

Caderno de Pesquisas em Patologia Ambiental e Experimental: volume 1



**Organizadores:
Thiago B. Kirsten e Anuska M. Alvares-Saraiva**

UNIP
UNIVERSIDADE PAULISTA

Caderno de Pesquisas em Patologia Ambiental e Experimental: volume 1

Organizadores:

Prof. Dr. Thiago B. Kirsten

Orcid 0000-0002-4032-4355

thiago.kirsten@docente.unip.br

Profa. Dra. Anuska M. Alvares-Saraiva

Orcid 0000-0001-8899-4182

anuska.saraiva@docente.unip.br

Autores:

Ana Paula Soares da Silva, Orcid 0009-0006-3415-9599

Anna Claudia Delphino dos Santos, Orcid 0009-0005-3943-1275

Daniel Nascimento Lago Santos, Orcid 0000-0002-0626-3798

Debora Rhyanne de Medeiros Matias, Orcid 0009-0005-2335-5167

Juliana Braga Gomes, Orcid 0009-0005-7923-1235

Rebeca Dourado Araujo de Andrade, Orcid 0009-0001-3057-7359

Thiago Reynes Matheus, Orcid 0009-0004-1876-6132

ISBN: 978-65-01-40118-8

Apoio:



Programa de Pós-Graduação
Stricto Sensu em Patologia
Ambiental e Experimental



PSYCHO
NEURO
IMMUNOLOGY
LABORATORY

Laboratório de
Biologia Molecular
e Celular

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Câmara Brasileira do Livro, SP, Brasil)

Caderno de pesquisas em patologia ambiental e experimental [livro eletrônico] : volume 1 / Ana Paula Soares da Silva...[et al.] ; organizadores Thiago Berti Kirsten, Anuska Marcelino Alvares Saraiva. -- São Paulo : Ed. dos Autores, 2025. -- (Caderno de pesquisas em patologia ambiental e experimental)
PDF

Outros autores: Anna Claudia Delphino dos Santos, Daniel Nascimento Lago Santos, Debora Rhayanne de Medeiros Matias, Juliana Braga Gomes, Rebeca Dourado Araujo de Andrade, Thiago Reynes Matheus.

Bibliografia.

ISBN 978-65-01-40118-8

1. Ciências naturais 2. Divulgação científica
3. Pesquisa científica 4. Procedimentos operacionais padronizados - Guia para elaboração - Brasil
5. Trabalhos científicos I. Silva, Ana Paula Soares da. II. Santos, Anna Claudia Delphino dos. III. Santos, Daniel Nascimento Lago. IV. Matias, Debora Rhayanne de Medeiros. V. Gomes, Juliana Braga. VI. Andrade, Rebeca Dourado Araujo de. VII. Matheus, Thiago Reynes. VIII. Kirsten, Thiago Berti. IX. Saraiva, Anuska Marcelino Alvares. X. Série.

25-262297

CDD-501

Índices para catálogo sistemático:

1. Divulgação científica 501

Eliane de Freitas Leite - Bibliotecária - CRB 8/8415

Resumo

O “Caderno de Pesquisas em Patologia Ambiental e Experimental: volume 1” reúne atividades exercidas por discentes do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Patologia Ambiental e Experimental (PPG-PAE) da Universidade Paulista. O material foi preparado durante a execução da disciplina “Divulgação Científica” por alunos de mestrado e doutorado e organizado por docentes do PPG-PAE. Seu conteúdo foi adaptado para o público-alvo de alunos de ensino médio de modo a promover a divulgação científica extramuros das universidades. O conteúdo deste volume está dividido em duas partes: (1) Resumos Expandidos de Trabalhos Científicos referentes às pesquisas de pós-graduação executadas pelos discentes e (2) Procedimentos Operacionais Padrão (POPs) das Aulas Práticas preparados e apresentados pelos discentes do PPG-PAE para alunos de ensino médio.

Palavras-chave: Divulgação Científica; Ciência; POPs.

Sumário

APRESENTAÇÃO.....	4
PARTE 1 – RESUMOS EXPANDIDOS DE TRABALHOS CIENTÍFICOS	5
<i>Estudo sobre o potencial de utilização de terapia celular com linfócitos B-1 para controle do Diabetes mellitus</i>	<i>6</i>
<i>Modelo e análise dos efeitos de preparações homeopáticas de Viscum album em células de melanoma.....</i>	<i>10</i>
<i>Estabelecimento de modelo animal para estudos hormonais.....</i>	<i>14</i>
<i>Identificação de dois vírus suínos em queixadas.....</i>	<i>18</i>
<i>Diagnóstico de microsporídio em paciente imunossuprimido.....</i>	<i>22</i>
<i>Aprimoramento na avaliação do coração de cães por radiografia</i>	<i>26</i>
<i>Aplicações do extrato de Viscum album de espécies coletadas no inverno sobre células de melanoma</i>	<i>30</i>
PARTE 2 – POPs DE AULAS PRÁTICAS	34
<i>POP: Extração do DNA do morango.....</i>	<i>35</i>
<i>POP: Dosagem de óxido nítrico.....</i>	<i>36</i>
<i>POP: Práticas em anatomia e microscopia</i>	<i>39</i>

Apresentação

O “**Caderno de Pesquisas em Patologia Ambiental e Experimental: volume 1**” reúne atividades exercidas por discentes do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Patologia Ambiental e Experimental (PPG-PAE) da Universidade Paulista (UNIP), com foco principal em divulgação científica.

O material foi preparado durante a execução da disciplina anual de pós-graduação “Divulgação Científica” por alunos de mestrado e doutorado do PPG-PAE e organizado pelos docentes Prof. Dr. Thiago B. Kirsten e Profa. Dra. Anuska M. Alvares Saraiva.

Todo seu conteúdo foi adaptado para o público-alvo de alunos de ensino médio de modo a promover a divulgação científica extramuros das universidades.

Além desta publicação, a disciplina de pós-graduação promoveu a visita de alunos matriculados nos 1º, 2º e 3ºs anos do Ensino Médio de uma escola pública do Estado de São Paulo ao Centro de Pesquisa da UNIP, onde os pós-graduandos do PPG-PAE apresentaram suas pesquisas oralmente e promoveram aulas práticas.

Em 2024, os alunos do ensino médio que tiveram a oportunidade de interagir no Centro de Pesquisa da UNIP foram provenientes da Etec Albert Einstein (Casa Verde, São Paulo), uma instituição pública gerida pelo Centro Paula Souza.

Os alunos da Etec Albert Einstein puderam conhecer o laboratório de Biologia Celular e Molecular do Centro de Pesquisa da UNIP, manusear instrumentos laboratoriais e acompanhar práticas experimentais que os alunos utilizam em seus estudos no PPG-PAE.

O conteúdo deste volume está dividido em duas partes: (1) Resumos Expandidos e (2) Procedimentos Operacionais Padrão (POPs). A **Parte 1** concentra os Resumos Expandidos de Trabalhos Científicos referentes às pesquisas de pós-graduação executadas pelos discentes. Incluem-se aqui projetos de pesquisa e trabalhos com resultados, a depender do progresso da pesquisa do pós-graduando. São esses os trabalhos científicos apresentados aos alunos de ensino médio no dia da interação no Centro de Pesquisa. A **Parte 2** concentra os POPs das Aulas Práticas preparados e apresentados pelos discentes do PPG-PAE para os alunos de ensino médio, também aplicados no dia da interação no Centro de Pesquisa.

Parte 1

Resumos Expandidos de Trabalhos Científicos



Estudo sobre o potencial de utilização de terapia celular com linfócitos B-1 para controle do Diabetes *mellitus*

Autora: Ana Paula Soares da Silva

Orcid: 0009-0006-3415-9599

Orientador(a): Anuska Marcelino Alvares Saraiva

Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Patologia Ambiental e Experimental, Universidade Paulista

Introdução

Os linfócitos B podem ser classificados em duas subpopulações: B-1 e B-2, que apresentam diferenças em suas características fenotípicas, funcionais e ontogênicas (SMITH; BAUMGARTH, 2019). Enquanto os linfócitos B-1 têm origem em tecidos embrionários e fetais, ou seja, se formam antes e logo após o nascimento (MONTECINO-RODRIGUEZ et al., 2016), os linfócitos B-2 se desenvolvem mais tardiamente, durante a vida adulta. Os linfócitos B-1 são principalmente encontrados na cavidade peritoneal e pleural, com menor quantidade no baço (HAYAKAWA et al., 1985).

