{1;2}; SANTOS, G. M. T.^{1;2}; CAETANO, G. F.^{1;2};
ANDRADE, T. A. M.^{1;2}; BARUD, H. S.³; MENEGUIN, A. B.⁴; SÁBIO, R. M.⁴; CARBINATTO, F. M.⁴; BAGNATO, V. S.⁵.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas;

³Universidade de Araraquara - UNIARA; ⁴Seven Indústria de Produtos Biotecnológicos Ltda.;

⁵Instituto de Física de São Carlos - IFSC, Universidade de São Paulo.

Reparo tecidual é um mecanismo biológico que ocorre quando há interrupção na continuidade tecidual. Inicia-se, então, uma cascata de eventos celulares, moleculares e bioquímicos que visam o reparo total. Existem diversas terapias que podem ser implementadas para que esse processo seja melhorado. As membranas de biocelulose conhecidas como *Nexfill® (Seven)* têm se destacado comercialmente e demonstram ser um biomaterial indutor da cicatrização. A vantagem desse biomaterial é a promoção de um ambiente úmido para o leito cicatricial, melhora na formação de cicatrizes, baixo custo, facilidade em ser aplicado e redução da dor. O alginato é conhecido devido à sua ampla aplicabilidade como agente hemostático, muito usado durante cirurgias para a prevenção de hemorragias. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do gel de biocelulose associado ao alginato, na cicatrização de úlceras excisionais. O método, aprovado pelo CEUA-FHO (n. 010/2018), utilizou-se de 60 ratos Wistar, machos (± 300 g), nos quais foram realizadas lesões dorsais com *punch* histológico (1,5 cm diâmetro). Os ratos foram divididos em quatro grupos – SHAM: sem tratamento na lesão; Control gel: tratado na lesão com gel controle (veículo); *Nexfill*: tratado com gel de biocelulose bacteriana e CB+AG: gel de biocelulose com alginato. Os grupos foram tratados com a aplicação do gel 3x/semana (n = 5 ratos/tempo/tratamento). As lesões foram fotografadas no dia da lesão (dia 0) e no final de cada seguimento (2º, 7º e 14º dias pós-lesão). Foi quantificada a área da lesão pelo *ImageJ*, para calcular a reepitelização pelo índice de cicatrização das úlceras (ICU) usando a fórmula [área inicial-área final/área inicial]. As amostras foram coletadas da área da lesão no 2º, 7º e 14º dias (n = 5 animais/grupo/tempo) para posterior análise histomorfométrica do infiltrado inflamatório, angiogênese, fibroplasia e colagênese (coloração: HE e tricrômio de Gomori). Além disso, foram realizadas dosagens bioquímicas de MPO (mieloperoxidase-neutrófilo) e NAG (N-acetilglicosaminidase-macrófago). Os resultados foram analisados pelo teste ANOVA *One-way/Tukey* (entre os grupos, em cada dia experimental) ($p < 0,05$) (MED \pm SEM). Nos resultados, o grupo CB+AG apresentou controle da resposta inflamatória, representado pela menor quantidade de infiltrado inflamatório no 2º dia em relação aos grupos Sham e *Nexfill*, enquanto que nos 7º e 14º dias, os grupos *Nexfill* e CB+AG reduziram o infiltrado em relação ao Sham e Control gel. Adicionalmente, o CB+AG apresentou menor MPO (no 2º dia) e NAG (nos 2º e 14º dias) em relação aos demais grupos. Quanto à angiogênese, o CB+AG destacou-se pela produção importante de vasos já no 2º dia em relação ao Control gel e *Nexfill*, e semelhante ao Sham, reduzindo esse perfil nos 7º e 14º dias. Em relação à fibroplasia, os grupos CB+AG e *Nexfill* destacaram-se pela maior quantidade de fibroblastos em relação aos demais grupos e ao longo do seguimento. Em relação à colagênese, o CB+AG apresentou maior que o grupo *Nexfill* nos 7º e 14º dias, o que, combinado aos demais resultados, provavelmente contribuiu para a reepitelização mais evidente observada no grupo CB+AG no 7º dia em relação ao grupo *Nexfill*. Concluiu-se que a associação da biocelulose bacteriana em gel com alginato favoreceu o reparo tecidual em ratos.

**LEDTERAPIA COM TERAPIA FOTODINÂMICA NO REPARO TECIDUAL DA LESÃO
POR ELETROCAUTERIZAÇÃO**

MANOEL, C. A.^{1;2}; MARIANO, S. S.^{1;2}; ADRIANO, L. C.^{1;2}; RAMOS, E. S.^{1;2}; ANDRADE, T. A. M.^{1;2};
SANTOS, G. M. T.^{1;2}; PAOLILLO, F. R.³; BAGNATO, V. S.³.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas;

³Instituto de Física de São Carlos - IFSC, Universidade de São Paulo.

