



Programação de Pós-graduação em
Ciências Biomédicas

Fundação Hermínio Ometto

ANAIS

**III Encontro Científico
do Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas
FHO|UNIARARAS**

**9 de junho de 2018
FHO|UNIARARAS – Araras/SP**

A HIPERTENSÃO RENOVASCULAR ASSOCIADA À OBESIDADE APRESENTA DIMINUIÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE NO MIOCÁRDIO APÓS EXERCÍCIO FÍSICO DE ALTA INTENSIDADE

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

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

A hipertensão arterial sistêmica secundária é causada por uma lesão obstrutiva parcial ou completa em uma ou ambas as artérias renais. O clampeamento de um dos rins no modelo experimental promove aumento progressivo na pressão arterial. Indivíduos obesos apresentam dislipidemias, levando ao estreitamento da luz dos vasos, desencadeando hipertensão e aumento do trabalho cardíaco. A restrição calórica de 40% como tratamento reduz a incidência dessas doenças e beneficia o obeso, como redução da glicemia, insulinemia e tecido adiposo. Sabe-se que o exercício físico reduz o risco de doenças cardiovasculares, exercendo redução dos níveis de angiotensina II e maior capacidade antioxidante. Objetivou-se, neste trabalho, analisar a presença do estado redox no músculo cardíaco por meio de marcadores antioxidantes e pró-oxidantes associados ao quadro de hipertensão renovascular em animais com dieta hiperlipídica, submetidos à restrição calórica e exercício físico de alta intensidade. Como métodos, foram utilizados ratos Wistar, com peso de 180g/200g, divididos em sete grupos – (Sham): submetidos à laparotomia, sem introdução do clipe (n=4); (H): hipertensos (n=6); (O): dieta hiperlipídica (n=6); (HO): hipertensos com dieta hiperlipídica (n=6); (HOR): hipertensos com dieta hiperlipídica e restrição calórica (n=6); (HOT): hipertensos com dieta hiperlipídica e exercício físico (n=6); (HORT): hipertensos com dieta hiperlipídica, restrição calórica e exercício físico (n=6). A indução da hipertensão arterial foi realizada por meio da colocação de um clipe de prata, com abertura de 0,2 milímetros, sobre a artéria renal esquerda. A dieta hiperlipídica foi iniciada após a comprovação do estado hipertenso, contendo 45% da sua composição na forma de lipídios, por oito semanas, de forma *ad libitum*. Os demais animais receberam dieta padrão para roedores. A restrição calórica foi administrada durante quatro semanas, na qual receberam 60% do total ingerido pelos animais controles respectivos a cada dieta, portanto, adotando uma restrição de 40%. Decorridas as 14 semanas, os grupos treinados foram submetidos ao exercício de natação durante quatro semanas, suportando sobrecargas progressivas de chumbo atadas ao tórax. O tempo de execução do protocolo foi inversamente proporcional ao peso da carga. Ao término, os animais foram eutanasiados, o coração foi coletado para análise bioquímica (Tbars e grupos SH) e Western Blotting (SOD-1). Os resultados foram analisados pelo teste de variância (ANOVA) e Tukey post-test ($p < 0,05$), expressos como média \pm erro padrão. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da FHO|Uniararas (042/2016). Como resultados, obteve-se: Níveis de Tbars no coração (mmols Tbars/mg tecido) – sham=0,117 \pm 0,025, O=0,159 \pm 0,018, H=0,112 \pm 0,024, HO=0,128 \pm 0,014a, HOR=0,105 \pm 0,011, HOT=0,122 \pm 0,022b,c,d,e, HORT=0,116 \pm 0,011a,f. Níveis de grupos SH no coração – sham=0,797 \pm 0,050, O=1,037 \pm 0,126, H=1,146 \pm 0,105, HO=1,346 \pm 0,096, HOR=1,123 \pm 0,077, HOT=0,545 \pm 0,097, HORT=1,226 \pm 0,098. $ap < 0,05$ vs sham; $bp < 0,05$ vs H; $cp < 0,05$ vs O; $dp < 0,05$ vs HO; $ep < 0,05$ vs HOR; $fp < 0,05$ vs HOT. Concluiu-se que o treinamento físico de alta intensidade consumiu os tóis reduzidos, um componente antioxidante. O coração dos animais hipertensos pode apresentar acúmulo de fibras colágenas e diminuição no número de miócitos que, associado ao treinamento físico, sobrecarregam sua atividade. Possivelmente a restrição calórica diminui a deposição de colágeno e por consequência preserva os miócitos mantendo a atividade antioxidante.

ADAPTAÇÃO DO SISTEMA REPRODUTOR DE RATOS WISTAR MACHOS OBESOS APÓS DIETA RESTRITIVA E PROTOCOLO DE ATIVIDADE FÍSICA

ALVES, G. A.^{1;2}; DALIA, R. A.^{1;2}; MENDES, M. F.^{1;2}; THOMAZINI, B. F.^{1;2}.

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

De acordo com a Organização Mundial da Saúde, a obesidade é uma doença crônica que consiste num acúmulo anormal e excessivo de gordura, gerando problemas para a saúde. A atividade física, então, é uma manobra importante para o tratamento da obesidade, entretanto, sozinha não possui tanta eficácia. Uma restrição calórica de 30% a 40% pode levar à melhora funcional do organismo e da saúde. Sugere-se também que a obesidade é uma doença capaz de levar à infertilidade masculina, com alterações na contagem de espermatozoides, morfologia dos espermatozoides e no tamanho dos órgãos sexuais. Os animais foram separados em quatro grupos (n=6): Obeso (O), Obeso Treinado (OT), Obeso Restrito (OR) e Obeso Restrito Treinado (ORT). Aos dois meses de idade, os animais do grupo O receberam uma dieta hiperlipídica contendo 60% de lipídeos na sua composição, por oito semanas. Após dois meses, os grupos OR e ORT receberam uma intervenção de restrição calórica de 40%, por quatro semanas, e os animais dos grupos OT e ORT iniciaram o protocolo de atividade física de natação. Os testículos direitos foram fixados em formalina a 10% e os testículos esquerdos foram congelados a -20°C. Para a análise morfométrica, foi utilizado o testículo direito, com cortes em espessura de 4 μ m e coradas com Azul de Toluidina (pH: 4.0), e analisados o diâmetro tubular seminífero e a altura do epitélio tubular seminífero. Para a análise espermática, os testículos esquerdos foram homogeneizados para a contagem de espermatozoides para definição da produção diária de espermatozoides. Os dados foram comparados pelo teste ANOVA one-way com post teste de Tukey ($p < 0,05$). CEUA–FHO|Uniararas (042/2016). Após as análises, o esperado foi definir as adaptações estruturais encontradas no epitélio germinativo testicular e, com isso, na contagem espermática após o protocolo selecionado.

ADAPTAÇÃO DO TRATO GASTROINTESTINAL OBSERVADA PELA ESTRUTURA DA MUCOSA COLÔNICA DE RATOS WISTAR MACHOS OBESOS APÓS DIETA RESTRITIVA E PROTOCOLO DE ATIVIDADE FÍSICA

BARBOSA, A.^{1;2}; DALIA, R. A.^{1;2}; THOMAZINI, B. F.^{1;2}.