O papel funcional dos linfócitos B-1 na resposta imunológica tem sido amplamente estudado, especialmente devido ao repertório de imunoglobulinas naturais que essas células produzem.

O modelo de camundongo XID (imunodeficiência ligada ao cromossomo X) é frequentemente utilizado para estudos sobre linfócitos B, pois têm uma mutação que impede a ativação dos receptores de linfócitos B, levando a um desenvolvimento anômalo dessas células e redução no número de linfócitos B-1 e B-2 (KHAN; ALT; GERSTEIN; MALYNN et al., 1995).

Em 2015, Alvares-Saraiva e colaboradores descreveram pela primeira vez o efeito regulador dos linfócitos B-1 no controle do diabetes autoimune induzido por estreptozotocina (STZ). Os autores mostraram que a transferência de linfócitos B-1 de camundongos saudáveis para camundongos XID conferiu resistência ao desenvolvimento de diabetes induzido por estreptozotocina. Além disso, foi demonstrado que a injeção intramuscular do sobrenadante das culturas de linfócitos B-1 nos camundongos XID diabéticos foi capaz de controlar a glicemia (ALVARES-SARAIVA; NOVO; DE OLIVEIRA; MARICATO et al., 2015).

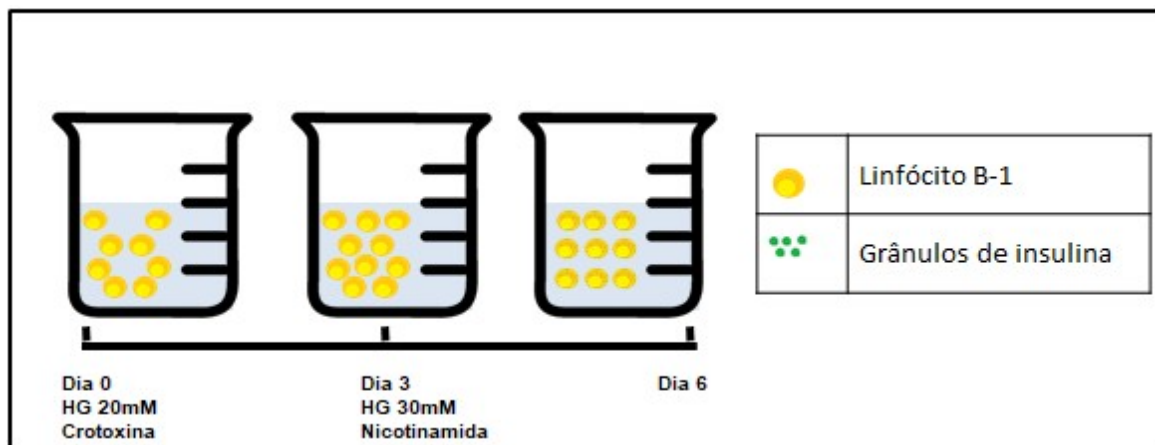
Metodologia

Antes de ser iniciado, este projeto foi submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais, afim de, assegurar o bem-estar e proteção animal.

Será realizado o cultivo de células peritoneais aderentes submetidas a um protocolo de reprogramação metabólica utilizando meio de cultura *High Glucose* (HG), crotoxina e nicotinamida, com o objetivo de expandir e diferenciar linfócitos B-1 em células produtoras de insulina. Camundongos BALB/c serão utilizados para a obtenção dos linfócitos B-1 por meio de lavado peritoneal. Após seis dias, as células

B-1 com grânulos de insulina serão coletadas para avaliação e transferência adotiva para camundongos diabéticos. A Figura 1 representa o protocolo de reprogramação metabólica que irá estimular os linfócitos B-1 a produzirem grânulos de insulina.

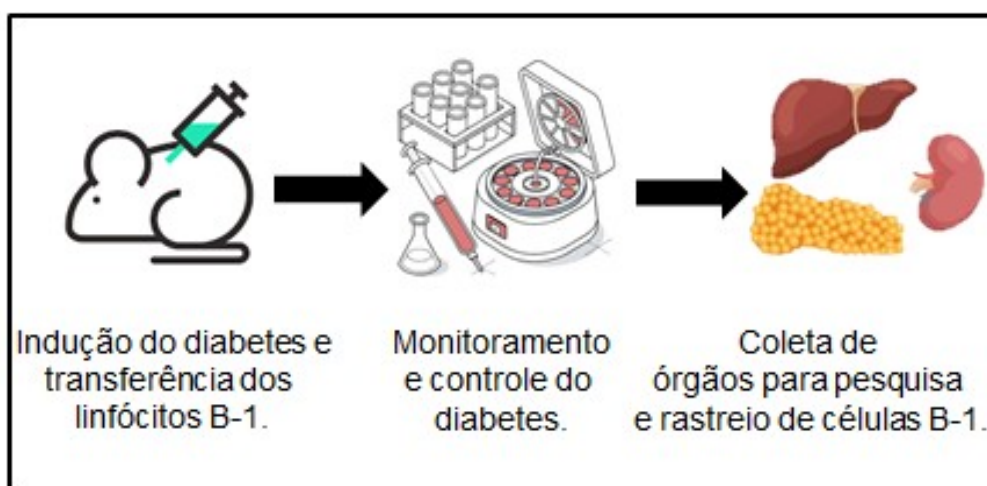
Figura 1: Fase1 da pesquisa - Protocolo de reprogramação metabólica



Fonte: da autora

Num segundo momento do estudo, conforme esquematizado na Figura 2, camundongos XID serão induzidos ao diabetes com estreptozotocina e receberão linfócitos B-1 reprogramados metabolicamente. Os camundongos serão monitorados quanto aos níveis de glicose e a presença de células B-1 nos órgãos alvo (cavidade peritoneal, baço, pâncreas e fígado) por citometria de fluxo.

Figura 2: Fase 2 - Indução e monitoramento dos animais e órgãos



Fonte: da autora

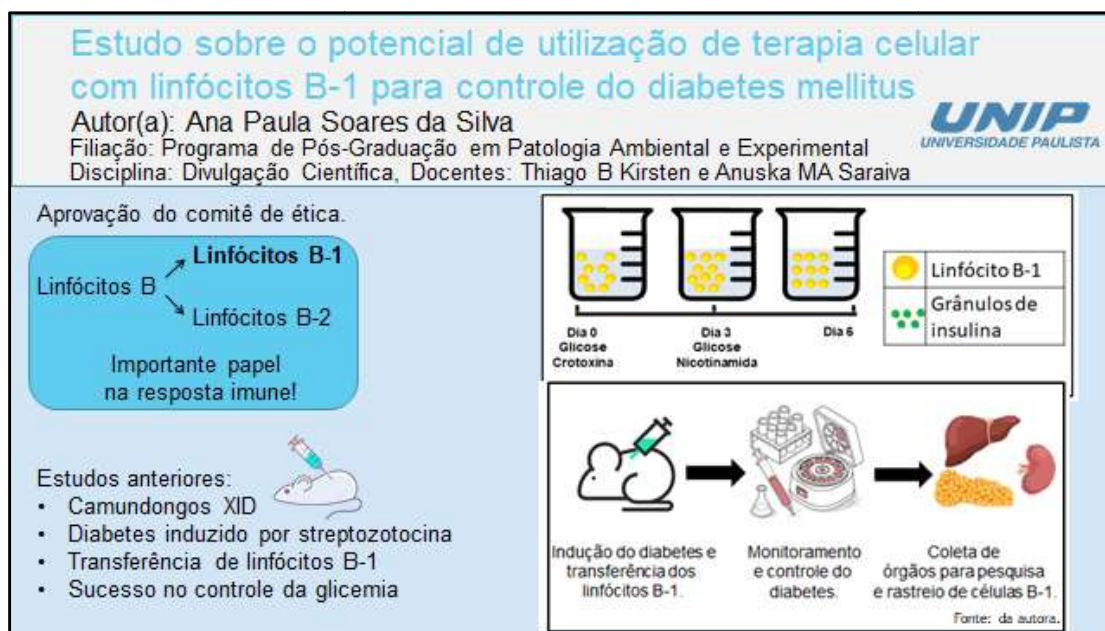
Resultados Esperados

Este estudo busca demonstrar o grande potencial dos linfócitos B-1 para a produção de insulina, abrindo possibilidades para o desenvolvimento de uma nova terapia eficaz para o diabetes. Caso os resultados sejam positivos, a descoberta pode contribuir não apenas para o tratamento do diabetes, mas também para a busca de uma possível cura para a doença que atualmente apenas é controlada por tratamentos convencionais.

