

3ª Mostra Anual de Pesquisa do Setor de Ciências Biológicas da UFPR



LIVRO DE RESUMOS

18/05/2016, QUARTA-FEIRA

8 - 9h - Entrega de material e Colocação de pôsteres

9 - 10h 30min - Abertura e Palestra: **História dos fármacos**
Dr. João Batista Calixto (Centro de Inovação e Ensaios Pré-Clinicos, UFSC)

10h 30min - 12h - Palestra: **Invasões Biológicas Marinhas**
Rosana Moreira da Rocha (Setor de Ciências Biológicas, UFPR)

14 - 16h - Ciência no Setor BL: **Apresentação oral de trabalhos premiados**

16h - 17h 30 min - Pôsteres com coffee-break

17h 30min - 20h - Retirada de pôsteres

19/05/2016, QUINTA-FEIRA

9 - 10h - Colocação de pôsteres

10 - 12h - Simpósio: **Ciência e arte:**

Música: um comportamento instintivo ou cultural?
Dr. Guilherme Gabriel Ballande Romanelli (Setor de Educação, UFPR)

Desmistificando o mapeamento cerebral e suas interfaces
Dra. Djanira Aparecida da Luz Veronez (Setor de Ciências Biológicas, UFPR)

14 - 16h - Mesa-redonda: **Métodos alternativos de experimentação animal**

Dr. Márcio Lorencini (Grupo Boticário)
Dra. Gisele Augusto Rodrigues de Oliveira (Faculdade de Farmácia, UFG)
Dra. Alessandra Melo de Aguiar (ICC, Fundação Oswaldo Cruz)

16 - 17h 30min - Pôsteres com coffee-break

17h 30min - 20h - Retirada de pôsteres

Realização:



Organização:

Comitê Setorial de Pesquisa do SCB/UFPR

Divulgação:



Apoio:



Patrocinadores:



<http://www.dielab.com.br/>



<http://www.dsylab.com.br/>



<http://www.kasvi.com.br>

Lista de Trabalhos

Análise da mutação R337H TP53 em pacientes com carcinomas mamários esporádicos -----	1
Mathias, C.; Lima, R.S.; Urban, C.A.; Cavalli, L.R.; Figueiredo, B.C.; Sebastião, A.P.M.; Soares, E.; Ribeiro, E.M.S.F.; Cavalli, I.J. -----	1
Análise do número de cópias do gene CCND1 em pacientes portadoras de carcinomas mamários com e sem metástases em linfonodos axilares-----	2
Jucoski, T.S; Callegari, C.C.F; Lima, R.S; Urban, C.A; Cavalli, I.J; Ribeiro, E.M.S.F. -----	2
Análise do número de cópias e da expressão dos genes CDH1 e VIM -----	3
Wons, L; Ramos, F.S.; Ribeiro, E.M.S.F; Cavalli, I.J.; Lima, R.S.; Urban, C.A. -----	3
Análise histológica da artéria aorta de ratos Wistar no processo de envelhecimento-----	4
Balduino, A.S.; Sakamoto, A. A.; Veronez, D.A.L. -----	4
Análise integrada de números de cópias de DNA e expressão de miRNAs em carcinomas mamários triplo negativos de Latinas -----	5
Sugita, B.M.; Gill, M.; Pereira, S.; Mahajan, A.; Duttargi, A.; Ribeiro, E.; Cavalli, I.; Gusev, Y.; Madhavan, S.; Cavalli, L. -----	5
Análise morfométrica de dentes submetidos a tratamento endodôntico -----	6
Veronez, D.A.L.; Brancher, J.A.; Schibicheski, J.; Gomes, F.G.F.L.R.; Junior, A.R.L-----	6
Analysis of HLA-E polymorphisms in patients submitted to kidney transplantation, patients with chronic kidney disease and healthy controls -----	7
de Miranda, B.L.M.; Gelmini, G.F.; Risti, M.; da Silva, J.S.; Roxo, V.S.; Bicalho, M.G. -----	7
Avaliação da atividade de Metaloproteinases 2 e 9 em diafragma de ratos diabéticos-----	8
Santos-Júnior, A.S.R; Capote, A.E; Araujo, D.N; de-Sousa-Neto, E.G; da-Silva, F.S.-----	8
Avaliação da citotoxicidade e dos níveis de espécies reativas do oxigênio em células de glioblastoma humano da linhagem T98G tratadas com hexahidroxitufenileno -----	9
Silva, M.M.; Mottin, S.S.; Cruz, O.M.; Ribeiro, C.S.P.; Gomes, R.P.; Bark, J.M.; Rodrigues, J.L.M.T.; Christoff, A.; Winnischofer, H.; Martinez, G.R.; Wnnischofer, S.M.B. -----	9
Descrição anatômica dos canais radiculares de dentes de cães: revisão de literatura -----	10
Ferraz, C.P.; Torres, M.F.; Veronez, D.A.L.; Brancher, J.A.; Schibicheski, J.-----	10
Diatomáceas – panorama das novidades taxonómicas propostas por pesquisadores do LABFIC/UFPR -----	11
Tremarin, P.I.; Ludwig, T.A.V.-----	11
Diatomáceas em ambientes cársticos na formação Bodoquena, Mato Grosso do Sul -----	12
Tremarin, P.; Ludwig, T.-----	12
Diatomáceas epilíticas respondem a um gradiente temporal após um derramamento de óleos diesel e vegetal no rio Negro, Paraná -----	13
Matias de Faria, D.; Costin, J.C.; Tremarin, P.I.; Ludwig, T.A.V. -----	13
Dinâmica de colonização e formas de fixação das diatomáceas em substrato artificial -----	14
Santos, R.K.; Algarte, V.; Ludwig, T.V. -----	14
Efeito agudo do exercício intervalado sobre a variabilidade da frequência cardíaca no diabetes melito -----	15
Sousa-Neto, E.G.; Rank Filho, C.A.; Cabral, M.V.C.; Dias, F.A.L.; Fogaça, T.R.; Fernandes, L.C. -----	15
Efeito de p-cresol e p-cresil sulfato na expressão do transportador de ânion orgânico-1 (OAT1) em células vasculares musculares lisas de coelho (RASM) -----	16
Cunha, R.S.; Favretto, G.; Gregório, P.C.; Maciel, R.A.P.; Becker-Finco, A.; Pecoits-Filho, R.; Stinghen, A.E.M. -----	16
Efeito do treinamento intervalado sobre a variabilidade da Frequência Cardíaca e Remodelamento Cardíaco em ratos diabéticos-----	17
Souza-Neto, E.G.; Araújo, D.N.; Peixoto, J.V.C.; Capote, A.E.; Dias, F.A.L.; Fogaça, R.T.H. ---	17
Emprego do anticorpo mAb 3 no estudo e diagnóstico da ceratite amebiana -----	18
Lima, M.M.W.; Finco, A.B.; Costa, A.O.; De Moura, J.F.; Ramirez, M.; Alvarenga, L.M. -----	18
Engineered antibody fragments for recognise and neutralize the dermonecrotic toxins of <i>Loxosceles intermedia</i> -----	19

Karim-Silva, S.; de Moura, J.; Noiray, M.; Minozzo, J.C.; Aubrey, N.; Alvarenga, L.M.; Billiald, P.	19
Estruturação de um banco de dentes caninos no departamento de anatomia da UFPR-----	20
Zattoni, D.F.M.; Torres, M.F.; Gomes, F.G.F.L.R.; Brancher, J.A.; Veronez, D.A.L.; Valduga, M.I.R. -----	20
Estudo morfométrico e estereológico da artéria aorta de ratos Wistar no processo de envelhecimento-----	21
Sakamoto, A.A.; Balduino, A.S.; Veronez, D.A.L. -----	21
Estudo morfoquantitativo dos núcleos hipotalâmicos paraventricular, dorsomedial, arqueado, ventromedial e área hipotalâmica lateral de ratos wistar submetidos ao tratamento com imunossupressores tacrolimus e micofenolato mofetil-----	22
Schuh, R.; Matias, J.E.F.; Ramos, E.J.B.; Veronez, D.A.L. -----	22
Frustulia (Diatomeae, Bacillariophyceae) em ambientes de baixo impacto antrópico -----	23
Ferreira, P.C; Ludwig, T.A.V.-----	23
Identificação de peptídeos ICK e de isoformas de uma proteína homóloga a alérgenos em aranhas do gênero <i>Loxosceles</i> -----	24
Justa, H.C.; Matsubara, F.H.; Meissner, G.O.; De Mari, T.L.; Vuitika, L.; Bednaski, A.L.; Boia, M.F.; Morgan, A.M.; Senff-Ribeiro, A., Veiga, S.S. -----	24
Inibição de autofagia potencializa o efeito citotóxico do hexahidroxifenileno em células de glioblastoma humano -----	25
Mottin, S.S.; Cruz, O.M.; Ribeiro, C.S.P.; Gomes, R.P.; Bark, J.M.; Silva, M.M.; Rodrigues, J.L.M.; Christoff, A.; Winnischofer, H.; Martinez, G.R.; Winnischofer, S.M.B. -----	25
Instrumentação endodôntica de dentes de cães com limas rotatórias Protaper® -----	26
Costa, M.K; Torres, M.F; Veronez, D.L; Brancher, J.A; Gomes, F.G.F.L.R.-----	26
Mapeamento estrutural do sítio ativo de fosfolipases D presente no veneno de aranha-marrom (<i>Loxosceles intermedia</i>): características bioquímicas e biológicas -----	27
Vuitika, L.; Chaves-Moreira, Matsubara, F.H.; Justa, H.C.; Senff-Ribeiro, A.; Chaim, O.M.; Arni, R.K.; Veiga, S.S. -----	27
Modelo de insuficiência venosa e cicatrização de úlceras em ratos Wistar -----	28
Araújo, D.N; Ribeiro, C.T.D; Santos, E.N; Veiga, A.T; Fogaça, R.T. H; Dias, F.A.L. -----	28
O Carbonato de Sevelamer reduz a inflamação em células endoteliais humanas expostas aos produtos de glicação avançada (AGEs)-----	29
Gregório, P.C.; Favretto, G.; Sasaki, G.; Cunha, R.; Becker-Finco, A.; Pecoits-Filho, R.; Souza, W.M.; Barreto, F.C.; Stinghen, A.E.M. -----	29
Padronização do método "hanging drop" para enriquecimento da população de células tronco de glioma humano -----	30
Bark, J.M.; Silva, M.M., Mottin, S.S., Cruz, O.M.; Ribeiro, C.S.P.; Winnischofer, S.M.B. -----	30
Plataforma didática de ensino a distância – biomoodle como recurso didático no ensino de anatomia de animais domésticos -----	31
Silva, J.E.M.; Pereira, J.F.S.; Torres, M.F.; Guimarães, A.T.B.; Leal Jr, A.R.; Filus, A. -----	31
Produção e avaliação funcional de proteínas moduladoras da via de sinalização Wnt com potencial terapêutico -----	32
Schwarzer, A.C.A.P.; Carneiro, F.R.G.; Zanchin, N.I.T. -----	32
Sinvastatina induz o processo autófágico em células de melanoma humano metastático: Potencial ação na resistência tumoral -----	33
Ribeiro, C.S.P.; Cruz, O.M.; Pino Gomes, R.; Bark, J.M.; Martinez, G.R.; Winnischofer, S.M.B. -----	33
Taxonomia e distribuição de <i>Minidiscus</i> (Bacillariophyta) no sul do Brasil-----	34
Correr-da-Silva, F.; Moreira-Filho, H.; Fernandes, L.F.-----	34

Análise da mutação R337H TP53 em pacientes com carcinomas mamários esporádicos

Mathias, C.; Lima, R.S.; Urban, C.A.; Cavalli, L.R.; Figueiredo, B.C.; Sebastião, A.P.M.; Soares, E.; Ribeiro, E.M.S.F.; Cavalli, I.J.

Laboratório de Citogenética Humana e Oncogenética

E-mail: carol.mathias1@hotmail.com

O câncer de mama é o tipo mais comum dos casos de câncer diagnosticados em adultos. Mutações no gene *TP53* representam 25% dos casos e geralmente resultam na perda do alelo selvagem e formação de uma proteína com fenótipo dominante-negativo. O estudo do gene supressor de tumor *TP53* possibilitou a identificação da mutação R337H *TP53* que se caracteriza por codificar uma histidina no lugar de arginina (R337H), no exon 10 do gene *TP53*, no domínio de dimerização da proteína p53. Esta mutação ocorre em 95% dos pacientes pediátricos portadores de Tumor de CórTEX Adrenal (ATC), em frequências elevadas no Sul do Brasil, comparativamente a outras regiões e países. Em famílias portadoras desta mutação, outros cânceres além do ATC têm sido descritos, em especial na vida adulta, e o câncer de mama é o mais frequente deles sendo observado em 8,6% das pacientes, enquanto que na população em geral a frequência é de 0,3%. O objetivo principal deste projeto foi verificar a frequência da mutação R337H, em uma amostra de pacientes portadoras de carcinomas mamários esporádicos, atendidas no Hospital Nossa Senhora das Graças e de Clínicas de Curitiba, PR e no Hospital UOPECCAN (União Oeste Paranaense de Estudos e Combate ao Câncer, Cascavel-PR). Foram genotipadas 700 pacientes atendidas nos Hospitais de Curitiba e 150 atendidas na UOPECCAN. Entre as primeiras foram identificadas 11 pacientes heterozigotas para a mutação, e na amostra da UOPECCAN, foram identificadas 6 pacientes heterozigotas, com uma frequência genotípica em ambas as amostras de 2% e gênica de 1%. Dados clínicos e histopatológicos das pacientes utilizadas neste trabalho estão sendo disponibilizados pelos médicos das instituições para posterior análise estatística.

Palavras-chave: câncer de mama, *TP53*, R337H

Análise do número de cópias do gene CCND1 em pacientes portadoras de carcinomas mamários com e sem metástases em linfonodos axilares

Jucoski, T.S; Callegari, C.C.F; Lima, R.S; Urban, C.A; Cavalli, I.J; Ribeiro, E.M.S.F.

Laboratório de Citogenética Humana e Onsogenética

E-mail: tayschultz@hotmail.com

O gene CCND1 codifica a proteína ciclina D1, está localizado no cromossomo 11q13.3 e participa da regulação do ciclo celular. No câncer de mama apresenta-se amplificado em cerca de 15-20% das pacientes e tem sido sugerido que esta alteração tenha significado prognóstico e preditivo no tratamento de tumores positivos para o receptor de estrogênio. Com o objetivo de avaliar a importância do número de cópias deste gene no processo de progressão tumoral, esta análise foi realizada tomando como parâmetro inicial a presença ou ausência de metástases em linfonodos axilares e correlacionando os resultados obtidos com outros parâmetros clínico-histopatológicos (idade, grau do tumor, status dos receptores hormonais e do oncogene HER2). Métodos: O estudo foi realizado com 102 amostras de tumores coletados no momento da cirurgia, sendo 68 com e 34 sem metástases em linfonodos axilares. As pacientes eram predominantemente eurodescendentes, provenientes do Hospital Nossa Senhora das Graças, Curitiba, PR. A extração do DNA dos tumores foi realizada pelo método de fenol clorofórmio e a análise de alterações do número de cópias por PCR quantitativa em tempo real utilizando o ensaio *TaqMan® Copy Number Assays* (*Life Technologies™*). Os dados obtidos foram analisados pelos softwares *Copy Caller* (*Life Technologies™*) e *GraphPad Prism 5*. Resultados: Na análise do número de cópias do gene em estudo todas as amostras apresentaram ganho em comparação com o controle normal (diploide), porém não houve diferença estatisticamente significante ($t=0,85$ $<tc=2,03$) entre a média do número de cópias das pacientes com metástases ($6,41 \pm 3,68$) quando comparada com a média das pacientes sem metástases ($6,20 \pm 4,84$) e também para nenhum dos dados clínicos e histopatológicos analisados. Conclusão: estes dados sugerem que o número de cópias do gene CCND1 está associado com o início da carcinogênese mamária por se mostrar aumentado nas amostras sem metástase em linfonodo axilar permanecendo aumentado naquelas com metástases.

Palavras-chave: câncer de mama, número de cópias, gene CCND1, metástases

Análise do número de cópias e da expressão dos genes *CDH1* e *VIM*

Wons, L; Ramos, F.S.; Ribeiro, E.M.S.F; Cavalli, I.J.; Lima, R.S.; Urban, C.A.

Laboratório de Citogenética Humana e Oncogenética

E-mail: leli@wons.com.br

O câncer é uma anormalidade do tecido causada por células que apresentam alterações no DNA levando à expressão modificada de alguns genes. Essas células cancerosas apresentam um ciclo celular irregular o que pode conferir a capacidade de crescer descontroladamente e de migrar para tecidos adjacentes ou distantes, configurando o processo de metástase. Dentre os vários tipos de câncer, o de mama é o mais frequente em mulheres e que apresenta o maior índice de mortalidade. Em torno de 90% dos casos de câncer de mama resultam de mutações nas células somáticas enquanto apenas 10% são hereditários. A transição epitelial-mesenquimal (TEM) pode promover o processo metastático visto que ela é um evento onde as células epiteliais neoplásicas podem ganhar características mesenquimais como mobilidade. Para isso, uma série de mudanças ocorrem como alterações na expressão e do número de cópias gênicas. O gene *VIM* codifica a vimentina, uma proteína estrutural do citoesqueleto que contribui para a manutenção da célula. Muitos estudos demonstraram que a superexpressão de *VIM* é comum em cânceres de mama agressivos e está relacionada com o desenvolvimento de metástases, se constituindo em um marcador da transição epitelial-mesenquimal (TEM). Quando a célula adquire a capacidade de deslocamento, a expressão de *VIM* se encontra alterada assim como a de *CDH1*. Este gene codifica a E-caderina, uma proteína que atua na adesão celular das células epiteliais e sua baixa expressão tem sido correlacionada com a presença de metástases, diminuição da diferenciação do tumor e pior sobrevida. A análise de expressão gênica e de número de cópias dos genes *VIM* e *CDH1* contribuirá para o entendimento da TEM em carcinomas primários de mama.

Palavras-chave: expressão gênica, número de cópias, *vim*, *cdh1*.

Análise histológica da artéria aorta de ratos Wistar no processo de envelhecimento

Balduino, A.S.; Sakamoto, A. A.; Veronez, D.A.L.

Laboratório de Estudos Morfológicos, Morfométricos e Estereológicos

E-mail: djaniraveronez@gmail.com

A artéria aorta está sujeita a alterações morfológicas durante o processo natural de senescência que podem ocorrer em função de modificações fisiológicas e histológicas. Diversas pesquisas demonstram, no envelhecimento, a ocorrência de espessamento da túnica íntima, hipertrofia da musculatura, fragmentação da camada elástica, aumento da infiltração de leucócitos e alteração na distribuição de colágenos tipos I e III. Tais variações histológicas são responsáveis por alterações mecânicas, como elasticidade e rigidez da parede da artéria aorta. No entanto, não há relatos na literatura sobre análise do diâmetro vascular. Neste sentido, este trabalho apresenta como objetivo analisar o processo natural de envelhecimento da artéria aorta de ratos *Wistar* por meio da análise histopatológica e morfoquantitativa. Foram utilizados 72 ratos da linhagem *Wistar*, divididos em 6 grupos, com 12 animais cada. No grupo 1, os animais tiveram 3 meses de vida; no 2, 6 meses; 3, 9 meses; 4, 12 meses; 5, 15 meses, e no 6, 18 meses, sendo destinados à eutanásia e, em seguida, dissecação e remoção das artérias aortas para montagem das lâminas e execução das técnicas histoquímicas, que foram: Hematoxilina e Eosina, Tricômico de Masson e Picrosírius. A artéria aorta de cada animal foi, devidamente, seccionada na parte descendente para obtenção de 10 cortes transversais para posterior montagem das lâminas histológicas. As 72 lâminas foram escaneadas, e foi realizada a análise morfoquantitativa pelo software *VSVIEWER*. Foi verificada a média e o desvio padrão de cada grupo, e os resultados principais são apresentados a seguir: grupo 1: média perímetro (MP) = 5,064 mm; média área (MA) = 1,7476 mm². Grupo 2: MP = 5,1736 mm; MA = 1,9052 mm². Grupo 3: MP = 5,566 mm; MA = 2,2114 mm². Grupo 4: MP = 4,7481 mm; MA = 1,5774 mm². Grupo 5: MP = 5,8775 mm; MA = 2,4618 mm². Grupo 6: MP = 5,5319 mm; MA = 2,1861 mm². Os resultados da análise morfoquantitativa obtidos até o presente momento permitem concluir que do grupo 1 até o grupo de número 6, os valores da média do perímetro e da área aumentaram crescentemente. Portanto, pode-se estimar que, com o avanço da idade as medidas da artéria aorta aumentam gradativamente.

Palavras-chave: Artéria aorta, Rato *Wistar*, Envelhecimento, Anatomia Clínica

Análise integrada de números de cópias de DNA e expressão de miRNAs em carcinomas mamários triplo negativos de Latinas

Sugita, B.M.; Gill, M.; Pereira, S.; Mahajan, A.; Duttargi, A.; Ribeiro, E.; Cavalli, I.; Gusev, Y.; Madhavan, S.; Cavalli, L.

Laboratório de Citogenética Humana e Oncogenética

E-mail: brunasugita@ufpr.br

Os tumores mamários triplo negativos (TMTN) representam um grupo de doenças clinicamente e molecularmente heterogêneo, apresentando incidência e resposta ao tratamento variáveis de acordo com os grupos raciais. Esses tumores são mais comuns em mulheres jovens de descendência africana, hispânica e latina, nas quais são geralmente diagnosticadas em estágios avançados, com doença não-localizada. Estudos moleculares demonstraram que as diferenças na biologia desses tumores em latinas pode ser o principal contribuinte para a alta mortalidade da doença. O objetivo principal desse estudo foi identificar a assinatura de expressão de miRNA associada com TMTN de pacientes latinas através da integração de dados de expressão de miRNA e aCGH. Métodos: Amostras parafinizadas de 40 TMTN e 25 não-TMTN de pacientes latinas obtidas do Hospital de Clínicas da UFPR foram analisadas quanto expressão de miRNA e aCGH utilizando as plataformas *Nanostring* e *Agilent SurePrint G3 Human array-CGH* respectivamente. Os dados de miRNA e aCGH obtidos nas mesmas amostras foram diretamente integrados, e algoritmos combinatórios de predição de alvos de miRNAs juntamente com softwares de enriquecimento de vias de sinalização e funções biológicas foram utilizados para identificar os miRNAs mais relevantes e seus respectivos genes alvos. Resultados: Foram obtidos duzentos e nove miRNAs diferencialmente expressos entre as amostras TMTN e não-TMTN. Após a integração com aCGH, 14 miRNAs apresentaram dados concomitantes e concordantes de alterações de números de cópias de DNA e expressão de miRNA, resultando em 3800 genes alvos preditos por pelo menos 2 de 3 diferentes algoritmos de predição de alvos. Uma segunda integração com dados obtidos por aCGH, o número de genes alvos preditos reduziu para 730 genes, sugerindo que esses genes são potencialmente afetados por dois mecanismos de regulação (miRNA e alteração de número de cópias de DNA). Análises de bioinformática identificaram diversas vias de sinalização potencialmente afetadas pelos miRNAs, incluindo adesão focal, via do PI3K-Akt, e vias relacionadas a câncer. Análises de interactoma demonstram que os genes alvos dos 14 miRNAs estão envolvidos em processos de desenvolvimento tumoral, como angiogênese, proliferação, transição epitelial-mesenquimal e apoptose. Conclusão: A análise integrada permitiu a identificação de uma assinatura de expressão de miRNAs associada a TMTN de pacientes latinas e de mecanismos moleculares que podem resultar na desregulação da expressão de miRNAs e respectivos genes alvos. Esses resultados contribuem para a identificação de alvos moleculares específicos para raças que podem ser utilizados para desenvolvimento de novos tratamentos para TMTN e para o desenho de estudos clínicos e intervenções clínicas mais apropriadas para mulheres latinas.