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

A prevalência de obesidade é universalmente crescente e está associada a uma incidência elevada de patologias clínicas e cirúrgicas. Um dos tratamentos é a prática regular de atividade física. O objetivo deste trabalho foi descrever as alterações histológicas no cólon de ratos adultos obesos, após protocolo de restrição calórica e atividade física, observando a mucosa, índices mitótico e apoptótico nas criptas colônicas. Para a metodologia, utilizou-se ratos machos da linha Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), originários do CEA/FHO|Uniararas, divididos nos grupos (n=6) – Obeso (O): dieta hiperlipídica; Obeso Treinado (OT): dieta hiperlipídica e treinamento físico; Obeso Restrito (OR): dieta hiperlipídica, seguida de restrição (60%); Obeso Restrito Treinado (ORT): dieta hiperlipídica seguida de restrição (60%) e treinamento físico. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais, em biotério com umidade e temperatura controlada (23±1°C), ciclos de claro/escuro (12 horas), acesso à ração hiperlipídica para roedores e água filtrada. Os animais passaram a receber a dieta hiperlipídica por oito semanas e, nesse mesmo período, os animais dos grupos com treinamento de natação. A eutanásia aconteceu ao final de 14 semanas, com aprofundamento anestésico. Porções do cólon ascendente foram fixados por 48 horas em solução de Formalina 10%, seguindo para rotina usual de inclusão em Paraplast®. A microtomia envolveu cortes com espessura de 5µm e intervalo de 30µm para técnica histoquímica Alcian Blue pH2,5 e Ácido Periódico de Schiff (AB+PAS), Reticulina e Tricrômio de Mallory. A imuno-histoquímica foi feita nessas mesmas amostras com antígeno nuclear de proliferação celular (PCNA) e indicador de apoptose (Caspase-9). CEUA/FHO|Uniararas (#042/2016). Como resultados, compreendeu-se a interferência causada pela obesidade na histologia colônica, observando o epitélio e sua capacidade de proliferação, e comparou-se com os resultados descritos em bases indexadas.

BIOCELLULOSE GEL WITH ALGINATE ON REPAIR OF EXCISIONAL WOUNDS IN RATS

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

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

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

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

Wound healing is a natural biological response to tissue damage, which is known by a cascade of molecular events targeting tissue reconstruction. There are several therapies for wound healing. Bacterial cellulose membrane, commercially known as Nexfill® (Seven) have been shown as a promising biomaterial to treatment of wounds, providing a humid environment on the wound bed, improving scar formation and reducing pain on injured patients, as well it has a low cost and is easy to apply. The relevant innovation is to evaluate the wound healing in rats with topical application of biocellulose gel with alginate. Were used 60 male Wistar rats. It was made two excisional wounds of 1.5 cm diameter on the dorsum of rats, which were divided into 4 groups: treated topically and 3x/week with Control gel, Nexfill, biocellulose gel with alginate (CB+AG) and Sham group (without treatment) to 0, 2, 7 and 14 days (n=5rats/follow-up days). The wounds were photographed on all follow-up days, the wound area was determined by ImageJ software to calculate wound healing rate (WHR), which correspond to the formula [(initial area - final area) / initial area]. The Sham group showed superior WHR than Nexfill on the 2nd day. On the 7th day, Control gel was superior than Nexfill. On 14th day, all groups showed the wounds practically reepithelialized. Thus, Nexfill and CB+AG groups did not showed important reepithelialization by this macroscopic analysis. Other analysis will be carried out, however the results of these preliminary studies certainly relate to the texture/moisture of gels.

CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL INFLAMATÓRIO SISTÊMICO PROVOCADO PELA RESTRIÇÃO CALÓRICA E ATIVIDADE FÍSICA NA HIPERTENSÃO RENOVASCULAR EXPERIMENTAL 2K1C EM RATOS 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};
DALIA, R. A.^{1;2}; FELONATO, M.^{1;2}.

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

A hipertensão arterial sistêmica secundária é causada por uma lesão obstrutiva nas artérias renais. O clampeamento de um dos rins no modelo experimental promove aumento da pressão arterial. O sistema imune desenvolve um papel ativo na progressão da doença. A obesidade promove dislipidemias, levando à formação de placas de ateromas, e aumenta os níveis de adipocinas, favorecendo um estado inflamatório sistêmico. O sistema imune é modulável frente ao exercício e restrição calórica, exercendo papel em tais fisiopatologias. Este estudo objetivou analisar o perfil imunológico sistêmico nos modelos associados de hipertensão renovascular, dieta hiperlipídica, restrição calórica e exercício físico de alta intensidade. Como métodos, foram utilizados ratos Wistar, com peso de 180/200g, divididos em sete grupos: Sham – submetidos à laparotomia, sem introdução do clipe (n=4); H – hipertensos (n=6); O – dieta hiperlipídica (n=6); HO – hipertensos com dieta hiperlipídica (n=6); HOR – hipertensos com dieta hiperlipídica e restrição calórica (n=6); HOT – hipertensos com dieta hiperlipídica e exercício físico (n=6); HORT – hipertensos com dieta hiperlipídica, restrição calórica e exercício físico (n=6). Um clipe de prata com abertura de 0,2 mm sobre a artéria renal esquerda induziu a hipertensão arterial. A dieta hiperlipídica foi dada após a comprovação do estado hipertenso, sendo ela composta de 45% de lipídios, por oito semanas, de forma *ad libitum*. O restante dos animais recebeu dieta padrão. Os animais restritos sofreram restrição de 40% do ingerido pelos animais controle por quatro semanas. Após 14 semanas, os grupos treinados foram submetidos ao exercício de natação por quatro semanas, tolerando sobrecargas progressivas de chumbo fixadas ao tórax. O tempo de execução do protocolo foi inversamente proporcional ao peso da carga. Os animais foram eutanasiados, tendo gastrocnêmio vermelho, fígado, baço, coração e rins coletados para análise bioquímica (NAG e MPO). Os resultados foram analisados pelo teste de variância (ANOVA) e Tukey post-test ($p < 0,05$), expressos como média \pm erro padrão. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da FHO|Uniararas (042/2016). Como resultados, obteve-se: Níveis de MPO no Coração – S=0,05684 \pm 0,008376, O=0,07571 \pm 0,004602, H=0,03907 \pm 0,005215d,f,g, HO=0,08737 \pm 0,003087, HOR=0,05235 \pm 0,003787, HOT=0,0855 \pm 0,01186, HORT=0,08418 \pm 0,01165. Níveis de MPO no Fígado – S=0,002338 \pm 0,002586, O=0,02411 \pm 0,001277, H=0,02209 \pm 0,002183, HO=0,02135 \pm 0,004828, HOR=0,03149 \pm 0,00280f,g, HOT=0,02297 \pm 0,002149, HORT=0,01940 \pm 0,002825. Níveis de NAG Rim Direito – S=0,1037 \pm 0,005054e, O=0,1033 \pm 0,009645e, H=0,1356 \pm 0,01891e, HO=0,08729 \pm 0,00624e, HOR=0,1949 \pm 0,009616f,g, HOT=0,09113 \pm 0,002149, HORT=0,09115 \pm 0,004322. Níveis de NAG Rim Esquerdo – S=0,0345 \pm 0,001832, O=0,02406 \pm 0,003233f, H=0,03342 \pm 0,007385, HO=0,08729 \pm 0,006240, HOR=0,02877 \pm 0,006735f, HOT=0,06204 \pm 0,01057g, HORT=0,03364 \pm 0,03061. Níveis de MPO no Rim Esquerdo – S=0,03321 \pm 0,0009761, O=0,02387 \pm 0,00263f, H=0,00,03756 \pm 0,003933f, HO=0,03581 \pm 0,01151f, HOR=0,03499 \pm 0,005371f, HOT=0,06796 \pm 0,008038g, HORT=0,03976 \pm 0,004398. Níveis de MPO em gastrocnêmio vermelho – S=0,1614 \pm 0,01077, O=0,1366 \pm 0,001991, H=0,01308 \pm 0,01898, HO=0,01555 \pm 0,2731, HOR=0,06504 \pm 0,01388g, HOT=0,1643 \pm 0,03101, HORT=0,1643 \pm 0,03101. Como conclusão, observou-se que, com o exercício físico de alta intensidade associado às patologias estudadas, a modulação da resposta imunológica, baseada na polarização mediada por macrófagos, exerceu um efeito pró-inflamatório, devido ao maior recrutamento de neutrófilos e macrófagos, sendo que a restrição calórica ameniza tal efeito, principalmente a nível muscular.

COLD PLASMA NO REPARO DE LESÕES CUTÂNEAS EXCISIONAIS EM RATOS INDUZIDOS AO DIABETES

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

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

³Surface - Engenharia e Soluções a Plasma Ltda.