Conclusões

Os linfócitos B-1 são células com alta plasticidade funcional e capacidade de autorrenovação. Estudos anteriores realizados já demonstraram o potencial desses linfócitos em terapias celulares para controle glicêmico em diabetes. O efeito protetor contra o diabetes induzido por estreptozotocina foi documentado e a reprogramação metabólica *in vitro* tem mostrado resultados promissores na manutenção e expansão dessas células, além da preservação de sua capacidade de produção de insulina. O estudo *in vivo* da eficácia hipoglicemiante dessas células reprogramadas é um passo essencial para validar o protocolo de reprogramação metabólica e avançar nas pesquisas sobre os linfócitos B-1 como uma potencial terapia celular para pacientes diabéticos. A Figura 3 apresenta o esquema ilustrativo do projeto de pesquisa.

Figura 3: Resumo do Projeto de Pesquisa



Fonte: da autora

Referências

ALVARES-SARAIVA, A. M.; NOVO, M. C.; DE OLIVEIRA, V. C.; MARICATO, J. T. et al. B-1 cells produce insulin and abrogate experimental streptozotocin-induced diabetes. *Eur J Immunol*, 45, n. 5, p. 1452-1461, May 2015.

HAYAKAWA, B. Y. K. et al. PROGENITORS. v. 161, n. June, p. 1554-1568, 1985.

KHAN, W. N.; ALT, F. W.; GERSTEIN, R. M.; MALYNN, B. A. et al. Defective B cell development and function in Btk deficient mice. *Immunity*, 3, n. 3, p. 283-299, Sep 1995.

MONTECINO-RODRIGUEZ, E.; FICE, M.; CASERO, D.; BERENT-MAOZ, B. et al. Distinct Genetic Networks Orchestrate the Emergence of Specific Waves of Fetal and Adult B-1 and B-2 Development. *Immunity*, 45, n. 3, p. 527-539, Sep 2016

SMITH, F. L.; BAUMGARTH, N. B-1 cell responses to infections. *Current Opinion in Immunology*, v. 57, p. 23-31, 2019.

Modelo e análise dos efeitos de preparações homeopáticas de *Viscum album* em células de melanoma

Autora: Anna Claudia Delphino dos Santos

Orcid: 0009-0005-3943-1275

Orientador(a): Elizabeth Cristina Perez Hurtado

Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Patologia Ambiental e Experimental, Universidade Paulista

Introdução

O melanoma é um tipo de câncer de pele - doença que pode causar danos graves à saúde devido ao seu elevado potencial de metástase e tratamento complexo, tanto em humanos quanto em cães e gatos (SANTOS *et al.*, 2023). Nos anos recentes, vários pesquisadores têm evidenciado os benefícios e vantagens do uso de plantas medicinais na melhoria da qualidade de vida e na sobrevida de indivíduos com câncer.

Estima-se que cerca de 40% dos medicamentos atualmente disponíveis foram desenvolvidos a partir de fontes naturais, direta ou indiretamente (ANVISA, 2022). O tratamento para o melanoma muitas vezes envolve uma combinação de abordagens. Além dos tratamentos convencionais, pode-se utilizar terapias complementares como a homeopatia no cuidado de pacientes com câncer.

De origem européia, o *Viscum album* é uma planta semiparasita, ou seja, ela precisa estar em outra planta para crescer. Árvores como *Quercus robur* e *Abies alba* podem ser habitadas pelo *Viscum album* (VALLE *et al.*, 2022, PIGNATON *et al.*, 2023). O extrato de *Viscum album* é utilizado como terapia adjuvante, capaz de destruir determinadas células em diversos tipos de tumores (FELENDÁ *et al.*, 2019). As características da planta dependem da árvore que ela parasita (Figura 1) (HOLANDINO *et al.*, 2020; ALMEIDA *et al.*, 2023).

A ultradiluição de substâncias presentes em extratos de plantas é uma prática comum na homeopatia (BONAMIN 2019), considerada como terapia complementar desenvolvida desde 1796 (PIGNATON *et al.*, 2023).

Pesquisas realizadas com linhagens celulares de melanoma têm mostrado que o *Viscum album* pode inibir a proliferação de células tumorais (CARVALHO, 2015; DO PRADO, 2021).

Resultados obtidos em estudos *in vitro* e *in vivo* indicam que a planta possui propriedades que podem ser exploradas no combate ao câncer, mas ainda há lacunas no conhecimento sobre os efeitos de diferentes diluições homeopáticas e tinturas mães (DO PRADO, 2021; SILVA, 2023).

Estudos prévios do grupo revelaram que o tratamento com ultradiluições de *Viscum album* colhidos no período de verão não conseguiu impedir a evolução do tumor em camundongos com melanoma, mas contribuiu para a sobrevivência e o aumento do peso corporal (SILVA, 2023). As intervenções mostraram uma

mobilidade aprimorada, maior dinamismo e redução da apatia nos animais, mesmo com o crescimento do volume tumoral (SILVA, 2023).

Esses achados abrem novas possibilidades para os efeitos do *Viscum album* ultradiluído, ressaltando a importância de mais investigações e potenciais ensaios clínicos no futuro (HOLANDINO *et al.*, 2018; DO PRADO, 2021; SILVA, 2023).

Figura 1: Plantas de *Viscum album* parasitando fortemente um carvalho (espécie *Quercus*)



Fonte: Encyclopædia Britannica, Inc., 2024

Metodologia

Foi realizada uma pesquisa eletrônica nas bases de dados componentes da Biblioteca Virtual em Saúde (BVS): Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS) e *Scientific Electronic Library Online* Brasil (SciELO). Foram utilizados os seguintes descritores constantes nos Descritores em Ciências da Saúde: melanoma, homeopatia e *Viscum album*. Todos os artigos científicos selecionados foram analisados e lidos na íntegra pela pesquisadora. Serão verificadas *in vitro* a ação de ultradiluições de *Viscum album* em diferentes escalas e potências sobre células de melanoma murino. As tinturas mães de *Viscum album* colhidas durante o inverno dinamizadas (Figura 2) nas escalas decimal (DH), centesimal (CH) e cinquenta-millesimal (LM) serão incubadas com células de melanoma murino B16F10 para as análises laboratoriais.

Resultados Esperados

Por meio da análise *in vitro* investigar os impactos dos extratos de *Viscum album* provenientes da árvore hospedeira *Quercus robur* colhido no período de inverno sobre as células de melanoma murino B16F10, comparar resultados com estudos anteriores realizados com extratos da planta colhida no período de verão.