A eletrocauterização produz lesão cutânea por meio de descarga elétrica, gerando dessecação, sem hemorragia, atingindo camadas mais profundas da pele e formando uma crosta que protege o tecido. É utilizada principalmente para rejuvenescimento, remoção de manchas senis e outras aplicações. Nesse sentido, a associação de técnicas terapêuticas, como a LEDterapia com terapia fotodinâmica, tem sido desenvolvida visando melhores respostas terapêuticas e para o remodelamento tecidual. Objetivou-se avaliar os efeitos da LEDterapia com a Terapia Fotodinâmica no processo de cicatrização de lesões cutâneas induzidas por eletrocauterização. O estudo foi aprovado pelo CEUA-FHO (n. 068/2017). Como método, foram utilizadas 72 ratas (± 280 g), as quais tiveram a região dorsal tricotomizada para serem submetidas a lesões cutâneas (2,0 cm²), utilizando o eletrocautério *New Skin®* (*MMOptics* – São Carlos-SP), na intensidade 100 mV, cujo equipamento também apresenta LEDterapia (660 nm, 60 s, dose de 6J, 3x/semana, durante 14 dias, associado ou não à Terapia Fotodinâmica). Para a Terapia Fotodinâmica foi utilizado o ácido 5-aminolevulínico (ALA, 6% de concentração, PDT Farma®, Cravinhos-SP), para ser aplicado na lesão (sessão única) logo após o procedimento cirúrgico (associado ou não à LEDterapia). Assim, os grupos experimentais foram – Sem lesão: sem lesão e tratamento; Lesão: sem tratamento na lesão; Lesão+LED: tratados na lesão com LED, apenas; Lesão+ALA: tratados com ALA; e Lesão+ALA+LED: tratados com ALA e LED, por dois, sete e 14 dias pós-lesão (n = 6 animais/tempo/tratamento). Após eutanásia, as biópsias cutâneas foram coletadas para histomorfometria (HE e tricrômio de Gomori), para quantificação de infiltrado inflamatório, vasos sanguíneos, fibroblastos, colágeno e espessura da crosta, utilizando o *software ImageJ*. Os resultados foram analisados pelo ANOVA *Two-way/Bonferroni*. Nos resultados, no 2º dia, o grupo Lesão+ALA+LED apresentou menor infiltrado inflamatório em relação aos demais grupos e este perfil foi reduzindo ao longo do seguimento. Com relação à angiogênese, no 7º dia, os grupos Lesão+LED e Lesão+ALA+LED apresentaram maior quantidade de vasos sanguíneos em relação aos grupos Lesão e Lesão+ALA, respectivamente; no 14º dia, o grupo Lesão+LED foi maior que os grupos Lesão e Lesão+ALA; e o grupo Lesão+ALA+LED foi maior que o grupo Lesão. Quanto à fibroplasia, o grupo Lesão+ALA+LED destacou-se pela sua importante fibroplasia nos 7º e 14º dias em relação aos demais grupos. Em relação à colagênese, no 14º dia, observou-se menor formação de colágeno no grupo Lesão+LED comparado ao grupo Lesão. Quanto à espessura da crosta das lesões, foi menor no grupo Lesão+ALA+LED comparado aos grupos Lesão+ALA e Lesão+LED. Além disso, o grupo Lesão apresentou menor espessura de crosta comparado ao grupo Lesão+ALA. Concluiu-se que a associação do ALA ao LED foi efetiva no favorecimento do reparo tecidual na lesão induzida por eletrocauterização.

MEMBRANA DE BIOCELULOSE INCORPORADA COM NANOPARTICULAS DE PRATA ESTIMULA A ANGIOGÊNESE E COLAGÊNESE NA CICATRIZAÇÃO DE ÚLCERAS CUTÂNEAS EM MODELO ANIMAL

ALVES, M. T. O.^{1;2}; MUNHOZ, L. L. S.^{1;2}; NASCIMENTO, M. G. O. F.^{1;2}; ALVES, B. C.^{1;2}; ANDRADE, T. A. M.^{1;2}; ARO, A. A.^{1;2}; CAETANO, G. F.^{1;2}; SÁBIO, R. M.³; BARUD, H. S.³; BAGNATO, V. S.⁴.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas;

³Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia em Medicina Regenerativa e Química Medicinal, Universidade de Araraquara (UNIARA); ⁴Instituto de Física de São Carlos - IFSC, Universidade de São Paulo.

Os estudos envolvendo substâncias naturais vêm aumentando para proporcionar eficaz atividade no tratamento de feridas e baixo custo. Durante a cicatrização de feridas, a formação de tecido é uma fase importante para restaurar a integridade da derme e da epiderme. Caracteriza-se pela formação de tecido de granulação (fibroblastos e vasos sanguíneos) e síntese de colágeno. A biocelulose, um biocurativo, atua como suporte para proliferação celular com adequadas propriedades químicas e mecânicas. Ao longo da história medicinal, a prata é envolvida no tratamento de feridas devido às atividades anti-inflamatórias, antimicrobianas e curativas. O objetivo deste estudo foi avaliar a aplicação da membrana de biocelulose e membrana de biocelulose incorporada com nanopartículas de prata quanto à formação tecidual na cicatrização de úlceras cutâneas em modelo animal. Em relação aos métodos, o comitê de ética animal da Fundação Hermínio Ometto aprovou o protocolo experimental (CEUA/FHO-019/2018). Todas as membranas foram doadas pelo grupo de pesquisa em biopolímeros e biomateriais da UNIARA. Setenta e dois ratos Wistar (300 g) foram anestesiados por administração intraperitoneal de ketamina e xilazina. Duas feridas circulares foram criadas na região do dorso de cada rato, utilizando um *punch* histológico (1,5 cm de diâmetro). Os animais foram distribuídos em três grupos: SHAM (sem tratamento), MC (feridas tratadas com membrana de biocelulose) e MCP (feridas tratadas com membrana de biocelulose + prata). Os animais foram eutanasiados no 2º, 7º, 14º e 21º dia de pós-operatório. As amostras foram coletadas e, após fixação em solução de formaldeído por 24 horas, seguiram para rotina histológica (corte de 5,0 µm) coradas com hematoxilina-eosina para avaliação da estrutura tecidual, Tricrômio de Gomori para avaliação de tecido conjuntivo e vasos sanguíneos utilizando o microscópio óptico Leica DM2000, com câmera DFC-280 e *software ImageJ*. A colagênese foi avaliada pelo ensaio bioquímico por determinação de hidroxiprolina (valores de absorbância medidos a 550 nm). As variações estatísticas foram determinadas usando *Two-way ANOVA* e pós-teste de Bonferroni com $\alpha=5\%$, usando o programa *GraphPad Prism 5*. Como resultados, o número de vasos sanguíneos foi avaliado por análises histomorfométricas (aumento de 200x). Pôde-se observar que a MCP apresentou maior número de vasos sanguíneos do que os grupos SHAM e MC (26,1; 12,2; 12,8, respectivamente) no 2º dia ($p < 0,05$). Todos os grupos apresentaram número similar de vasos sanguíneos durante os outros períodos experimentais. Embora não tenha sido observada diferença para a formação de tecido conjuntivo, o grupo MCP apresentou média de 138,4 mg de hidroxiprolina/g de tecido, maior que o grupo SHAM (90,9 mg/g) e o grupo MC (114,9 mg/g ($p < 0,05$) no 14º dia, indicando superior colagênese. Apesar de também ter sido observada maior colagênese no grupo MCP no 7º dia, não foram observadas diferenças. O colágeno é o principal componente estrutural de tecido de granulação, reforçando a matriz extracelular e substituindo a matriz de fibrina temporária. A hidroxiprolina é usada como marcador bioquímico como indicação positiva da progressão da cicatrização. Concluiu-se que a membrana de celulose e a membrana de celulose incorporada com nanopartículas de prata parece favorecer a organização do tecido. A membrana de celulose incorporada com nanopartículas de prata acelerou a angiogênese, a colagênese e a remodelação tecidual. Código Comitê de Ética: n. 019/2018.