Palavras-chave: câncer de mama, microRNA, DNA

Agradecimentos: Este trabalho foi financiado pela CAPES-PDSE (BEX 10568/14-0), e CERSI-FDA/EUA.

Análise morfométrica de dentes submetidos a tratamento endodôntico

Veronez, D.A.L.; Brancher, J.A.; Schibicheski, J.; Gomes, F.G.F.L.R.; Junior, A.R.L

E-mail: marieleneko@gmail.com

Com o aumento da presença e do contato dos animais de companhia dentro dos lares, a percepção de doenças bucais aumentou, entre. A principal doença bucal é a doença periodontal que causa danos a polpa dentária, sendo necessário tratamento endodôntico. Sendo o objetivo deste trabalho, analisar a expansão radicular por meio de radiografias. Foram utilizados 40 dentes, com canal único e com comprimento médio de 21 mm, extraídos de cães com doença periodontal. Radiografias foram feitas antes para confirmar a presença de canal único, e depois do tratamento com limas *ProTaper NiTi®*. As imagens radiográficas foram analisadas pelo programa *ImageLab®* e os resultados obtidos foram tratados pelos teste estatísticos *Shapiro-Wilk* e *Wilcoxon*. A análise morfométrica dos canais radiculares por meio de radiografias demonstrou aumento significativo do diâmetro do canal radicular após modelagem com limas *ProTaper NiTi®* permitindo concluir que a instrumentação rotatória dos canais radiculares de dentes incisivos e caninos de cães foi eficaz para a limpeza e aumento da área.

Palavras-chave: *tratamento endodôntico, doença periodontal, Análise morfométrica*

Analysis of HLA-E polymorphisms in patients submitted to kidney transplantation, patients with chronic kidney disease and healthy controls

de Miranda, B.L.M.; Gelmini, G.F.; Risti, M.; da Silva, J.S.; Roxo, V.S.; Bicalho, M.G.

Laboratório de Imunogenética e Histocompatibilidade

E-mail: brumiranda93@yahoo.com.br

In the Southeastern and Southern regions of Brazil, the main diseases that cause kidney failure are glomerulonephritis, pyelonephritis, hypertension and cardiovascular diseases, diabetes and renal cystic diseases. Renal diseases are the major causes in death and disability in many countries. The techniques involved in kidney transplantation have been developed over the years, to the point that currently they can be characterized as relatively common procedures, so technical failure rates are very low and the major barrier to the success of the procedure is the prevention and maintenance of graft rejection processes. For success of kidney transplantation HLA mismatches are to be avoided, on order to improve graft survival and reduce the incidence of acute rejection and awareness to incompatible specificities. The human leukocyte antigen E is expressed in all tissues at low concentrations, differently from class Ia antigens. HLA-E is mainly involved in regulation of innate immunity by interaction with the CD94/NKG2 receptor expressed in abundance, but not exclusively, in NK cells. In this study, 24 kidney transplant patients (KTx), 48 patients with chronic kidney disease (CKD) and 50 healthy controls were analyzed for genetic variability of exon 3 of the HLA-E gene by SBT. Allele and genotype frequencies were compared between the three different groups by the global G test. Comparisons of allele frequencies among the three groups and two by two comparisons revealed no significant differences. In the comparisons of genotypic frequencies, significant differences were observed when comparing the three groups ($P= 0.0147$) and in the comparisons of KTx patients vs. CKD patients and in KTx patients vs. controls ($P= 0.0085$ and $P= 0.0032$, respectively). Future studies are necessary to broaden and complement the results observed in the present study, given the small sample size used and to corroborate the results of related studies published elsewhere.

Palavras-chave: *HLA-E, kidney transplantation, polymorphisms*

Avaliação da atividade de Metaloproteinases 2 e 9 em diafragma de ratos diabéticos

Santos-Júnior, A.S.R; Capote, A.E; Araujo, D.N; de-Sousa-Neto, E.G; da-Silva, F.S.

Laboratório de Fisiologia da Contração Muscular

E-mail: antoniosergiorocha86@gmail.com

O *Diabetes Mellitus* (DM) é uma doença na qual os níveis de insulina ou a resposta dos tecidos a insulina (ou ambos) são insuficientes para manter normais os níveis plasmáticos de glicose, o que causa um fenótipo hiperglicêmico. Está relacionado a várias neuropatias e doenças musculoesqueléticas, além de outros sistemas. Atualmente há poucas pesquisas a respeito da incidência, prevalência e fisiopatologia de desordens diafragmáticas causadas por DM. Embora outras inúmeras pesquisas correlacionem o DM com diversas implicações neuropáticas e musculoesqueléticas, neste projeto estamos investigando alterações tróficas nas fibras musculares diafragmáticas, grau de fibrose em diafragma e o papel das metaloproteinases 2 e 9 nestas alterações em músculo diafragma de ratos adultos diabéticos *estreptozotocina*-induzidos, o que a torna uma pesquisa inovadora. Para estudar essas alterações nos músculos diafragmáticos de ratos adultos diabéticos *estreptozotocina*-induzidos, foram preparadas lâminas histológicas coradas com Hematoxilina-Eosina (HE) e *Picro-Sirius Red* (PSR). A amostra foi composta por 19 animais, sendo 9 controle e 10 diabéticos. A atividade enzimática das metaloproteinases 2 e 9 está sendo investigada através de zimografia. O resultado da análise estatística da área de secção transversal média (ASTM) das fibras musculares de ratos do grupo controle comparada aos do grupo diabético *estreptozotocina*-induzido, demonstrou que há uma significativa diferença de trofismo celular entre os grupos (valor $p = 0,0001$). O grupo de animais controle apresentou uma ASTM de $1355,00 \mu\text{m}^2$ +/- $159,8 \mu\text{m}^2$, enquanto o grupo de animais com DM apresentou um ASTM de $822,5 \mu\text{m}^2$ +/- $160,7 \mu\text{m}^2$. Já o estudo histológico de diafragma em coloração *Picro-sirius Red* demonstrou que animais com DM apresentaram maior concentração de colágeno no músculo diafragmático com valor $p = 0,0068$. O grupo de animais controle apresentou concentrações de colágeno médio 7,438% e desvio padrão $\pm 1,25$, enquanto o grupo de ratos diabéticos apresentou concentração de colágeno médio 10,38% e desvio padrão $\pm 2,112$. Estes dados apontam evidências de que há efeito distrófico da diabetes *estreptozotocina*-induzida sobre o músculo diafragma dos animais. Resta agora determinar o papel das metaloproteinases 2 e 9 nesse processo degenerativo e discutir como essas alterações podem interferir na funcionalidade do diafragma e capacidade pulmonar dos indivíduos.

Palavras-chave: *metaloproteinases, diabete, diafragma*

Avaliação da citotoxicidade e dos níveis de espécies reativas do oxigênio em células de glioblastoma humano da linhagem T98G tratadas com hexahidroxitrifenileno

Silva, M.M.; Mottin, S.S.; Cruz, O.M.; Ribeiro, C.S.P.; Gomes, R.P.; Bark, J.M.; Rodrigues, J.L.M.T.; Christoff, A.; Winnisschofer, H.; Martinez, G.R.; Winnischofer, S.M.B.

Laboratório de oxidações biológicas, UFPR

E-mail: mel.mara@live.com

O glioblastoma multiforme (GBM) é o que apresenta o maior grau de agressividade dentre os tipos de glioma, que são os tumores mais comuns no sistema nervoso central. Estes tumores apresentam mecanismos de resistência que evadem à terapêutica atual baseada no uso do quimioterápico temozolomida seguido de ciclos de radioterapia. E por isso, são necessárias novas abordagens terapêuticas. Tendo em vista que o nosso grupo tem explorado a ação do hexahidroxitrifenileno (HHTP), um derivado de catecol citotóxico em células tumorais, o objetivo desse trabalho é avaliar os efeitos citotóxicos do tratamento com o HHTP em modelo de glioma humano, com foco na modulação dos níveis de espécies reativas de oxigênio. Para isso, utilizaram-se células da linhagem T98G tratadas com HHTP nas concentrações de 10, 25 e 50 µM por 12, 24 e 48 horas. Foram realizados ensaios de citotoxicidade, pelo método de MTT, e análise dos níveis de espécies reativas de oxigênio (ROS), por método fluorescente utilizando a sonda DCFH-DA. Os resultados mostram que após 12 e 24 horas, o tratamento com HHTP não promove diferença significativa no número de células viáveis com relação ao controle. Já após 48 horas de tratamento, o efeito citotóxico do HHTP foi evidente, promovendo redução do número de células viáveis em 14%, 34%, 46% para as concentrações de 10, 25 e 50 µM de HHTP, respectivamente. Ainda, observou-se que após tratamento com HHTP por 12 horas os níveis de espécies reativas de oxigênio foram aumentados em 40% somente na maior concentração de HHTP utilizada (50 µM). Já em 48 horas o aumento dos níveis de espécies reativas de oxigênio atingiram 29% e 46% para as concentrações de 25 e 50µM de HHTP utilizadas. Em conjunto, esses dados mostram que o HHTP promove ação citotóxica em modelo de glioma humano, pelo menos em parte devido ao aumento dos níveis de espécies reativas do oxigênio, e sugerem o HHTP como uma alternativa eficaz e/ou adjuvante às atuais terapias de GBM.

Palavras-chave: *Glioma, hexahidroxitrifenileno, morte celular, espécies reativas de oxigênio*

Descrição anatômica dos canais radiculares de dentes de cães: revisão de literatura

Ferraz, C.P.; Torres, M.F.; Veronez, D.A.L.; Brancher, J.A.; Schibicheski, J.

E-mail: cintia.ferraz08@gmail.com

O tratamento endodôntico de dentes de cães está se tornando muito frequente nas clínicas veterinárias. O objetivo principal desta terapia é promover a toalete dos canais radiculares por meio do preparo biomecânico, utilizando instrumentos e soluções irrigadoras. Para atingir esse objetivo é de fundamental importância o conhecimento da anatomia interna do canal radicular uma vez que os canais radiculares podem apresentar variações quanto ao número, quanto à direção relativa, quanto ao aspecto, quanto ao calibre, à secção e à acessibilidade. Com a evolução da terapia endodôntica humana e o desenvolvimento de limas automatizadas rotatórias com grande flexibilidade, o tempo operatório diminuiu significativamente. Nesse sentido, o objetivo deste estudo foi revisar a literatura buscando informações sobre a utilização de limas automatizadas no preparo do canal radicular de dentes de cães. Para tanto, foram selecionadas palavras-chave *veterinary + dentistry + endodontics + rotary files + dog*, na língua inglesa e na língua portuguesa, como descritores a fim de facilitar o processamento da pesquisa bibliográfica e o acesso aos artigos científicos. Foram consultadas as bases de dados *PubMED* e *Bireme*. Os resultados mostram que os descritores odontologia veterinária e cão foram encontrados em 785 artigos; endodontia veterinária e cão apareceram em 109 artigos; os descritores endodontia veterinária, cão e limas rotatórias levou a apenas um artigo científico. Os dados obtidos nesta pesquisa mostram que apesar do significativo número de artigos publicados sobre odontologia veterinária e da ampla utilização de instrumentos rotatórios na odontologia humana, as limas automatizadas ainda são pouco descritas e utilizadas na Medicina Veterinária. Estudos futuros deverão comprovar que as limas automatizadas podem diminuir o tempo cirúrgico aumentando a segurança do paciente veterinário.

Palavras-chave: *odontometria, canais radiculares, anatomia, odontologia, veterinária*

Diatomáceas – panorama das novidades taxonômicas propostas por pesquisadores do LABFIC/UFPR

Tremarin, P.I.; Ludwig, T.A.V.

Laboratório de Ficologia

E-mail: ptremarin@gmail.com

Diatomáceas são algas unicelulares microscópicas que geralmente ocorrem em elevada riqueza e abundância nos mais diversos tipos de ambientes aquáticos, tanto suspensas na coluna d'água quanto aderidas à substratos. Importantes trabalhos taxonômicos sobre diatomáceas foram realizados pela equipe que atua no laboratório de Ficologia (professores, alunos de graduação do curso de Ciências Biológicas e de pós-graduação em Botânica da UFPR). O laboratório, fundado pelo Prof. Dr. Hermes Moreira-Filho, representa uns dos principais centros de referência no estudo de diatomáceas continentais e marinhas do Brasil. Dois novos gêneros foram propostos (*Margaritum* Moreira-Filho 1968 e *Brandinia* Fernandes 2007), 22 novas espécies (*Triceratium moreirae* Fernandes & Souza-Mosimann 2001, *Melosira brandinii* Fernandes & Souza-Mosimann 2001, *Brandinia mosimaniae* Fernandes & Procopiak 2007, *Thalassiosira rufa* Tremarin, Ludwig, Becker, Torgan 2008, *Encyonema exuberans* Tremarin, Wetzel & Ludwig 2011, *Eunotia fuhrmanii* Metzeltin & Tremarin 2011, *Aulacoseira brasiliensis* Tremarin, Torgan & Ludwig 2012, *Aulacoseira calypsi* Tremarin, Torgan & Ludwig 2013, *Placoneis itamoemae* Straube, Tremarin & Ludwig 2013, *Urosolenia obesa* Freire, Tremarin & Ludwig 2013, *Eunotia trigona* Fuhrmann, Metzeltin & Tremarin 2013, *Aulacoseira minuscula* Tremarin, Torgan & Ludwig 2014, *Aulacoseira pantanalensis* Tremarin, Torgan & Ludwig 2014, *Aulacoseira samariana* Tremarin, Torgan & Ludwig 2014, *Aulacoseira simoniae* Tremarin, Torgan & Ludwig 2014, *Aulacoseira veraluciae* Tremarin, Torgan & Ludwig 2015, *Nupela amabilis* Tremarin & Ludwig 2015, *Nupela difficilis* Straube, Tremarin & Ludwig 2015, *Nupela kociolekii* Straibe, Tremarin & Ludwig 2015, *Nupela metzeltinii* Tremarin & Ludwig 2015, *Nupela praecipuoides* Tremarin & Ludwig 2015, *Nupela torganiae* Tremarin & Ludwig 2015), duas variedades não típicas (*Cymbella perpusilla* var. *moreirae* L. Rodrigues 1989, *Eunotia pseudosudetica* var. *rotundata* Cavalcante, Tremarin & Ludwig 2015), além de novas combinações. Salienta-se que estudos taxonômicos desvendam a diversidade biológica do planeta e são fundamentais para o desenvolvimento de estudos ecológicos, filogenéticos, biotecnológicos, paleoambientais, forenses, nanotecnológicos e outros.

Palavras-chave: *taxonomia, espécies novas, Estado do Paraná, Brasil*

Agradecimentos: À CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela bolsa de Pós-doutorado a P. Tremarin

Diatomáceas em ambientes cársticos na formação Bodoquena, Mato Grosso do Sul

Tremarin, P.; Ludwig, T.

Laboratório de Ficologia

E-mail: eduardotu7@gmail.com

A formação cárstica de Bodoquena caracteriza-se pela presença de rios com águas cristalinas e tufas carbonáticas. As espécies de diatomáceas que ocorrem nestes ambientes ainda são pouco estudadas. Nós realizamos um estudo taxonômico da comunidade de diatomáceas de ambientes cársticos, através de microscopia óptica e eletrônica de varredura e transmissão para a visualização da ultraestrutura das frústulas. As coletas foram realizadas nos seguintes corpos d' água: Chapeninha, Baia Bonita e Bonito, Olho d'água, rio da Prata, Perdido e Lagoa Misteriosa, estado do Mato Grosso do Sul. Cento e cinco táxons infragenéricos de diatomáceas foram determinados até o momento sendo trinta e sete destes novas citações para a região Centro Oeste. Microscopia eletrônica de varredura e transmissão tem sido utilizada como ferramenta para desvendar estruturas pouco visíveis em microscopia óptica, auxiliando nas identificações. Pelo potencial bioindicador destas algas silíceas, espera-se encontrar uma comunidade característica de águas carbonatadas, transparentes e com pH mais elevado.

Palavras-chave: ambiente lóticos, *Bacillariophyta*, carste, Bonito

Diatomáceas epilíticas respondem a um gradiente temporal após um derramamento de óleos diesel e vegetal no rio Negro, Paraná

Matias de Faria, D.; Costin, J.C.; Tremarin, P.I.; Ludwig, T.A.V.

LABFIC

E-mail: matiasdefaria.d@gmail.com

As diatomáceas são algas mundialmente utilizadas para monitoramento de distúrbios e impactos ambientais. São eficientes colonizadoras de substratos e suas estratégias de adesão fornecem informações confiáveis sobre a estrutura do biofilme. As associações de diatomáceas que possuem características ecológicas similares fornecem fortes relações com gradientes ambientais. Neste estudo nós utilizamos ferramentas biológicas, as guildas e formas de vida, para acessar a estrutura da comunidade de diatomáceas após um derramamento de óleos diesel e vegetal no rio Negro, maior tributário da margem esquerda do rio Iguaçu, (PR, Brasil). Antes do acidente (12/07/2004), amostras de água e epílon foram coletadas num ponto entre duas estações de captação de água para estudo qualitativo. Desta forma, após o derramamento foram realizadas três amostragens (P1, 19/09/2004; P2, 03/10/2004; P3, 13/10/2004) no mesmo local ($n=9$; variação temporal). Três seixos por amostragem foram coletados e o biofilme foi removido e limpo utilizando $KMnO_4$ e HCl. O derramamento resultou em diminuição do pH e da incidência de luz devido a redução da profundidade Secchi, e aumento dos sólidos totais. DBO, DQO, nitrito e nitrato também sofreram aumento. Devido as chuvas, as amostras subsequentes mantiveram altos os valores de sólidos totais. A comunidade de diatomáceas encontrada antes do derramamento de óleos apresentou maior riqueza e diversidade e também maior equidade, e após o acidente tendência a menor uniformidade. Gradiente temporal de riqueza ocorreu decrescendo significativamente da amostra P1 ($S' = 46$) para amostra P3 ($S'= 33$). A amostra coletada após o derramamento de óleos foi caracterizada pela motile guild formada por diatomáceas móveis que são ótimas competidoras em ambientes enriquecidos e sombreados. As coletas P2 e P3 foram caracterizadas pela *Low-profile guild* que sofreu aumento (65% entre P1 e P2) relacionado à turbulência causada pela alta pluviosidade reduzindo a diversidade da guilda. A *High-profile guild* compreende espécies que prevalecem em ambientes enriquecidos e com baixo distúrbio e neste estudo contribuiu menos de 17% para a comunidade epilítica, não demonstrando variação temporal. As guildas responderam satisfatoriamente ao gradiente ambiental encontrado, sendo possível compreender a dinâmica do sistema observando a composição das associações de diatomáceas e suas preferências ecológicas.

Palavras-chave: *formas de adesão, guildas, perifíton*

Dinâmica de colonização e formas de fixação das diatomáceas em substrato artificial

Santos, R.K.; Algarte, V.; Ludwig, T.V.

Laboratório de Ficologia

E-mail: rogerioklaksantos@gmail.com

As diatomáceas perifíticas são importantes produtores primários e fonte nutricional para invertebrados em corpos d'água lênticos. São capazes de adesão firme ou frouxa a substratos submersos, por liberação de mucilagem. Investigamos as espécies de diatomáceas que colonizaram substrato artificial para conhecer a composição das espécies e suas estratégias de fixação, durante um intervalo sucessional pré-estabelecido. O ambiente lêntico selecionado foi o reservatório do Piraquara II região metropolitana de Curitiba/PR. Lâminas de poliestireno foram utilizadas como substratos artificiais, as quais permaneceram submersas na coluna da água a uma profundidade de 30 cm, por 30 dias, sendo coletadas diariamente até o sétimo dia e na sequência, em intervalos de 2, 3 e 5 dias. Análise quantitativa foi realizada em cubetas de sedimentação, com material removido dos substratos por raspagem. As formas de fixação foram documentadas em microscopia ótica e microscopia de varredura. As estratégias mais comuns foram a adesão por almofadas seguidas pela formação de pedúnculos e posteriormente, as prostradas. As diatomáceas mais abundantes foram *Discostella stelligera* e *Aulacoseira ambigua*, *Fragilaria tenera*, *F. gracilis*, *Achnanthidium caledonicum*, *A. minutissimum*, *Gomphonema gracilis*, *Fragilariforma javanica*. Nos primeiros dias de colonização registrou-se uma baixa abundância de indivíduos, destacando-se *Discostella stelligera* e *Aulacoseira ambigua* ambas consideradas meroplânctônicas. A partir do segundo dia amostral, as diatomáceas perifíticas com almofadas foram encontradas, seguidas das pedunculadas e posteriormente das prostradas, ao longo do processo sucessional. Estas permaneceram até o último dia de amostragem, mas aumentaram em número de indivíduos ao longo do tempo. Dentre os gêneros identificados, *Fragilaria* foi o mais abundante, desde o momento em que se estabeleceram pela primeira vez no substrato, através de almofadas de mucilagem secretadas por campo de poros apicais. Estimaram-se alguns fatores abióticos a fim de caracterizar o ambiente: a condutividade variou de 30 a 84 $\mu\text{Scm-1}$, o pH de 8,3 a 8,9 e a temperatura de 18,5 a 25°C.

Palavras-chave: *biofilme, perifítón, substrato artificial, sucessão*

Agradecimentos: SANEPAR/CEAM, CNPq

Efeito agudo do exercício intervalado sobre a variabilidade da frequência cardíaca no diabetes melito

Sousa-Neto, E.G.; Rank Filho, C.A.; Cabral, M.V.C.; Dias, F.A.L.; Fogaça, T.R.; Fernandes, L.C.