Figura 2: Dinamização da Homeopatia

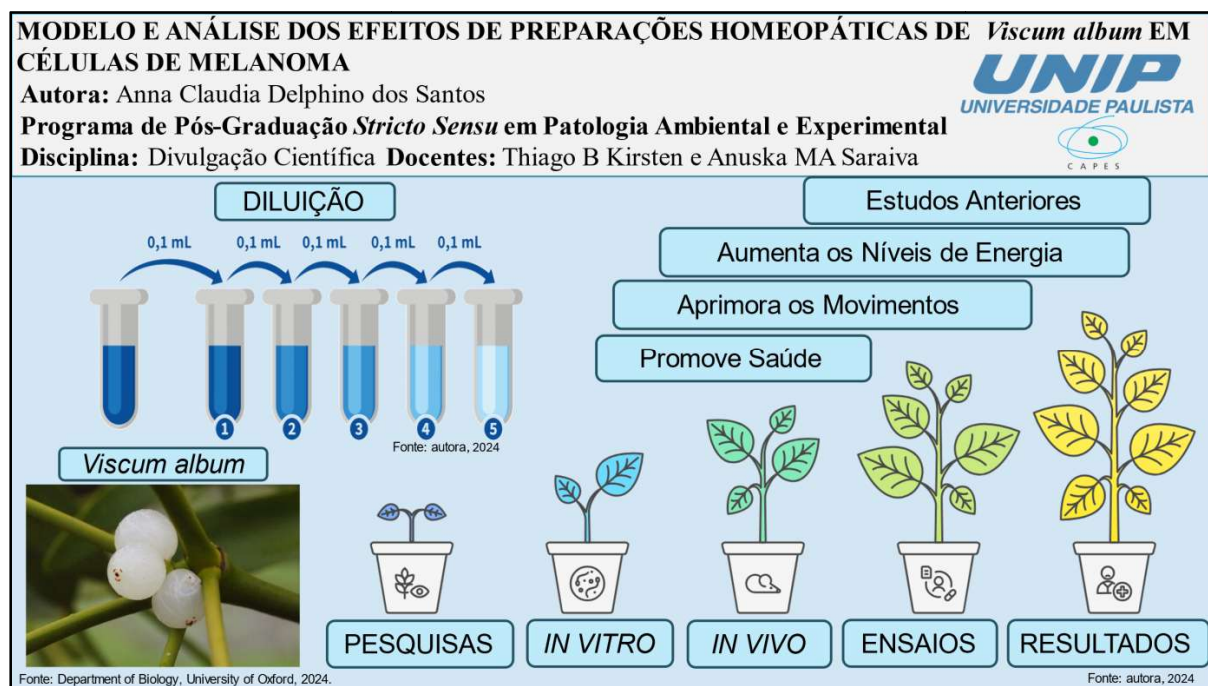


Fonte: estouautista.com.br, 2024

Conclusão

Mais estudos são necessários para avaliar os efeitos do *Viscum album* colhido em diferentes estações do ano e em diversas espécies de árvores parasitadas pela planta para compreender melhor seus mecanismos de ação. O uso de terapias complementares, como o *Viscum album* e a homeopatia, pode ser uma opção promissora para melhorar o tratamento e a qualidade de vida de pacientes com câncer. A Figura 3 resume o projeto de pesquisa.

Figura 3: Esquema ilustrativo contendo o resumo do projeto de pesquisa



Fonte: Autora, 2024

Referências

ALMEIDA, V. P. *et al.* Investigations on the morpho-anatomy and histochemistry of the European mistletoe: *Viscum album* L. **Nature**, v.13: 4604. 2023.

BONAMIN, L. V. Descobrindo como a homeopatia funciona. **Biodilutions**. 1a Ed. São Bernardo do Campo, 2016.

BRASIL. Orientações sobre o uso de fitoterápicos e plantas medicinais. Cartilha da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). São Paulo, 20 p, 2022.

CARVALHO, A. C. **Atividade antineoplásica de *Viscum album* (L.) em tumores experimentais: revisão crítica e estudo experimental em tumor de Ehrlich.** Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Patologia Ambiental e Experimental da Universidade Paulista – UNIP. São Paulo, São Paulo. 2015.

DO PRADO, P. I. B. **Avaliação *in vitro* do efeito de preparações homeopáticas de *Viscum album* sobre células de melanoma murino.** Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Patologia Ambiental e experimental da Universidade Paulista – UNIP. São Paulo, São Paulo. 2021.

FELENDÁ, J. E. *et al.* Antiproliferative potential from aqueous *Viscum album* L. preparations and their main constituents in comparison with ricin and puromycin on human cancer cells. **Jour of ethnopharmacology**, v. 236, p. 100-107, 2019.

HOLANDINO, C. *et al.* Phytochemical analysis and *in vitro* antiproliferative activity of *Viscum album* ethanolic extracts. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, 2020.

PIGNATON, C. S. O. *et al.* Pesquisa elementar com *viscum album*: aspectos regulatórios e controle de qualidade de tinturas hidroalcoólicas. **Even3**. 2023.

SANTOS, M.O.; *et al.* Estimativa de Incidência de Câncer no Brasil, 2023-2025
Rev. Bras. Cancerol. 2023.

SILVA, T.C. **Estudo dos efeitos *in vivo* de preparações homeopáticas de *viscum album* no modelo de melanoma murino.** Dissertação de doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Patologia Ambiental e experimental da Universidade Paulista – UNIP. São Paulo, São Paulo. 2023.

VALLE, A. C. V. *et al.* *Viscum album* - Literature Review. **International Journal of Science and Research**2021

Estabelecimento de modelo animal para estudos hormonais

Autor: Daniel Nascimento Lago Santos

Orcid: 0000-0002-0626-3798

Orientador(a): Thiago Berti Kirsten

Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Patologia Ambiental e Experimental, Universidade Paulista

Introdução

O desenvolvimento humano e veterinário é crucial para a boa manutenção do organismo e o desdobramento de características específicas. Durante o desenvolvimento humano, a puberdade é uma fase essencial que ocorre entre os 10 e 19 anos segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS). Este período envolve transformações biológicas e comportamentais que proporcionam ao corpo adolescente alterações físicas, capacidades reprodutivas e características masculinas ou femininas necessárias para o desenvolvimento adulto, capaz de reproduzir e suportar processos até a senescência (CARDONA ATTARD; FAVA, 2019).

Durante a puberdade, a testosterona e o estrógeno desempenham funções essenciais, influenciando características sexuais secundárias. A testosterona está relacionada, principalmente, ao aumento da massa muscular (KELLY; JONES, 2013). A diminuição dos níveis de testosterona pode levar a complicações como aumento da massa gorda e alterações de humor (TRAISH, 2016).

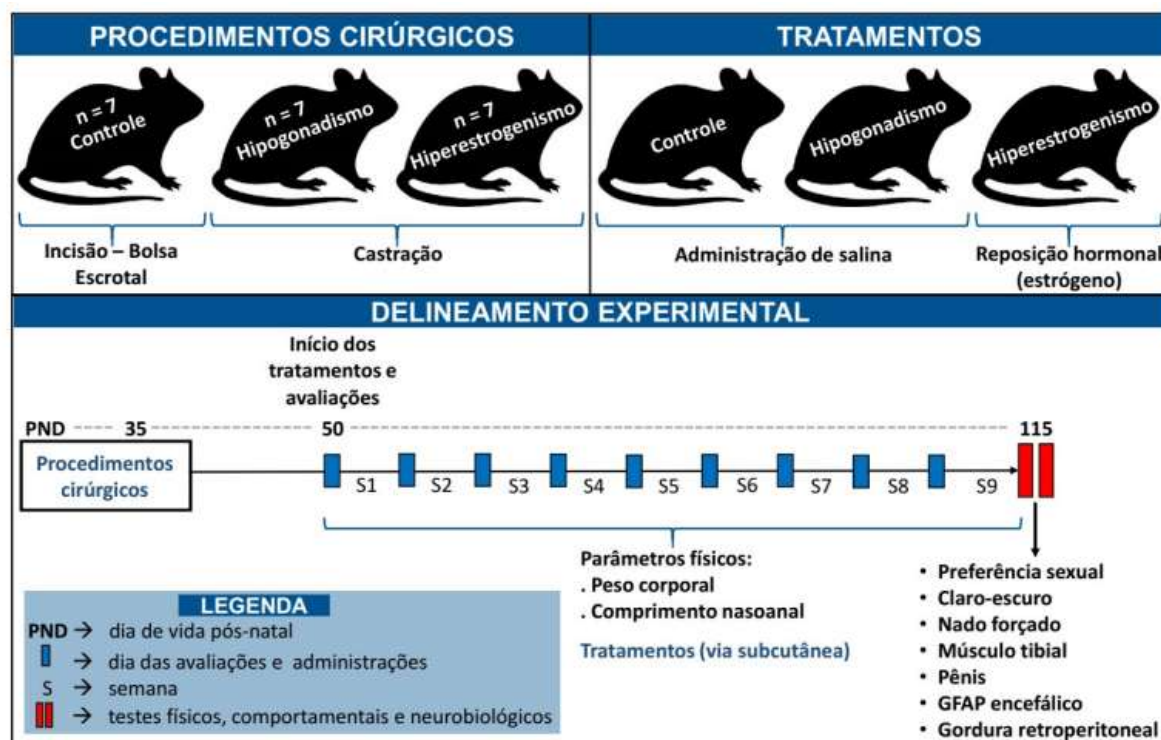
As terapias hormonais, envolvendo hormônios sexuais, são aplicadas na medicina humana para investigar alterações psicológicas e outras patologias endócrinas. No entanto, a atenção está direcionada ao uso desses hormônios em terapias hormonais para a população transgênero (TSJOEN et al., 2019). Pouco se sabe sobre o papel da terapia hormonal e os mecanismos envolvidos no processo de feminização, e, na medicina veterinária, não há consenso sobre a idade ideal para a castração e suas repercussões na qualidade de vida dos animais. Este trabalho propôs e estudou modelos experimentais para hipogonadismo em ratos púberes e hiperestrogenismo por meio de castração e administrações repetidas de estrógeno.