Complicações na cicatrização associadas ao diabetes são crescentes, sendo importante a busca por terapêuticas cicatrizantes eficazes. O Cold Plasma tem gerado resultados promissores no reparo tecidual de diferentes etiologias. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do Cold Plasma no reparo de lesões cutâneas excisionais em ratos diabéticos. Aprovado pelo CEUA-FHO|Uniararas (n. 061/2017). Como método, 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 200mg/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 min, 30kHz, 50W, 1,0L/min de gás argônio). As lesões foram fotografadas no início e fim do seguimento, para quantificação da área da lesão pelo ImageJ, para posteriormente calcular a reepitelização pelo ICU-índice de cicatrização das úlceras, por meio da fórmula [(área inicial-área final)/área inicial]. Foram coletadas amostras da área da lesão no 2º, 7º, 14º e 21º dias (n=6/grupo/tempo), para serem posteriormente analisadas por histomorfometria (HE e tricrômio de Gomori), o infiltrado inflamatório, angiogênese, fibroplasia e colagênese, dosagem da mieloperoxidase (MPO-neutrófilo), N-acetilglicosaminidase (NAG-macrófago), TBARS (oxidantes), -SH (antioxidantes), HO-Pro (hidroxiprolina: colágeno), GAG (glicosaminoglicanos), Western blotting (TGF- β 1, VEGF, colágenos III e I) e imunistoquímica (IL-10, IL-1 β). Os resultados (MED \pm SEM) foram analisados pelo t-Student, ANOVA/Tukey (p<0,05).

COLD PLASMA NO REPARO DE QUEIMADURA CUTÂNEA EM RATOS INDUZIDOS AO DIABETES

SILVA, J. I. S.^{1,2}; LOPES, B. B.³; BAGNE, L. L.^{1,2}; PEREIRA, A. T.^{1,2}; OLIVEIRA, M. A.^{1,2}; LIMA, L.^{1,2};
WILTNER, R.^{1,2}; SANTOS, G. M. T.^{1,2}; ANDRADE, T. A. M.^{1,2}.

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

³Surface - Engenharia e Soluções a Plasma Ltda.

Complicações na cicatrização associadas ao diabetes são crescentes, sendo importante a busca por terapêuticas cicatrizantes eficazes. O Cold Plasma tem gerado resultados promissores no reparo tecidual de diferentes etiologias. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do Cold Plasma no reparo de queimaduras cutâneas dorsais em ratos diabéticos. Aprovado no CEUA-FHO|Uniararas (n. 030/2017). O diabetes foi induzido em 48 ratos Wistar (± 300 g), utilizando 45mg/kg de aloxana intravenosa. A glicemia foi aferida sete dias pós-indução e incluídos animais com glicemia acima de 200mg/dL. Foram realizadas queimaduras dorsais de 2,0 cm de diâmetro por 20s, à 120°C. Os grupos foram SHAM: queimaduras tratadas topicamente por todos os dias, com aparelho desligado; e CP: Cold Plasma (1,0min, 30kHz, 50W, 1,0L/min de gás argônio). Foram coletadas amostras da área de lesão no 2º, 7º, 14º e 21º dias (n=6/grupo/tempo) para análise histomorfométrica (HE/TG) do infiltrado inflamatório, fibroplasia, angiogênese e colagênese, dosagem da mieloperoxidase (MPO-neutrófilo), N-acetil-glicosaminidase (NAG-macrófago) e -SH (tióis-reduzidos, antioxidantes). Os resultados (MED \pm SEM) foram analisados pelo t-Student, ANOVA/Tukey (p<0,05). O CP-14d apresentou maior infiltrado inflamatório em relação ao 2º e 21º dias. O CP no 2º, 7º e 14º dias apresentou menos neutrófilos em relação ao SHAM. A NAG indicou que o CP-14d apresentou menos macrófagos que o SHAM. Quanto ao -SH, o CP foi superior ao SHAM-2d. O CP-14d apresentou maior angiogênese em relação ao SHAM e ao CP no 2º, 7º e 21º dias. Quanto à fibroplasia, o CP no 7º, 14º e 21º dias foi superior ao SHAM. O CP apresentou maior colagênese no 14º dia e 21º dia em relação ao SHAM. O Cold Plasma apresentou importante estímulo à cicatrização tecidual, controlando a inflamação, aumentando a angiogênese, fibroplasia e colagênese ao longo do seguimento e os antioxidantes no 2º dia, tornando promissor no reparo de queimaduras cutâneas associadas ao diabetes.

CROTAMINA EM HIDROGEL DE HIDROXIETILCELULOSE ACELERA CICATRIZAÇÃO DE ÚLCERAS CUTÂNEAS

GENARI, M. C.^{1;2}; ALFÂNDEGA, A. A. A.^{1;2}; SILVESTRINI, A. V. P.³; MACEDO, L. H.³; VITI, T. M.^{1;2}; GOMES, A. B.^{1;2}; ANDRADE, T. A. M.^{1;2}; CAETANO, G. F.^{1;2}; MAZZI, M. V.^{1;2}.

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

³Escola de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo - FCFRP-USP.

A cicatrização de lesões cutâneas é um processo complexo de reparação, que envolve mecanismos inflamatórios, proliferativos e remodelamento tecidual. Demonstramos, em nosso laboratório, que uma molécula isolada do veneno de *Crotalus durissus terrificus* (Crotamina-CTM) induz *in vitro* e *in vivo* significativa migração celular e redução da área de lesões cutâneas, respectivamente. Por interferir nesses processos pontos-chave na cicatrização, a molécula oferece a possibilidade de ação específica em diferentes vias de reparo e sinalização celular. Este trabalho objetivou (1) avaliar o potencial do peptídeo isolado como agente imunomodulador e cicatrizante, por meio das abordagens de terapia peptídica *in vitro* e em modelo animal; (2) compreender os mecanismos pelos quais o peptídeo desencadeia a resposta na proliferação celular e tecidual; e (3) investigar o envolvimento desse peptídeo na promoção de imunofenótipos em modelos experimentais de fibroblastos e queratinócitos. Como metodologia, realizou-se a análise do perfil de resposta no processo de reparo tecidual, *in vivo*, utilizando ratos machos Wistar, e em cultura de células de queratinócitos humanos (HaCaT) e fibroblastos de camundongos (3T3). Os animais foram separados em grupos controles e tratados, sendo SHAM (gel de hidroxietilcelulose); e CTM (0,05% e CTM 0,1%). A eficiência da formulação foi monitorada por meio das análises morfológicas, físico-químicas e cinética de liberação do peptídeo. Nos resultados, as análises funcionais incluíram quantificação da resposta imunológica local e sistêmica, avaliação da imunomodulação e capacidade proliferativa em modelo animal. Mecanismos moleculares, temporais e os efeitos sobre a dinâmica cicatricial foram avaliados por microscopia e imunoblotting. Parâmetros bioquímicos (MPO e NAG) teciduais foram determinados por espectrofotometria. Neste trabalho, esperou-se contribuir para a elucidação de novos mecanismos e desenvolvimento de estratégias terapêuticas dirigidas a úlceras teciduais, com perspectiva de aplicação específica de componentes ativos dos venenos de *Crotalus durissus terrificus* no tratamento de úlceras cutâneas.

CROTOXINA, UMA FOSFOLIPASE A₂ ISOLADA DO VENENO DE *C. durissus terrificus* APRESENTA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA SOBRE *Candida spp* DE INTERESSE PERIODONTAL

CANELLI, A.^{1;2}; FURLETTI, V.^{1;2}; MAZZI, M. V.^{1;2}.