Laboratório de Fisiologia e Fisiopatologia Cardiovascular

E-mail: clauciorank@gmail.com

O *Diabetes Mellitus* (DM) é uma doença metabólica, cuja principal característica é a hiperglicemia, que pode resultar em desenvolvimento de alterações cardíacas graves, acarretando a falência cardíaca e consequentemente danos graves a qualidade de vida. Portanto, este estudo avalia efeitos agudos do treinamento aeróbico intervalado de alta intensidade sobre a variabilidade da frequência cardíaca em ratos diabéticos. Foram implantados eletrodos tipo *piercing* (no subcutâneo, com as pontas externadas e entrelaçadas colocados posteriormente e abaixo da linha da inserção das patas, somando um total de quatro eletrodos). Posteriormente os ratos foram divididos em dois grupos, um como sendo *Diabetes Mellitus* induzido por *estreptozotocina* e outro controle (injeção de veículo), a partir da divisão, dentro de cada grupo haverá 2 subgrupos, no grupo diabético, assim como no grupo controle teremos um subgrupo treinamento contínuo (70% da capacidade no teste de exaustão) e outro subgrupo treinamento intervalado (alterna entre 90% e 50% da capacidade do teste de exaustão, com um minuto para cada, para que tenha o mesmo volume de exercício do grupo contínuo) por 50 minutos diário. Posteriormente à eutanásia, foram dissecados os animais e coletados corações, amostra sanguínea, osso, pele e músculos da pata posterior, além de diafragma para as análises da biologia molecular e histoquímica e de imunofluorescência. O controle autonômico foi avaliado pela análise da Variabilidade da Frequência Cardíaca (VFC) obtida através de eletrocardiograma (ECG) antes e imediatamente após o exercício. De acordo com dados preliminares o exercício intervalado aparentemente teve efeito negativo sobre a VFC e sobre o balanço simpatovagal. Os animais apresentaram menor frequência cardíaca e menor variabilidade global imediatamente após o exercício, devido ao predomínio parassimpático.

Palavras-chave: variabilidade de frequência cardíaca, diabetes melito, treinamento intervalado

Efeito de p-cresol e p-cresil sulfato na expressão do transportador de ânion orgânico-1 (OAT1) em células vasculares musculares lisas de coelho (RASM)

Cunha, R.S.; Favretto, G.; Gregório, P.C.; Maciel, R.A.P.; Becker-Finco, A.; Pecoits-Filho, R.; Stinghen, A.E.M.

Laboratório de Nefrologia Experimental

E-mail: regidacunha@gmail.com

As toxinas urêmicas p-cresol (PC) e seu conjugado p-cresil sulfato (PCS) contribuem para a progressão de diversas complicações clínicas da uremia, como a aterosclerose em pacientes com doença renal crônica (DRC). A captação de PC e PCS na célula é mediada por proteínas transportadoras tais como o OAT1, da família dos transportadores de ânions orgânicos (OAT). O presente estudo avaliou o efeito de PC e PCS na expressão de OAT1 em células vasculares musculares lisas de coelho (RASM). As células musculares foram tratadas com PC e PCS, respectivamente, nas concentrações normal (0,6 e 0,08 mg/L), urêmica (20,1 e 1,75 mg/L) e máxima urêmica (40,7 e 2,6 mg/L) por 24 horas. A viabilidade celular foi avaliada pelo ensaio de MTT, com ou sem *probenecid* (Pb) a 2,5 mM, agente uricosúrico descrito como inibidor de OATs. A expressão de OAT1 foi investigada por imunocitoquímica e dot-blot. O tratamento das células com PC diminuiu significativamente a viabilidade celular nas concentrações urêmica ($P<0,05$) e máxima urêmica ($P<0,0001$). O mesmo aconteceu com PCS em todas as concentrações testadas ($P<0,0001$). Quando as células foram tratadas com Pb, a viabilidade celular foi restabelecida ($P<0,0001$). A imunocitoquímica demonstrou visualmente uma marcação positiva para OAT1. O dot-blot mostrou um aumento significativo de OAT1 no tratamento com PC na concentração máxima urêmica ($P<0,01$) quando comparado ao controle. Dados da literatura demonstram que tanto a camada íntima como a camada média do vaso participam ativamente do processo inflamatório vascular e da aterogênese. O presente estudo demonstrou que a captação de PC e PCS pelas células musculares se dá via OAT1, e que o bloqueio seletivo com Pb pode representar uma estratégia terapêutica a fim de reverter os eventos deletérios da uremia.

Palavras-chave: toxicidade urêmica, p-cresol, p-cresil sulfato

Efeito do treinamento intervalado sobre a variabilidade da Frequência Cardíaca e Remodelamento Cardíaco em ratos diabéticos

Souza-Neto, E.G.; Araújo, D.N.; Peixoto, J.V.C.; Capote, A.E.; Dias, F.A.L.; Fogaça, R.T.H.

Laboratório de Fisiologia e Fisiopatologia Cardiovascular

E-mail: edugsn.fisio@gmail.com

O *Diabetes Mellitus* (DM) é uma doença metabólica, cuja principal característica é a hiperglicemia, que pode resultar em desenvolvimento de alterações cardíacas graves, acarretando a falência cardíaca e consequentemente danos graves a qualidade de vida. Portanto, este estudo avalia efeitos do treinamento aeróbico intervalado de 4 semanas (5 dias por semana) em ratos diabéticos. Um teste incremental foi realizado antes e após o treinamento. Foram implantados eletrodos tipo *piercing* (no subcutâneo, com as pontas externadas e entrelaçadas colocados posteriormente e abaixo da linha da inserção das patas, somando um total de quatro eletrodos). Posteriormente os ratos foram divididos em dois grupos, um com o diabetes melito induzido por *estreptozotocina* e outro controle (injeção de veículo), a partir da divisão, dentro de cada grupo haverá 3 subgrupos, no grupo diabético, assim como no grupo controle teremos um subgrupo controle sedentário (CS), treinamento contínuo (70% da capacidade no teste de exaustão) e outro subgrupo treinamento intervalado (alterna entre 90% e 50% da capacidade do teste de exaustão, com um minuto para cada, para que tenha o mesmo volume de exercício do grupo contínuo) por 50 minutos diárias. Posteriormente à eutanásia, foram dissecados os animais e coletados corações, amostra sanguínea, osso, pele e músculos da pata posterior, além de diafragma para as análises da biologia molecular e histoquímica e de imunofluorescência. O controle autonômico foi avaliado pela análise da Variabilidade da Frequência Cardíaca (VFC) obtida através de eletrocardiograma (ECG) através dos eletrodos implantados. De acordo com dados preliminares não há alteração considerável entre os dias 1d, 15d e Final em relação à glicemia. Os ratos DM perderam peso, enquanto os ratos saudáveis aumentaram. No teste incremental os ratos treinamento intervalado apresentaram considerável aumento da capacidade de corrida em relação aos ratos de exercício contínuo. Houve um predomínio para manutenção ou discreto aumento no SDNN nos animais treinados, exceto para o grupo diabéticos treinamento intervalado, sugerindo uma sensível piora da função autonômica. Em nosso estudo, podemos inferir que o prejuízo para o ganho na função de capacidade de corrida pode ser o prejuízo da função autonômica cardíaca.

Palavras-chave: VFC, DM, Treinamento Intervalado

Emprego do anticorpo mAb 3 no estudo e diagnóstico da ceratite amebiana

Lima, M.M.W.; Finco, A.B.; Costa, A.O.; De Moura, J.F.; Ramirez, M.; Alvarenga, L.M.

Laboratório de Imunoquímica

E-mail: michelemlweber@gmail.com

Com o aumento do número de casos clínicos de ceratite amebiana (CA) também aumentou o interesse médico e estudos envolvendo o gênero *Acanthamoeba*. *Acanthamoebas* são protozoários de vida livre, encontrados em todo mundo e em diversos ambientes. Apresentam duas formas no seu ciclo de vida, a forma trofozoítica que é favorável ao seu desenvolvimento e infecção, e a forma cística, adquirida quando o ambiente não é propício, podendo assim beneficiar a sua propagação, resistência e a incidência da doença. São denominados anfizóicos, pois são encontrados no ambiente e parasitando o ser humano facultativamente. A relação do crescimento de casos de ceratite amebiana pode estar relacionada com o crescimento do uso de lentes de contato. Existe uma dificuldade no diagnóstico e tratamento da ceratite amebiana, que é geralmente confundida com outras doenças, podendo resultar, em alguns casos, na escolha de tratamentos inadequados. Recentemente nosso grupo produziu um anticorpo monoclonal (mAb3) que reconhece抗ígenos presentes em cepas patogênicas, tendo como alvo principal uma proteína de aproximadamente 130 kDa, que pode se tratar de uma proteína ligadora de manose. Deste modo, o objetivo deste estudo é caracterizar os抗ígenos reconhecidos pelo mAb3 e determinar a sua associação com mecanismo de patogenicidade da ceratite amebiana, assim como a produção de um fragmento de anticorpo recombinante ligado a fosfatase alcalina (scFv-AP), com finalidades de uso diagnóstico. No presente trabalho a reatividade do mAb 3 com um número maior de cepas está sendo investigado e também a especificidade frente a outros agentes também causadores de ceratite. Dentro das hipóteses do nosso trabalho tentaremos entre várias cepas de *Acanthamoebas* associar a proteína ligadora de manose (alvo sugerido para o mAb3) aos mecanismos de ativação e resistência à lise pelo complemento, especialmente da via das lectinas. Por outro lado, para uma confirmação da reatividade do mAb foram realizados géis 2D. Até o momento, os resultados obtidos nos encorajam a dar continuidade ao projeto, tendo em vista a capacidade de reconhecimento específico demonstrada pelo mAb3 e a eficiência da ativação do sistema de complemento com alguma das cepas estudadas.

Palavras-chave: *Acanthamoeba, anticorpo recombinante, sistema complemento*

Engineered antibody fragments for recognise and neutralize the dermonecrotic toxins of Loxosceles intermedia

Karim-Silva, S.; de Moura, J.; Noiray, M.; Minozzo, J.C.; Aubrey, N.; Alvarenga, L.M.; Billiald, P.

Laboratório de imunoquímica

E-mail: sabrinaimtair@yahoo.com.br

Loxosceles spiders have a worldwide distribution and are considered one of the most important medical group of spiders. Envenomation (loxscelism) can result in degenerative necrotic skin lesions, kidney failure, hematological disorders and, less commonly, in a systematic illness that can be fatal. In Brazil, loxscelism is a serious public health threat and three prominent species (*L. intermedia*, *L. gaucho* and *L. laeta*) are responsible for more than 6000 cases of envenomation per year. There is a wide variance in envenomation profile of patients and diagnosis is difficult due to the number of diseases that mimic loxscelism. In addition, no definite therapy has yet been established and serum therapy has been used clinically since several decades. In such a context, it is of interest to consider the design of standardized recombinant antibody fragments not only for diagnosis and specific detection of individual circulating toxins in biological fluids of envenomed patients but also for venom's neutralization and treatment. We prepared a hybridoma that secretes an IgG (LiMab7) reacting with *L. intermedia* venom components of 32-35 kDa. This monoclonal antibody shows high neutralizing potency for the dermonecrotic activity of the venom. It has now been re-engineered into colorimetric bifunctional protein consisting in the corresponding single-chain antibody fragment (scFv) fused to alkaline phosphatase of *E. coli*. This recombinant fusion protein can be used for rapid, specific and sensitive immunodetection of *L. intermedia* toxins. In addition, antibody LiMab7 has been reformatted into diabody structure with high neutralizing potential. This work paves the way to the design of well-standardized reagents with high potential for diagnosis and treatment of envenomed patients.

Palavras-chave: *Loxscelism, recombinant antibody, diagnosis*

Estruturação de um banco de dentes caninos no departamento de anatomia da UFPR

Zattoni, D.F.M.; Torres, M.F.; Gomes, F.G.F.L.R.; Brancher, J.A.; Veronez, D.A.L.; Valduga, M.I.R.

E-mail: doriezattoni@gmail.com

Recentemente tem se dado maior atenção as afecções orais dos cães. Por esse motivo, profissionais e acadêmicos buscam aprender mais sobre esta área, fazendo com que o banco de dentes seja fundamental no fornecimento de material com origem comprovada e segurança. Isso possibilita o estudo e pesquisa na área de odontologia veterinária. O objetivo do presente trabalho foi gerar um banco de dentes caninos com material de origem comprovada disponível para pesquisa e atividades pedagógicas. A estruturação do banco de dentes canino foi possível através de doação feita por uma clínica especializada em odontologia veterinária. A doação foi realizada junto com um termo de consentimento livre e esclarecido, assinado pelo veterinário responsável e pelo proprietário do animal, comprovando a origem do material. Atualmente o banco de dentes conta com 268 dentes devidamente limpos e separados.

Palavras-chave: *Banco de dentes, cão, odontologia veterinária, veterinária, anatomia*

Estudo morfométrico e estereológico da artéria aorta de ratos Wistar no processo de envelhecimento

Sakamoto, A.A.; Balduino, A.S.; Veronez, D.A.L.

Laboratório de Estudos Morfológicos, Morfométricos e Estereológicos

E-mail: djaniraveronez@gmail.com

O envelhecimento é um processo fisiológico natural pelo qual todos os seres vivos passam. Como o aumento de idosos na população mundial é um fenômeno cada vez mais comum, é importante estudar todos os processos relacionados à senescência para estabelecer estratégias de promoção da saúde. No sistema cardiovascular, em particular, há muitas alterações com sintomas clínicos que podem afetar a autonomia de idosos. O presente estudo visa esclarecer alguns pontos relativos às alterações morfológicas que ocorrem no organismo em diferentes fases da vida, em especial delimitar em que momento e a que velocidade ocorrem, enfatizando ocorrências na artéria aorta. Neste sentido, este trabalho apresenta como objetivo analisar o processo natural de envelhecimento da artéria aorta de ratos *Wistar* por meio da análise histopatológica e morfoquantitativa. Foram utilizados 72 ratos da linhagem *Wistar*, divididos em 6 grupos, com 12 animais cada. No grupo 1, os animais tiveram 3 meses de vida; no 2, 6 meses; 3, 9 meses; 4, 12 meses; 5, 15 meses, e no 6, 18 meses, sendo destinados à eutanásia e, em seguida, dissecação e remoção das artérias aortas para montagem das lâminas e execução das técnicas histoquímicas, que foram: Hematoxilina e Eosina, Tricômico de Masson e Picrosírius. A artéria aorta de cada animal foi, devidamente, seccionada na parte descendente para obtenção de 10 cortes transversais para posterior montagem das lâminas histológicas. As 72 lâminas foram escaneadas, e foi realizada a análise morfoquantitativa pelo software VSViewer. Foi verificada a média e o desvio padrão de cada grupo, e os resultados principais são apresentados a seguir: grupo 1: média perímetro (MP) = 5,064 mm; média área (MA) = 1,7476 mm². Grupo 2: MP = 5,1736 mm; MA = 1,9052 mm². Grupo 3: MP = 5,566 mm; MA = 2,2114 mm². Grupo 4: MP = 4,7481 mm; MA = 1,5774 mm². Grupo 5: MP = 5,8775 mm; MA = 2,4618 mm². Grupo 6: MP = 5,5319 mm; MA = 2,1861 mm². Os resultados da análise morfoquantitativa obtidos até o presente momento permitem concluir que do grupo 1 até o grupo de número 6, os valores da média do perímetro e da área aumentaram crescentemente. Portanto, pode-se estimar que, com o avanço da idade as medidas da artéria aorta aumentam gradativamente.

Palavras-chave: *Artéria aorta, Envelhecimento, Morfometria, Anatomia Clínica*

Estudo morfoquantitativo dos núcleos hipotalâmicos paraventricular, dorsomedial, arqueado, ventromedial e área hipotalâmica lateral de ratos Wistar submetidos ao tratamento com imunossupressores tacrolimus e micofenolato mofetil

Schuh, R.; Matias, J.E.F.; Ramos, E.J.B.; Veronez, D.A.L.

Laboratório de Estudos Morfológicos, Morfométricos e Estereológicos

E-mail: rodrigoanato@gmail.com

Drogas imunossupressoras promovem alterações morfológicas em núcleos hipotalâmicos, contribuindo para o ganho de peso comumente observado em pacientes pós transplante. A obesidade tornou-se muito comum após transplantes, ocorrendo em até 50% desses pacientes pós transplante, sendo que a média de ganho de peso durante o primeiro ano de transplante é de 10% do peso inicial. Estudos em pacientes transplantados relatam aumento do tecido adiposo, obesidade relacionada com dislipidemia, risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares, *Diabetes Mellitus* pós transplante e perda de massa óssea e/ou muscular. A causa dessas alterações pós transplante muitas vezes é atribuída à melhora da qualidade de vida e ao uso de corticóide. Entretanto, os efeitos dos imunossupressores sobre os núcleos hipotalâmicos, que regulam a ingestão alimentar, necessitam de estudos. Neste sentido, os objetivos deste projeto são: elaborar um estudo estereológico de núcleos hipotalâmicos envolvidos com a regulação da ingesta alimentar em ratos *Wistar* submetidos ao tratamento com os imunossupressores, tacrolimus e micofenolato, comparar a densidade neuronal, volume e número total de neurônios hipotalâmicos entre ratos *Wistar* tratados com os imunossupressores, observar possíveis alterações nos núcleos hipotalâmicos paraventricular, dorsomedial, arqueado, ventromedial e área hipotalâmica lateral e analisar os efeitos morfoquantitativos do tacrolimus e micofenolato no hipotálamo de ratos *Wistar*.

Palavras-chave: *Imunossupressores, Obesidade, Hipotálamo, Estereologia, Anatomia Clínica*

Frustulia (Diatomeae, Bacillariophyceae) em ambientes de baixo impacto antrópico

Ferreira, P.C; Ludwig, T.A.V.

Laboratório de Ficologia

E-mail: paulacarolina2712@gmail.com

Diatomáceas são algas microscópicas eucariontes, unicelulares, encontradas em ambientes aquáticos ou úmidos. São consideradas importantes indicadoras ambientais. Espécies e gêneros são seletivos e indicam o nível trófico do sistema, pH, presença de metais específicos e outras condições da água. Também demonstram certa especificidade por substratos, tais como briófitas. Ambientes com baixo impacto antrópico, ou mesmo prístinos, são raros, portanto pouco estudados em relação às diatomáceas e carentes de levantamentos florísticos. Realizamos a determinação taxonômica de espécies do gênero *Frustulia* Rabenhorst da comunidade de diatomáceas perifíticas em ambientes com baixo impacto antrópico. Foram observadas, descritas e ilustradas vinte e três espécies. Costumam crescer solitárias ou em tubos mucilaginosos e são comuns em águas levemente ácidas, elevada quantidade de carbono orgânico e condutividade relativamente baixa. A principal característica morfológica do gênero é a rafe margeada por costelas de sílica proeminentes, ao longo de todo o comprimento valvar, as quais se fusionam em uma ponta única, nas extremidades da valva. Setenta e quatro amostras de material perifítico foram coletadas em 29 pontos de amostragem, situados entre 897 e 1119 metros de altitude, nos anos de 2013 e 2014. Riachos e caixas coletoras foram selecionados na região dos mananciais da serra, município de Piraquara, estado do Paraná. Os substratos amostrados foram seixos, filídios de briófitas, sedimento de areia, além de substratos subaéreos úmidos. Dados abióticos da água foram coletados: pH, condutividade ($\mu\text{S-1}/\text{cm}$) e temperatura da água ($^{\circ}\text{C}$). As amostras foram fixadas com solução Transeau na proporção 1:1 (BICUDO; MENEZES, 2006). Após lavagem e oxidação das amostras, lâminas permanentes foram montadas com resina *Naphrax®* (I.R.: 1,74) para análise dos exemplares sob microscopia óptica (MO). Ilustrações fotográficas das espécies encontradas foram obtidas em microscópio óptico com câmera de captura acoplada. Parte do material oxidado foi depositado e seco sobre suportes de alumínio, metalizado com ouro para registro da ultraestrutura da frústula das espécies. As análises foram realizadas em microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM 6360, no Centro de Microscopia Eletrônica da UFPR.

Palavras-chave: *Bacillariophyta, diatomáceas, perifítion, prístico, taxonomia*

Identificação de peptídeos ICK e de isoformas de uma proteína homóloga a alérgenos em aranhas do gênero *Loxosceles*

Justa, H.C.; Matsubara, F.H.; Meissner, G.O.; De Mari, T.L.; Vuitika, L.; Bednaski, A.L.; Boia, M.F.; Morgon, A.M.; Senff-Ribeiro, A.; Veiga, S.S.

Laboratório de matriz extracelular e biotecnologia de venenos

E-mail: hannajusta@gmail.com

O veneno das aranhas do gênero *Loxosceles* é composto por uma mistura de toxinas que, sinergicamente, causam o conjunto de sinais e sintomas denominado Loxoscelismo. O estudo do transcriptoma da glândula produtora de veneno de *L. intermedia* mostrou que mais de 50% das sequências codificantes de toxinas estão relacionadas a peptídeos inseticidas da família ICK. Esses peptídeos são caracterizados por possuírem baixa massa molecular (5,6-7,9 kDa) e 10 resíduos de cisteína, os quais estabelecem um arranjo estrutural típico de pontes dissulfeto intracadeia denominado “nó de cistina inibidor” (ICK). O estudo do transcriptoma mencionado também revelou a presença de uma molécula com identidade semelhante à alérgenos presentes em formigas (*Loxi i 1*), correspondendo a 0,2% dos transcritos. O objetivo deste trabalho foi identificar sequências relacionadas aos peptídeos ICK e alérgenos presentes no veneno de duas espécies do gênero *Loxosceles* - *L. laeta* e *L. gaúcho*. A análise em SDS-PAGE dos perfis dos venenos dessas espécies revelou grande similaridade protéica, incluindo a presença de uma banda correspondente à massa esperada para os peptídeos ICK. A obtenção das sequências codificadoras dos peptídeos ICK e da *Loxi i 1* dos venenos de *L. gaúcho* e *L. laeta* foram obtidas através da extração das glândulas de veneno, purificação do RNA total, RT-PCR, clonagem e sequenciamento. As sequências identificadas dos peptídeos ICK para *L. laeta* e *L. gaúcho* apresentaram alta identidade quando comparadas às sequências já descritas para *L. intermedia*, com os 10 resíduos de cisteínas em posições conservadas. Em *L. gaúcho*, algumas sequências mostraram-se idênticas às de *L. intermedia*. Para o alérgeno as sequências encontradas nas duas espécies se mostraram altamente conservadas quando comparadas à de *L. intermedia*, diferindo em dois aminoácidos. Em *L. gaúcho* uma sequência obteve 100% de identidade com a de *L. intermedia*. A maior similaridade dessas sequências entre *L. intermedia* e *L. gaúcho* sugere uma relação filogenética mais próxima entre essas duas espécies. Este estudo demonstrou pela primeira vez sequências codificantes de peptídeos ICK e do alérgeno em outras duas espécies de *Loxosceles*. A identificação dessas moléculas constitui a etapa inicial para produção e aplicação biotecnológica ou terapêutica dessas toxinas.