Metodologia

Este projeto foi submetido para e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-UNIP) sob o número 2302310522.

Foram utilizados 27 ratos (*Rattus norvegicus*) Wistar, com aproximadamente 35 dias de vida pós-natal (PND) no início dos experimentos, fornecidos pelo biotério CEDEME-UNIFESP em São Paulo, SP.

Figura 1: Delineamento experimental. Procedimentos cirúrgicos, tratamentos e delineamento experimental com a linha cronológica dos procedimentos metodológicos realizados e avaliações. Proteína glial fibrilar ácida (GFAP)



Fonte: do autor

Ratos machos púberes no PND35 foram submetidos à castração para induzir hipogonadismo. Ratos controle da mesma idade passaram por uma incisão testicular. Os ratos castrados foram submetidos a um protocolo de tratamento com estrógeno ou solução salina, administrado uma vez por semana ao longo de nove semanas. Os ratos controle receberam solução salina. Todos os ratos foram avaliados comportamentalmente e, após as avaliações comportamentais, algumas estruturas foram coletadas para análises de tecidos, incluindo morfometria e identificação de possíveis inflamações. O delineamento experimental pode ser visualizado na Figura 1.

Foram utilizados 21 ratos como sujeitos experimentais e, adicionalmente, seis ratos (desses, três machos e três fêmeas) “estímulos” para a aplicação do teste comportamental de preferência sexual. No dia do procedimento cirúrgico (PND35), os animais foram aleatoriamente alocados em três grupos: (I) Grupo Controle (incisão +salina, n=7); (II) Grupo Hipogonadismo (castração + salina, n=7); e (III) Grupo Hiperestrogenismo (castração + estrógeno, n=7).

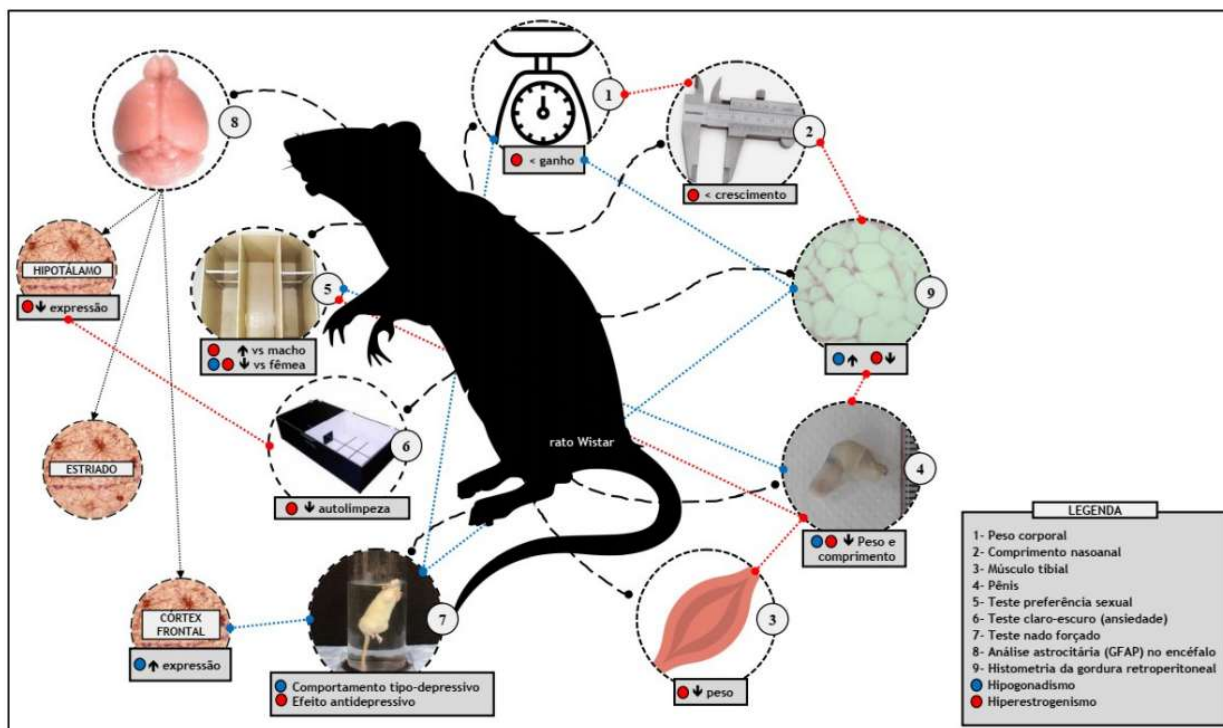
Resultados

No modelo de hipogonadismo, os ratos castrados apresentaram redução no crescimento, perda de peso e comprimento peniano. No teste de preferência sexual houve aumento nas interações com o mesmo sexo, mas a interação social com o sexo oposto foi reduzida. Esses ratos também mostraram comportamento tipo-

depressivo. Houve, também, um aumento na expressão astrocitária no córtex frontal.

No modelo de hiperestrogenismo, os ratos não mostraram ganho de peso corporal semanal nem crescimento do comprimento nasoanal, além de redução na musculatura tibial e diminuição do peso e comprimento peniano. Apresentaram dificuldade em iniciar e manter interações sociais com o sexo oposto no teste de preferência sexual, aumentando a interação com animais do mesmo sexo. O comportamento anti-depressivo foi observado com maior tempo de busca ativa pela fuga no teste do nado forçado. No estudo encefálico, houve uma redução da expressão astrocitária no hipotálamo. Os principais resultados obtidos com o presente estudo e suas conexões são ilustrados na Figura 2.