**NANOPARTÍCULAS DE PRATA NO TRATAMENTO DE LESÕES TRAUMÁTICAS BUCAIS
INDUZIDAS EXPERIMENTALMENTE EM RATOS**

CURTOLO, G.^{1;2}; ARAÚJO, J. P.^{1;2}; CARDOSO, G. W.^{1;2}; CAMBI, H.^{1;2}; LIMA, J. A.^{1;2}; MARTINS, N.^{1;2}; SOUZA, G. S.^{1;2};
ANDRADE, T. A. M.^{1;2}; FRANZINI, C. M.^{1;3}; GOES, V. F. F.^{1;3}.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas;

³Programa de Pós-graduação em Odontologia.

As lesões ulceradas na mucosa bucal são comuns na clínica odontológica e geralmente são ocasionadas por trauma mecânico devido a próteses mal-adaptadas, aparelhos ortodônticos e dentes com coroas ou restaurações fraturadas. Devido à boca executar diversas funções importantes, o seu forro tecidual vive em contínuo processo de renovação e também sofrendo diversas agressões, das mais diversas naturezas. Os cirurgiões-dentistas dispõem de poucos recursos para prevenir ou aliviar as lesões de mucosa bucal. Nesse contexto, cresce o interesse por compostos de origem natural, que apresentem eficácia, menos efeitos adversos e que possam ajudar no alívio da dor e no controle dessas lesões. A prata há séculos tem sido utilizada em várias áreas da medicina por suas propriedades antimicrobianas, além de possuir baixa toxicidade, boa biocompatibilidade com células humanas e atividade antibacteriana de longo prazo devido à liberação de íons sustentada. A primeira vez em que se falou em nanotecnologia foi em 1959, com o norte-americano Richard Feynman, que mostrou o poder de manipulação de átomos, resultando em pequenos componentes, chamados de nanopartículas. A nanotecnologia é a construção de estruturas em escalas nanométricas, ajudando na fabricação de produtos diferenciados, pois modifica as propriedades do material em nível atômico. Essa tecnologia está cada vez mais sendo utilizada em diferentes aplicações, por exemplo, em produtos com ação antimicrobiana e para acelerar a cicatrização. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos das nanopartículas de prata no tratamento de lesões traumáticas bucais induzidas experimentalmente em ratos. Em relação ao método, aprovado pelo CEUA-FHO (n. 072/2018), foram utilizados 81 ratos Wistar, machos, que foram anestesiados por via intraperitoneal. Foi utilizado *punch* histológico de 4,0 mm de diâmetro para a excisão de dois fragmentos circulares na mucosa bucal (um de cada lado da boca – ambas receberam o mesmo tratamento). Após a confecção das lesões, os animais foram tratados 2x/semana, de acordo com os grupos/tratamentos a seguir: Ag sólida – tratamento nas lesões com nanopartículas de prata sólida; Ag solúvel – com nanopartículas de prata solúvel; Ag diluída – com prata diluída; Placebo – veículo; Controle – lesão sem tratamento e Sham (sem lesão). Os animais foram eutanasiados (com aprofundamento anestésico e deslocamento cervical) no 2º, 7º e 14º dias pós-lesão. Biópsias da lesão/cicatriz foram coletadas para avaliação histomorfométrica (quantificação por imagem quanto ao infiltrado inflamatório, angiogênese e fibroplasia e colagênese), imunistoquímica para IL-1 β , IL-10, VEGF e TGF- β 1, dosagem de mieloperoxidase (MPO - neutrófilos), de N-Acetilglicosaminidase (NAG - macrófagos), TBARS (oxidantes) e grupos -SH (antioxidantes).

O EXERCÍCIO FÍSICO CONCORRENTE ASSOCIADO COM A FOTOBIOMODULAÇÃO MODULA O AFLUXO INFLAMATÓRIO E O NÚMERO DE CONDRÓCITOS ATIVOS NA ARTRITE REUMATOIDE

LIMA, R. D.^{1;2}; PEDERSEN, M.^{1;2}; BRUCIERI, L.^{1;2}; ROCHA, T. T. S.^{1;2}; ALMEIDA, A. S.^{1;2}; ANDRADE, T. A. M.^{1;2}; ESQUISATTO, M. A. M.^{1;2}; BOMFIM, F. R. C.^{1;2}; FELONATO, M.^{1;2}.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas.