Palavras-chave: *Loxosceles, alérgeno, peptídeos ICK, sequenciamento*

Inibição de autofagia potencializa o efeito citotóxico do hexahidroxitrifenileno em células de glioblastoma humano

Mottin, S.S.; Cruz, O.M.; Ribeiro, C.S.P.; Gomes, R.P.; Bark, J.M.; Silva, M.M.; Rodrigues, J.L.M.; Christoff, A.; Winnischhofer, H.; Martinez, G.R.; Winnischhofer, S.M.B.

Laboratório de oxidações biológicas

E-mail: susan_smoger@hotmail.com

Os glioblastomas (GBM) são tumores do sistema nervoso central derivados dos astrócitos. Devido à elevada agressividade, os GBM apresentam mecanismos de resistência que evadem à terapêutica atual baseada no uso do quimioterápico temozolomida seguido de ciclos de radioterapia. Entre os mecanismos de resistência, destaca-se a autofagia, processo catabólico conservado evolutivamente e que promove o sequestro e subsequente degradação de componentes celulares que comprometem a homeostasia celular. No contexto dos gliomas esse processo celular tem contribuído no desenvolvimento do tumor. Dessa forma, novas abordagens terapêuticas são necessárias. Tendo em vista que o nosso grupo tem explorado a ação do hexahidroxitrifenileno (HHTP), um derivado de catecol citotóxico em células tumorais, e que a hidroxicloroquina (HCQ) é um agente inibidor do processo autofágico, o objetivo desse trabalho é avaliar o efeito citotóxico do tratamento combinado do HHTP com a HCQ em modelo de glioma humano. Para isso, células da linhagem U87MG foram tratadas com HHTP nas concentrações de 10, 25 e 50 µM por 12, 24 e 48 horas. Em 12 horas, o tratamento não promoveu diferença significativa de citotoxicidade com relação ao controle, seja com o HHTP isolado ou combinado à HCQ. Em 24 horas, quando utilizado o tratamento isolado de HHTP observou-se diminuição na viabilidade celular em 21% e 42% para as concentrações de 25 e 50 µM, respectivamente. O efeito citotóxico do foi ainda mais evidente no tempo de 48 horas, promovendo diminuição da viabilidade celular em 37%, 42%, 57% para as concentrações de 10, 25 e 50 µM. O tratamento combinado de HHTP com a HCQ (25 µM) mostrou efeito citotóxico ainda mais pronunciado com diminuições de viabilidade de 66%, 78% e 85% nas concentrações de 10, 25 e 50 µM de HHTP. Esses dados mostram que a inibição de autofagia potencializa a ação citotóxica promovida pelo HHTP e sugerem que a inibição da autofagia é uma importante alternativa às atuais terapias, uma vez que o potencial terapêutico da modulação da autofagia no tratamento de gliomas, sobretudo glioblastomas, tem sido destacado em estudos de fase clínica que corroboram nossos achados *in vitro*.

Palavras-chave: *glioblastoma, hexahidroxitrifenileno, hidroxicloroquina*

Instrumentação endodôntica de dentes de cães com limas rotatórias Protaper®

Costa, M.K; Torres, M.F; Veronez, D.L; Brancher, J.A; Gomes, F.G.F.L.R.

E-mail: maiarakcosta@gmail.com

A doença bucal mais prevalente em animais domésticos é a doença periodontal. A mesma é causada pelo acúmulo de biofilme bacteriano sobre a superfície dentária na falta de higienização. A doença pode evoluir e afetar a polpa dentária, o que leva ao tratamento endodôntico do canal radicular, sempre demorado e oneroso. O desenvolvimento de ligas de níquel titânio revolucionaram a terapia endodôntica, uma vez que essas ligas apresentam grande flexibilidade e foram utilizadas para o desenvolvimento de limas rotatórias automatizadas, as quais possibilitam diminuir o tempo operatório e, consequentemente, o risco anestésico para o paciente. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de limas rotatórias automatizadas na modelagem de canais radiculares de dentes incisivos e caninos de cães. Foram selecionados 40 dentes recém-extraídos devido à doença periodontal obtidos junto à Clínica Veterinária Odontocão. Antes da modelagem dos canais foram realizadas radiografias mesio-distais para determinar o comprimento de trabalho utilizado. O acesso endodôntico foi realizado com uma broca esférica 1014 e a modelagem do canal radicular foi efetuada com limas rotatórias *ProTaper® SX, S1 e S2* seguidas pelas limas F1 e F2, se necessário. Entre as limas, o canal radicular foi irrigado com hipoclorito de sódio (5 ml) e EDTA como solução irrigadora final. Uma radiografia final foi realizada após o procedimento. Dentro das limitações deste estudo, observou-se uma remoção significativa de dentina do canal radicular evidenciando a eficiência das limas na modelagem do canal. Os terços cervical, médio e apical foram modelados de maneira homogênea. Estudos futuros deverão buscar informações sobre a adequada desinfecção do canal radicular, bem como investigar o enfraquecimento das paredes internas do canal radicular.

Palavras-chave: *endodontia, canais radiculares, limas endodônticas.*

Mapeamento estrutural do sítio ativo de fosfolipases D presente no veneno de aranha-marrom (*Loxosceles intermedia*): características bioquímicas e biológicas

Vuitika, L.; Chaves-Moreira, Matsubara, F.H.; Justa, H.C.; Senff-Ribeiro, A.; Chaim, O.M.; Arni, R.K.; Veiga, S.S.

Laboratório de Matriz Extracelular e Biotecnologia de Venenos

E-mail: larissavuitika@hotmail.com

Os membros da família das fosfolipases D, também referidas como toxinas dermonecróticas, estão entre as moléculas mais bem estudadas presentes no veneno de aranhas-marrons do gênero *Loxosceles*. Estas toxinas são biologicamente ativas, uma vez que induzem dermonecrose, resposta inflamatória exacerbada, agregação plaquetária, hemólise e insuficiência renal aguda. Apesar da sua importância biomédica, o papel dos resíduos de aminoácidos abrangendo a interface catalítica na atividade das fosfolipases D e seus efeitos biológicos ainda não estão totalmente esclarecidos. Para abordar esta questão, foi realizada uma investigação mutacional e funcional utilizando a isoforma LiRecDT1 (primeira isoforma de fosfolipase D identificada de *Loxosceles intermedia*) como modelo. As formas mutadas H12A, H12A-H47A e E32A-D34A (sítio catalítico), C53A-C201A (ponte dissulfeto adicional), K93A, Y228A e W230A (ligação ao substrato lipídico) e G96A (controle) foram produzidos em modelos heterólogos e purificados. Todas as variantes mutantes foram reconhecidas pelos anticorpos policlonais anti-veneno total e anti-LiRecDT1, mostrando que mantiveram os epítopes imunogênicos conservados. Além disso, observamos que a conformação das variantes mutantes permaneceu semelhante a isoforma original, mostrada pelo dicroismo circular (CD) e calorimetria diferencial de varredura (DSC). As variantes H12A, H12A-H47A e E32A-D34A apresentaram atividade fosfolipásica, hemolítica, alteração da permeabilidade vascular e dermonecrótica diminuídas para valores residuais, reforçando a participação desses resíduos na atividade catalítica. O maior destaque foi para a mutação no resíduo Y228, que se mostrou igualmente importante para as atividades bioquímicas e biológicas, indicando um papel essencial no reconhecimento e ligação ao substrato. Por outro lado, a variante mutante C53A-C201A (mutação que suprime a ponte dissulfeto adicional nas fosfolipases D de classe II) não bloqueou a atividade fosfolipásica, hemolítica, permeabilidade vascular e dermonecrótica em comparação com a *LiRecDT1*. Estes resultados confirmam os determinantes estruturais envolvidos com as atividades biológicas das fosfolipases D do veneno de aranhas-marrons, abrindo portas para pesquisas de estrutura/função por método de cristalografia, estudos de vias sinalização celular e mediadores pró-inflamatórios, e também na prospecção de inibidores moleculares específicos para estas enzimas.

Palavras-chave: *Loxosceles, fosfolipase D, estrutura, sítio ativo, fenda catalítica*

Modelo de insuficiência venosa e cicatrização de úlceras em ratos Wistar

Araújo, D.N; Ribeiro, C.T.D; Santos, E.N; Veiga, A.T; Fogaça, R.T. H; Dias, F.A.L.

Laboratório de células excitáveis

A insuficiência venosa é uma doença caracterizada por alterações do retorno venoso por conta de obstruções e refluxo sanguíneo. Os vasos apresentam alterações morfológicas, que levam a manifestações clínicas nos membros inferiores e pode levar, em um nível mais grave, à formação de úlcera venosa, que é uma ferida de difícil cicatrização e que traz prejuízos à qualidade de vida das pessoas, além de possuir uma alta taxa recidiva. O objetivo desse estudo foi avaliar a cicatrização de úlceras em um modelo de indução de insuficiência venosa. Para isso, 18 ratos *Wistar*, com peso acima de 250 gramas, foram divididos em três grupos, um grupo controle somente com a úlcera (UC, n=6), um grupo com cirurgia de insuficiência venosa e úlcera (IVC, n=6), e um grupo com a cirurgia de insuficiência venosa e úlcera com aplicação de laser (L, n=6). A cirurgia de indução de insuficiência venosa consistiu em fazer uma oclusão por ligadura na veia femoral do animal dificultando o fluxo sanguíneo, dez dias após a cirurgia foi realizada uma incisão com tesoura em formato circular com aproximadamente 3 cm² de área no dorso da pata traseira que estava com insuficiência venosa para formação da úlcera. As úlceras foram fotografadas nos dias 1 e 3 e posteriormente foi calculada a razão de cicatrização (%) comparando com o dia 0 no software ImageJ. Como resultados, os grupos apresentaram as seguintes razões de cicatrização (média±DP): controle úlcera: dia 1 (47,1%±11,3), dia 3 (70%±8,3); controle IVC dia 1 (31,2%±5,5), dia 3 (64,8%±3,7); laser dia 1 (20,6%±14,4) e dia 3 (56,6%±10,6). O grupo controle úlcera apresentou razão de cicatrização maior no dia 1 comparado aos grupos Laser e controle IVC ($p<0,05$; ANOVA). Dessa maneira, podemos afirmar que a cirurgia de insuficiência venosa atrasa a cicatrização de úlceras em ratos nas primeiras 24h, demonstrando que a cirurgia pode ser um bom modelo de insuficiência venosa.

Palavras-chave: cicatrização, insuficiência venosa, úlcera

O Carbonato de Sevelamer reduz a inflamação em células endoteliais humanas expostas aos produtos de glicação avançada (AGEs)

Gregório, P.C.; Favretto, G.; Sasaki, G.; Cunha, R.; Becker-Finco, A.; Pocoits-Filho, R.; Souza, W.M.; Barreto, F.C.; Stinghen, A.E.M.

LabNefro - Laboratório de Nefrologia Experimental

E-mail: paulocezargregorio@gmail.com

INTRODUÇÃO: Os AGEs são toxinas urêmicas envolvidas na disfunção endotelial e doença cardiovascular na doença renal crônica (DRC). O Sevelamer, um quelante de fósforo que não contém cálcio nem metal, possui propriedades pleiotrópicas e anti-inflamatórias, possivelmente devido ao efeito quelante sobre outras toxinas urêmicas. **OBJETIVO:** Avaliar o efeito *in vitro* do Sevelamer na disfunção endotelial causada por AGEs em células endoteliais humanas. **MÉTODOS:** Os AGEs foram preparados por glicação da albumina e caracterizados por absorbância e eletroforese em gel de poliacrilamida. A fim de excluir a contaminação dos AGEs sintetizados, os níveis de endotoxinas, foram mensurados pelo método de *Limulus Amebocyte Lysate* (LAL). As células endoteliais humanas foram incubadas em meio de cultura contendo AGEs (0,2 mg/mL) com ou sem Sevelamer (3%). A viabilidade celular foi avaliada pelo ensaio de MTT. Os níveis de IL-8 foram avaliados pelo método de ELISA no sobrenadante celular. A expressão de receptor para AGEs (RAGE) foi avaliada por imunocitoquímica e Western blot. A propriedade quimiotática do sobrenadante celular, após a exposição aos AGEs com ou sem Sevelamer, foi avaliada em modelo de monócitos humanos (células U-937) por meio do ensaio de migração celular com auxílio da câmara de Boyden. **RESULTADOS:** A viabilidade celular não foi afetada pela exposição aos AGEs ou ao Sevelamer. A expressão de RAGE foi induzida pelos AGEs ($P<0,005$ vs controle); e diminuída pelo tratamento com Sevelamer ($P<0,05$ vs AGEs isoladamente). Os níveis de IL-8 aumentaram significativamente após 6h de tratamento com AGEs ($P<0,005$ vs grupo controle) assim como após a exposição conjunta AGEs mais Sevelamer ($P<0,05$ vs AGEs isoladamente). A quimiotaxia de monócitos induzida pelo sobrenadante de células endoteliais foi significativamente maior com a exposição aos AGEs ($P<0,05$ vs grupo controle), enquanto que o Sevelamer foi capaz de reduzi-la ($P<0,05$ vs AGEs isoladamente). **CONCLUSÕES:** Nossos resultados sugerem que o Sevelamer é capaz de se ligar *in vitro* a outras toxinas urêmicas além do Pi, tais como os AGEs. Essa ação quelante adicional pode ser uma das responsáveis pelo efeito pleiotrópico dessa medicação, o que, por sua vez, pode contribuir para um efeito benéfico sobre o sistema cardiovascular.

Palavras-chave: Doença renal crônica, Disfunção endotelial, AGEs, Carbonato de sevelamer, IL-8, RAGE

Padronização do método "hanging drop" para enriquecimento da população de células tronco de glioma humano

Bark, J.M.; Silva, M.M., Mottin, S.S., Cruz, O.M.; Ribeiro, C.S.P.; Winnischofer, S.M.B.

Laboratório de Oxidações Biológicas, UFPR

Gliomas são os tumores mais comuns derivados do Sistema Nervoso Central. Dentre seus tipos, o glioblastoma multiforme (GBM) é o mais agressivo e que apresenta pior prognóstico. Frequentemente, GBMs são resistentes às terapias convencionais, apresentando altas taxas de recorrência, o que pode ser justificado pela presença das CSCs (*Cancer Stem Cells*). Essas células possuem propriedades como auto-renovação e habilidade para se diferenciar em múltiplas linhagens. Uma das formas para isolar as CSCs de GBM pode ser feita através do uso de condições de cultivo desenvolvidos originalmente para células tronco neurais normais. Estas crescem *in vitro* como agregados de células, formando neuroesferas, através do cultivo em substratos não aderentes, meios de cultura definidos, crescimento em constante movimento e ainda por meio das *hanging drops*. A técnica de hanging drop baseia-se no cultivo das células que ficam suspensas em uma tampa de placa de cultura devido à tensão superficial, então a gravidade induz a agregação de células, formando um esferoide. Essa técnica possui vantagens, como a facilidade de cultivo, baixo custo e a possibilidade de controle de tamanho das esferas. Com o objetivo de padronizar essa metodologia de cultivo e verificar se há um enriquecimento em CSCs, utilizou-se a linhagem de glioma humano U87MG, cultivada em diferentes quantidades de células em diferentes volumes de gota, por diferentes tempos e meios de cultivo (com e sem soro). Observou-se que após 72h de cultivo em hanging drop a formação de agregado ocorreu apenas nas condições com soro, sendo que nas condições sem soro as células ficaram dispersas no meio. Ao analisar o tamanho das esferas formadas, as quantidades de 20, 40 e 60 células/gota foram descartadas. Já as quantidades de 80, 100 e 200 células/gota formaram esferoides com diâmetro entre 100-200 μ m, sendo um tamanho considerado satisfatório. Após 72 horas de cultivo em hanging drop as gotas foram realocadas em uma placa recoberta com Polyhema por 120h. Nessas condições houve um crescimento em média de 82,94 μ m e 76,88 μ m nas esferas de 100 e 200 células, respectivamente. Nossos resultados mostram a efetiva padronização da metodologia *hanging drops*, sendo promissora para o cultivo das CSCs de GBM.

Palavras-chave: *células tronco tumorais, glioma, hanging drops*

Plataforma didática de ensino a distância – biomoodle como recurso didático no ensino de anatomia de animais domésticos

Silva, J.E.M.; Pereira, J.F.S.; Torres, M.F.; Guimarães, A.T.B.; Leal Jr, A.R.; Filus, A.

Departamento de anatomia

E-mail: alefilus@hotmail.com

Plataformas de educação a distância (EaD) são utilizadas como ferramentas didáticas no aprendizado dos conteúdos programáticos de disciplinas curriculares. O objetivo deste estudo foi caracterizar a utilização da plataforma Bio Moodle empregada como recurso pedagógico para o ensino de Anatomia dos Animais Domésticos para acadêmicos do primeiro período do Curso de Agronomia. Foram elaboradas 4 questões objetivas, com 3 alternativas cada, respondidas de forma voluntária e anônima. Foram obtidos 88 questionários analisados pelo teste Qui-quadrado considerando-se um nível de significância de 5%. Na primeira questão, quanto à facilidade do acesso ao *BioMoodle*, 67% dos acadêmicos consideraram o acesso “Fácil”, 28% “Confuso” e 3% “Difícil”. A segunda questão, referente à frequência da utilização da plataforma, 58% dos acadêmicos responderam utilizar “Razoavelmente”, 31% “Integralmente” e 11% “Nunca utilizaram”. Nessas duas questões, houve diferença estatística ($p<0,0001$) entre todas as alternativas. Na terceira questão, referente ao recurso tecnológico utilizado para o acesso à plataforma, 79,5% responderam que o acesso é realizado por meio de “computador”, 20,5% por “Smartphone” e 8% por “Tablet”. A utilização de computador diferiu estatisticamente ($p<0,0001$) em relação a smartphones e tablets, enquanto os acessos por smartphones e tablets não foram estatisticamente diferentes ($p>0,05$). A última questão, referente à influência da utilização do Bio Moodle sobre o rendimento acadêmico, 85% dos alunos indicaram que a utilização da plataforma “Ajudou a melhorar”, 6% responderam que “Não influenciou”, enquanto 7% assinalaram “Não utilizei o *BioMoodle*”. Esses resultados revelaram diferença estatística ($p<0,0001$) sobre a influência positiva da utilização da plataforma na formação do aluno na disciplina, enquanto não houve diferença estatística ($p>0,05$) entre “Não influenciou” e “Não utilizei o *BioMoodle*”. A primeira questão não foi respondida por 1%, enquanto a terceira e a quarta questões não foram respondidas por 2% dos acadêmicos. Concluímos que a utilização da plataforma Bio Moodle foi caracterizada pelos acadêmicos de Agronomia na disciplina de Anatomia dos Animais Domésticos como sendo de fácil acesso, utilizada razoavelmente por meio de computador e influenciou positivamente o rendimento acadêmico. Esse estudo permite avaliar a utilização do *Moodle* na formação acadêmica como suporte pedagógico, estimulando a aplicação da EaD na disciplina de Anatomia dos Animais Domésticos pelos professores e a atuação dos monitores como tutores nesta prática pedagógica.

Palavras-chave: *Anatomia Animal, BioMoodle, Ensino*

Produção e avaliação funcional de proteínas moduladoras da via de sinalização Wnt com potencial terapêutico

Schwarzer, A.C.A.P.; Carneiro, F.R.G.; Zanchin, N.I.T.

Laboratório de Proteômica e Engenharia de Proteínas

E-mail: anaschwarzer@gmail.com

Wnt consiste numa ampla família de glicoproteínas sinalizadoras secretadas envolvidas em diversos processos da embriogênese e homeostase de tecidos adultos, como especificação dos eixos de simetria, morfogênese dos membros laterais, tumorigênese, metástase, diferenciação, senescência e morte celular. Dentre as inúmeras patologias resultantes da desregulação das vias Wnt destacam-se diversos tipos de câncer, incluindo as leucemias. A ativação e repressão da sinalização Wnt são determinadas pelas interações destas proteínas com diferentes receptores de membrana e moduladores secretados, como DKK1 e SFRP2, os quais podem exercer papel fundamental no desenvolvimento ou supressão tumoral de acordo com o contexto celular. Neste projeto foram desenvolvidos sistemas de expressão para as proteínas humanas DKK1 e SFRP2 a partir de linhagens celulares de mamíferos, objetivando a obtenção de proteínas ativas para posterior caracterização funcional. Para tanto, os cDNAs de DKK1 e SFRP2 contendo uma cauda de histidinas na extremidade C-terminal foram subclonados no vetor pIRE2-EGFP (*Clontech*), que permite a expressão da proteína de interesse e EGFP em um único mRNA bicistrônico, mas com tradução independente; e em versões modificadas no nosso laboratório do vetor pcDNA™3.1 (*Invitrogen®*), contendo cassetes de expressão distintos para a proteína de interesse e EGFP. Células HEK293T foram transfecadas por lipossomo e analisadas por microscopia de fluorescência quanto à expressão de EGFP, utilizada como gene marcador. A expressão transiente de SFRP2 foi avaliada 24 h, 48 h, 72 h e 96 h após a transfecção. Purificações desta proteína por cromatografia de afinidade foram realizadas utilizando a resina Ni-NTA Superflow (*QIAGEN®*), além de um sistema de cromatografia automatizado com a coluna Histrap FF Crude (*GE Healthcare*). Os níveis de expressão a partir de ambos os plasmídeos foram comparados por SDS-PAGE e Western blot. Ambos os vetores mostraram-se eficientes para a expressão de SFRP2; entretanto, os maiores níveis desta proteína foram obtidos entre 48 h e 72 h após a transfecção com o vetor bicistrônico pIRE2-EGFP. A otimização da expressão e dos protocolos de purificação está em andamento para possibilitar a utilização de SFRP2 em posteriores ensaios funcionais.

Palavras-chave: *sinalização Wnt, sfrp2, moduladores, sistemas de expressão, purificação*

Agradecimentos: Agradecemos ao Instituto Carlos Chagas e à Fiocruz pelos equipamentos e reagentes concedidos e ao CNPq pelo apoio financeiro.

Sinvastatina induz o processo autofágico em células de melanoma humano metastático: Potencial ação na resistência tumoral

Ribeiro, C.S.P.; Cruz, O.M.; Pino Gomes, R.; Bark, J.M.; Martinez, G.R.; Winnischofer, S.M.B.