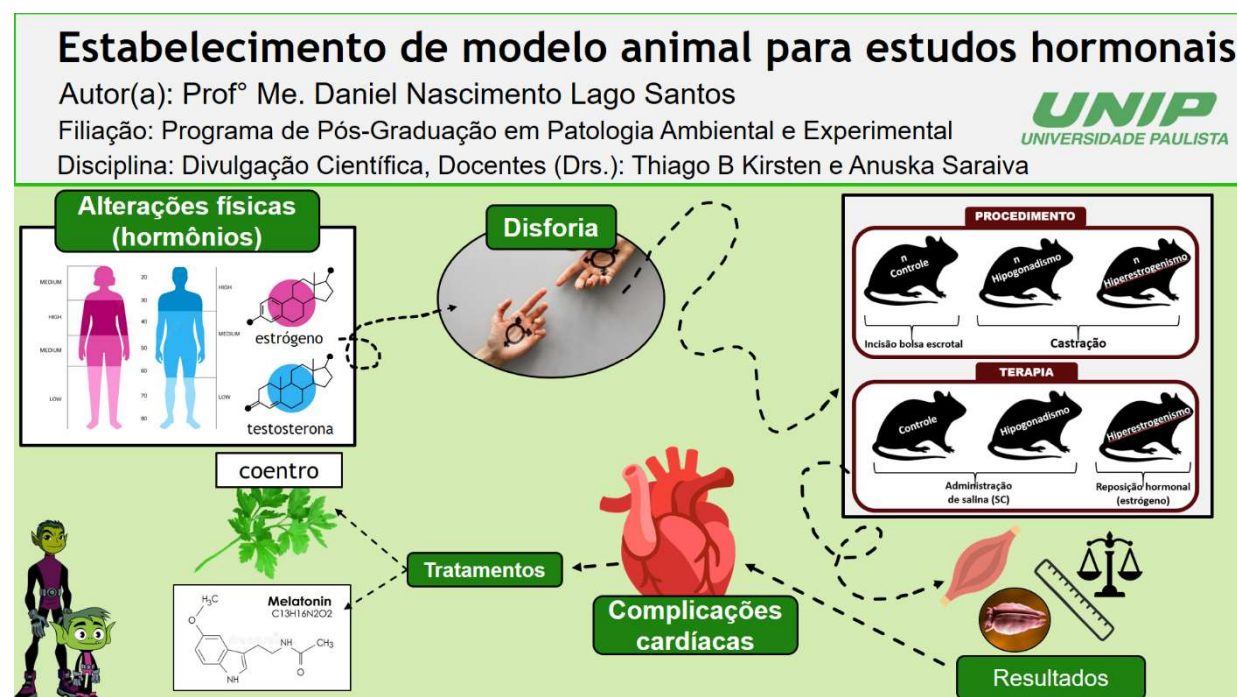
Figura 2: Esquema ilustrativo dos principais resultados obtidos com o presente estudo e suas conexões. Proteína glial fibrilar ácida (GFAP)



Conclusão

Diante dos resultados apresentados e discutidos neste estudo, destaca-se a importância de estabelecer um modelo animal que possa desvendar os mecanismos da atuação dos hormônios sexuais nos sistemas orgânicos. Assim, o modelo animal proposto contribuirá significativamente para a comunidade científica, permitindo a investigação aprofundada das modulações hormonais e sexuais. A Figura 3 resume o trabalho exposto.

Figura 3: Esquema ilustrativo contendo o resumo do projeto de pesquisa



Fonte: do autor

Referências

- CardonaAttard, J.; Fava, E. (2019).** Puberty Development and Its Implications in Human and Veterinary Biology. *Revista de Pesquisa em Saúde*, 34(3), 410-419.
- Kelly, D. L.; Jones, J. M. (2013).** Testosterone Effects on the Male Organism during Puberty. *Journal of Endocrinology*, 43(7), 812-820.
- TRAISH, A. M. (2016).** Complications Associated with Low Testosterone in Men: From Gynecomastia to Mood Changes. *Clinical Endocrinology*, 52(6), 882-888.
- T'Sjoen, G.; et al. (2019).** Hormonal Therapies for the Transgender Population: A Review of Mechanisms and Clinical Applications. *Endocrine Reviews*, 40(2), 72-95.
- Quinn, J. K. (2005).** Puberty in Experimental Rodent Models: Comparisons Between Rats and Humans. *Hormones and Behavior*, 47(1), 1-7.

Identificação de dois vírus suínos em queixadas

Autora: Débora Rhayanne de Medeiros Matias

Orcid: 0009-0005-2335-5167

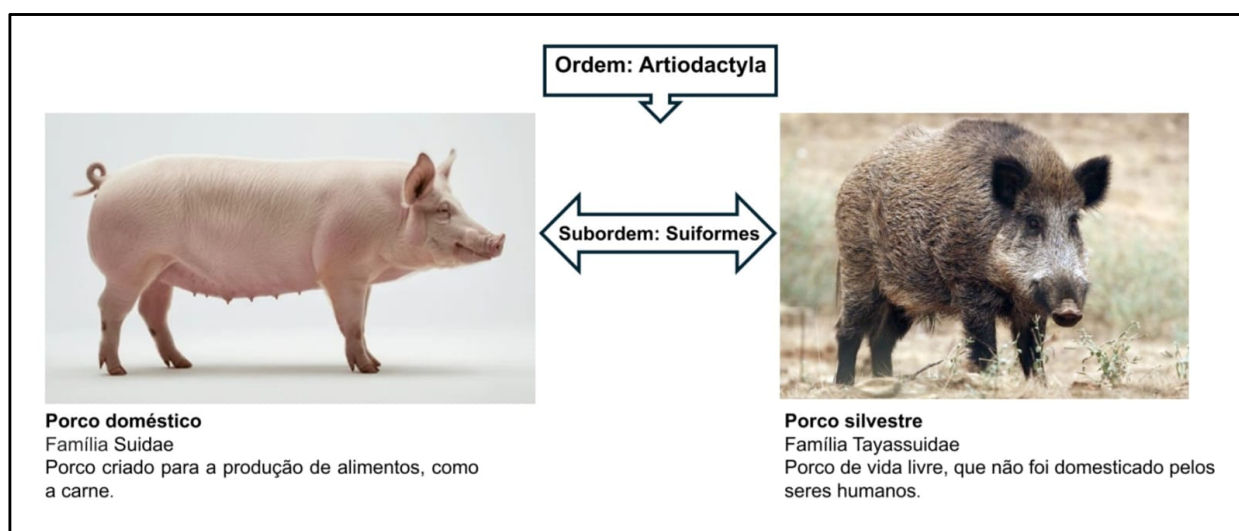
Orientador(a): Alessandra Marnie Martins Gomes de Castro

Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Patologia Ambiental e Experimental, Universidade Paulista

Introdução

Nos últimos anos, a relação entre o ambiente e a saúde dos animais tem chamado cada vez mais atenção. Isso porque as condições do meio ambiente podem influenciar diretamente a saúde de animais domésticos e silvestres, favorecendo a propagação de doenças (Oliveira et al., 2022). O Brasil é um dos maiores produtores de suínos no mundo, mas enfrenta desafios sanitários que aumentam os custos de produção e prejudicam seu comércio internacional (ABIEPCS, 2017). Doenças como Parvovírus (PPV) suíno e o Torque Teno Vírus Suíno (TTV) podem causar grandes perdas financeiras, já que ambos afetam a respiração dos animais e provocam problemas como broncopneumonia (LaganTregaskis et al., 2021; Opriessnig et al., 2011). Pesquisas em queixadas (*Tayassu pecari*), que são suínos silvestres que vivem livres na natureza procuram entender o papel desses animais na disseminação de vírus. Essas pesquisas ajudam a melhorar o controle de doenças (Castro et al., 2012). A Figura 1 ilustra as diferenças entre os suínos domésticos e silvestres.

Figura 1: Diferenças entre porcos domésticos e porcos silvestres



Fonte: da autora, adaptado de Google, 2024

Metodologia

Amostras

Amostras de sangue e tecidos foram coletadas de queixadas em três áreas de preservação da Mata Atlântica no estado de São Paulo: Parque Estadual da Ilha do Cardoso (Cananéia), Parque Estadual da Serra do Mar - Núcleo Santa Virgínia (São Luiz do Paraitinga) e Estação Ecológica de Caetetus (Gália). No total, foram coletadas 73 amostras (64 de sangue e nove de tecidos de animais mortos). O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais desta Universidade para garantir o bem-estar dos animais. O número de amostras por local está resumido no Quadro 1.

Quadro 1: Distribuição das amostras coletadas

PROCEDÊNCIA	AMOSTRAS	SORO	TECIDO
PEIC	39	39	-
PESM-SV	29	20	09
ECC	05	05	-
TOTAL	73	64	09

PEIC, Cananéia; PESM-SV, São Luiz do Paraitinga; ECC, Gália

Fonte: da autora

Extração de ácido nucléico

O DNA será extraído das amostras utilizando o kit especial (EasyPure® para DNA/RNA viral).

Controle de qualidade do teste

Um teste chamado Reação em cadeia pela Polimerase (PCR) direcionado ao gene β -actina será usado para detectar o DNA desse gene nas amostras e evitar erros no resultado (Moura et al. 2014; Langnaese et al. 2008).

Deteção dos vírus TTVS e PPV4 e visualização

A PCR será utilizada para detectar os vírus por meio de regiões específicas do DNA dos vírus TTSUVK2 E PPV4. Os fragmentos de DNA amplificados pela PCR serão visualizados em gel.