Caracterizada como uma patologia autoimune inflamatória, a artrite reumatoide (AR) apresenta uma inflamação sistêmica, que agride a membrana sinovial, provocando danos e deformidades à cartilagem (JET *et al.*, 2015). A membrana sinovial afetada pela presença de células inflamatórias degrada a cartilagem articular e compromete a função de condrócitos (MOELANTS *et al.*, 2013). Dessa maneira, tratamentos como o exercício físico e a fotobiomodulação (METSIOS *et al.*, 2015) são utilizados para melhorar o quadro clínico. Portanto, este trabalho investigou a presença de condrócitos e área inflamada na articulação de animais com AR após terapêuticas não medicamentosas. Em relação aos métodos, por oito semanas, ratos Wistar foram divididos em 10 grupos: CTL – grupo controle com injeção de salina na articulação; ZYM – grupo com injeção de 200 µg de zymosan na articulação; ZYM+A – grupo zymosan submetido ao protocolo de exercício aeróbico com duração de 1 hora, 5 dias/semana, com sobrecarga aumentada semanalmente em 5% do peso do animal (NAVARRO *et al.*, 2010); ZY+R – grupo zymosan submetido ao protocolo de exercício resistido com 4x10 saltos, com 30 segundos de descanso, 3 dias/semana (MILARES *et al.*, 2016; MUNIZ-REMO *et al.*, 2005). A carga foi proporcional à massa corporal para cada animal, com início em 20% da massa corporal a 80%; ZYM+CON100% – grupo zymosan com protocolo de exercício concorrente (exercício resistido e aeróbico), com 100% do volume total do protocolo; ZYM+CON50% – grupo zymosan com protocolo de exercício concorrente com 50% do volume total do protocolo. Todos os protocolos de treinamento foram subdivididos em tratamento com e sem fotobiomodulação com um laser de diodo de arseneto de gálio-alumínio de 808 nm. A fibra óptica foi posicionada perpendicularmente à pele do animal, com potência de 50 mW, 1.4 J de energia total, por 56 segundos. Um grupo *baseline* foi utilizado para comprovar a instalação do processo inflamatório (72 horas). Os animais foram eutanasiados, tendo o joelho coletado para a análise histológica. Os resultados foram analisados por meio do Teste de Análise de Variância (ANOVA/*two way*). Quando necessário, foi utilizado o teste “*post-hoc*”, de Tukey, com nível de significância de 5%. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da FHO (n. 067/2018). Nos resultados, todos os grupos apresentam área inflamada em relação ao controle, entretanto, entre os grupos, os animais do grupo concorrente 50% apresentaram menor área inflamada. O número total de condrócitos no fêmur não apresentou diferenças entre os grupos, enquanto que na tíbia, os grupos concorrentes 100% e 50% *laser* apresentaram número de células semelhantes ao grupo controle. Ambas as terapêuticas induziram aumento de condrócitos ativos no fêmur e tíbia. Apenas o grupo concorrente 50% *laser* não apresentou diferença no fêmur, enquanto que os grupos concorrentes 100% e 50%, associados ou não à fotobiomodulação, não apresentaram diferenças na tíbia. Concluiu-se que os tratamentos propostos modulam o fluxo celular sinovial. As terapêuticas com protocolos de exercício físico (aeróbico e resistido), associados ou não a fotobiomodulação, bem como os protocolos de exercício físico concorrentes sem a fotobiomodulação, minimizam a progressão da patologia na cartilagem articular femoral e tibial. Sugere-se que a associação de protocolos de exercício físico concorrente e fotobiomodulação parece não ser adequada ao tratamento da AR.

PpCRN7 E PpCRN20 DE *Phytophthora parasitica* REGULAM A MORTE CELULAR DE PLANTAS LEVANDO A UM AUMENTO DA SUSCETIBILIDADE DO HOSPEDEIRO

MÁXIMO, H. J.¹; DALIO, R. J. D.¹; LITHOLDO JUNIOR, C. G.¹; MACHADO, M. A.¹; DIAS, R. O.²; FELIZATTI, H. L.³.

¹Laboratório de Biotecnologia, Centro de Citricultura Sylvio Moreira (CCSM) do Instituto Agronômico de Campinas (IAC);

²Instituto de Química, Universidade de São Paulo (USP); ³Instituto de Matemática, Física e Computação Científica, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

A interação planta-patógeno é estabelecida com uma complexa e intrincada rede de ataque *versus* defesa. Por um lado, o fitopatógeno se empenha para invadir as células hospedeiras, a fim de obter nutrientes indispensáveis para sua natureza trófica, contemplando assim seu ciclo de vida. Por outro lado, a planta recorre a sistemas de defesa em busca de irromper a infecção e assegurar sua sobrevivência. Na estratégia do ataque, *Phytophthora* secreta proteínas efetoras que funcionalmente contribuem para modular a interação com a planta hospedeira e viabilizar o processo de infecção e colonização. *P. parasitica* causa doença em uma ampla gama de plantas hospedeiras, no entanto, o papel dos efetores de CRN nessas interações permanece incerto. O estudo teve como objetivos: (i) identificar genes candidatos codificadores de CRN em genomas de *P. parasitica* (PpCRN); (ii) avaliar a expressão transcricional de candidatos ao PpCRN durante a interação de *P. parasitica* com *Citrus sunki* (suscetível) e *Poncirus trifoliata* (resistente); e (iii) caracterizar funcionalmente dois PpCRNs na planta modelo *N. benthamiana*. Na metodologia, realizou-se o crescimento do oomiceto *in vitro*; ensaio de infecção de plantas e de agroinfiltração; identificação e anotação de genes efetores candidatos a CRN *P. parasitica*; síntese gênica utilizando vetor de expressão em plantas pCambia1302, transformação e clonagem em *E. coli*, transformação de *A. tumefaciens*, e expressão transiente em tecido foliar de *N. benthamiana*; análise de arquitetura do genoma; detecção de espécies reativas de oxigênio (ROS) utilizando o ensaio de DAB; inoculação e quantificação de *P. parasitica* em plantas por RT-qPCR; análise do perfil transcricional de efetores CRN; extração de proteínas e análise por *Western Blot*. Nos resultados: as análises *in silico* identificaram 80 efetores PpCRN no genoma do isolado *P. parasitica* IAC 01/95.1'. A análise transcricional revelou uma expressão gênica diferencial de 20 candidatos a PpCRN durante a interação com *C. sunki* e *P. trifoliata*. Nós também descobrimos que *P. parasitica* é capaz de reconhecer diferentes hospedeiros cítricos e modular a expressão de PpCRNs. Adicionalmente, dois efetores PpCRN, nomeadamente PpCRN7 e PpCRN20, foram ainda caracterizados por meio da expressão gênica transitória em tecido foliar de *N. benthamiana*. A resposta de hipersensibilidade (HR) induzida por elicítina INF-1 foi aumentada por um efeito aditivo, impulsionado pela expressão de PpCRN7, enquanto a expressão de PpCRN20 suprimiu a resposta da HR em folhas de *N. benthamiana*. Concluiu-se que, apesar das funções contrastantes relacionadas à HR, ambos os efetores aumentaram a suscetibilidade das plantas à *P. parasitica*. As proteínas efetoras PpCRN7 e PpCRN20 têm a capacidade de aumentar a agressividade da *P. parasitica* e podem desempenhar papéis importantes em diferentes estágios da infecção e colonização do tecido hospedeiro. Esses mecanismos associados ao PpCRN são agora alvos de estudos biotecnológicos que visam quebrar a virulência do patógeno e promover a resistência das plantas, visando uma agricultura sustentável.