Laboratório de Oxidações Biológicas

E-mail: carolinaspribeiro@gmail.com

O melanoma é um tipo de câncer de pele com baixa incidência, porém muito agressivo e com alto índice de mortalidade. Um dos desafios da terapêutica atual é o processo de resistência, o qual torna células tumorais tolerantes à citotoxicidade do fármaco e/ou ativa mecanismos de sobrevivência celular. Esses fatos enfatizam a necessidade da busca por alternativas de tratamento. A sinvastatina tem ação antitumoral, capaz de induzir apoptose, parada do ciclo celular e modular a autofagia em diversas linhagens tumorais. Neste trabalho buscou-se avaliar o efeito da sinvastatina na modulação da autofagia em células de melanoma metastático humano da linhagem WM9. Nossos resultados mostram que a sinvastatina reduziu a viabilidade das células WM9 de forma dependente da concentração, atingindo 53,5% e 90,3% após tratamento por 72 h nas concentrações de 1 e 5 μ M, respectivamente. A redução de viabilidade foi acompanhada por aumento no índice autofágico (2,5 unidades) para o tratamento com 5 μ M de sinvastatina e aumento da quantidade de células na fase G0-G1 do ciclo celular. O co-tratamento de sinvastatina com hidroxicloroquina (um inibidor de autofagia) bloqueou efetivamente a autofagia, com concomitante aumento da sensibilidade das células WM9 aos efeitos citotóxicos da sinvastatina, atingindo uma redução de viabilidade de 97% com a combinação de hidroxicloroquina (25 μ M) e sinvastatina (5 μ M) e aumento da quantidade de células com DNA fragmentado (18,4%). Foram avaliados os marcadores de autofagia LC3-I/II e p62. Observou-se níveis aumentados da expressão de LC3-I/II proporcional ao aumento da concentração de sinvastatina e concomitante redução dos níveis de proteína p62. Com a autofagia inibida, a expressão de LC3-I/II foi diminuída e os níveis de p62 não foram alterados. Ainda, a superexpressão da proteína GFP-LC3-mCherry em células WM9 possibilitou a detecção do aumento de vacúolos fluorescentes concomitante com o aumento da concentração de sinvastatina utilizada. Juntos, esses dados indicam que o tratamento com sinvastatina é capaz de induzir autofagia de maneira concentração-dependente, sendo este um mecanismo de resistência em modelo de melanoma humano. Independente do aumento no fluxo autofágico a sinvastatina foi citotóxica, tornando interessante a possibilidade de ser utilizada como um agente terapêutico alternativo e/ou adjuvante ao uso de quimioterápicos.

Palavras-chave: *melanoma, sinvastatina, autofagia*

Taxonomia e distribuição de *Minidiscus* (*Bacillariophyta*) no sul do Brasil

Correr-da-Silva, F.; Moreira-Filho, H.; Fernandes, L.F.

Laboratório de Ficologia

E-mail: felipe.correr90@gmail.com

O gênero *Minidiscus* Hasle é um dos menores gêneros de diatomáceas marinhas conhecidas, cujas dimensões não ultrapassam 10 µm de diâmetro. A espécie *Minidiscus trioculatus* (F.J.R. Taylor) Hasle foi a primeira espécie descrita, proveniente do Oceano Índico. Atualmente, são reconhecidos 10 representantes do gênero, distribuindo-se em oito espécies, duas variedades e uma forma, distintas morfológicamente entre si através da disposição das estrias, o tipo de aréola, presença ou ausência de fultopôrtulas ou de uma área hialina marginal. No Brasil, há registro de apenas duas espécies, *Minidiscus chilensis* Rivera e *M. comicus* Takano. O material estudado é proveniente de expedições realizadas entre 2006 a 2013 entre os estados da região Sudeste e Sul do Brasil (São Paulo, Paraná e Santa Catarina). Este estudo traz observações morfológicas sob microscopia eletrônica de transmissão e distribuição das espécies (*M. chilensis*, *M. comicus*, *M. variabilis* var. *variabilis*, *M. trioculatus* var. *trioculatus*). Registra-se pela primeira vez no Brasil, as espécies *M. trioculatus* var. *trioculatus* (F.J.R.Taylor) Hasle e *M. variabilis* var. *variabilis* Kaczmarška.

Palavras-chave: *Minidiscus*, distribuição geográfica, taxonomia, morfologia

Lista de Trabalhos

Análise da mutação R337H TP53 em pacientes com carcinomas mamários esporádicos -----	1
Mathias, C.; Lima, R.S.; Urban, C.A.; Cavalli, L.R.; Figueiredo, B.C.; Sebastião, A.P.M.; Soares, E.; Ribeiro, E.M.S.F.; Cavalli, I.J. -----	1
Análise do número de cópias do gene CCND1 em pacientes portadoras de carcinomas mamários com e sem metástases em linfonodos axilares-----	2
Jucoski, T.S; Callegari, C.C.F; Lima, R.S; Urban, C.A; Cavalli, I.J; Ribeiro, E.M.S.F. -----	2
Análise do número de cópias e da expressão dos genes CDH1 e VIM -----	3
Wons, L; Ramos, F.S.; Ribeiro, E.M.S.F; Cavalli, I.J.; Lima, R.S.; Urban, C.A. -----	3
Análise histológica da artéria aorta de ratos Wistar no processo de envelhecimento-----	4
Balduino, A.S.; Sakamoto, A. A.; Veronez, D.A.L. -----	4
Análise integrada de números de cópias de DNA e expressão de miRNAs em carcinomas mamários triplo negativos de Latinas -----	5
Sugita, B.M.; Gill, M.; Pereira, S.; Mahajan, A.; Duttargi, A.; Ribeiro, E.; Cavalli, I.; Gusev, Y.; Madhavan, S.; Cavalli, L. -----	5
Análise morfométrica de dentes submetidos a tratamento endodôntico -----	6
Veronez, D.A.L.; Brancher, J.A.; Schibicheski, J.; Gomes, F.G.F.L.R.; Junior, A.R.L-----	6
Avaliação da atividade de Metaloproteinases 2 e 9 em diafragma de ratos diabéticos-----	7
Santos-Júnior, A.S.R; Capote, A.E; Araujo, D.N; de-Sousa-Neto, E.G; da-Silva, F.S; Fogaça, R.T.H.; Dias, F.A.L.-----	7
Avaliação da citotoxicidade e dos níveis de espécies reativas do oxigênio em células de glioblastoma humano da linhagem T98G tratadas com hexahidroxitufenileno -----	8
Silva, M.M.; Mottin, S.S.; Cruz, O.M.; Ribeiro, C.S.P.; Gomes, R.P.; Bark, J.M.; Rodrigues, J.L.M.T.; Christoff, A.; Winnisschofer, H.; Martinez, G.R.; Wnnischofer, S.M.B. -----	8
Descrição anatômica dos canais radiculares de dentes de cães: revisão de literatura -----	9
Ferraz, C.P.; Torres, M.F.; Veronez, D.A.L.; Brancher, J.A.; Schibicheski, J.-----	9
Diatomáceas – panorama das novidades taxonômicas propostas por pesquisadores do LABFIC/UFPR -----	10
Tremarin, P.I.; Ludwig, T.A.V.-----	10
Diatomáceas em ambientes cársticos na formação Bodoquena, Mato Grosso do Sul -----	11
Tusset, E.A.; Tremarin, P.; Ludwig, T. -----	11
Diatomáceas epilíticas respondem a um gradiente temporal após um derramamento de óleos diesel e vegetal no rio Negro, Paraná -----	12
Matias de Faria, D.; Costin, J.C.; Tremarin, P.I.; Ludwig, T.A.V. -----	12
Dinâmica de colonização e formas de fixação das diatomáceas em substrato artificial-----	13
Santos, R.K.; Algarte, V.; Ludwig, T.V. -----	13
Efeito agudo do exercício intervalado sobre a variabilidade da frequência cardíaca no diabetes melito -----	14
Sousa-Neto, E.G.; Rank Filho, C.A.; Cabral, M.V.C.; Dias, F.A.L.; Fogaça, T.R.; Fernandes, L.C. -----	14
Efeito de p-cresol e p-cresil sulfato na expressão do transportador de ânion orgânico-1 (OAT1) em células vasculares musculares lisas de coelho (RASM) -----	15
Cunha, R.S.; Favretto, G.; Gregório, P.C.; Maciel, R.A.P.; Becker-Finco, A.; Pecoits-Filho, R.; Stinghen, A.E.M. -----	15
Efeito do treinamento intervalado sobre a variabilidade da Frequência Cardíaca e Remodelamento Cardíaco em ratos diabéticos-----	16
Souza-Neto, E.G.; Araújo, D.N.; Peixoto, J.V.C.; Capote, A.E.; Dias, F.A.L.; Fogaça, R.T.H. ---	16
Emprego do anticorpo mAb 3 no estudo e diagnóstico da ceratite amebiana -----	17
Lima, M.M.W.; Finco, A.B.; Costa, A.O.; De Moura, J.F.; Ramirez, M.; Alvarenga, L.M. -----	17
Engineered antibody fragments for recognise and neutralize the dermonecrotic toxins of <i>Loxosceles intermedia</i> -----	18
Karim-Silva, S.; de Moura, J.; Noiray, M.; Minozzo, J.C.; Aubrey, N.; Alvarenga, L.M.; Billiald, P. -----	18

Estruturação de um banco de dentes caninos no departamento de anatomia da UFPR-----	19
Zattoni, D.F.M.; Torres, M.F.; Gomes, F.G.F.L.R.; Brancher, J.A.; Veronez, D.A.L.; Valduga, M.I.R. -----	19
Estudo morfométrico e estereológico da artéria aorta de ratos Wistar no processo de envelhecimento-----	20
Sakamoto, A.A.; Balduino, A.S.; Veronez, D.A.L. -----	20
Estudo morfoquantitativo dos núcleos hipotalâmicos paraventricular, dorsomedial, arqueado, ventromedial e área hipotalâmica lateral de ratos wistar submetidos ao tratamento com imunossupressores tacrolimus e micofenolato mofetil-----	21
Schuh, R.; Matias, J.E.F.; Ramos, E.J.B.; Veronez, D.A.L. -----	21
Frustulia (Diatomeae, Bacillariophyceae) em ambientes de baixo impacto antrópico -----	22
Ferreira, P.C; Ludwig, T.A.V.-----	22
Identificação de peptídeos ICK e de isoformas de uma proteína homóloga a alérgenos em aranhas do gênero <i>Loxosceles</i> -----	23
Justa, H.C.; Matsubara, F.H.; Meissner, G.O.; De Mari, T.L.; Vuitika, L.; Bednaski, A.L.; Boia, M.F.; Morgan, A.M.; Senff-Ribeiro, A.; Veiga, S.S. -----	23
Inibição de autofagia potencializa o efeito citotóxico do hexahidroxitrifenileno em células de glioblastoma humano -----	24
Mottin, S.S.; Cruz, O.M.; Ribeiro, C.S.P.; Gomes, R.P.; Bark, J.M.; Silva, M.M.; Rodrigues, J.L.M.; Christoff, A.; Winnischofer, H.; Martinez, G.R.; Winnischofer, S.M.B. -----	24
Instrumentação endodôntica de dentes de cães com limas rotatórias Protaper® -----	25
Costa, M.K; Torres, M.F; Veronez, D.L; Brancher, J.A; Gomes, F.G.F.L.R.-----	25
Mapeamento estrutural do sítio ativo de fosfolipases D presente no veneno de aranha-marrom (<i>Loxosceles intermedia</i>): características bioquímicas e biológicas -----	26
Vuitika, L.; Chaves-Moreira, Matsubara, F.H.; Justa, H.C.; Senff-Ribeiro, A.; Chaim, O.M.; Arni, R.K.; Veiga, S.S. -----	26
Modelo de insuficiência venosa e cicatrização de úlceras em ratos Wistar -----	27
Araújo, D.N; Ribeiro, C.T.D; Santos, E.N; Veiga, A.T; Fogaça, R.T. H; Dias, F.A.L. -----	27
O Carbonato de Sevelamer reduz a inflamação em células endoteliais humanas expostas aos produtos de glicação avançada (AGEs) -----	28
Gregório, P.C.; Favretto, G.; Sasaki, G.; Cunha, R.; Becker-Finco, A.; Pocoits-Filho, R.; Souza, W.M.; Barreto, F.C.; Stinghen, A.E.M. -----	28
Padronização do método "hanging drop" para enriquecimento da população de células tronco de glioma humano -----	29
Bark, J.M.; Silva, M.M., Mottin, S.S., Cruz, O.M.; Ribeiro, C.S.P.; Winnischofer, S.M.B. -----	29
Plataforma didática de ensino a distância – biomoodle como recurso didático no ensino de anatomia de animais domésticos -----	30
Silva, J.E.M.; Pereira, J.F.S.; Torres, M.F.; Guimarães, A.T.B.; Leal Jr, A.R.; Filus, A. -----	30
Sinvastatina induz o processo autófágico em células de melanoma humano metastático: Potencial ação na resistência tumoral -----	31
Ribeiro, C.S.P.; Cruz, O.M.; Pino Gomes, R.; Bark, J.M.; Martinez, G.R.; Winnischofer, S.M.B. -----	31
Taxonomia e distribuição de <i>Minidiscus</i> (Bacillariophyta) no sul do Brasil-----	32
Correr-da-Silva, F.; Moreira-Filho, H.; Fernandes, L.F. -----	32

Análise da mutação R337H TP53 em pacientes com carcinomas mamários esporádicos

Mathias, C.; Lima, R.S.; Urban, C.A.; Cavalli, L.R.; Figueiredo, B.C.; Sebastião, A.P.M.; Soares, E.; Ribeiro, E.M.S.F.; Cavalli, I.J.

Laboratório de Citogenética Humana e Oncogenética

E-mail: carol.mathias1@hotmail.com

O câncer de mama é o tipo mais comum dos casos de câncer diagnosticados em adultos. Mutações no gene *TP53* representam 25% dos casos e geralmente resultam na perda do alelo selvagem e formação de uma proteína com fenótipo dominante-negativo. O estudo do gene supressor de tumor *TP53* possibilitou a identificação da mutação R337H *TP53* que se caracteriza por codificar uma histidina no lugar de arginina (R337H), no exon 10 do gene *TP53*, no domínio de dimerização da proteína p53. Esta mutação ocorre em 95% dos pacientes pediátricos portadores de Tumor de CórTEX Adrenal (ATC), em frequências elevadas no Sul do Brasil, comparativamente a outras regiões e países. Em famílias portadoras desta mutação, outros cânceres além do ATC têm sido descritos, em especial na vida adulta, e o câncer de mama é o mais frequente deles sendo observado em 8,6% das pacientes, enquanto que na população em geral a frequência é de 0,3%. O objetivo principal deste projeto foi verificar a frequência da mutação R337H, em uma amostra de pacientes portadoras de carcinomas mamários esporádicos, atendidas no Hospital Nossa Senhora das Graças e de Clínicas de Curitiba, PR e no Hospital UOPECCAN (União Oeste Paranaense de Estudos e Combate ao Câncer, Cascavel-PR). Foram genotipadas 700 pacientes atendidas nos Hospitais de Curitiba e 150 atendidas na UOPECCAN. Entre as primeiras foram identificadas 11 pacientes heterozigotas para a mutação, e na amostra da UOPECCAN, foram identificadas 6 pacientes heterozigotas, com uma frequência genotípica em ambas as amostras de 2% e gênica de 1%. Dados clínicos e histopatológicos das pacientes utilizadas neste trabalho estão sendo disponibilizados pelos médicos das instituições para posterior análise estatística.

Palavras-chave: câncer de mama, *TP53*, R337H

Análise do número de cópias do gene CCND1 em pacientes portadoras de carcinomas mamários com e sem metástases em linfonodos axilares

Jucoski, T.S; Callegari, C.C.F; Lima, R.S; Urban, C.A; Cavalli, I.J; Ribeiro, E.M.S.F.

Laboratório de Citogenética Humana e Onsogenética

E-mail: tayschultz@hotmail.com

O gene CCND1 codifica a proteína ciclina D1, está localizado no cromossomo 11q13.3 e participa da regulação do ciclo celular. No câncer de mama apresenta-se amplificado em cerca de 15-20% das pacientes e tem sido sugerido que esta alteração tenha significado prognóstico e preditivo no tratamento de tumores positivos para o receptor de estrogênio. Com o objetivo de avaliar a importância do número de cópias deste gene no processo de progressão tumoral, esta análise foi realizada tomando como parâmetro inicial a presença ou ausência de metástases em linfonodos axilares e correlacionando os resultados obtidos com outros parâmetros clínico-histopatológicos (idade, grau do tumor, status dos receptores hormonais e do oncogene HER2). Métodos: O estudo foi realizado com 102 amostras de tumores coletados no momento da cirurgia, sendo 68 com e 34 sem metástases em linfonodos axilares. As pacientes eram predominantemente eurodescendentes, provenientes do Hospital Nossa Senhora das Graças, Curitiba, PR. A extração do DNA dos tumores foi realizada pelo método de fenol clorofórmio e a análise de alterações do número de cópias por PCR quantitativa em tempo real utilizando o ensaio *TaqMan® Copy Number Assays* (*Life Technologies™*). Os dados obtidos foram analisados pelos softwares *Copy Caller* (*Life Technologies™*) e *GraphPad Prism 5*. Resultados: Na análise do número de cópias do gene em estudo todas as amostras apresentaram ganho em comparação com o controle normal (diploide), porém não houve diferença estatisticamente significante ($t'=0,85 < tc=2,03$) entre a média do número de cópias das pacientes com metástases ($6,41 \pm 3,68$) quando comparada com a média das pacientes sem metástases ($6,20 \pm 4,84$) e também para nenhum dos dados clínicos e histopatológicos analisados. Conclusão: estes dados sugerem que o número de cópias do gene CCND1 está associado com o início da carcinogênese mamária por se mostrar aumentado nas amostras sem metástase em linfonodo axilar permanecendo aumentado naquelas com metástases.

Palavras-chave: câncer de mama, número de cópias, gene CCND1, metástases

Análise do número de cópias e da expressão dos genes *CDH1* e *VIM*

Wons, L; Ramos, F.S.; Ribeiro, E.M.S.F; Cavalli, I.J.; Lima, R.S.; Urban, C.A.

Laboratório de Citogenética Humana e Oncogenética

E-mail: leli@wons.com.br

O câncer é uma anormalidade do tecido causada por células que apresentam alterações no DNA levando à expressão modificada de alguns genes. Essas células cancerosas apresentam um ciclo celular irregular o que pode conferir a capacidade de crescer descontroladamente e de migrar para tecidos adjacentes ou distantes, configurando o processo de metástase. Dentre os vários tipos de câncer, o de mama é o mais frequente em mulheres e que apresenta o maior índice de mortalidade. Em torno de 90% dos casos de câncer de mama resultam de mutações nas células somáticas enquanto apenas 10% são hereditários. A transição epitelial-mesenquimal (TEM) pode promover o processo metastático visto que ela é um evento onde as células epiteliais neoplásicas podem ganhar características mesenquimais como mobilidade. Para isso, uma série de mudanças ocorrem como alterações na expressão e do número de cópias gênicas. O gene *VIM* codifica a vimentina, uma proteína estrutural do citoesqueleto que contribui para a manutenção da célula. Muitos estudos demonstraram que a superexpressão de *VIM* é comum em cânceres de mama agressivos e está relacionada com o desenvolvimento de metástases, se constituindo em um marcador da transição epitelial-mesenquimal (TEM). Quando a célula adquire a capacidade de deslocamento, a expressão de *VIM* se encontra alterada assim como a de *CDH1*. Este gene codifica a E-caderina, uma proteína que atua na adesão celular das células epiteliais e sua baixa expressão tem sido correlacionada com a presença de metástases, diminuição da diferenciação do tumor e pior sobrevida. A análise de expressão gênica e de número de cópias dos genes *VIM* e *CDH1* contribuirá para o entendimento da TEM em carcinomas primários de mama.

Palavras-chave: expressão gênica, número de cópias, *vim*, *cdh1*.

Análise histológica da artéria aorta de ratos Wistar no processo de envelhecimento

Balduino, A.S.; Sakamoto, A. A.; Veronez, D.A.L.

Laboratório de Estudos Morfológicos, Morfométricos e Estereológicos

E-mail: djaniraveronez@gmail.com

A artéria aorta está sujeita a alterações morfológicas durante o processo natural de senescênci que podem ocorrer em função de modificações fisiológicas e histológicas. Diversas pesquisas demonstram, no envelhecimento, a ocorrência de espessamento da túnica íntima, hipertrofia da musculatura, fragmentação da camada elástica, aumento da infiltração de leucócitos e alteração na distribuição de colágenos tipos I e III. Tais variações histológicas são responsáveis por alterações mecânicas, como elasticidade e rigidez da parede da artéria aorta. No entanto, não há relatos na literatura sobre análise do diâmetro vascular. Neste sentido, este trabalho apresenta como objetivo analisar o processo natural de envelhecimento da artéria aorta de ratos *Wistar* por meio da análise histopatológica e morfoquantitativa. Foram utilizados 72 ratos da linhagem *Wistar*, divididos em 6 grupos, com 12 animais cada. No grupo 1, os animais tiveram 3 meses de vida; no 2, 6 meses; 3, 9 meses; 4, 12 meses; 5, 15 meses, e no 6, 18 meses, sendo destinados à eutanásia e, em seguida, dissecação e remoção das artérias aortas para montagem das lâminas e execução das técnicas histoquímicas, que foram: Hematoxilina e Eosina, Tricômico de Masson e Picrosírius. A artéria aorta de cada animal foi, devidamente, seccionada na parte descendente para obtenção de 10 cortes transversais para posterior montagem das lâminas histológicas. As 72 lâminas foram escaneadas, e foi realizada a análise morfoquantitativa pelo software VSViewer. Foi verificada a média e o desvio padrão de cada grupo, e os resultados principais são apresentados a seguir: grupo 1: média perímetro (MP) = 5,064 mm; média área (MA) = 1,7476 mm². Grupo 2: MP = 5,1736 mm; MA = 1,9052 mm². Grupo 3: MP = 5,566 mm; MA = 2,2114 mm². Grupo 4: MP = 4,7481 mm; MA = 1,5774 mm². Grupo 5: MP = 5,8775 mm; MA = 2,4618 mm². Grupo 6: MP = 5,5319 mm; MA = 2,1861 mm². Os resultados da análise morfoquantitativa obtidos até o presente momento permitem concluir que do grupo 1 até o grupo de número 6, os valores da média do perímetro e da área aumentaram crescentemente. Portanto, pode-se estimar que, com o avanço da idade as medidas da artéria aorta aumentam gradativamente.

Palavras-chave: Artéria aorta, Rato *Wistar*, Envelhecimento, Anatomia Clínica

Análise integrada de números de cópias de DNA e expressão de miRNAs em carcinomas mamários triplo negativos de Latinas

Sugita, B.M.; Gill, M.; Pereira, S.; Mahajan, A.; Duttargi, A.; Ribeiro, E.; Cavalli, I.; Gusev, Y.; Madhavan, S.; Cavalli, L.