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

A crottoxina (CTX), uma β -neurotoxina isolada do veneno da serpente *Crotalus durissus terrificus*, é um complexo proteico heterodimérico de duas subunidades diferentes, compreendendo uma fosfolipase A₂, componente B (CB) básico e fracamente tóxico, e um ácido, tóxico, componente A (CA). Apesar de seus efeitos neurotóxicos e miotóxicos, tanto a crottoxina nativa quanto suas subunidades isoladas possuem diversas propriedades farmacológicas, como atividades antimicrobiana, antitumoral e imunomoduladora. O objetivo desta proposta foi avaliar o efeito citotóxico da CTX sobre *Candida dubliniensis*, *Candida albicans* e *Candida tropicalis*. Para este estudo, a CTX foi submetida à análise química por cromatografia e espectrometria de massa. Para determinar a sua Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM) foi utilizada a contagem de unidades formadoras de colônia (UFC). Assim, a CTX foi isolada em duas etapas cromatográficas, por cromatografia de exclusão usando uma coluna de DEAE-celulose, seguido de cromatografia de bioafinidade em coluna de Heparin-Sepharose FF. O grau de pureza do peptídeo foi confirmado por SDS-PAGE e MALDI-MS/MS. A CTX apresentou atividade antifúngica contra *Candida dubliniensis* (CIM e CFM: 23,4 μ g / mL), *Candida albicans* (MIC: 187,5 μ g / mL e MFC: 1500 μ g / mL com 26 UFC) e *Candida tropicalis* (MIC e MFC: 11,7 μ g / mL com 65 UFC). Concluiu-se que esses resultados corroboram a hipótese de que, além do potencial citotóxico contra *Candida spp*, a CTX pode contribuir para o conhecimento de suas propriedades antibióticas, bem como sua possível utilização na infecção oral, particularmente na clínica odontológica.

EFEITO DA FOTOBIMODULAÇÃO NA ORGANIZAÇÃO TECIDUAL DA CARTILAGEM ARTICULAR DO JOELHO DE RATOS ADULTOS NA ARTRITE MICROCRISTALINA EXPERIMENTAL

FELIZATTI, A. L.^{1;2}; BOMFIM, F. R. C.^{1;2}; BOVO, J. L.^{1;2}; AMARAL, M. E. C.^{1;2}; ARO, A. A.^{1;2}; ESQUISATTO, M. A. M.^{1;2}.

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

Este estudo teve por objetivo examinar os efeitos da fotobimodulação, utilizando GaAs ($\lambda=830\text{nm}$) e InGaAlP ($\lambda=670\text{nm}$), sobre a cartilagem articular do joelho de ratos Wistar adultos (~200g) afetados por artrite microcristalina experimental (CEUA–FHO|Uniararas – n. 048/2015). Quatro grupos de dezoito animais: A (controle), B (artrite induzida), C (artrite induzida+laser GaAs) e D (artrite induzida+laser InGaAlP). Os animais de B a D foram anestesiados e a artrite foi induzida por injeção intra-articular de Na₄P₂O₇ (4mg/mL) no joelho direito (2x-24h). Os tratamentos com AsGa (DE=18J/cm², Potência=40mW, Energia=0,36J, Feixe=0,02cm²/9s) e InGaAlP (DE=13,5J/cm², Potência=30mW, Energia=0,27J, Feixe=0,02cm²/12s) foram aplicados diariamente na região patelar do joelho direito, após 48 horas da indução. Após 7, 14 e 21 dias de tratamento, os animais foram eutanasiados e as articulações foram removidas e processadas para a análise histomorfométrica, imuno-histoquímica e ultraestrutural da cartilagem articular do fêmur (F) e da tíbia (T). Os dados quantitativos foram comparados por ANOVA e pós-teste de Tukey ($p<0,05$). A T e F do grupo B apresentaram redução na basofilia da matriz extracelular aos 14 e 21 dias. A espessura de F e T do grupo B foi significativamente maior que os outros. O número de condrócitos foi menor em B em relação aos demais em todos os períodos experimentais. O número de condrócitos marcados para a reação TUNEL foi maior em B do que nos demais aos 14 e 21 dias. A área ocupada pelas fibras colágenas birrefringentes foi maior em A em todos os períodos experimentais. A análise ultraestrutural mostrou em B, aos 14 e 21 dias, vários condrócitos com características apoptóticas e numerosas vesículas com material amorfo na matriz territorial. C e D apresentaram características semelhantes a B no 14º dia e semelhantes a A no 21º dia. A laserterapia preserva a basofilia da matriz, reduz as alterações celulares nos condrócitos e melhora os parâmetros teciduais em relação aos não-tratados.

EFEITOS DA MICROCORRENTE SOBRE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS E FIBROBLASTOS NA CICATRIZAÇÃO *IN VITRO*

DEZOTTI, D.^{1;2}; FUJII, L.^{1;2}; ANDRADE, T. A. M.^{1;2}; SANTOS, G. M. T.^{1;2}; ARO, A. A.^{1;2}.

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

O reparo tecidual é um processo biológico que envolve vários fatores sistêmicos e locais, com o qual ocorrem complexas interações para que a integridade tecidual se restabeleça. O modelo de cicatrização *in vitro* denominado *scratch assay* é um ensaio que se baseia na criação de um “arranhão” na monocamada de células que, uma vez separadas, irão mover-se em direção ao arranhão para o fechamento deste. Assim, é possível estudar, isoladamente, a migração e proliferação celular, a secreção de diversas moléculas sinalizadoras, bem como o perfil de expressão de genes envolvidos no fechamento do arranhão. Células-tronco mesenquimais derivadas de tecido adiposo (CTMA) vêm sendo aplicadas no reparo tecidual devido à sua multipotência e potencial parácrino e imunomodulatório, com o objetivo de tornar o processo de reparo mais efetivo. Sabe-se que as funções fisiológicas dos tecidos biológicos são intermediadas por correntes elétricas endógenas e que possuem intensidade na faixa de microamperes (μA). Assim, estimulações elétricas exógenas teriam maiores efeitos se fossem realizadas com intensidades semelhantes às das correntes endógenas. A terapia com estimulação por microcorrente (MC) pode, então, ser vista como catalisadora nos processos iniciais e de sustentação de numerosas reações químicas e elétricas que ocorrem no processo cicatricial. A MC desencadeia uma série de eventos que resultam na proliferação celular, no aumento da síntese de colágeno e de outras proteínas na contração da ferida, na neovascularização, no aumento da permeabilidade das membranas celulares e na normalização da bioeletricidade tecidual. Sendo assim, o objetivo do presente projeto é estudar o efeito da MC sobre fibroblastos cocultivados com as CTMA no modelo de cicatrização *in vitro*. Para isso, foram analisados os seguintes parâmetros: taxa de migração e viabilidade celular, assim como o perfil da expressão de genes relacionados a apoptose, proliferação, migração e a diferenciação celular, assim como genes relacionados ao remodelamento da matriz extracelular.

EFEITOS DA NICOTINAMIDA NO METABOLISMO DE FÊMEAS OVARIECTOMIZADAS

LIMA, N. C. G. C.^{1;2}; AMARAL, M. E. C.^{1;2}; SOUZA, S. A. R.^{1;2}; RIZZI, J. S.^{1;2}; VIEIRA, B. S.^{1;2}.

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

A transição na menopausa com níveis decrescentes de estrogênio afeta consideravelmente as características fisiológicas das mulheres, conseqüentemente, participa no aparecimento de uma série de condições médicas, incluindo a obesidade. Esse hipostrogenismo que ocorre na menopausa está ligado ao ganho de peso e à diminuição do gasto energético, e ainda está associado à obesidade central, à resistência à insulina e aos grandes riscos de doenças cardiovasculares. A Vitamina B3 (niacina ou nicotinamida) é uma molécula precursora de NAD⁺, a qual é essencial para o funcionamento do organismo e de extrema importância para as funções que garantem o metabolismo celular e energético adequados, sendo também um ativador de sirtuínas. As sirtuínas são enzimas que desempenham funções relacionadas com o metabolismo e longevidade. Elas têm sido conhecidas por desempenharem funções extremamente importantes para a longevidade em ratos e modelos experimentais. Estudos atuais tiveram resultados positivos quanto à ativação da SIRT1, a qual pode prevenir obesidade induzida em camundongos. Este efeito foi obtido aumentando a concentração de NAD⁺ em células e tecidos essencialmente através de suplementação dietética de precursores NAD⁺ adequados. Este estudo visou compreender a ação da nicotinamida, como precursor de NAD⁺, na ativação das Sirtuínas (SIRT1 e SIRT3) no metabolismo de ratas ovariectomizadas. O trabalho foi aprovado pelo Centro de Experimentação em Uso Animal, Parecer n. 071/2017. Foi realizada a ovariectomia, que consiste na retirada dos ovários. Dentre as análises feitas estão a hemoglobina glicosilada, contagem diferencial de leucócitos, Ip.ITT (teste de tolerância intraperitoneal à insulina), Ip.GTT (teste de tolerância intraperitoneal à glicose), dosagem de insulina, determinação dos conteúdos de glicogênio hepático e muscular, índice de Lee, eficiência alimentar e análises de proteínas pela técnica de Western Boltting. Espera-se que a suplementação com a Nicotinamida possa se mostrar uma terapia alternativa nutricional (que não a reposição hormonal), que possa reduzir de forma segura as conseqüências da deficiência de estrógeno.