RESTRIÇÃO CALÓRICA MODULA A EXPRESSÃO GÊNICA DE CONEXINAS EM RINS ESTENÓTICOS EM UM MODELO EXPERIMENTAL DE HIPERTENSÃO E OBESIDADE

PEZZONIA, C.^{1,2}; OLIVEIRA, C. A.^{1,2}.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas.

A hipertensão renovascular é a forma secundária de maior relevância da hipertensão arterial sistêmica, complexidade que aumenta quando associada à obesidade. Sendo assim, a restrição calórica (RC) é utilizada por seu potencial em prevenir as alterações metabólicas estabelecidas pela hipertensão e obesidade. Como consequência, essas alterações também podem modificar as *gap junctions*, estruturas da comunicação intracelular, compostas por diferentes isoformas de conexinas. Estas proteínas contribuem para a estrutura e função do canal intercelular, os quais são modulados pela hipertensão e obesidade. Dessa forma, este estudo avaliou os efeitos da restrição calórica sobre a expressão de genes de conexinas em rins estenóticos de ratos hipertensos, alimentados com dieta hiperlipídica. Foram utilizados 17 ratos Wistar, machos, pesando entre 180 g e 200 g. A hipertensão foi induzida de acordo com o modelo experimental 2-rins, 1-clipe (2K1C) e os animais foram divididos em três grupos: Sham (n = 5), alimentados com dieta normolipídica *ad libitum*; OH (n = 6⁻), hipertensos que receberam dieta hiperlipídica *ad libitum*, por 12 semanas; OHR (n = 6), hipertensos, alimentados com dieta hiperlipídica *ad libitum*, por oito semanas e, em seguida, submetidos à RC de 40% durante quatro semanas. O RNA total dos rins foi isolado e realizado o cDNA. As análises semiquantitativas da expressão dos genes Cx37, Cx40 e Cx43 foram realizadas por RT-PCR. Os dados foram apresentados como média±erro padrão e as diferenças entre os grupos foram avaliadas por ANOVA, seguida de Bonferroni, adotando-se um nível de significância de $P < 0,05$. O estudo foi aprovado pelo CEUA (Parecer n. 042/2016). Os níveis de expressão gênica da Cx37 e Cx40 foram regulados positivamente pela hipertensão e dieta hiperlipídica e a RC aumentou ainda mais esses níveis. Estes efeitos mostraram que a expressão do gene Cx37 foi maior nos animais do grupo OHR (1.05±0.17) quando comparado ao Sham (0.14±0.03) e OH (0.50±0.05). Resultados igualmente observados na expressão do gene Cx40 (OHR= 0.66±0.03) em relação ao grupo Sham (0.23±0.02) e OH (0.35±0.03). Da mesma forma, observou-se aumento da expressão gênica da Cx43 nos animais OH (0.74±0.11) e OHR (0.65±0.08) vs Sham (0.20±0.04), no entanto, a RC não alterou estes índices quando comparado ao grupo OH. A hipertensão e a dieta hiperlipídica modulam a expressão dos genes Cx37, Cx40 e Cx43, possivelmente pela alteração da composição da bicamada lipídica onde as conexinas estão inseridas. Por outro lado, o estímulo de aumento da expressão dos genes Cx37 e Cx40 pela RC são sugestivos de tentativa compensatória de restabelecer a homeostase tecidual.

RESTRIÇÃO CALÓRICA X EXERCÍCIO FÍSICO: MODULAÇÃO DA RESPOSTA CELULAR RENAL EM MODELO 2K1C SUBMETIDOS À DIETA HIPERLIPÍDICA

ORZARI, L. E.^{1,2}; VALVERDE, A. P.^{1,2}; TERCIOTTI, L. G.^{1,2}; ALVES, A. A.^{1,2}; OLIVEIRA, C. A.^{1,2}; AMARAL, M. E.^{1,2}; DALIA, R. A.^{1,2}; ANDRADE, T. A. M.^{1,2}; FELONATO, M.^{1,2}.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas.