Laboratório de Citogenética Humana e Oncogenética

E-mail: brunasugita@ufpr.br

Os tumores mamários triplo negativos (TMTN) representam um grupo de doenças clinicamente e molecularmente heterogêneo, apresentando incidência e resposta ao tratamento variáveis de acordo com os grupos raciais. Esses tumores são mais comuns em mulheres jovens de descendência africana, hispânica e latina, nas quais são geralmente diagnosticadas em estágios avançados, com doença não-localizada. Estudos moleculares demonstraram que as diferenças na biologia desses tumores em latinas pode ser o principal contribuinte para a alta mortalidade da doença. O objetivo principal desse estudo foi identificar a assinatura de expressão de miRNA associada com TMTN de pacientes latinas através da integração de dados de expressão de miRNA e aCGH. Métodos: Amostras parafinizadas de 40 TMTN e 25 não-TMTN de pacientes latinas obtidas do Hospital de Clínicas da UFPR foram analisadas quanto expressão de miRNA e aCGH utilizando as plataformas *Nanostring* e *Agilent SurePrint G3 Human array-CGH* respectivamente. Os dados de miRNA e aCGH obtidos nas mesmas amostras foram diretamente integrados, e algoritmos combinatórios de predição de alvos de miRNAs juntamente com softwares de enriquecimento de vias de sinalização e funções biológicas foram utilizados para identificar os miRNAs mais relevantes e seus respectivos genes alvos. Resultados: Foram obtidos duzentos e nove miRNAs diferencialmente expressos entre as amostras TMTN e não-TMTN. Após a integração com aCGH, 14 miRNAs apresentaram dados concomitantes e concordantes de alterações de números de cópias de DNA e expressão de miRNA, resultando em 3800 genes alvos preditos por pelo menos 2 de 3 diferentes algoritmos de predição de alvos. Uma segunda integração com dados obtidos por aCGH, o número de genes alvos preditos reduziu para 730 genes, sugerindo que esses genes são potencialmente afetados por dois mecanismos de regulação (miRNA e alteração de número de cópias de DNA). Análises de bioinformática identificaram diversas vias de sinalização potencialmente afetadas pelos miRNAs, incluindo adesão focal, via do PI3K-Akt, e vias relacionadas a câncer. Análises de interactoma demonstram que os genes alvos dos 14 miRNAs estão envolvidos em processos de desenvolvimento tumoral, como angiogênese, proliferação, transição epitelial-mesenquimal e apoptose. Conclusão: A análise integrada permitiu a identificação de uma assinatura de expressão de miRNAs associada a TMTN de pacientes latinas e de mecanismos moleculares que podem resultar na desregulação da expressão de miRNAs e respectivos genes alvos. Esses resultados contribuem para a identificação de alvos moleculares específicos para raças que podem ser utilizados para desenvolvimento de novos tratamentos para TMTN e para o desenho de estudos clínicos e intervenções clínicas mais apropriadas para mulheres latinas.

Palavras-chave: câncer de mama, microRNA, DNA

Agradecimentos: Este trabalho foi financiado pela CAPES-PDSE (BEX 10568/14-0), e CERSI-FDA/EUA.

Análise morfométrica de dentes submetidos a tratamento endodôntico

Veronez, D.A.L.; Brancher, J.A.; Schibicheski, J.; Gomes, F.G.F.L.R.; Junior, A.R.L

E-mail: marieleneko@gmail.com

Com o aumento da presença e do contato dos animais de companhia dentro dos lares, a percepção de doenças bucais aumentou, entre. A principal doença bucal é a doença periodontal que causa danos a polpa dentária, sendo necessário tratamento endodôntico. Sendo o objetivo deste trabalho, analisar a expansão radicular por meio de radiografias. Foram utilizados 40 dentes, com canal único e com comprimento médio de 21 mm, extraídos de cães com doença periodontal. Radiografias foram feitas antes para confirmar a presença de canal único, e depois do tratamento com limas *ProTaper NiTi®*. As imagens radiográficas foram analisadas pelo programa *ImageLab®* e os resultados obtidos foram tratados pelos teste estatísticos *Shapiro-Wilk* e *Wilcoxon*. A análise morfométrica dos canais radiculares por meio de radiografias demonstrou aumento significativo do diâmetro do canal radicular após modelagem com limas *ProTaper NiTi®* permitindo concluir que a instrumentação rotatória dos canais radiculares de dentes incisivos e caninos de cães foi eficaz para a limpeza e aumento da área.

Palavras-chave: *tratamento endodôntico, doença periodontal, Análise morfométrica*

Avaliação da atividade de Metaloproteinases 2 e 9 em diafragma de ratos diabéticos

Santos-Júnior, A.S.R; Capote, A.E; Araujo, D.N; de-Sousa-Neto, E.G; da-Silva, F.S; Fogaça, R.T.H.; Dias, F.A.L.

Laboratório de Fisiologia da Contração Muscular

E-mail: antoniosergiorocha86@gmail.com

O *Diabetes Mellitus* (DM) é uma doença na qual os níveis de insulina ou a resposta dos tecidos a insulina (ou ambos) são insuficientes para manter normais os níveis plasmáticos de glicose, o que causa um fenótipo hiperglicêmico. Está relacionado a várias neuropatias e doenças musculoesqueléticas, além de outros sistemas. Atualmente há poucas pesquisas a respeito da incidência, prevalência e fisiopatologia de desordens diafragmáticas causadas por DM. Embora outras inúmeras pesquisas correlacionem o DM com diversas implicações neuropáticas e musculoesqueléticas, neste projeto estamos investigando alterações tróficas nas fibras musculares diafragmáticas, grau de fibrose em diafragma e o papel das metaloproteinases 2 e 9 nestas alterações em músculo diafragma de ratos adultos diabéticos *estreptozotocina*-induzidos, o que a torna uma pesquisa inovadora. Para estudar essas alterações nos músculos diafragmáticos de ratos adultos diabéticos *estreptozotocina*-induzidos, foram preparadas lâminas histológicas coradas com Hematoxilina-Eosina (HE) e *Picro-Sirius Red* (PSR). A amostra foi composta por 19 animais, sendo 9 controle e 10 diabéticos. A atividade enzimática das metaloproteinases 2 e 9 está sendo investigada através de zimografia. O resultado da análise estatística da área de secção transversal média (ASTM) das fibras musculares de ratos do grupo controle comparada aos do grupo diabético *estreptozotocina*-induzido, demonstrou que há uma significativa diferença de trofismo celular entre os grupos (valor $p = 0,0001$). O grupo de animais controle apresentou uma ASTM de $1355,00 \mu\text{m}^2 \pm 159,8 \mu\text{m}^2$, enquanto o grupo de animais com DM apresentou um ASTM de $822,5 \mu\text{m}^2 \pm 160,7 \mu\text{m}^2$. Já o estudo histológico de diafragma em coloração *Picro-sírius Red* demonstrou que animais com DM apresentaram maior concentração de colágeno no músculo diafragmático com valor $p = 0,0068$. O grupo de animais controle apresentou concentrações de colágeno médio 7,438% e desvio padrão $\pm 1,25$, enquanto o grupo de ratos diabéticos apresentou concentração de colágeno médio 10,38% e desvio padrão $\pm 2,112$. Estes dados apontam evidências de que há efeito distrófico da diabetes *estreptozotocina*-induzida sobre o músculo diafragma dos animais. Resta agora determinar o papel das metaloproteinases 2 e 9 nesse processo degenerativo e discutir como essas alterações podem interferir na funcionalidade do diafragma e capacidade pulmonar dos indivíduos.

Palavras-chave: metaloproteinases, diabete, diafragma

Avaliação da citotoxicidade e dos níveis de espécies reativas do oxigênio em células de glioblastoma humano da linhagem T98G tratadas com hexahidroxitifenileno

Silva, M.M.; Mottin, S.S.; Cruz, O.M.; Ribeiro, C.S.P.; Gomes, R.P.; Bark, J.M.; Rodrigues, J.L.M.T.; Christoff, A.; Winnisschofer, H.; Martinez, G.R.; Winnischofer, S.M.B.

Laboratório de oxidações biológicas, UFPR

E-mail: mel.mara@live.com

O glioblastoma multiforme (GBM) é o que apresenta o maior grau de agressividade dentre os tipos de glioma, que são os tumores mais comuns no sistema nervoso central. Estes tumores apresentam mecanismos de resistência que evadem à terapêutica atual baseada no uso do quimioterápico temozolomida seguido de ciclos de radioterapia. E por isso, são necessárias novas abordagens terapêuticas. Tendo em vista que o nosso grupo tem explorado a ação do hexahidroxitifenileno (HHTP), um derivado de catecol citotóxico em células tumorais, o objetivo desse trabalho é avaliar os efeitos citotóxicos do tratamento com o HHTP em modelo de glioma humano, com foco na modulação dos níveis de espécies reativas de oxigênio. Para isso, utilizaram-se células da linhagem T98G tratadas com HHTP nas concentrações de 10, 25 e 50 µM por 12, 24 e 48 horas. Foram realizados ensaios de citotoxicidade, pelo método de MTT, e análise dos níveis de espécies reativas de oxigênio (ROS), por método fluorescente utilizando a sonda DCFH-DA. Os resultados mostram que após 12 e 24 horas, o tratamento com HHTP não promove diferença significativa no número de células viáveis com relação ao controle. Já após 48 horas de tratamento, o efeito citotóxico do HHTP foi evidente, promovendo redução do número de células viáveis em 14%, 34%, 46% para as concentrações de 10, 25 e 50 µM de HHTP, respectivamente. Ainda, observou-se que após tratamento com HHTP por 12 horas os níveis de espécies reativas de oxigênio foram aumentados em 40% somente na maior concentração de HHTP utilizada (50 µM). Já em 48 horas o aumento dos níveis de espécies reativas de oxigênio atingiram 29% e 46% para as concentrações de 25 e 50µM de HHTP utilizadas. Em conjunto, esses dados mostram que o HHTP promove ação citotóxica em modelo de glioma humano, pelo menos em parte devido ao aumento dos níveis de espécies reativas do oxigênio, e sugerem o HHTP como uma alternativa eficaz e/ou adjuvante às atuais terapias de GBM.

Palavras-chave: *Glioma, hexahidroxitifenileno, morte celular, espécies reativas de oxigênio*

Descrição anatômica dos canais radiculares de dentes de cães: revisão de literatura

Ferraz, C.P.; Torres, M.F.; Veronez, D.A.L.; Brancher, J.A.; Schibicheski, J.

E-mail: cintia.ferraz08@gmail.com

O tratamento endodôntico de dentes de cães está se tornando muito frequente nas clínicas veterinárias. O objetivo principal desta terapia é promover a toalete dos canais radiculares por meio do preparo biomecânico, utilizando instrumentos e soluções irrigadoras. Para atingir esse objetivo é de fundamental importância o conhecimento da anatomia interna do canal radicular uma vez que os canais radiculares podem apresentar variações quanto ao número, quanto à direção relativa, quanto ao aspecto, quanto ao calibre, à secção e à acessibilidade. Com a evolução da terapia endodôntica humana e o desenvolvimento de limas automatizadas rotatórias com grande flexibilidade, o tempo operatório diminuiu significativamente. Nesse sentido, o objetivo deste estudo foi revisar a literatura buscando informações sobre a utilização de limas automatizadas no preparo do canal radicular de dentes de cães. Para tanto, foram selecionadas palavras-chave *veterinary + dentistry + endodontics + rotary files + dog*, na língua inglesa e na língua portuguesa, como descritores a fim de facilitar o processamento da pesquisa bibliográfica e o acesso aos artigos científicos. Foram consultadas as bases de dados *PubMED* e *Bireme*. Os resultados mostram que os descritores odontologia veterinária e cão foram encontrados em 785 artigos; endodontia veterinária e cão apareceram em 109 artigos; os descritores endodontia veterinária, cão e limas rotatórias levou a apenas um artigo científico. Os dados obtidos nesta pesquisa mostram que apesar do significativo número de artigos publicados sobre odontologia veterinária e da ampla utilização de instrumentos rotatórios na odontologia humana, as limas automatizadas ainda são pouco descritas e utilizadas na Medicina Veterinária. Estudos futuros deverão comprovar que as limas automatizadas podem diminuir o tempo cirúrgico aumentando a segurança do paciente veterinário.

Palavras-chave: *odontometria, canais radiculares, anatomia, odontologia, veterinária*

Diatomáceas – panorama das novidades taxonômicas propostas por pesquisadores do LABFIC/UFPR

Tremarin, P.I.; Ludwig, T.A.V.

Laboratório de Ficologia

E-mail: ptremarin@gmail.com

Diatomáceas são algas unicelulares microscópicas que geralmente ocorrem em elevada riqueza e abundância nos mais diversos tipos de ambientes aquáticos, tanto suspensas na coluna d'água quanto aderidas à substratos. Importantes trabalhos taxonômicos sobre diatomáceas foram realizados pela equipe que atua no laboratório de Ficologia (professores, alunos de graduação do curso de Ciências Biológicas e de pós-graduação em Botânica da UFPR). O laboratório, fundado pelo Prof. Dr. Hermes Moreira-Filho, representa uns dos principais centros de referência no estudo de diatomáceas continentais e marinhas do Brasil. Dois novos gêneros foram propostos (*Margaritum* Moreira-Filho 1968 e *Brandinia* Fernandes 2007), 22 novas espécies (*Triceratium moreirae* Fernandes & Souza-Mosimann 2001, *Melosira brandinii* Fernandes & Souza-Mosimann 2001, *Brandinia mosimanaiae* Fernandes & Procopiak 2007, *Thalassiosira rufa* Tremarin, Ludwig, Becker, Torgan 2008, *Encyonema exuberans* Tremarin, Wetzel & Ludwig 2011, *Eunotia fuhrmanii* Metzeltin & Tremarin 2011, *Aulacoseira brasiliensis* Tremarin, Torgan & Ludwig 2012, *Aulacoseira calypsi* Tremarin, Torgan & Ludwig 2013, *Placoneis itamoemae* Straube, Tremarin & Ludwig 2013, *Urosolenia obesa* Freire, Tremarin & Ludwig 2013, *Eunotia trigona* Fuhrmann, Metzeltin & Tremarin 2013, *Aulacoseira minuscula* Tremarin, Torgan & Ludwig 2014, *Aulacoseira pantanalensis* Tremarin, Torgan & Ludwig 2014, *Aulacoseira samariana* Tremarin, Torgan & Ludwig 2014, *Aulacoseira simoniae* Tremarin, Torgan & Ludwig 2014, *Aulacoseira veraluciae* Tremarin, Torgan & Ludwig 2015, *Nupela amabilis* Tremarin & Ludwig 2015, *Nupela difficilis* Straube, Tremarin & Ludwig 2015, *Nupela kociolekii* Straube, Tremarin & Ludwig 2015, *Nupela metzeltinii* Tremarin & Ludwig 2015, *Nupela praecipuoides* Tremarin & Ludwig 2015, *Nupela torganiae* Tremarin & Ludwig 2015), duas variedades não típicas (*Cymbella perpusilla* var. *moreirae* L. Rodrigues 1989, *Eunotia pseudosudetica* var. *rotundata* Cavalcante, Tremarin & Ludwig 2015), além de novas combinações. Salienta-se que estudos taxonômicos desvendam a diversidade biológica do planeta e são fundamentais para o desenvolvimento de estudos ecológicos, filogenéticos, biotecnológicos, paleoambientais, forenses, nanotecnológicos e outros.

Palavras-chave: *taxonomia, espécies novas, Estado do Paraná, Brasil*

Agradecimentos: À CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela bolsa de Pós-doutorado a P. Tremarin

Diatomáceas em ambientes cársticos na formação Bodoquena, Mato Grosso do Sul

Tusset, E.A.; Tremarin, P.; Ludwig, T.

Laboratório de Ficologia

E-mail: eduardotu7@gmail.com

A formação cárstica de Bodoquena caracteriza-se pela presença de rios com águas cristalinas e tufas carbonáticas. As espécies de diatomáceas que ocorrem nestes ambientes ainda são pouco estudadas. Nós realizamos um estudo taxonômico da comunidade de diatomáceas de ambientes cársticos, através de microscopia óptica e eletrônica de varredura e transmissão para a visualização da ultraestrutura das frústulas. As coletas foram realizadas nos seguintes corpos d' água: Chappeninha, Baia Bonita e Bonito, Olho d'água, rio da Prata, Perdido e Lagoa Misteriosa, estado do Mato Grosso do Sul. Cento e cinco táxons infragenéricos de diatomáceas foram determinados até o momento sendo trinta e sete destes novas citações para a região Centro Oeste. Microscopia eletrônica de varredura e transmissão tem sido utilizada como ferramenta para desvendar estruturas pouco visíveis em microscopia óptica, auxiliando nas identificações. Pelo potencial bioindicador destas algas silíceas, espera-se encontrar uma comunidade característica de águas carbonatadas, transparentes e com pH mais elevado.

Palavras-chave: *ambiente lóticos, Bacillariophyta, carste, Bonito*

Diatomáceas epilíticas respondem a um gradiente temporal após um derramamento de óleos diesel e vegetal no rio Negro, Paraná

Matias de Faria, D.; Costin, J.C.; Tremarin, P.I.; Ludwig, T.A.V.

LABFIC

E-mail: matiasdefaria.d@gmail.com

As diatomáceas são algas mundialmente utilizadas para monitoramento de distúrbios e impactos ambientais. São eficientes colonizadoras de substratos e suas estratégias de adesão fornecem informações confiáveis sobre a estrutura do biofilme. As associações de diatomáceas que possuem características ecológicas similares fornecem fortes relações com gradientes ambientais. Neste estudo nós utilizamos ferramentas biológicas, as guildas e formas de vida, para acessar a estrutura da comunidade de diatomáceas após um derramamento de óleos diesel e vegetal no rio Negro, maior tributário da margem esquerda do rio Iguaçu, (PR, Brasil). Antes do acidente (12/07/2004), amostras de água e epílito foram coletadas num ponto entre duas estações de captação de água para estudo qualitativo. Desta forma, após o derramamento foram realizadas três amostragens (P1, 19/09/2004; P2, 03/10/2004; P3, 13/10/2004) no mesmo local (n=9; variação temporal). Três seixos por amostragem foram coletados e o biofilme foi removido e limpo utilizando KMnO₄ e HCl. O derramamento resultou em diminuição do pH e da incidência de luz devido a redução da profundidade Secchi, e aumento dos sólidos totais. DBO, DQO, nitrito e nitrato também sofreram aumento. Devido as chuvas, as amostras subsequentes mantiveram altos os valores de sólidos totais. A comunidade de diatomáceas encontrada antes do derramamento de óleos apresentou maior riqueza e diversidade e também maior equidade, e após o acidente tendência a menor uniformidade. Gradiente temporal de riqueza ocorreu decrescendo significativamente da amostra P1 ($S' = 46$) para amostra P3 ($S' = 33$). A amostra coletada após o derramamento de óleos foi caracterizada pela motile guild formada por diatomáceas móveis que são ótimas competidoras em ambientes enriquecidos e sombreados. As coletas P2 e P3 foram caracterizadas pela *Low-profile guild* que sofreu aumento (65% entre P1 e P2) relacionado à turbulência causada pela alta pluviosidade reduzindo a diversidade da guilda. A *High-profile guild* compreende espécies que prevalecem em ambientes enriquecidos e com baixo distúrbio e neste estudo contribuiu menos de 17% para a comunidade epilítica, não demonstrando variação temporal. As guildas responderam satisfatoriamente ao gradiente ambiental encontrado, sendo possível compreender a dinâmica do sistema observando a composição das associações de diatomáceas e suas preferências ecológicas.

Palavras-chave: *formas de adesão, guildas, perifiton*

Dinâmica de colonização e formas de fixação das diatomáceas em substrato artificial

Santos, R.K.; Algarte, V.; Ludwig, T.V.

Laboratório de Ficologia

E-mail: rogerioklaksantos@gmail.com

As diatomáceas perifíticas são importantes produtores primários e fonte nutricional para invertebrados em corpos d'água lênticos. São capazes de adesão firme ou frouxa a substratos submersos, por liberação de mucilagem. Investigamos as espécies de diatomáceas que colonizaram substrato artificial para conhecer a composição das espécies e suas estratégias de fixação, durante um intervalo sucessional pré-estabelecido. O ambiente lêntico selecionado foi o reservatório do Piraquara II região metropolitana de Curitiba/PR. Lâminas de poliestireno foram utilizadas como substratos artificiais, as quais permaneceram submersas na coluna da água a uma profundidade de 30 cm, por 30 dias, sendo coletadas diariamente até o sétimo dia e na sequência, em intervalos de 2, 3 e 5 dias. Análise quantitativa foi realizada em cubetas de sedimentação, com material removido dos substratos por raspagem. As formas de fixação foram documentadas em microscopia ótica e microscopia de varredura. As estratégias mais comuns foram a adesão por almofadas seguidas pela formação de pedúnculos e posteriormente, as prostradas. As diatomáceas mais abundantes foram *Discostella stelligera* e *Aulacoseira ambigua*, *Fragilaria tenera*, *F. gracilis*, *Achnanthidium caledonicum*, *A. minutissimum*, *Gomphonema gracilis*, *Fragilariforma javanica*. Nos primeiros dias de colonização registrou-se uma baixa abundância de indivíduos, destacando-se *Discostella stelligera* e *Aulacoseira ambigua* ambas consideradas meroplanctônicas. A partir do segundo dia amostral, as diatomáceas perifíticas com almofadas foram encontradas, seguidas das pedunculadas e posteriormente das prostradas, ao longo do processo sucessional. Estas permaneceram até o último dia de amostragem, mas aumentaram em número de indivíduos ao longo do tempo. Dentre os gêneros identificados, *Fragilaria* foi o mais abundante, desde o momento em que se estabeleceram pela primeira vez no substrato, através de almofadas de mucilagem secretadas por campo de poros apicais. Estimaram-se alguns fatores abióticos a fim de caracterizar o ambiente: a condutividade variou de 30 a 84 μScm^{-1} , o pH de 8,3 a 8,9 e a temperatura de 18,5 a 25°C.

Palavras-chave: *biofilme, perifiton, substrato artificial, sucessão*

Agradecimentos: SANEPAR/CEAM, CNPq

Efeito agudo do exercício intervalado sobre a variabilidade da frequência cardíaca no diabetes melito

Sousa-Neto, E.G.; Rank Filho, C.A.; Cabral, M.V.C.; Dias, F.A.L.; Fogaça, T.R.; Fernandes, L.C.