Análise estatística

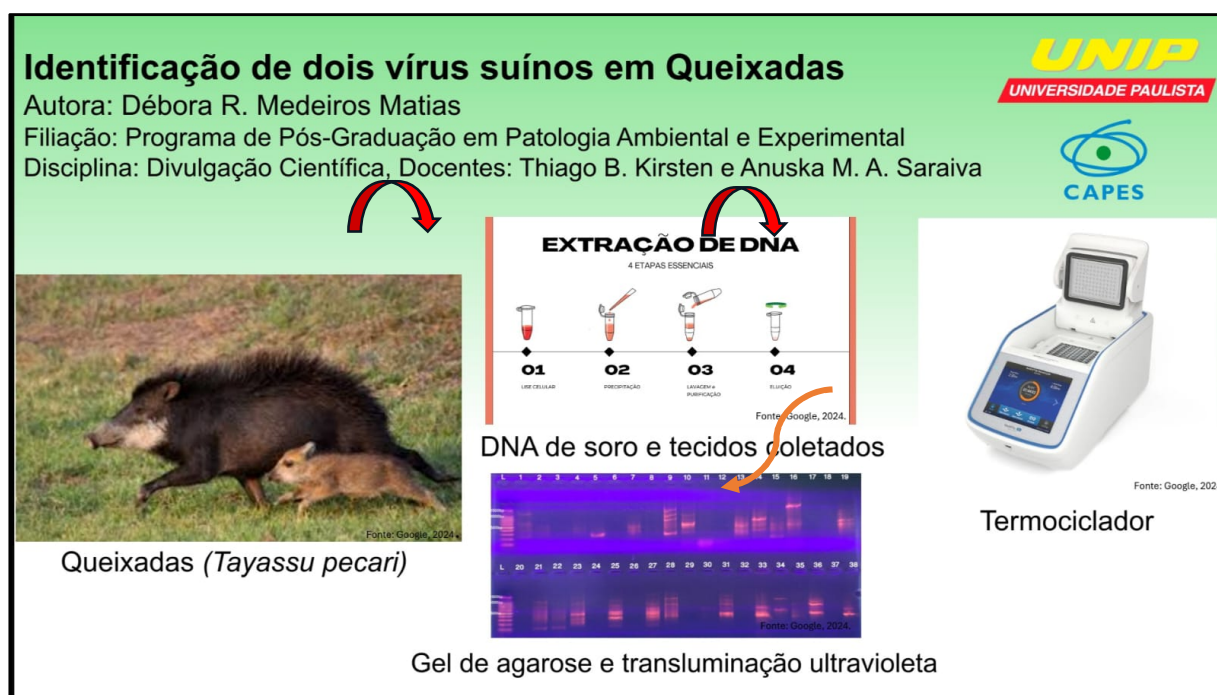
Os resultados serão tabulados, processados em programas estatísticos e apresentados em forma de gráficos e tabelas, calculando-se a frequência de amostras positivas pela PCR.

Objetivos

A pesquisa tem como objetivo compreender como o PPV e o TTV circulam em queixadas no Brasil. Os resultados esperados são:

- Identificar o DNA dos vírus em queixadas e entender suas características;
- Verificar se esses animais podem estar infectados por mais de uma espécie de vírus ao mesmo tempo;
- Avaliar como o ambiente (como o desmatamento) influencia a disseminação dos vírus;
- Ajudar a criar estratégias para prevenir doenças que podem passar de animais para humanos;
- Contribuir com dados para políticas que protejam a saúde dos animais e das pessoas.

Figura 2: Ilustração e resumo do projeto científico



Fonte: da autora

Conclusão

As queixadas são animais importantes para o equilíbrio do ecossistema, mas também podem ser hospedeiros de vírus como o TTV e o PPV suíno. Entender como esses vírus circulam ajuda a prevenir surtos, proteger a saúde pública e criar políticas que evitem a transmissão de doenças. Este estudo busca investigar a presença desses vírus em queixadas na região de São Paulo, utilizando PCR para identificar o DNA dos vírus. A Figura 2 resume o projeto científico.

Referências

ABIPeCS (Associação Brasileira de Proteína Animal): RELATÓRIO ANUAL ABPA 2017. São Paulo, 2017. Ed.31, páginas 68. Disponível em: http://abpabr.com.br/storage/files/3678c_final_abpa_relatorio_anual_2016_portugues_web_reduzido.pdf

Castro AMMG, Castro FG, Budiño FEL, et al. Detection of Genetic characterization of Porcine circovirus 2 (PCV2) in Brazilian wildlife boars. *Braz J Microbiol* 2012; 43: 1022–5. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1517-83822012000300025>

Lagan Tregaskis P, Staines A, Gordon A, Sheridan P, McMenamy M, Duffy C, Collins PJ, Mooney MH, Lemon K. Co-infection status of novel parvovirus's (PPV2 to 4) with porcine circovirus 2 in porcine respiratory disease complex and porcine circovirus-associated disease from 1997 to 2012. *Transbound Emerg Dis*. Julho, 2021; 68(4):1979–1994. Disponível em: doi: 10.1111/tbed.13846. Epub 2020 Oct 18. PMID: 32969579.

Langnaese, K., John, R., Schweizer, H., Ebmeyer, U., & Keilhoff, G. (2008). Selection of reference genes for quantitative real-time PCR in a rat asphyxial cardiac arrest model. *BMC molecular biology*, 9, 53. <https://doi.org/10.1186/1471-2199-9-53>

Moura, A. C. de., Lazzari, V. M., Agnes, G., Almeida, S., Giovenardi, M., & Veiga, A. B. G. da. Transcriptional expression study in the central nervous system of rats: what gene should be used as internal control. *Einstein. São Paulo*, 2014, ed.12(3), 336–341. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1679-45082014A03042>

Oliveira, R.C. et al. Out of the shadows, into the spotlight: Invisible zoonotic diseases in Brazil. *The Lancet Regional Health - Americas*, v. 8, 100202, p. 1 – 2, 2022. Disponível em: 10.1016/j.lana.2022.100202

Opriessnig, T., Giménez-Lirola, L. G., & Halbur, P. G. (2011). Polymicrobial respiratory disease in pigs. *Animal health research reviews*, 12(2), 133–148. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S1466252311000120>