Alterações imunológicas e metabólicas cooperam para que o quadro de hipertensão seja agravado. Tais modificações ocorrem por alterações metabólicas sistêmicas induzidas por diferentes dietas hiperlipídicas, desencadeando um processo inflamatório crônico de baixo grau. Por outro lado, modificações comportamentais que incluam restrições calóricas e a prática de exercícios físicos podem promover modulação imunológica favorável e controle da pressão arterial. Sendo assim, este projeto estudou o perfil inflamatório celular sistêmico provocado pela restrição calórica e pelo exercício físico frente a um quadro de hipertensão associado à dieta hiperlipídica. Como metodologia, foram utilizados vinte ratos, machos, submetidos à cirurgia 2K1C (modelo de hipertensão renovascular), os quais receberam dieta hiperlipídica *ad libitum*, a partir do desenvolvimento do quadro de hipertensão (15 dias após a cirurgia). Após oito semanas de dieta hiperlipídica, os animais foram submetidos a quatro semanas de restrição calórica de 40% e/ou treinamento de exercício físico na intensidade do limiar anaeróbio, compondo os grupos R (restrito), T (treinado) e RT (restrito-treinado). O grupo controle (Sham) foi constituído pelos animais que foram submetidos à cirurgia 2K1C e à dieta hiperlipídica, e não foi submetido a nenhuma das intervenções. Todos os animais foram eutanasiados no final da 14ª semana de protocolo e as amostras de fígado, rim direito (intacto) e rim esquerdo (clipado) foram coletadas e processadas para a realização dos testes bioquímicos para NAG e MPO e imuno-histoquímicos para marcação de macrófagos, neutrófilos e TCD4. Nos resultados, o protocolo 2K1C foi eficiente em promover aumento da pressão arterial, que foi acompanhada de maior infiltrado de macrófagos (5x) e neutrófilos (20x) no rim clipado, em comparação ao rim intacto. Porém, todos os grupos que passaram pelas intervenções de maneira isolada ou associada apresentaram redução da pressão arterial e redução do número de neutrófilos no rim clipado, em relação ao grupo controle. A restrição isolada promoveu aumento do número de macrófagos no fígado e no rim intacto. No rim intacto, a restrição isolada também causou maior ativação dos macrófagos e aumento do número de linfócitos CD4+. O treinamento físico isolado, por sua vez, causou maior ativação de neutrófilos no rim clipado, mas redução do número de neutrófilos e de linfócitos CD4+ no fígado. A associação das intervenções causou diminuição da massa corporal e redução do número de linfócitos CD4+ no rim intacto. Concluiu-se que ambos os protocolos intervencionais modificaram o perfil inflamatório já estabelecido nas patologias.

TERAPIA COM CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS DERIVADAS DE TECIDO ADIPOSEO ALTERA A EXPRESSÃO DE GENES DE REMODELAMENTO E MELHORA A ORGANIZAÇÃO DO COLÁGENO DURANTE O REPARO TENDÍNEO

TEODORO, L. F. R.¹; FRAUZ, K.¹; CARNEIRO, G. D.¹; BOMBEIRO, A. L.¹; LUCKE, L. D.¹; FERRUCCI, D. L.¹; OLIVEIRA, A. L. R.¹; VICENTE, C. P.¹; PIMENTEL, E. R.¹; ARO, A. A.^{1,3}; LEITE, F. G.²; VEIGA, F. C.²; ÁLVARES, L. E.²; ESQUISATTO, M. A. M.³; CHIAROTTO, G. B.³; SIMÕES, P. W.⁴; RAMOS, G. V.⁵; MARQUETI, R. C.⁶.

¹Departamento de Biologia Estrutural e Funcional, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP;

²Departamento de Bioquímica e Biologia Tecidual, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP;

³Programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas, Centro Universitário da Fundação Hermínio Ometto – UNIARARAS;

⁴Centro de Engenharia, Modelagem e Ciências Sociais Aplicadas (CECS), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica (PPGEBM), Universidade Federal do ABC (UFABC); ⁵Universidade de Brasília (UnB);

⁶Universidade Paulista-UNIP, Centro Universitário ICESP.

A terapia celular, por meio da aplicação de células-tronco mesenquimais derivadas de tecido adiposo (CTMA), é promissora para tratamento de lesões tendíneas, devido ao seu potencial parácrino e imunomodulatório. Considerando a alta incidência de lesões tendíneas, as quais apresentam cicatrização lenta e complexa, o objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos da aplicação das CTMA no reparo de tendões transecionados de ratos no 14º, 21º e 45º dias após a lesão. Na metodologia, os ratos Lewis foram divididos em sete grupos: com tendão não transecionado (N); tendão transecionado (T14, T21 e T45); e tendão transecionado+CTMA (TC14, TC21 e TC45). Os animais foram eutanasiados em 14, 21 e 45 dias após a cirurgia e os tendões foram analisados por meio do RT-qPCR, para a expressão dos genes *Col1a1*, *Col3a1*, *Fmod*, *Tnc*, *Bgn*, *Sdc4*, *Fn*, *Ctgf*, *Vegf*, *Igf1*, *Egr1*, *Mkx*, *Smad2* e *Smad3*. O perfil de expressão desses mesmos genes foi analisado para as CTMA *in vitro* antes da aplicação nos tendões. Também foram realizadas medidas de birrefringência para análise da organização das fibras de colágeno; coloração com azul de toluidina para análise da distribuição dos proteoglicanos; e imunofluorescência para análise da migração das CTMA para a região transecionada do tendão. Nos resultados, o RT-qPCR das CTMA *in vitro* demonstrou alta expressão dos genes *Vegf*, *Ctgf*, *Col1a1*, *Col3a1*, *Fn*, *Bgn*, *Sdc4*, e baixa expressão de *Igf1*, *Smad3*, *Mkx*, *Smad2*, *Egr1* e *Fmod*. *In vivo*, a análise de migração celular não demonstrou a presença das CTMA na região transecionada dos tendões no 45º dia. A aplicação das CTMA aumentou a expressão dos genes *Col1a1* e *Tnc* no 14º dia, assim como de *Tnc*, *Ctgf* e *Mkx* no 45º dia. Menor quantidade e distribuição dos proteoglicanos foram observadas no grupo TC45 em comparação ao grupo T45. Maior birrefringência indicando maior organização das fibras de colágeno foi observada no grupo TC45 em relação ao grupo T45. Concluiu-se que os resultados demonstraram que as CTMA aumentaram a expressão de *Col1a1*, *Tnc*, *Ctgf* e *Mkx*, contribuindo com maior organização das fibras de colágeno. Assim, a aplicação das CTMA no reparo tendíneo pode ser promissora, sendo que novos estudos devem ser realizados para analisar os efeitos dessa maior reorganização tecidual na biomecânica do tendão em tempos mais tardios do processo de cicatrização.