EFEITOS DA PREGABALINA SOBRE AS EROS NOS MÚSCULOS DISTRÓFICOS DE CAMUNDONGOS *MDX*

SILVA, G. I. P.^{1;2}; FRANCO, L. S.^{1;2}; FERREIRA, J. S.^{1;2}; GEROTTO JUNIOR, L. C.^{1;2}; CARVALHO, S. C.^{1;2}.

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

A distrofia muscular de Duchenne (DMD) é caracterizada pela perda progressiva do músculo esquelético devido à ausência da proteína distrofina, uma das proteínas do complexo distrofina-glicoproteínas. A falta da distrofina desencadeia o processo de degeneração muscular, através do aumento da inflamação e influxo de íons cálcio (Ca²⁺), para o interior da fibra muscular. Nos pacientes da DMD, e em seu modelo experimental, o camundongo *mdx*, o influxo alterado de Ca²⁺ ativa cascatas de sinalização dependentes de cálcio, como as que envolvem proteases e espécies reativas de oxigênio (EROs). As proteases e as EROs causam lesões no sarcolema, portanto necrose da fibra muscular, agravando a progressão da doença. A pregabalina tem atividade bloqueadora de canais de cálcio por exercer atividade através da sua ligação à subunidade auxiliar $\alpha 2\delta 1$, do canal de cálcio voltagem dependente. No presente projeto, investigou-se o tratamento diário (14^º – 30^º dia de vida) com a pregabalina (via gavagem – 20mg/Kg) protege a fibra muscular da degeneração causada pelas EROs. Para tanto, avaliou-se a expressão proteica de enzimas antioxidantes (SOD-1, SOD-2, 4HNE e LC3B), nos músculos diafragma e cardíaco, de animais controles e distróficos jovens.

EFEITOS DA RESTRIÇÃO CALÓRICA SOBRE BIOMARCADORES HEPÁTICOS DA COMUNICAÇÃO INTERCELULAR, FIBROPROLIFERATIVOS E ANTIFIBRÓTICOS NA HIPERTENSÃO E OBESIDADE

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

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

A restrição calórica (RC) moderada diminui a incidência de doenças, como as cardiovasculares, e previne a obesidade, muitas vezes causadora de graves doenças hepatocelulares, levando à hipertensão. Alterações microvasculares modificam a comunicação celular mediada por conexinas, podendo resultar no processo biológico chamado transição epitélio-mesênquima (EMT). Na EMT, células epiteliais perdem a aderência célula-célula, mediada por caderinas, e adquirem características mesenquimais, contribuindo para a diferenciação tecidual, podendo causar fibrose, como no reparo de tecidos lesados devido à hipertensão. O estudo avalia o efeito da RC sobre biomarcadores envolvidos na comunicação intercelular, fibroproliferativos e antifibróticos em fígado de ratos hipertensos e obesos. O procedimento experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Uso Animal, do Centro Universitário Hermínio Ometto, n. 042/2016. A hipertensão renovascular, modelo 2 rins, 1 Clipe (2K1C), foi estabelecida nos animais após duas semanas de cirurgia. A pressão arterial foi aferida semanalmente, por pletismografia caudal, durante as 14 semanas experimentais. Os animais foram divididos em três grupos: Grupo Sham (n=5), normotensos, alimentados com dieta comercial padrão *ad libitum*; hipertensos, alimentados com dieta hiperlipídica *ad libitum* por 12 semanas (OH= 6); hipertensos, alimentados com dieta hiperlipídica por oito semanas, seguida de RC 40% por quatro semanas (OHR= 6). Após a eutanásia dos animais e retirada do fígado, o RNA foi extraído e convertido em cDNA para análise da expressão dos genes Cx32, Cx37, Cx40, Cx43, E-cad, N-cad, α -SMA, COL1A1, COL1A3, MMP2, TIMP1, TIMP2, CTGF, BMP7, Smad2, Smad3, Smad7, CK19, HSP70, MnSOD, GSTM1, TGF- β 1 e HGF por RT-PCR semiquantitativo. Western Blotting foi utilizado para análise proteica dos genes E-cad, α -SMA, BMP-7 e TGF- β 1. Cortes histológicos do fígado foram corados com Tricômio de Mallory, para análise da área ocupada por hepatócitos e fibras colágenas. As análises morfométricas do tecido foram feitas pelo *software* Image J® e as análises estatísticas pelo *software* GraphPad Prism®.

EFEITOS DA RESTRIÇÃO CALÓRICA SOBRE O METABOLISMO DE LIPÍDEOS NA HIPERTENSÃO RENOVASCULAR EXPERIMENTAL 2K1C EM RATOS OBESOS

MOSCA, P. C.^{1,2}, OLIVEIRA, C. A.^{1,2}.

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

Dietas com densidade nutricional elevada e o sedentarismo são fatores que contribuem para o desenvolvimento da obesidade, doenças cardiovasculares e desordens metabólicas. Dentre as estratégias existentes para o manejo dessas doenças, a restrição calórica (RC) tem se mostrado promissora. Assim, estudamos os efeitos bioquímicos de uma dieta hiperlipídica no metabolismo do colesterol e ácidos graxos em animais hipertensos submetidos à RC. A hipertensão arterial foi induzida pelo modelo 2 rins, 1 clipe (CEUA 042/2016) e os ratos Wistar machos foram divididos em três grupos: Sham, normotensos, tratados com dieta normolipídica *ad libitum*; OH, hipertensos, dieta hiperlipídica por 12 semanas *ad libitum*; OHR, hipertensos, dieta hiperlipídica por oito semanas seguida de RC de 40% por quatro semanas. As análises bioquímicas realizadas foram ácidos graxos, LDL-c e HDL-c. Houve aumento do peso corpóreo do grupo OH em relação ao grupo Sham, enquanto que o grupo OHR apresentou peso corpóreo inferior. O grupo OH apresentou pressão arterial sistólica superior ao grupo Sham, já o grupo OHR apresentou discreta elevação da pressão em relação ao grupo Sham e inferior ao OH. O grupo OHR apresentou níveis séricos de ácidos graxos livres superior ao grupo Sham, assim como níveis elevados de LDL-c vs Sham e OH. Os grupos OH e OHR apresentaram maior ingestão calórica e de gorduras totais em relação ao grupo Sham. O grupo OH apresentou uma média de ingestão de gorduras totais de 80g, 140g de carboidratos e 80g de proteínas. O grupo OHR demonstrou uma ingestão média de gorduras totais de 55g, 97g de carboidratos e 55g de proteínas. Já o grupo Sham apresentou uma ingestão de gorduras de 32g, 103g de proteínas e 280g de carboidratos. Os resultados demonstraram que a RC apresenta efeitos benéficos nos parâmetros bioquímicos e que dietas hiperlipídicas podem acarretar alterações na composição corpórea e metabólicas.

EFICÁCIA DA CORRENTE ELÉTRICA NA MALHA COMPOSITA DE PCL COM β -TCP OBTIDA POR PROCESSO DE ROTOFIAÇÃO COMO BIOMATERIAL PARA ENXERTIA ÓSSEA

MENEGHETTI, D. H.^{1;2}.