Laboratório de Fisiologia e Fisiopatologia Cardiovascular

E-mail: clauciorank@gmail.com

O *Diabetes Mellitus* (DM) é uma doença metabólica, cuja principal característica é a hiperglicemia, que pode resultar em desenvolvimento de alterações cardíacas graves, acarretando a falência cardíaca e consequentemente danos graves a qualidade de vida. Portanto, este estudo avalia efeitos agudos do treinamento aeróbico intervalado de alta intensidade sobre a variabilidade da frequência cardíaca em ratos diabéticos. Foram implantados eletrodos tipo *piercing* (no subcutâneo, com as pontas externadas e entrelaçadas colocados posteriormente e abaixo da linha da inserção das patas, somando um total de quatro eletrodos). Posteriormente os ratos foram divididos em dois grupos, um como sendo *Diabetes Mellitus* induzido por *estreptozotocina* e outro controle (injeção de veículo), a partir da divisão, dentro de cada grupo haverá 2 subgrupos, no grupo diabético, assim como no grupo controle teremos um subgrupo treinamento contínuo (70% da capacidade no teste de exaustão) e outro subgrupo treinamento intervalado (alterna entre 90% e 50% da capacidade do teste de exaustão, com um minuto para cada, para que tenha o mesmo volume de exercício do grupo contínuo) por 50 minutos diário. Posteriormente à eutanásia, foram dissecados os animais e coletados corações, amostra sanguínea, osso, pele e músculos da pata posterior, além de diafragma para as análises da biologia molecular e histoquímica e de imunofluorescência. O controle autonômico foi avaliado pela análise da Variabilidade da Frequência Cardíaca (VFC) obtida através de eletrocardiograma (ECG) antes e imediatamente após o exercício. De acordo com dados preliminares o exercício intervalado aparentemente teve efeito negativo sobre a VFC e sobre o balanço simpatovagal. Os animais apresentaram menor frequência cardíaca e menor variabilidade global imediatamente após o exercício, devido ao predomínio parassimpático.

Palavras-chave: variabilidade de frequência cardíaca, diabetes melito, treinamento intervalado

Efeito de p-cresol e p-cresil sulfato na expressão do transportador de ânion orgânico-1 (OAT1) em células vasculares musculares lisas de coelho (RASM)

Cunha, R.S.; Favretto, G.; Gregório, P.C.; Maciel, R.A.P.; Becker-Finco, A.; Pocoits-Filho, R.; Stinghen, A.E.M.

Laboratório de Nefrologia Experimental

E-mail: regidacunha@gmail.com

As toxinas urêmicas p-cresol (PC) e seu conjugado p-cresil sulfato (PCS) contribuem para a progressão de diversas complicações clínicas da uremia, como a aterosclerose em pacientes com doença renal crônica (DRC). A captação de PC e PCS na célula é mediada por proteínas transportadoras tais como o OAT1, da família dos transportadores de ânions orgânicos (OAT). O presente estudo avaliou o efeito de PC e PCS na expressão de OAT1 em células vasculares musculares lisas de coelho (RASM). As células musculares foram tratadas com PC e PCS, respectivamente, nas concentrações normal (0,6 e 0,08 mg/L), urêmica (20,1 e 1,75 mg/L) e máxima urêmica (40,7 e 2,6 mg/L) por 24 horas. A viabilidade celular foi avaliada pelo ensaio de MTT, com ou sem *probenecid* (Pb) a 2,5 mM, agente uricosúrico descrito como inibidor de OATs. A expressão de OAT1 foi investigada por imunocitoquímica e dot-blot. O tratamento das células com PC diminuiu significativamente a viabilidade celular nas concentrações urêmica ($P<0,05$) e máxima urêmica ($P<0,0001$). O mesmo aconteceu com PCS em todas as concentrações testadas ($P<0,0001$). Quando as células foram tratadas com Pb, a viabilidade celular foi restabelecida ($P<0,0001$). A imunocitoquímica demonstrou visualmente uma marcação positiva para OAT1. O dot-blot mostrou um aumento significativo de OAT1 no tratamento com PC na concentração máxima urêmica ($P<0,01$) quando comparado ao controle. Dados da literatura demonstram que tanto a camada íntima como a camada média do vaso participam ativamente do processo inflamatório vascular e da aterogênese. O presente estudo demonstrou que a captação de PC e PCS pelas células musculares se dá via OAT1, e que o bloqueio seletivo com Pb pode representar uma estratégia terapêutica a fim de reverter os eventos deletérios da uremia.

Palavras-chave: toxicidade urêmica, p-cresol, p-cresil sulfato

Efeito do treinamento intervalado sobre a variabilidade da Frequência Cardíaca e Remodelamento Cardíaco em ratos diabéticos

Souza-Neto, E.G.; Araújo, D.N.; Peixoto, J.V.C.; Capote, A.E.; Dias, F.A.L.; Fogaça, R.T.H.

Laboratório de Fisiologia e Fisiopatologia Cardiovascular

E-mail: edugsn.fisio@gmail.com

O *Diabetes Mellitus* (DM) é uma doença metabólica, cuja principal característica é a hiperglicemia, que pode resultar em desenvolvimento de alterações cardíacas graves, acarretando a falência cardíaca e consequentemente danos graves a qualidade de vida. Portanto, este estudo avalia efeitos do treinamento aeróbico intervalado de 4 semanas (5 dias por semana) em ratos diabéticos. Um teste incremental foi realizado antes e após o treinamento. Foram implantados eletrodos tipo *piercing* (no subcutâneo, com as pontas externadas e entrelaçadas colocados posteriormente e abaixo da linha da inserção das patas, somando um total de quatro eletrodos). Posteriormente os ratos foram divididos em dois grupos, um com o diabetes melito induzido por *estreptozotocina* e outro controle (injeção de veículo), a partir da divisão, dentro de cada grupo haverá 3 subgrupos, no grupo diabético, assim como no grupo controle teremos um subgrupo controle sedentário (CS), treinamento contínuo (70% da capacidade no teste de exaustão) e outro subgrupo treinamento intervalado (alterna entre 90% e 50% da capacidade do teste de exaustão, com um minuto para cada, para que tenha o mesmo volume de exercício do grupo contínuo) por 50 minutos diárias. Posteriormente à eutanásia, foram dissecados os animais e coletados corações, amostra sanguínea, osso, pele e músculos da pata posterior, além de diafragma para as análises da biologia molecular e histoquímica e de imunofluorescência. O controle autonômico foi avaliado pela análise da Variabilidade da Frequência Cardíaca (VFC) obtida através de eletrocardiograma (ECG) através dos eletrodos implantados. De acordo com dados preliminares não há alteração considerável entre os dias 1d, 15d e Final em relação à glicemia. Os ratos DM perderam peso, enquanto os ratos saudáveis aumentaram. No teste incremental os ratos treinamento intervalado apresentaram considerável aumento da capacidade de corrida em relação aos ratos de exercício contínuo. Houve um predomínio para manutenção ou discreto aumento no SDNN nos animais treinados, exceto para o grupo diabéticos treinamento intervalado, sugerindo uma sensível piora da função autonômica. Em nosso estudo, podemos inferir que o prejuízo para o ganho na função de capacidade de corrida pode ser o prejuízo da função autonômica cardíaca.

Palavras-chave: VFC, DM, Treinamento Intervalado

Emprego do anticorpo mAb 3 no estudo e diagnóstico da ceratite amebiana

Lima, M.M.W.; Finco, A.B.; Costa, A.O.; De Moura, J.F.; Ramirez, M.; Alvarenga, L.M.

Laboratório de Imunoquímica

E-mail: michelemlweber@gmail.com

Com o aumento do número de casos clínicos de ceratite amebiana (CA) também aumentou o interesse médico e estudos envolvendo o gênero *Acanthamoeba*. *Acanthamoebas* são protozoários de vida livre, encontrados em todo mundo e em diversos ambientes. Apresentam duas formas no seu ciclo de vida, a forma trofozoítica que é favorável ao seu desenvolvimento e infecção, e a forma cística, adquirida quando o ambiente não é propício, podendo assim beneficiar a sua propagação, resistência e a incidência da doença. São denominados anfizóicos, pois são encontrados no ambiente e parasitando o ser humano facultativamente. A relação do crescimento de casos de ceratite amebiana pode estar relacionada com o crescimento do uso de lentes de contato. Existe uma dificuldade no diagnóstico e tratamento da ceratite amebiana, que é geralmente confundida com outras doenças, podendo resultar, em alguns casos, na escolha de tratamentos inadequados. Recentemente nosso grupo produziu um anticorpo monoclonal (mAb3) que reconhece抗ígenos presentes em cepas patogênicas, tendo como alvo principal uma proteína de aproximadamente 130 kDa, que pode se tratar de uma proteína ligadora de manose. Deste modo, o objetivo deste estudo é caracterizar os抗ígenos reconhecidos pelo mAb3 e determinar a sua associação com mecanismo de patogenicidade da ceratite amebiana, assim como a produção de um fragmento de anticorpo recombinante ligado a fosfatase alcalina (scFv-AP), com finalidades de uso diagnóstico. No presente trabalho a reatividade do mAb 3 com um número maior de cepas está sendo investigado e também a especificidade frente a outros agentes também causadores de ceratite. Dentro das hipóteses do nosso trabalho tentaremos entre varias cepas de *Acanthamoebas* associar a proteína ligadora de manose (alvo sugerido para o mAb3) aos mecanismos de ativação e resistência à lise pelo complemento, especialmente da via das lectinas. Por outro lado, para uma confirmação da reatividade do mAb foram realizados géis 2D. Até o momento, os resultados obtidos nos encorajam a dar continuidade ao projeto, tendo em vista a capacidade de reconhecimento específico demonstrada pelo mAb3 e a eficiência da ativação do sistema de complemento com alguma das cepas estudadas.

Palavras-chave: *Acanthamoeba, anticorpo recombinante, sistema complemento*

Engineered antibody fragments for recognise and neutralize the dermonecrotic toxins of Loxosceles intermedia

Karim-Silva, S.; de Moura, J.; Noiray, M.; Minozzo, J.C.; Aubrey, N.; Alvarenga, L.M.; Billiaud, P.

Laboratório de imunoquímica

E-mail: sabrinaimtair@yahoo.com.br

Loxosceles spiders have a worldwide distribution and are considered one of the most important medical group of spiders. Envenomation (loxscelism) can result in degenerative necrotic skin lesions, kidney failure, hematological disorders and, less commonly, in a systematic illness that can be fatal. In Brazil, loxscelism is a serious public health threat and three prominent species (*L. intermedia*, *L. gaucho* and *L. laeta*) are responsible for more than 6000 cases of envenomation per year. There is a wide variance in envenomation profile of patients and diagnosis is difficult due to the number of diseases that mimic loxscelism. In addition, no definite therapy has yet been established and serum therapy has been used clinically since several decades. In such a context, it is of interest to consider the design of standardized recombinant antibody fragments not only for diagnosis and specific detection of individual circulating toxins in biological fluids of envenomed patients but also for venom's neutralization and treatment. We prepared a hybridoma that secretes an IgG (LiMab7) reacting with *L. intermedia* venom components of 32-35 kDa. This monoclonal antibody shows high neutralizing potency for the dermonecrotic activity of the venom. It has now been re-engineered into colorimetric bifunctional protein consisting in the corresponding single-chain antibody fragment (scFv) fused to alkaline phosphatase of *E. coli*. This recombinant fusion protein can be used for rapid, specific and sensitive immunodetection of *L. intermedia* toxins. In addition, antibody LiMab7 has been reformatted into diabody structure with high neutralizing potential. This work paves the way to the design of well-standardized reagents with high potential for diagnosis and treatment of envenomed patients.

Palavras-chave: *Loxscelism, recombinant antibody, diagnosis*

Estruturação de um banco de dentes caninos no departamento de anatomia da UFPR

Zattoni, D.F.M.; Torres, M.F.; Gomes, F.G.F.L.R.; Brancher, J.A.; Veronez, D.A.L.; Valduga, M.I.R.

E-mail: doriezattoni@gmail.com

Recentemente tem se dado maior atenção as afecções orais dos cães. Por esse motivo, profissionais e acadêmicos buscam aprender mais sobre esta área, fazendo com que o banco de dentes seja fundamental no fornecimento de material com origem comprovada e segurança. Isso possibilita o estudo e pesquisa na área de odontologia veterinária. O objetivo do presente trabalho foi gerar um banco de dentes caninos com material de origem comprovada disponível para pesquisa e atividades pedagógicas. A estruturação do banco de dentes canino foi possível através de doação feita por uma clínica especializada em odontologia veterinária. A doação foi realizada junto com um termo de consentimento livre e esclarecido, assinado pelo veterinário responsável e pelo proprietário do animal, comprovando a origem do material. Atualmente o banco de dentes conta com 268 dentes devidamente limpos e separados.

Palavras-chave: *Banco de dentes, cão, odontologia veterinária, veterinária, anatomia*

Estudo morfométrico e estereológico da artéria aorta de ratos Wistar no processo de envelhecimento

Sakamoto, A.A.; Balduino, A.S.; Veronez, D.A.L.

Laboratório de Estudos Morfológicos, Morfométricos e Estereológicos

E-mail: djaniraveronez@gmail.com

O envelhecimento é um processo fisiológico natural pelo qual todos os seres vivos passam. Como o aumento de idosos na população mundial é um fenômeno cada vez mais comum, é importante estudar todos os processos relacionados à senescência para estabelecer estratégias de promoção da saúde. No sistema cardiovascular, em particular, há muitas alterações com sintomas clínicos que podem afetar a autonomia de idosos. O presente estudo visa esclarecer alguns pontos relativos às alterações morfológicas que ocorrem no organismo em diferentes fases da vida, em especial delimitar em que momento e a que velocidade ocorrem, enfatizando ocorrências na artéria aorta. Neste sentido, este trabalho apresenta como objetivo analisar o processo natural de envelhecimento da artéria aorta de ratos *Wistar* por meio da análise histopatológica e morfoquantitativa. Foram utilizados 72 ratos da linhagem *Wistar*, divididos em 6 grupos, com 12 animais cada. No grupo 1, os animais tiveram 3 meses de vida; no 2, 6 meses; 3, 9 meses; 4, 12 meses; 5, 15 meses, e no 6, 18 meses, sendo destinados à eutanásia e, em seguida, dissecação e remoção das artérias aortas para montagem das lâminas e execução das técnicas histoquímicas, que foram: Hematoxilina e Eosina, Tricômico de Masson e Picrosírius. A artéria aorta de cada animal foi, devidamente, seccionada na parte descendente para obtenção de 10 cortes transversais para posterior montagem das lâminas histológicas. As 72 lâminas foram escaneadas, e foi realizada a análise morfoquantitativa pelo software VSViewer. Foi verificada a média e o desvio padrão de cada grupo, e os resultados principais são apresentados a seguir: grupo 1: média perímetro (MP) = 5,064 mm; média área (MA) = 1,7476 mm². Grupo 2: MP = 5,1736 mm; MA = 1,9052 mm². Grupo 3: MP = 5,566 mm; MA = 2,2114 mm². Grupo 4: MP = 4,7481 mm; MA = 1,5774 mm². Grupo 5: MP = 5,8775 mm; MA = 2,4618 mm². Grupo 6: MP = 5,5319 mm; MA = 2,1861 mm². Os resultados da análise morfoquantitativa obtidos até o presente momento permitem concluir que do grupo 1 até o grupo de número 6, os valores da média do perímetro e da área aumentaram crescentemente. Portanto, pode-se estimar que, com o avanço da idade as medidas da artéria aorta aumentam gradativamente.

Palavras-chave: *Artéria aorta, Envelhecimento, Morfometria, Anatomia Clínica*

Estudo morfoquantitativo dos núcleos hipotalâmicos paraventricular, dorsomedial, arqueado, ventromedial e área hipotalâmica lateral de ratos Wistar submetidos ao tratamento com imunossupressores tacrolimus e micofenolato mofetil

Schuh, R.; Matias, J.E.F.; Ramos, E.J.B.; Veronez, D.A.L.

Laboratório de Estudos Morfológicos, Morfométricos e Estereológicos

E-mail: rodrigoanato@gmail.com

Drogas imunossupressoras promovem alterações morfológicas em núcleos hipotalâmicos, contribuindo para o ganho de peso comumente observado em pacientes pós transplante. A obesidade tornou-se muito comum após transplantes, ocorrendo em até 50% desses pacientes pós transplante, sendo que a média de ganho de peso durante o primeiro ano de transplante é de 10% do peso inicial. Estudos em pacientes transplantados relatam aumento do tecido adiposo, obesidade relacionada com dislipidemia, risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares, *Diabetes Mellitus* pós transplante e perda de massa óssea e/ou muscular. A causa dessas alterações pós transplante muitas vezes é atribuída à melhora da qualidade de vida e ao uso de corticóide. Entretanto, os efeitos dos imunossupressores sobre os núcleos hipotalâmicos, que regulam a ingestão alimentar, necessitam de estudos. Neste sentido, os objetivos deste projeto são: elaborar um estudo estereológico de núcleos hipotalâmicos envolvidos com a regulação da ingesta alimentar em ratos *Wistar* submetidos ao tratamento com os imunossupressores, tacrolimus e micofenolato, comparar a densidade neuronal, volume e número total de neurônios hipotalâmicos entre ratos *Wistar* tratados com os imunossupressores, observar possíveis alterações nos núcleos hipotalâmicos paraventricular, dorsomedial, arqueado, ventromedial e área hipotalâmica lateral e analisar os efeitos morfoquantitativos do tacrolimus e micofenolato no hipotálamo de ratos *Wistar*.

Palavras-chave: *Imunossupressores, Obesidade, Hipotálamo, Estereologia, Anatomia Clínica*

Frustulia (Diatomeae, Bacillariophyceae) em ambientes de baixo impacto antrópico

Ferreira, P.C; Ludwig, T.A.V.

Laboratório de Ficologia

E-mail: paulacarolina2712@gmail.com

Diatomáceas são algas microscópicas eucariontes, unicelulares, encontradas em ambientes aquáticos ou úmidos. São consideradas importantes indicadoras ambientais. Espécies e gêneros são seletivos e indicam o nível trófico do sistema, pH, presença de metais específicos e outras condições da água. Também demonstram certa especificidade por substratos, tais como briófitas. Ambientes com baixo impacto antrópico, ou mesmo prístinos, são raros, portanto pouco estudados em relação às diatomáceas e carentes de levantamentos florísticos. Realizamos a determinação taxonômica de espécies do gênero *Frustulia* Rabenhorst da comunidade de diatomáceas perifíticas em ambientes com baixo impacto antrópico. Foram observadas, descritas e ilustradas vinte e três espécies. Costumam crescer solitárias ou em tubos mucilaginosos e são comuns em águas levemente ácidas, elevada quantidade de carbono orgânico e condutividade relativamente baixa. A principal característica morfológica do gênero é a rafe margeada por costelas de sílica proeminentes, ao longo de todo o comprimento valvar, as quais se fusionam em uma ponta única, nas extremidades da valva. Setenta e quatro amostras de material perifítico foram coletadas em 29 pontos de amostragem, situados entre 897 e 1119 metros de altitude, nos anos de 2013 e 2014. Riachos e caixas coletoras foram selecionados na região dos mananciais da serra, município de Piraquara, estado do Paraná. Os substratos amostrados foram seixos, filídios de briófitas, sedimento de areia, além de substratos subaéreos úmidos. Dados abióticos da água foram coletados: pH, condutividade ($\mu\text{S-1}/\text{cm}$) e temperatura da água ($^{\circ}\text{C}$). As amostras foram fixadas com solução Transeau na proporção 1:1 (BICUDO; MENEZES, 2006). Após lavagem e oxidação das amostras, lâminas permanentes foram montadas com resina *Naphrax®* (I.R.: 1,74) para análise dos exemplares sob microscopia óptica (MO). Ilustrações fotográficas das espécies encontradas foram obtidas em microscópio óptico com câmera de captura acoplada. Parte do material oxidado foi depositado e seco sobre suportes de alumínio, metalizado com ouro para registro da ultraestrutura da frústula das espécies. As análises foram realizadas em microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM 6360, no Centro de Microscopia Eletrônica da UFPR.

Palavras-chave: *Bacillariophyta, diatomáceas, perifítion, prístico, taxonomia*

Identificação de peptídeos ICK e de isoformas de uma proteína homóloga a alérgenos em aranhas do gênero Loxosceles

Justa, H.C.; Matsubara, F.H.; Meissner, G.O.; De Mari, T.L.; Vuitika, L.; Bednaski, A.L.; Boia, M.F.; Morgan, A.M.; Senff-Ribeiro, A.; Veiga, S.S.

Laboratório de matriz extracelular e biotecnologia de venenos

E-mail: hannajusta@gmail.com

O veneno das aranhas do gênero *Loxosceles* é composto por uma mistura de toxinas que, sinergicamente, causam o conjunto de sinais e sintomas denominado Loxoscelismo. O estudo do transcriptoma da glândula produtora de veneno de *L. intermedia* mostrou que mais de 50% das sequências codificantes de toxinas estão relacionadas a peptídeos inseticidas da família ICK. Esses peptídeos são caracterizados por possuírem baixa massa molecular (5,6-7,9 kDa) e 10 resíduos de cisteína, os quais estabelecem um arranjo estrutural típico de pontes dissulfeto intracadeia denominado “nó de cistina inibidor” (ICK). O estudo do transcriptoma mencionado também revelou a presença de uma molécula com identidade semelhante à alérgenos presentes em formigas (*Loxi i 1*), correspondendo a 0,2% dos transcritos. O objetivo deste trabalho foi identificar sequências relacionadas aos peptídeos ICK e alérgenos presentes no veneno de duas espécies do gênero *Loxosceles* - *L. laeta* e *L. gaucho*. A análise em SDS-PAGE dos perfis dos venenos dessas espécies revelou grande similaridade protéica, incluindo a presença de uma banda correspondente à massa esperada para os peptídeos ICK. A obtenção das sequências codificadoras dos peptídeos ICK e da *Loxi i 1* dos venenos de *L. gaucho* e *L. laeta* foram obtidas através da extração das glândulas de veneno, purificação do RNA total, RT-PCR, clonagem e sequenciamento. As sequências identificadas dos peptídeos ICK para *L. laeta* e *L. gaucho* apresentaram alta identidade quando comparadas às sequências já descritas para *L. intermedia*, com os 10 resíduos de cisteínas em posições conservadas. Em *L. gaucho*, algumas sequências mostraram-se idênticas às de *L. intermedia*. Para o alérgeno as sequências encontradas nas duas espécies se mostraram altamente conservadas quando comparadas à de *L. intermedia*, diferindo em dois aminoácidos. Em *L. gaucho* uma sequência obteve 100% de identidade com a de *L. intermedia*. A maior similaridade dessas sequências entre *L. intermedia* e *L. gaucho* sugere uma relação filogenética mais próxima entre essas duas espécies. Este estudo demonstrou pela primeira vez sequências codificantes de peptídeos ICK e do alérgeno em outras duas espécies de *Loxosceles*. A identificação dessas moléculas constitui a etapa inicial para produção e aplicação biotecnológica ou terapêutica dessas toxinas.

Palavras-chave: *Loxosceles, alérgeno, peptídeos ICK, sequenciamento*

Inibição de autofagia potencializa o efeito citotóxico do hexahidroxitrifenileno em células de glioblastoma humano

Mottin, S.S.; Cruz, O.M.; Ribeiro, C.S.P.; Gomes, R.P.; Bark, J.M.; Silva, M.M.; Rodrigues, J.L.M.; Christoff, A.; Winnischofer, H.; Martinez, G.R.; Winnischofer, S.M.B.