TERAPIA DE PLASMA ATMOSFÉRICO NA CICATRIZAÇÃO TECIDUAL EM RATOS
INDUZIDOS AO DIABETES

ALVES, N.^{1;2}; LIMA, A. C. S.^{1;2}; HUMMEL, L. H.^{1;2}; MARIANO, S. S.^{1;2}; LUCIANO, L. M.^{1;2}; FRANÇA, D. R.^{1;2};
ADRIANO, L. C.^{1;2}; SANTOS, G. M. T.^{1;2}; ANDRADE, T. A. M.^{1;2}; LOPES, B. B.³.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas;

³Surface – Engenharia e Soluções a Plasma Ltda.

Complicações na cicatrização de úlceras associadas ao diabetes são crescentes, havendo necessidade de terapias inovadoras e eficazes. O Plasma Atmosférico (PA) é um gás ionizado que tem sido uma alternativa relevante e promissora na cicatrização. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do plasma atmosférico no reparo de lesões cutâneas excisais em ratos diabéticos. O método, aprovado pelo CEUA-FHO (n. 061/2017), o diabetes foi induzido em 48 ratos, Wistar (± 300 g), com 45 mg/Kg de aloxana, por via endovenosa. A glicemia de jejum foi aferida por sete dias pós-indução e apenas animais com glicemia acima de 200 mg/dL foram incluídos. As lesões cutâneas excisionais foram realizadas com *punch* de 1,5 cm de diâmetro. Os grupos foram: SHAM – lesões tratadas topicamente todos os dias com o aparelho desligado; e PA – tratamento com Plasma Atmosférico (35' /cm², 30 kHz, 50 W, 1,0 L/min de gás argônio). As lesões foram fotografadas no dia da lesão (dia 0) e no final do seguimento (2°, 7°, 14° e 21° dias pós-lesão). Foi quantificada a área da lesão pelo *ImageJ* para calcular a reepitelização pelo índice de cicatrização das úlceras (ICU) usando a fórmula [área inicial-área final/área inicial]. As amostras foram coletadas da área da lesão no 2°, 7°, 14° e 21° dias (n = 6 animais/grupo/tempo), para posterior análise histomorfométrica de infiltrado inflamatório, angiogênese, fibroplasia e colagênese (coloração: HE e tricrômio de Gomori). Os resultados foram analisados pelo teste *t-Student* (entre os grupos nos mesmos dias) e ANOVA *One-way/Tukey* (entre os dias nos mesmos grupos) ($p < 0,05$) (MED \pm SEM). Nos resultados, em relação ao infiltrado inflamatório, o PA-7d (308,8 \pm 20,29) foi maior que o SHAM-7d (176,20 \pm 25,60) e comparado ao PA-2d (128,0 \pm 38,60), PA-14d (70,18 \pm 13,48) e PA-21d (27,84 \pm 3,43). Além disso, o PA (18,50 \pm 2,12) foi importante para estimular a angiogênese no 14° dia em comparação com o SHAM (10,28 \pm 2,80) e o PA-21d (9,06 \pm 2,38). Em relação à fibroplasia, o PA no 7° (118,50 \pm 30,47) e no 21° dia (126,30 \pm 20,66) foi superior à PA-2d (15,57 \pm 2,45). Ademais, o PA no 14d (118,50 \pm 30,47) apresentou menor fibroplasia do que o SHAM (196,40 \pm 37,54). Quanto à colagênese, o grupo PA no 14° (63,54 \pm 2,04) foi menor que o SHAM (71,88 \pm 2,73), e o PA no 14° (63,54 \pm 2,04) e no 21° dia (72,32 \pm 3,35) apresentaram maior colagênese que o PA no 2° (41,29 \pm 3,54) e 7° (45,76 \pm 3,54), respectivamente, mostrando que PA não apresentou melhor fibroplasia e colagênese do que SHAM, mas superior ao PA-2d. Esse estímulo em todas as fases da cicatrização provavelmente contribuiu para a reepitelização das lesões: o grupo PA no 14° dia já apresentava todas as lesões reepitelizadas (1,00 \pm 0,001) em relação ao SHAM (0,98 \pm 0,01). Concluiu-se que o PA estimulou todas as fases da cicatrização, mesmo associada à patologia do diabetes, tornando uma terapêutica promissora no reparo de lesões quando associadas ao diabetes.

TRATAMENTO COM LASERTERAPIA MODULA ATIVAÇÃO DE NEUTRÓFILOS NO MÚSCULO GASTROCNÊMIO DE ANIMAIS COM ARTRITE REUMATOIDE APÓS PROTOCOLOS DE EXERCÍCIO FÍSICOS CONCORRENTES

BRUCIERI, L.^{1;2}; LIMA, R. D.^{1;2}; PEDERSEN, M.^{1;2}; ROCHA, T. T. S.^{1;2}; ALMEIDA, A. S.^{1;2}; ANDRADE, T. A. M.^{1;2}; ESQUISATTO, M. A. M.^{1;2}; BOMFIM, F. R. C.^{1;2}; FELONATO, M.^{1;2}.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas.