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

Diferentes terapias, usadas separadamente ou combinadas, têm sido utilizadas na prática clínica para melhorar a qualidade da consolidação do osso. O desenvolvimento de novos materiais osteoindutores e osteocondutores biocompatíveis e a busca pela estimulação endógena mais efetiva no reparo ósseo são estratégias que visam a favorecer ainda mais a neoformação óssea. O objetivo deste trabalho foi avaliar a efetividade da aplicação de corrente elétrica sobre *scaffolds* de PCL/ β -TCP5% obtida por rotofiação na regeneração de defeitos ósseos na calvaria. Para a pesquisa, foram utilizados 120 ratos Wistar, com 120 dias/300g, com defeitos ósseos induzidos, divididos em quatro grupos (n=30): (C) sem tratamento; (MC) tratados com estimulação elétrica 10 μ A/5min; (S) preenchidos com *scaffold* de PCL/ β -TCP5%; (MC+S) preenchidos com *scaffold* de PCL/ β -TCP5%, tratados com estimulação elétrica 10 μ A/5min. O *scaffold* foi obtido pelo processo de rotofiação. A eutanásia ocorreu no 30^o, 60^o e 90^o dia de tratamento com aprofundamento anestésico para análises histomorfométricas, histoquímicas, imuno-histoquímicas e Western Blotting. Situações clínicas que envolvem fraturas com grande perda de tecido ósseo inviabilizam a regeneração do osso. É importante investigar técnicas e métodos que visam à reconstrução total do defeito ósseo, e a enxertia combinada a diferentes biomateriais pode estimular o processo de reparo. Embora a estimulação elétrica venha sendo utilizada há longo tempo, sua aceitação terapêutica necessita de investigações acadêmicas e clínicas. Há necessidade de se estabelecer parâmetros elétricos de intensidade, frequência e tempo de aplicação na utilização dessa técnica no reparo de diferentes tecidos; como também estudar sua ação nos diferentes elementos celulares e moleculares que participam da modelação e remodelação óssea, para que se estabeleça uma prática clínica eficaz. CEUA/FHO|Uniararas (058/2015).

ELETROESTIMULAÇÃO MAGNÉTICA.

CHARACTERIZATION OF OSTEOGENIC PROFILE IN BONE DEFECTS WITH GRAFTING SUBMITTED TO THERAPY WITH LOW-INTENSITY ELECTRIC CURRENT AND MAGNETIC ELECTROSTIMULATION

BAGNE, L.^{1;2}; PEREIRA, A. T.^{1;2}; OLIVEIRA, M. A.^{1;2}; OLIVEIRA, C. A.^{1;2}; AMARAL, M. E. C.^{1;2};
CAETANO, G. F.^{1;2}; SANTOS, G. M. T.^{1;2}; ANDRADE, T. A. M.^{1;2}; ESQUISATTO, M. A. M.^{1;2};
MENDONÇA, F. A. S.^{1;2}; SANTAMARIA JUNIOR, M.^{1;3}.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas;
³Programa de Pós-graduação em Ortodontia.

The bone has high capacity for repair and regeneration. Large bone defects represent a significant health problem and one of the greatest clinical challenges in reconstructive bone surgery. The development of new biocompatible materials and the search by the more effective endogenous stimulation in the bone repair are the strategies most used in the studies. Biomaterials used as bone substitutes and combined with bioinducing techniques can provide promising results in bone repair. It was intended to compare the effects of the application of microcurrent and magnetic stimulation in the repair of bone defects that require grafting. Two hundred and seventy male Wistar rats (90days, \pm 350g) were divided into nine groups (n=30). In all animals a critical defect of 25 mm² was generated in the calvaria using a piezoelectric system. The groups were: SHAM - no treatment; BV - filled with bioglass graft; OB - filled with bovine bone matrix graft; MC - treated with microcurrent; MS - treated with magnetic stimulation; BV+MC - treated with graft and microcurrent; BV+MS - treated with graft and magnetic electrostimulation; OB+MC - treated with graft and microcurrent; OB+MS - treated with graft and magnetic electrostimulation. Ten animals per group were euthanized at 30, 60 and 120 days for sample collection. Three samples were used for histomorphometric analysis (histology, histochemistry, immunohistochemistry and immunofluorescence), fixed and processed by the Morse's protocol; and seven samples were used for molecular analyzes (Western blotting and PCR), frozen in a freezer at -80°C (CEUA: 010/2017). It is expected to characterize the cellular and molecular responses of the different biomaterials and their performance under the different treatments with electrical stimulation. In addition, it is intended to demonstrate that osteoinductive agents - microcurrent and magnetic stimulation - applied in bone defects that require grafting positively modulate the bone repair process, complement graft performance and accelerate bone neoformation.

EXERCÍCIO FÍSICO DE ALTA INTENSIDADE X RESTRIÇÃO CALÓRICA: ALTERAÇÕES NO ESTADO REDOX DAS FIBRAS MUSCULARES EM RATOS 2K1C SUBMETIDOS À DIETA HIPERLIPÍDICA

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

¹Centro Universitário Hermínio Ometto, ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas.

A hipertensão arterial está relacionada às doenças cardiovasculares causadas pela disfunção endotelial e presença de espécies reativas de oxigênio. A obesidade contribui com o aumento do fluxo de lipídeos no sangue, formando ateromas, que podem causar hipertensão; os elevados níveis de lipídeos favorecem maior peroxidação lipídica. Estudos observam o comportamento do exercício físico e da restrição calórica, aumentam a atividade de enzimas antioxidantes e podem estar relacionados ao estado redox dessas fisiopatologias. O objetivo deste estudo foi analisar o efeito do treinamento físico de alta intensidade associado à restrição calórica no estado redox do músculo estriado esquelético em ratos hipertensos tratados com dieta hiperlipídica. Para o estudo, foram utilizados ratos Wistar, (180/200g), divididos em sete grupos – (Sham): submetidos à laparotomia, sem introdução do clipe (n=4); (H): hipertensos (n=6); (O): dieta hiperlipídica (n=6); (HO): hipertensos com dieta hiperlipídica (n=6); (HOR): hipertensos com dieta hiperlipídica e restrição calórica (n=6); (HOT): hipertensos com dieta hiperlipídica e exercício físico (n=6); (HORT): hipertensos com dieta hiperlipídica, restrição calórica e exercício físico (n=6). A indução da hipertensão arterial foi realizada por meio da colocação de um clipe de prata, com abertura de 0,2 milímetros, sobre a artéria renal esquerda. A dieta hiperlipídica foi iniciada após a comprovação do estado hipertenso, contendo 45% da sua composição na forma de lipídios, por oito semanas de forma *ad libitum*. Os demais animais receberam dieta padrão para roedores. A restrição calórica foi administrada durante quatro semanas, com a qual receberam 60% do total ingerido pelos animais controles respectivos a cada dieta, portanto, adotando uma restrição de 40%. Decorridas as 14 semanas, os grupos treinados foram submetidos ao exercício de natação durante quatro semanas, suportando sobrecargas progressivas de chumbo atadas ao tórax. O tempo de execução do protocolo foi inversamente proporcional ao peso da carga. Ao término, os animais foram eutanasiados, os tecidos musculares gastrocnêmio branco, vermelho e sóleo foram coletados para a análise bioquímica (Tbars e grupos SH). Os resultados foram analisados pelo teste de variância (ANOVA) e Tukey post-test ($p < 0,05$) expressos como média±erro padrão. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da FHO|Uniararas (042/2016). Os resultados foram – Níveis do Tbars (mmol Tbars/mg tecido) no gastrocnêmio vermelho: Sham=26957±1588, H=28515±416, O=26127±2122, HO=19317±155, HOR=27581±1037, HOT=38044±6793d, HORT= 39766±4437d; gastrocnêmio branco: Sham=15604±2010, H=15890±819, O=18284±1507, HO=14260±1067, HOR=14579±1111, HOT=9462±734c, HORT=14536±2138; sóleo: Sham=18236±2492, H=18943±1346, O=9841±1128, HO=8272±2672, HOR=24969±2440c,d, HOT= 11462±2537, e HORT=18213±3455. Níveis de grupos SH nas fibras musculares não apresentaram diferenças estatísticas. Concluiu-se que foi observado maior efetividade do treinamento de alta intensidade nas fibras mistas no aumento da peroxidação lipídica, possivelmente pelo aumento da atividade mitocondrial. Em músculos com predominância oxidativa, a restrição calórica provocou aumento da peroxidação, provavelmente pela diminuição do aporte de substratos energéticos que diminuiu a atividade mitocondrial, por outro lado, o exercício físico diminuiu a razão ATP/ADP, permitindo melhor acoplamento da mitocondrial e, conseqüentemente, diminuição da peroxidação.