Laboratório de oxidações biológicas

E-mail: susan_smoger@hotmail.com

Os glioblastomas (GBM) são tumores do sistema nervoso central derivados dos astrócitos. Devido à elevada agressividade, os GBM apresentam mecanismos de resistência que evadem à terapêutica atual baseada no uso do quimioterápico temozolomida seguido de ciclos de radioterapia. Entre os mecanismos de resistência, destaca-se a autofagia, processo catabólico conservado evolutivamente e que promove o sequestro e subsequente degradação de componentes celulares que comprometem a homeostasia celular. No contexto dos gliomas esse processo celular tem contribuído no desenvolvimento do tumor. Dessa forma, novas abordagens terapêuticas são necessárias. Tendo em vista que o nosso grupo tem explorado a ação do hexahidroxitrifenileno (HHTP), um derivado de catecol citotóxico em células tumorais, e que a hidroxicloroquina (HCQ) é um agente inibidor do processo autófágico, o objetivo desse trabalho é avaliar o efeito citotóxico do tratamento combinado do HHTP com a HCQ em modelo de glioma humano. Para isso, células da linhagem U87MG foram tratadas com HHTP nas concentrações de 10, 25 e 50 µM por 12, 24 e 48 horas. Em 12 horas, o tratamento não promoveu diferença significativa de citotoxicidade com relação ao controle, seja com o HHTP isolado ou combinado à HCQ. Em 24 horas, quando utilizado o tratamento isolado de HHTP observou-se diminuição na viabilidade celular em 21% e 42% para as concentrações de 25 e 50 µM, respectivamente. O efeito citotóxico do foi ainda mais evidente no tempo de 48 horas, promovendo diminuição da viabilidade celular em 37%, 42%, 57% para as concentrações de 10, 25 e 50 µM. O tratamento combinado de HHTP com a HCQ (25 µM) mostrou efeito citotóxico ainda mais pronunciado com diminuições de viabilidade de 66%, 78% e 85% nas concentrações de 10, 25 e 50 µM de HHTP. Esses dados mostram que a inibição de autofagia potencializa a ação citotóxica promovida pelo HHTP e sugerem que a inibição da autofagia é uma importante alternativa às atuais terapias, uma vez que o potencial terapêutico da modulação da autofagia no tratamento de gliomas, sobretudo glioblastomas, tem sido destacado em estudos de fase clínica que corroboram nossos achados *in vitro*.

Palavras-chave: *glioblastoma, hexahidroxitrifenileno, hidroxicloroquina*

Instrumentação endodôntica de dentes de cães com limas rotatórias Protaper®

Costa, M.K; Torres, M.F; Veronez, D.L; Brancher, J.A; Gomes, F.G.F.L.R.

E-mail: maiarakcosta@gmail.com

A doença bucal mais prevalente em animais domésticos é a doença periodontal. A mesma é causada pelo acúmulo de biofilme bacteriano sobre a superfície dentária na falta de higienização. A doença pode evoluir e afetar a polpa dentária, o que leva ao tratamento endodôntico do canal radicular, sempre demorado e oneroso. O desenvolvimento de ligas de níquel titânio revolucionaram a terapia endodôntica, uma vez que essas ligas apresentam grande flexibilidade e foram utilizadas para o desenvolvimento de limas rotatórias automatizadas, as quais possibilitam diminuir o tempo operatório e, consequentemente, o risco anestésico para o paciente. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de limas rotatórias automatizadas na modelagem de canais radiculares de dentes incisivos e caninos de cães. Foram selecionados 40 dentes recém-extraídos devido à doença periodontal obtidos junto à Clínica Veterinária Odontocão. Antes da modelagem dos canais foram realizadas radiografias mesio-distais para determinar o comprimento de trabalho utilizado. O acesso endodôntico foi realizado com uma broca esférica 1014 e a modelagem do canal radicular foi efetuada com limas rotatórias *ProTaper® SX, S1 e S2* seguidas pelas limas F1 e F2, se necessário. Entre as limas, o canal radicular foi irrigado com hipoclorito de sódio (5 ml) e EDTA como solução irrigadora final. Uma radiografia final foi realizada após o procedimento. Dentro das limitações deste estudo, observou-se uma remoção significativa de dentina do canal radicular evidenciando a eficiência das limas na modelagem do canal. Os terços cervical, médio e apical foram modelados de maneira homogênea. Estudos futuros deverão buscar informações sobre a adequada desinfecção do canal radicular, bem como investigar o enfraquecimento das paredes internas do canal radicular.

Palavras-chave: *endodontia, canais radiculares, limas endodônticas.*

Mapeamento estrutural do sítio ativo de fosfolipases D presente no veneno de aranha-marrom (*Loxosceles intermedia*): características bioquímicas e biológicas

Vuitika, L.; Chaves-Moreira, Matsubara, F.H.; Justa, H.C.; Senff-Ribeiro, A.; Chaim, O.M.; Arni, R.K.; Veiga, S.S.

Laboratório de Matriz Extracelular e Biotecnologia de Venenos

E-mail: larissavuitika@hotmail.com

Os membros da família das fosfolipases D, também referidas como toxinas dermonecróticas, estão entre as moléculas mais bem estudadas presentes no veneno de aranhas-marrons do gênero *Loxosceles*. Estas toxinas são biologicamente ativas, uma vez que induzem dermonecrose, resposta inflamatória exacerbada, agregação plaquetária, hemólise e insuficiência renal aguda. Apesar da sua importância biomédica, o papel dos resíduos de aminoácidos abrangendo a interface catalítica na atividade das fosfolipases D e seus efeitos biológicos ainda não estão totalmente esclarecidos. Para abordar esta questão, foi realizada uma investigação mutacional e funcional utilizando a isoforma LiRecDT1 (primeira isoforma de fosfolipase D identificada de *Loxosceles intermedia*) como modelo. As formas mutadas H12A, H12A-H47A e E32A-D34A (sítio catalítico), C53A-C201A (ponte dissulfeto adicional), K93A, Y228A e W230A (ligação ao substrato lipídico) e G96A (controle) foram produzidos em modelos heterólogos e purificados. Todas as variantes mutantes foram reconhecidas pelos anticorpos policlonais anti-veneno total e anti-LiRecDT1, mostrando que mantiveram os epítopes imunogênicos conservados. Além disso, observamos que a conformação das variantes mutantes permaneceu semelhante a isoforma original, mostrada pelo dicroismo circular (CD) e calorimetria diferencial de varredura (DSC). As variantes H12A, H12A-H47A e E32A-D34A apresentaram atividade fosfolipásica, hemolítica, alteração da permeabilidade vascular e dermonecrótica diminuídas para valores residuais, reforçando a participação desses resíduos na atividade catalítica. O maior destaque foi para a mutação no resíduo Y228, que se mostrou igualmente importante para as atividades bioquímicas e biológicas, indicando um papel essencial no reconhecimento e ligação ao substrato. Por outro lado, a variante mutante C53A-C201A (mutação que suprime a ponte dissulfeto adicional nas fosfolipases D de classe II) não bloqueou a atividade fosfolipásica, hemolítica, permeabilidade vascular e dermonecrótica em comparação com a *LiRecDT1*. Estes resultados confirmam os determinantes estruturais envolvidos com as atividades biológicas das fosfolipases D do veneno de aranhas-marrons, abrindo portas para pesquisas de estrutura/função por método de cristalografia, estudos de vias sinalização celular e mediadores pró-inflamatórios, e também na prospecção de inibidores moleculares específicos para estas enzimas.

Palavras-chave: *Loxosceles, fosfolipase D, estrutura, sítio ativo, fenda catalítica*

Modelo de insuficiência venosa e cicatrização de úlceras em ratos Wistar

Araújo, D.N; Ribeiro, C.T.D; Santos, E.N; Veiga, A.T; Fogaça, R.T. H; Dias, F.A.L.

Laboratório de células excitáveis

A insuficiência venosa é uma doença caracterizada por alterações do retorno venoso por conta de obstruções e refluxo sanguíneo. Os vasos apresentam alterações morfológicas, que levam a manifestações clínicas nos membros inferiores e pode levar, em um nível mais grave, à formação de úlcera venosa, que é uma ferida de difícil cicatrização e que traz prejuízos à qualidade de vida das pessoas, além de possuir uma alta taxa recidiva. O objetivo desse estudo foi avaliar a cicatrização de úlceras em um modelo de indução de insuficiência venosa. Para isso, 18 ratos *Wistar*, com peso acima de 250 gramas, foram divididos em três grupos, um grupo controle somente com a úlcera (UC, n=6), um grupo com cirurgia de insuficiência venosa e úlcera (IVC, n=6), e um grupo com a cirurgia de insuficiência venosa e úlcera com aplicação de laser (L, n=6). A cirurgia de indução de insuficiência venosa consistiu em fazer uma oclusão por ligadura na veia femoral do animal dificultando o fluxo sanguíneo, dez dias após a cirurgia foi realizada uma incisão com tesoura em formato circular com aproximadamente 3 cm² de área no dorso da pata traseira que estava com insuficiência venosa para formação da úlcera. As úlceras foram fotografadas nos dias 1 e 3 e posteriormente foi calculada a razão de cicatrização (%) comparando com o dia 0 no software ImageJ. Como resultados, os grupos apresentaram as seguintes razões de cicatrização (média±DP): controle úlcera: dia 1 (47,1%±11,3), dia 3 (70%±8,3); controle IVC dia 1 (31,2%±5,5), dia 3 (64,8%±3,7); laser dia 1 (20,6%±14,4) e dia 3 (56,6%±10,6). O grupo controle úlcera apresentou razão de cicatrização maior no dia 1 comparado aos grupos Laser e controle IVC ($p<0,05$; ANOVA). Dessa maneira, podemos afirmar que a cirurgia de insuficiência venosa atrasa a cicatrização de úlceras em ratos nas primeiras 24h, demonstrando que a cirurgia pode ser um bom modelo de insuficiência venosa.

Palavras-chave: cicatrização, insuficiência venosa, úlcera

O Carbonato de Sevelamer reduz a inflamação em células endoteliais humanas expostas aos produtos de glicação avançada (AGEs)

Gregório, P.C.; Favretto, G.; Sasaki, G.; Cunha, R.; Becker-Finco, A.; Pocoits-Filho, R.; Souza, W.M.; Barreto, F.C.; Stinghen, A.E.M.

LabNefro - Laboratório de Nefrologia Experimental

E-mail: paulocezargregorio@gmail.com

INTRODUÇÃO: Os AGEs são toxinas urêmicas envolvidas na disfunção endotelial e doença cardiovascular na doença renal crônica (DRC). O Sevelamer, um quelante de fósforo que não contém cálcio nem metal, possui propriedades pleiotrópicas e anti-inflamatórias, possivelmente devido ao efeito quelante sobre outras toxinas urêmicas. **OBJETIVO:** Avaliar o efeito *in vitro* do Sevelamer na disfunção endotelial causada por AGEs em células endoteliais humanas. **MÉTODOS:** Os AGEs foram preparados por glicação da albumina e caracterizados por absorbância e eletroforese em gel de poliacrilamida. A fim de excluir a contaminação dos AGEs sintetizados, os níveis de endotoxinas, foram mensurados pelo método de *Limulus Amebocyte Lysate* (LAL). As células endoteliais humanas foram incubadas em meio de cultura contendo AGEs (0,2 mg/mL) com ou sem Sevelamer (3%). A viabilidade celular foi avaliada pelo ensaio de MTT. Os níveis de IL-8 foram avaliados pelo método de *ELISA* no sobrenadante celular. A expressão de receptor para AGEs (RAGE) foi avaliada por imunocitoquímica e *Western blot*. A propriedade quimiotática do sobrenadante celular, após a exposição aos AGEs com ou sem Sevelamer, foi avaliada em modelo de monócitos humanos (células U-937) por meio do ensaio de migração celular com auxílio da câmara de *Boyden*. **RESULTADOS:** A viabilidade celular não foi afetada pela exposição aos AGEs ou ao Sevelamer. A expressão de RAGE foi induzida pelos AGEs ($P<0,005$ vs controle); e diminuída pelo tratamento com Sevelamer ($P<0,05$ vs AGEs isoladamente). Os níveis de IL-8 aumentaram significativamente após 6h de tratamento com AGEs ($P<0,005$ vs grupo controle) assim como após a exposição conjunta AGEs mais Sevelamer ($P<0,05$ vs AGEs isoladamente). A quimiotaxia de monócitos induzida pelo sobrenadante de células endoteliais foi significativamente maior com a exposição aos AGEs ($P<0,05$ vs grupo controle), enquanto que o Sevelamer foi capaz de reduzi-la ($P<0,05$ vs AGEs isoladamente). **CONCLUSÕES:** Nossos resultados sugerem que o Sevelamer é capaz de se ligar *in vitro* a outras toxinas urêmicas além do Pi, tais como os AGEs. Essa ação quelante adicional pode ser uma das responsáveis pelo efeito pleiotrópico dessa medicação, o que, por sua vez, pode contribuir para um efeito benéfico sobre o sistema cardiovascular.

Palavras-chave: *Doença renal crônica, Disfunção endotelial, AGEs, Carbonato de sevelamer, IL-8, RAGE*

Padronização do método "hanging drop" para enriquecimento da população de células tronco de glioma humano

Bark, J.M.; Silva, M.M., Mottin, S.S., Cruz, O.M.; Ribeiro, C.S.P.; Winnischofer, S.M.B.

Laboratório de Oxidações Biológicas, UFPR

Gliomas são os tumores mais comuns derivados do Sistema Nervoso Central. Dentre seus tipos, o glioblastoma multiforme (GBM) é o mais agressivo e que apresenta pior prognóstico. Frequentemente, GBMs são resistentes às terapias convencionais, apresentando altas taxas de recorrência, o que pode ser justificado pela presença das CSCs (*Cancer Stem Cells*). Essas células possuem propriedades como auto-renovação e habilidade para se diferenciar em múltiplas linhagens. Uma das formas para isolar as CSCs de GBM pode ser feita através do uso de condições de cultivo desenvolvidos originalmente para células tronco neurais normais. Estas crescem *in vitro* como agregados de células, formando neuroesferas, através do cultivo em substratos não aderentes, meios de cultura definidos, crescimento em constante movimento e ainda por meio das *hanging drops*. A técnica de hanging drop baseia-se no cultivo das células que ficam suspensas em uma tampa de placa de cultura devido à tensão superficial, então a gravidade induz a agregação de células, formando um esferoide. Essa técnica possui vantagens, como a facilidade de cultivo, baixo custo e a possibilidade de controle de tamanho das esferas. Com o objetivo de padronizar essa metodologia de cultivo e verificar se há um enriquecimento em CSCs, utilizou-se a linhagem de glioma humano U87MG, cultivada em diferentes quantidades de células em diferentes volumes de gota, por diferentes tempos e meios de cultivo (com e sem soro). Observou-se que após 72h de cultivo em hanging drop a formação de agregado ocorreu apenas nas condições com soro, sendo que nas condições sem soro as células ficaram dispersas no meio. Ao analisar o tamanho das esferas formadas, as quantidades de 20, 40 e 60 células/gota foram descartadas. Já as quantidades de 80, 100 e 200 células/gota formaram esferoides com diâmetro entre 100-200 μ m, sendo um tamanho considerado satisfatório. Após 72 horas de cultivo em hanging drop as gotas foram realocadas em uma placa recoberta com Polyhema por 120h. Nessas condições houve um crescimento em média de 82,94 μ m e 76,88 μ m nas esferas de 100 e 200 células, respectivamente. Nossos resultados mostram a efetiva padronização da metodologia *hanging drops*, sendo promissora para o cultivo das CSCs de GBM.

Palavras-chave: *células tronco tumorais, glioma, hanging drops*

Plataforma didática de ensino a distância – biomoodle como recurso didático no ensino de anatomia de animais domésticos

Silva, J.E.M.; Pereira, J.F.S.; Torres, M.F.; Guimarães, A.T.B.; Leal Jr, A.R.; Filus, A.

Departamento de anatomia

E-mail: alefilus@hotmail.com

Plataformas de educação a distância (EaD) são utilizadas como ferramentas didáticas no aprendizado dos conteúdos programáticos de disciplinas curriculares. O objetivo deste estudo foi caracterizar a utilização da plataforma Bio Moodle empregada como recurso pedagógico para o ensino de Anatomia dos Animais Domésticos para acadêmicos do primeiro período do Curso de Agronomia. Foram elaboradas 4 questões objetivas, com 3 alternativas cada, respondidas de forma voluntária e anônima. Foram obtidos 88 questionários analisados pelo teste Qui-quadrado considerando-se um nível de significância de 5%. Na primeira questão, quanto à facilidade do acesso ao *BioMoodle*, 67% dos acadêmicos consideraram o acesso “Fácil”, 28% “Confuso” e 3% “Difícil”. A segunda questão, referente à frequência da utilização da plataforma, 58% dos acadêmicos responderam utilizar “Razoavelmente”, 31% “Integralmente” e 11% “Nunca utilizaram”. Nessas duas questões, houve diferença estatística ($p<0,0001$) entre todas as alternativas. Na terceira questão, referente ao recurso tecnológico utilizado para o acesso à plataforma, 79,5% responderam que o acesso é realizado por meio de “computador”, 20,5% por “Smartphone” e 8% por “Tablet”. A utilização de computador diferiu estatisticamente ($p<0,0001$) em relação a smartphones e tablets, enquanto os acessos por smartphones e tablets não foram estatisticamente diferentes ($p>0,05$). A última questão, referente à influência da utilização do Bio Moodle sobre o rendimento acadêmico, 85% dos alunos indicaram que a utilização da plataforma “Ajudou a melhorar”, 6% responderam que “Não influenciou”, enquanto 7% assinalaram “Não utilizei o *BioMoodle*”. Esses resultados revelaram diferença estatística ($p<0,0001$) sobre a influência positiva da utilização da plataforma na formação do aluno na disciplina, enquanto não houve diferença estatística ($p>0,05$) entre “Não influenciou” e “Não utilizei o *BioMoodle*”. A primeira questão não foi respondida por 1%, enquanto a terceira e a quarta questões não foram respondidas por 2% dos acadêmicos. Concluímos que a utilização da plataforma Bio Moodle foi caracterizada pelos acadêmicos de Agronomia na disciplina de Anatomia dos Animais Domésticos como sendo de fácil acesso, utilizada razoavelmente por meio de computador e influenciou positivamente o rendimento acadêmico. Esse estudo permite avaliar a utilização do *Moodle* na formação acadêmica como suporte pedagógico, estimulando a aplicação da EaD na disciplina de Anatomia dos Animais Domésticos pelos professores e a atuação dos monitores como tutores nesta prática pedagógica.

Palavras-chave: *Anatomia Animal, BioMoodle, Ensino*

Sinvastatina induz o processo autofágico em células de melanoma humano metastático: Potencial ação na resistência tumoral

Ribeiro, C.S.P.; Cruz, O.M.; Pino Gomes, R.; Bark, J.M.; Martinez, G.R.; Winnischofer, S.M.B.

Laboratório de Oxidações Biológicas

E-mail: carolinaspribeiro@gmail.com

O melanoma é um tipo de câncer de pele com baixa incidência, porém muito agressivo e com alto índice de mortalidade. Um dos desafios da terapêutica atual é o processo de resistência, o qual torna células tumorais tolerantes à citotoxicidade do fármaco e/ou ativa mecanismos de sobrevivência celular. Esses fatos enfatizam a necessidade da busca por alternativas de tratamento. A sinvastatina tem ação antitumoral, capaz de induzir apoptose, parada do ciclo celular e modular a autofagia em diversas linhagens tumorais. Neste trabalho buscou-se avaliar o efeito da sinvastatina na modulação da autofagia em células de melanoma metastático humano da linhagem WM9. Nossos resultados mostram que a sinvastatina reduziu a viabilidade das células WM9 de forma dependente da concentração, atingindo 53,5% e 90,3% após tratamento por 72 h nas concentrações de 1 e 5 μ M, respectivamente. A redução de viabilidade foi acompanhada por aumento no índice autofágico (2,5 unidades) para o tratamento com 5 μ M de sinvastatina e aumento da quantidade de células na fase G0-G1 do ciclo celular. O co-tratamento de sinvastatina com hidroxicloroquina (um inibidor de autofagia) bloqueou efetivamente a autofagia, com concomitante aumento da sensibilidade das células WM9 aos efeitos citotóxicos da sinvastatina, atingindo uma redução de viabilidade de 97% com a combinação de hidroxicloroquina (25 μ M) e sinvastatina (5 μ M) e aumento da quantidade de células com DNA fragmentado (18,4%). Foram avaliados os marcadores de autofagia LC3-II/I e p62. Observou-se níveis aumentados da expressão de LC3-II/I proporcional ao aumento da concentração de sinvastatina e concomitante redução dos níveis de proteína p62. Com a autofagia inibida, a expressão de LC3-II/I foi diminuída e os níveis de p62 não foram alterados. Ainda, a superexpressão da proteína GFP-LC3-mCherry em células WM9 possibilitou a detecção do aumento de vacúolos fluorescentes concomitante com o aumento da concentração de sinvastatina utilizada. Juntos, esses dados indicam que o tratamento com sinvastatina é capaz de induzir autofagia de maneira concentração-dependente, sendo este um mecanismo de resistência em modelo de melanoma humano. Independente do aumento no fluxo autofágico a sinvastatina foi citotóxica, tornando interessante a possibilidade de ser utilizada como um agente terapêutico alternativo e/ou adjuvante ao uso de quimioterápicos.

Palavras-chave: *melanoma, sinvastatina, autofagia*

Taxonomia e distribuição de *Minidiscus* (*Bacillariophyta*) no sul do Brasil

Correr-da-Silva, F.; Moreira-Filho, H.; Fernandes, L.F.

Laboratório de Ficologia

E-mail: felipe.correr90@gmail.com

O gênero *Minidiscus* Hasle é um dos menores gêneros de diatomáceas marinhas conhecidas, cujas dimensões não ultrapassam 10 µm de diâmetro. A espécie *Minidiscus trioculatus* (F.J.R. Taylor) Hasle foi a primeira espécie descrita, proveniente do Oceano Índico. Atualmente, são reconhecidos 10 representantes do gênero, distribuindo-se em oito espécies, duas variedades e uma forma, distintas morfologicamente entre si através da disposição das estrias, o tipo de aréola, presença ou ausência de fullopórtulas ou de uma área hialina marginal. No Brasil, há registro de apenas duas espécies, *Minidiscus chilensis* Rivera e *M. comicus* Takano. O material estudado é proveniente de expedições realizadas entre 2006 a 2013 entre os estados da região Sudeste e Sul do Brasil (São Paulo, Paraná e Santa Catarina). Este estudo traz observações morfológicas sob microscopia eletrônica de transmissão e distribuição das espécies (*M. chilensis*, *M. comicus*, *M. variabilis* var. *variabilis*, *M. trioculatus* var. *trioculatus*). Registra-se pela primeira vez no Brasil, as espécies *M. trioculatus* var. *trioculatus* (F.J.R.Taylor) Hasle e *M. variabilis* var. *variabilis* Kaczmarška.

Palavras-chave: *Minidiscus*, distribuição geográfica, taxonomia, morfologia