A artrite reumatoide (AR) é uma doença autoimune (DAI), caracterizada pela presença de uma inflamação crônica, que agride a membrana sinovial, levando à destruição cartilaginosa e óssea (GOELDNER *et al.*, 2011). A patologia acomete pequenas e grandes articulações (KHURANA; BERNEY, 2005), apresentando efeitos deletérios sobre a mobilidade física e capacidade funcional. Em busca de tratamentos alternativos, o exercício físico e a laserterapia (METSIOS *et al.*, 2015) têm sido utilizados, já que proporcionam reações favoráveis ao controle do processo inflamatório (BROSSEAU *et al.*, 2005). Assim, verificamos se diferentes protocolos de exercício físico, associado ou não à laserterapia, poderiam alterar os níveis do processo inflamatório sistêmico e muscular. Como método, por oito semanas, ratos Wistar foram divididos em 10 grupos: CTL – grupo controle com injeção de salina na articulação; ZYM – grupo com injeção de 200 µg de zymosan, na articulação; ZYM+A – grupo zymosan submetido ao protocolo de exercício aeróbio com duração de 1 hora, cinco dias/semana, com sobrecarga aumentada semanalmente em 5% do peso do animal (NAVARRO *et al.*, 2010); ZY+R – grupo zymosan submetido ao protocolo de exercício resistido com 4x10 saltos, com 30 segundos de descanso, três dias/semana (MILARES *et al.*, 2016; MUNIZ-REMO *et al.*, 2005), a carga foi proporcional à massa corporal para cada animal, com início em 20% da massa corporal a 80%; ZYM+CON100% – grupo zymosan com protocolo de exercício concorrente (exercício resistido e aeróbio), com 100% do volume total do protocolo; ZYM+CON50% – grupo zymosan com protocolo de exercício concorrente, com 50% do volume total do protocolo. Todos os protocolos de treinamento foram subdivididos em tratamento com e sem fotobiomodulação, com um *laser* de diodo de arsenieto de gálio-alumínio de 808 nm. A fibra óptica foi posicionada perpendicularmente à pele do animal, com potência de 50 mW, 1.4 J de energia total, por 56 segundos. Os animais foram eutanasiados, tendo o joelho coletado para análise histológica. Os resultados foram analisados por meio do Teste de Análise de Variância (ANOVA/*two way*). Quando necessário, foi utilizado o teste “*post-hoc*” de Tukey, com nível de significância de 5%. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da FHO (n. 067/2018). Como resultado, no sangue periférico, os níveis de NAG e MPO não apresentaram diferenças. Em relação ao músculo, todos os protocolos de exercício físico induziram aumento na atividade de macrófagos (NAG) em relação ao grupo controle e zymosan. Por outro lado, a atividade do neutrófilo (MPO) esteve aumentada no grupo zymosan quando comparado ao grupo controle. Em relação aos protocolos de exercício físico, os grupos concorrentes 100% e 50% *laser* apresentaram diminuição desse marcador quando comparado aos grupos concorrentes 100% e 50%, respectivamente. Como conclusão, observamos que o tratamento da AR com protocolos de exercício físico propostos, associados ou não à laserterapia, estimularam potencial pró-inflamatório muscular, fundamentado na presença de marcadores de ativação de macrófagos e neutrófilos. Entretanto, somente os protocolos de exercício físico concorrentes associados à laserterapia foram capazes de modular o processo inflamatório muscular por estimular efeito anti-inflamatório, reduzindo os marcadores de ativação de neutrófilos.

TRATAMENTO DA ACNE ATRAVÉS DO ÁCIDO AMINOLEVULÍNICO COM TERAPIA FOTODINÂMICA: ESTUDO DE CASO

PINTO, M. C.^{1,2}; ANDRADE, T. A. M.^{1,2}; SANTOS, G. M. T.^{1,2} KEIKO, A. L. F.³; MENEZES, P. C.³; BAGNATO, V. S.³.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas;

³Instituto de Física de São Carlos - IFSC, Universidade de São Paulo.

Muitos fatores estão envolvidos na fisiologia da acne, que é uma doença inflamatória crônica da unidade pilosebácea, como hiperprodução sebácea, hiperqueratinização folicular, inflamação dérmica periglandular e aumento da colonização bacteriana por *Propionibacterium acnes*. Os tratamentos mais usuais na terapia clínica dermatológica são os antibióticos. No entanto, a administração exacerbada é capaz de gerar resistência, reduzindo sua eficácia. Diante disso, a Terapia Fotodinâmica Dermatológica (TDF) tem sido estudada como tratamento da acne e estímulo ao processo de remodelação tecidual. Esta é fundamentada na interação da luz com um fotorreceptor exógeno, sendo que essa substância fotossensível absorve a luz e transfere a energia gerada para o tecido, gerando uma alta quantidade de oxigênio singlete. Por sua vez, estes estimularão a necrose ou apoptose por meio de resposta inflamatória local, promovendo tanto a eliminação de microorganismos quanto a regeneração tecidual. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da TFD no tratamento da acne. A respeito de metodologia, neste estudo de caso, participou uma voluntária feminina, com 24 anos, fototipo I, com acne grave, caracterizada pela presença de pústulas, nódulos e cistos dolorosos e inflamados. Foi realizada sessão única com TDF e aplicação de ácido 5-aminolevulínico, com a concentração de 2% (ALA- PDT PHARMA®, Cravinhos-SP), misturado com um creme base não iônico (pH 3 - 3,5) nas áreas afetadas do lado esquerdo do rosto, previamente satinizadas com solução de clorexidina. Nesse momento, foi realizado registro fotográfico para a caracterização da condição antes do tratamento. A área tratada foi ocluída (filme plástico e folha de alumínio) para proteger da luz ambiente e, após 3 horas de incubação, o excesso de ALA foi removido. Sequencialmente, a área foi exposta à luz utilizando um protótipo de iluminação (MMOptics e LAT-IFSC). Os emissores de LED (25 unidades) foram posicionados perpendicularmente à pele, sendo os parâmetros utilizados: comprimento de onda 630 nm; irradiância de 40 mW/cm²; dose de 25 J/cm², por 10 minutos. Após o tratamento, a voluntária foi orientada a utilizar, rotineiramente, creme hidratante e protetor solar. Para observar a evolução do tratamento, as avaliações fotográficas foram realizadas nos 1º, 3º e 7º dias após o tratamento, sendo analisadas qualitativamente. Após observação final, a face direita foi tratada com o procedimento equivalente. Nos resultados do estudo, efeitos da hipersensibilidade da pele foram relatados pela voluntária imediatamente após o tratamento, sendo que a queixa durou até dois dias após a sessão de TFD. Além disso, foi observado hiperemia local nos dias 1º e 3º, sendo que, no 3º dia, apresentou-se menor. Com relação às pústulas e cistos inflamados previamente presentes, observou-se, após a TFD, redução gradual no 1º e 3º dia, com redução considerável no 7º dia. Concluiu-se que os resultados obtidos no presente estudo sugerem que a TDF com ALA-2% foi eficaz no tratamento da acne grave, reduzindo sua gravidade. No entanto, novos estudos precisam ser feitos a fim de encontrar um protocolo que minimize os efeitos colaterais da TFD.