HIDROGEL DE HIDROXIETIL CELULOSE-CROTOXINA: AVALIAÇÃO COMO UM AGENTE PROMOTOR BIORRESPONSIVO NA CICATRIZAÇÃO

ALFÂNDEGA, A. A. A.^{1,2}; GENARI, M. C.^{1,2}; SILVESTRINI, A. V. P.³; MACEDO, L. H.³; VITI, T. M.^{1,2};
GOMES, A. B. S. P.^{1,2}; LIMA, N. C. G. C.^{1,2}; AMARAL, M. E. C.^{1,2}; ANDRADE, T. A. M.^{1,2};
CAETANO, G. F.^{1,2}; MAZZI, M. V.^{1,2}.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas; ²Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas;
³Universidade de São Paulo, USP-FCFRP.

Um dos mecanismos propostos para explicar os efeitos biológicos de vários peptídeos isolados de venenos de serpentes consiste nas interações específicas dessas moléculas com subtipos de receptores biológicos expressos em células normais e/ou tumorais e indução de efeitos sobre processos apoptóticos, angiogênese e adesão. Novas abordagens, assim como uma caracterização mais refinada de sua aplicação farmacológica, são fundamentais para identificar o peptídeo como potencial agente no desenvolvimento de bioprodutos farmacêuticos para futuros ensaios clínicos. Dessa maneira, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da crototoxina (CTX) isolada do veneno de *Crotalus durissus terrificus* no processo de reparo tecidual em ratos Wistar. A análise do perfil de resposta no processo de reparo tecidual foi realizada *in vivo*, utilizando ratos machos Wistar e em cultura de células de queratinócitos humanos (HaCaT) e fibroblastos de camundongos (3T3). Os animais foram separados em grupos controles e tratados, sendo SHAM (gel de hidroxietilcelulose 1%); Crtx 0,025%; Crtx 0,05%; Crtx 0,075%; Crtx 0,1%; Crtx 0,15%. Todas as concentrações da Crtx foram preparadas em gel de hidroxietilcelulose 1%. Como resultados, no estudo *in vivo* foram analisados o índice de cicatrização das úlceras (ICU) e análise histológica de infiltrado inflamatório, vasos sanguíneos, colágeno e fibroblastos. Nas análises *in vitro* foram determinados o grau de citotoxicidade (MTT), migração e proliferação celulares (*stretching*) da CTX. Como conclusão, acredita-se que os resultados obtidos ampliam os conhecimentos sobre a relação estrutura/função da crototoxina em sistemas biológicos, e de seu possível aproveitamento na pesquisa para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos.

**ÍNDICE DE CICATRIZAÇÃO DE ÚLCERAS TRATADAS COM *Azadirachta indica* A. Juss.
EM RATOS WISTAR DIABÉTICOS E NÃO DIABÉTICOS**

SILVA, A. C. C.^{1;2}; TORREZAN, M.^{1;2}; RODRIGUES, A. L.^{1;2}; MARIANO, S. S.^{1;2}; EUGÊNIO, A. N.^{1;2};
GASPI, F. G.^{1;2}; ESQUISATTO, M. A. M.^{1;2}; MENDONÇA, F. A. S.^{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 torna importante a pesquisa por métodos alternativos que auxiliem a restauração dos tecidos. Neste estudo, avaliou-se o Índice de Cicatrização de Úlceras (ICU) tratadas com aplicação do extrato de *Azadirachta indica* no reparo tecidual de lesões em ratos diabéticos e não diabéticos (CEUA – FHO|Uniararas: 025/2017). Foram utilizados 60 ratos não diabéticos e 60 induzidos ao diabetes (150 mg/kg de aloxana intravenoso) que, após 30 dias da indução, apresentaram glicemia acima de 200 mg/dL. Para a produção das lesões, após a anestesia, utilizou-se um *punch* metálico (15mm). Os animais foram divididos em: (C) não diabéticos, tratados topicamente com gel de carbopol; (N) não diabéticos, tratados com o extrato de *A. indica*; (DM-C) diabéticos, tratados com gel de carbopol; (DM-N) diabéticos, tratados com o extrato de *A. indica*. Amostras foram coletadas no 2º, 7º e 14º dias após a lesão para análise do ICU (área inicial - área final/área inicial) calculada pelo ImageJ. Os resultados foram comparados por ANOVA e pós-teste de Tukey ($p < 0,05$) e expressos como média ± erro padrão. Observou-se que houve diferença no 14º dia experimental, onde as úlceras dos animais não diabéticos, tratados e não tratados [N ($p = 0,0008$) e C ($p = 0,0016$), respectivamente], apresentaram reepitelização superior em relação aos animais diabéticos tratados com o extrato (DM-N). Quando se comparou a ICU dos animais diabéticos tratados e não tratados não se observou diferença. O extrato hidroalcoólico de *A. indica* favoreceu a reepitelização das úlceras no período final do reparo tecidual nos animais não diabéticos que apresentaram melhores índices de cicatrização quando comparado aos diabéticos tratados e não tratados. Diante desses resultados preliminares desse modelo experimental, podem-se evidenciar possíveis efeitos adversos do fitoterápico relacionados à cicatrização nos diabéticos, mas que não ocorre entre os não diabéticos, cuja cicatrização foi favorecida com o tratamento.

INVESTIGAÇÃO DO EFEITO DO JEJUM INTERMITENTE NA MODULAÇÃO DAS SIRTUÍNAS EM CAMUNDONGOS OBESOS INDUZIDOS POR DIETA

CAMARGO, A. O.^{1;2}; AMARAL, M. E. C.^{1;2}; OLIVEIRA, C. A.^{1;2}; CARVALHO, S. C. E.^{1;2}; THOMAZINI, B. F.^{1;2}.

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

A obesidade e o sobrepeso têm se tornado um dos maiores problemas de saúde pública no mundo. A atividade física e as modificações na alimentação podem ajudar a controlar o excesso de peso e suas comorbidades associadas. Dentre as mudanças na alimentação destaca-se o jejum intermitente, que tem se proposto em diversos protocolos, nos quais os indivíduos se absteriam periodicamente de comer por períodos superiores aos típicos durante à noite. Vários estudos têm demonstrado que o jejum ativa as sirtuínas. Essas proteínas, quando ativadas, aumentam a utilização de glicose, sensibilidade à insulina e reduzem o peso corpóreo, colesterol total, esteatose hepática, inflamação e estresse oxidativo, promovendo a longevidade em ratos obesos induzidos por dieta. O objetivo deste trabalho foi verificar os efeitos fisiológicos e moleculares do jejum intermitente na modulação das sirtuínas em ratos obesos induzidos por dieta. Para isso, foram analisadas as alterações no metabolismo sistêmico, bem como a caracterização do modelo animal com as dosagens bioquímicas de glicogênio hepático e muscular, glicose em jejum, colesterol, triglicérides, insulina e proteínas totais. Em adição, estudaremos as vias de sinalização envolvidas na regulação das sirtuínas em tecidos periféricos, como fígado, músculo, tecido adiposo, intestino e hipotálamo, com a técnica de Western blotting, para diferentes proteínas: SIRT1, SIRT3, SIRT4, Nampt, NNMT, AKT, IR, AMPK, IL-6 e IL-10, entre outras. O trabalho foi apreciado pelo Comitê de Ética da FHO|Uniararas. Foram utilizados 24 camundongos (*Mus musculus*), da linhagem C57BL6, machos, obtidos do Centro de Experimentação Animal do Centro Universitário Hermínio Ometto, com idade de aproximadamente dois meses e peso médio de 20g. Os animais foram alojados em gaiolas individuais, com temperatura constante (23±2°C) e umidade de 55%, sob ciclo de 12:12 horas claro/escuro, com acesso livre à água potável. Foram mantidos 12 camundongos magros em alimentação normal ou jejum intermitente. Os outros 12 camundongos foram submetidos à dieta com alto teor de gordura (*high fat diet*, para induzir a obesidade por dois meses e, posteriormente, voltaram para a alimentação normal ou jejum intermitente). Os grupos foram distribuídos de maneira aleatória, para formar os quatro grupos: Controle magros (C) – dieta normal livre todo o período e água livre todo o período (n=6); Intermitente magros (IC) – dieta normal livre durante dois meses e depois período de sete dias com 10 horas de alimentação normal livre e período de 14 horas em jejum (n=6) e água livre todo o período; Obeso (O) – dois meses de *high fat diet*, seguido por sete dias de dieta normal livre todo o período e água livre todo o período (n=6); Intermitente obeso (IO) – dois meses de *high fat diet* e depois período de sete dias com período de 10 horas de alimentação livre com dieta normal e período de 14 horas em jejum (n=6) e água livre todo o período. Os resultados foram analisados comparativamente entre os grupos, utilizando o teste ANOVA (análise de variância), seguido do teste de Bonferroni. Os resultados foram expressos como média ± erro padrão da média (X ± E.P.M.) e o nível de significância adotado foi de 5% (p<0,05). Os resultados esperados foram a ativação das sirtuínas pelo jejum gerado nos grupos IC e IO e que esses animais tenham redução do peso, benefícios no perfil lipídico e glicídico, comparado com o grupo O e com os grupos controles C. Nesse sentido, com o estudo, pretendeu-se mostrar se os camundongos obesos induzidos por dieta ganham benefícios metabólicos ao serem submetidos à dieta intermitente.

PREGABALINA E A DEGENERAÇÃO DO MÚSCULO CARDÍACO DISTRÓFICO (MDX)

FRANCO, L. S.^{1;2}; SILVA, G. I. P.^{1;2}; FERREIRA, J. S.^{1;2}; GEROTTO JUNIOR, L. C.^{1;2}; CARVALHO, S. C.^{1;2}.

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

A Distrofia Muscular de Duchenne (DMD) é uma doença muscular progressiva que causa falência respiratória e cardíaca, resultando em morte, por volta da terceira década de vida. Na DMD e em seu modelo experimental, camundongo *mdx*, a ausência de distrofina promove instabilidade do sarcolema e mau funcionamento dos canais de cálcio, resultando no aumento do influxo de cálcio e consequente degeneração muscular. O processo de degeneração ativa as vias inflamatórias e, com a sucessão de ciclos de degeneração-regeneração, ocorre déficit na capacidade regenerativa e formação de tecido fibroso. A pregabalina (PGB) é um fármaco anticonvulsivante de propriedade bloqueadora de canais de cálcio e seus efeitos na distrofinopatia vêm sendo investigado pelo nosso grupo de pesquisa e têm se demonstrado promissores. Portanto, no presente trabalho, propomos avaliar os efeitos da PGB sobre a degeneração, inflamação e fibrose do músculo cardíaco de camundongos *mdx* (10 meses de vida). Para tanto, investigou-se a ação da PGB sobre a mionecrose (CK total e cardíaca), proteínas inflamatórias (Western blot: NFκB e TNF-α; histologia: áreas de inflamação) e fibróticas (Western blot: TGF-β e fibronectina; histologia: áreas de fibrose). Adicionalmente, estudou-se a ação da PGP no tamponamento do cálcio (calsequestrina), bem como seus efeitos no músculo diafragma e bíceps braquial.

SCAFFOLDS ELECTROATIVO DE POLICAPROLACTONA/GRAFENO COMBINADOS COM MICROCORRENTE FAVORECEM O REPARO ÓSSEO

PASSARINI JUNIOR, P. J.^{1;2}; NALESSO, P.^{1;2}; MENEGHETTI, D. H.^{1;2}; BAGNE, L.^{1;2}; PIMENTEL, V. E.^{1;2}; PEREIRA, A. T.^{1;2}; WANG, W.³; BÁRTOLO, P. J.³; MENDONÇA, F. A. S.^{1;2}; CAETANO, G. F.^{1;2}.

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

³Escola de Engenharia Mecânica, Aeroespacial e Civil, Universidade de Manchester.

Defeitos ósseos representam importante problema de saúde e deverão aumentar conforme o envelhecimento populacional. Defeitos ósseos críticos, como defeitos genéticos, acidentes e tumores, representam um desafio para a comunidade médica. Atualmente, o tratamento padrão ouro é o transplante autólogo. No entanto, dependem de abordagens extremamente invasivas, pois necessitam de procedimento cirúrgico secundário para a remoção do osso do doador. Diante disso, a engenharia de tecidos, campo multidisciplinar da pesquisa que integra áreas da ciência e da engenharia, busca uma alternativa de tratamento para o reparo ósseo por meio de biomateriais tridimensionais (*scaffolds*). Estes, produzidos à base de policaprolactona (PCL), atuam como suporte para influxo celular em diversas áreas da engenharia tecidual devido às boas propriedades mecânicas e biocompatibilidade. O emprego do nanomaterial grafeno em *scaffolds* tem se tornado promissor, uma vez que podem aumentar a resistência mecânica, durabilidade, além de conduzir corrente elétrica. *Scaffolds* de PCL/grafeno têm demonstrado promissores resultados *in vitro*, verificando ausência de toxicidade em baixas concentrações e estímulo à proliferação celular. O objetivo do trabalho foi avaliar o emprego de *scaffolds* eletroativos de grafeno combinado com microcorrente (MC) no reparo óssea em modelo animal. Como metodologia, os *scaffolds* de policaprolactona (PCL) e PCL/grafeno (PCL/GF) foram produzidos por meio de um sistema de manufatura aditiva à base de extrusão, em colaboração com a Universidade de Manchester. Com base nas avaliações biológicas *in vitro*, os *scaffolds* com 0,75% de grafeno foram considerados para avaliação *in vivo*. Defeitos críticos na calvária de 25mm foram criados em 90 ratos Wistar, por meio de um sistema piezoelétrico, divididos em seis grupos (Aprovação do CEUA – 026/2017): NBR (regeneração óssea natural), NBR+MC (tratamento com microcorrente-10 μ A/5min duas vezes por semana), PCL (defeito ósseo preenchido com *scaffolds* de PCL), PCL+MC, PCL/GF e PCL/GF+MC. A analgesia (dipirona sódica e tramadol) foi utilizada duas vezes ao dia, por 72 horas. Os animais foram eutanasiados, por aprofundamento anestésico, no 30^o, 60^o e 120^o dias após o procedimento experimental para a coleta das amostras. A avaliação histomorfométrica (n=6, coloração com hematoxilina-eosina e Tricrômio de Masson) foi realizada para avaliar o tecido formado, sua organização e maturação (% área) durante o reparo. Os resultados apontaram que, nos 30^o e 60^o dias, todos os grupos tratados com MC apresentaram maior percentagem de formação de tecido conjuntivo, em comparação com os grupos não tratados com MC. No entanto, no 120^o dia, todos os grupos se apresentaram semelhantes entre si, com exceção ao grupo PCL, que ainda se apresentava com menor percentagem. O tecido organizado em transição para tecido ósseo mineralizado também foi mensurado. Considerando todo o tecido formado (tecidos conjuntivo e mineralizado), os grupos NBR+MC, PCL+MC e PCL/GF+MC apresentaram maior percentagem, sugerindo impacto positivo da terapia com MC durante o reparo ósseo, principalmente quando associada aos *scaffolds* eletroativos de grafeno, corroborando com ensaios *in vitro* já estudados com estes biomateriais. Concluiu-se que o uso da microcorrente favoreceu o reparo ósseo, mesmo nos grupos que não receberam *scaffolds*. Além disso, *scaffolds* eletroativos de grafeno podem ter melhorado a propriedade osteocondutora de *scaffolds* de PCL.