Diagnóstico de microsporídio em paciente imunossuprimido

Autora: Juliana Braga Gomes

Orcid: 0009-0005-7923-1235

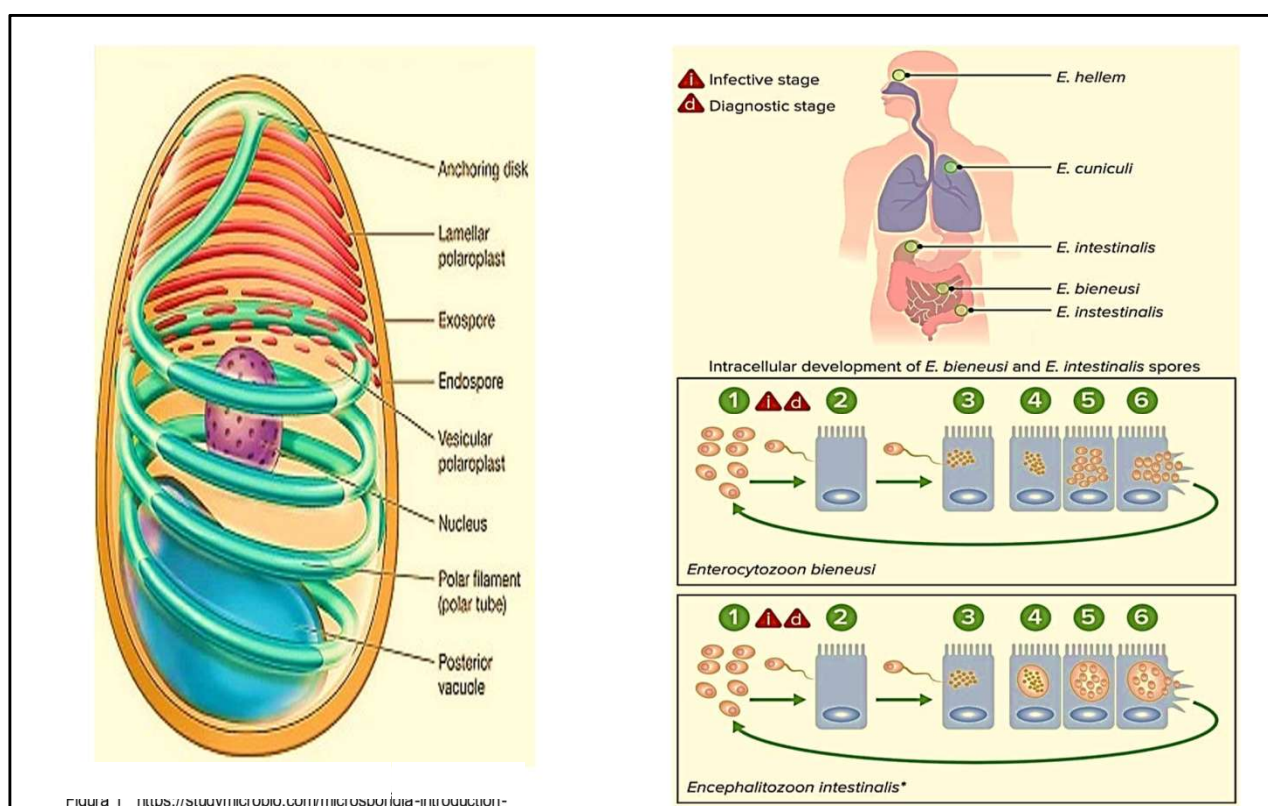
Orientador(a): Maria Anete Lallo

Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Patologia Ambiental e Experimental, Universidade Paulista

Introdução

Os microsporídios (Figura 1) pertencem ao Reino Fungi e se caracterizam por serem parasitas intracelulares únicos e obrigatórios capazes de sobreviverem no meio ambiente ou desenvolver-se dentro de outras células, infectando vertebrados e invertebrados. Ao infectar o hospedeiro, o esporo do microsporídio injeta o esporoplasma na célula através do seu tubo polar, multiplicando-se. Quando os esporos estão maduros, a célula se rompe e libera mais esporos retomando o ciclo novamente (Figura 1). Existem vários tipos de microsporídio, podendo ser diagnosticados em várias partes do corpo (HASSAN, 2018; HAN, 2020; FADHILAH, 2023).

Figura 1: Microsporídios e seu processo infeccioso



Fonte: da autora, adaptado de Google, 2024

Em indivíduos imunossuprimidos ou imunocompetentes a infecção por microsporídio pode causar diarreia e a sua prevalência pode variar de 0,1 a 50% (HASSAN, 2018). Em pacientes que estão em uso de terapia imunossupressora, como em transplantado de órgãos ou medula com doenças autoimunes ou imunodeficiência adquirida (HIV) acarretam uma imunodeficiência celular, tornando o paciente mais suscetível à microsporidose (RUAN, 2021).

O modo de transmissão por microsporídio pode ocorrer por transmissão vertical constatado em coelhos, ovelhas e primatas não humanos, transmissão oral de esporos por meio de alimentos contaminados; por exemplo frutos do mar em geral (crustáceos, camarão, lagosta), água (mar, potável, residuais, subterrânea, irrigação, excretas no ambiente, lama e esgoto) (HAN et al., 2020; RUAN, 2021; FADHILAH, 2023). Pode ser transmitido por cães e gatos domésticos: estes animais carregam genótipos de *E. bienersi* que podem ser infectantes para humanos (CHOZAS et al., 2023). Além disso, ocorre a transmissão sexual desprotegida (oral-anal) (DIDIER, 2011).

Em países desenvolvidos, as taxas de prevalência por microsporídia em indivíduos soropositivos para HIV com diarreia apresentam-se entre 2% e 78 %. Esta taxa oscila dependendo como o paciente realiza o tratamento e o grau de imunossupressão (FADHILAH et al, 2023). Em paciente HIV esta probabilidade se eleva quando CD4+ apresenta-se baixo. Porém, com o uso da terapia antirretroviral (TARV) a incidência de infecção por microsporídio reduz (LEMOS et al, 2021).

Uma maneira de prevenir a infecção por microsporídio é por meio de medidas preventivas e no caso de diagnóstico de microsporídios, seguir o tratamento medicamentoso adequadamente: administração de albendazol e fumagilina para todas as espécies de microsporídios, porém albendazol se limita a espécie *Enterocytozoon bienersi* (DIDIER 2005; HAN, 2021; CHOZAS et al., 2023).

Metodologia

Para excetuar este projeto, este será primeiramente submetido ao comitê de ética e pesquisa (CEP) da Universidade Paulista (UNIP), e após aprovação, encaminhado para a análise ao CEP do hospital onde será realizada a pesquisa. Este projeto trata de pacientes imunossuprimidos com quadro de diarreia aguda internados no HCFMUSP, no período de janeiro de 2025 a dezembro de 2025, paciente locados no Instituto do Câncer do Estado de São Paulo (ICESP), Enfermaria de transplante de fígado, unidade de terapia intensiva (UTI) da gastroenterologia e enfermaria de gastroenterologia clínicas. Serão coletadas amostras de fezes dos pacientes e analisadas no Centro de Pesquisas da UNIP e será realizada a análise de amostras em três etapas: extração de DNA, amplificação do DNA pela reação em cadeia pela polimerase dupla e eletroforese em gel de Agarose associando os exames com a história clínica do paciente.

Resultados esperados

Descrever a prevalência dos microsporídios como agente de diarreia aguda em pacientes imunossuprimidos. Serão avaliadas as características dos episódios de diarreia aguda em associação com fatores epidemiológicos como idade, gênero, terapêutica utilizada e *status* imune.

Conclusão

São necessárias políticas de saúde para prevenção de microsporidose, orientando a população imunossuprimida à importância de medidas de saneamento básico, consumo de alimentos e água tratada. Enfatizar a importância da coleta de exames parasitológicos nas consultas de rotina. A Figura 2 resume o projeto científico.

Figura 2: Ilustração e resumo do projeto científico



Fonte: da autora

Referências

CHOZAS, Mercedes et al. "Enterocytozoon bienewsi and Encephalitozoon intestinalis (microsporidia) in HIV-positive patients in central Spain." Medical mycology vol. 61,4 (2023): myad039. doi:10.1093/mmy/myad039.

DIDIER, Elizabeth S. "Microsporidiosis: an emerging and opportunistic infection in humans and animals." Acta tropica vol. 94,1 (2005): 61-76. doi:10.1016/j.actatropica.2005.01.010.

DIDIER, Elizabeth S, and Louis M Weiss. "Microsporidiosis: not just in AIDS patients." Current opinion in infectious diseases vol. 24,5 (2011): 490-5. doi:10.1097/QCO.0b013e32834aa152.

Fadhilah, Araniy, et al. "Microsporidium." StatPearls, StatPearls Publishing, 28 August 2023.

HAN, Bing et al. "Invasion of Host Cells by Microsporidia." *Frontiers in microbiology* vol. 11 172. 18 Feb. 2020, doi:10.3389/fmicb.2020.00172.

HAN, Bing et al. Microsporidiosis in Humans. *Clin Microbiol Rev.* 2021 Dec 15;34(4):e0001020. doi: 10.1128/CMR.00010-20. Epub 2021 Jun 30. PMID: 34190570; PMCID: PMC8404701.

HASSAN, Nur-Amirah et al. "Molecular Diagnosis of Microsporidia among Immunocompromised Patients in Kuala Lumpur, Malaysia." *The American journal of tropical medicine and hygiene.* vol. 99,6 (2018): 1562-1566. doi:10.4269/ajtmh.17-0901.

SILVA, H. R. T. da; ATAIDES, J. A. B.; TABOSA, J. C. F.; CRUZ, W. O.; FILHO, J. R. M. da S.; LEMOS, G. D. de; ASSIS, T. de O.; LEMOS-JORDÃO, A. J. J. M. de. Perfil sociodemográfico de pacientes portadores de HIV/AIDS internados no Hospital Universitário Alcides Carneiro para tratamento de infecções oportunistas / Sociodemographic profile of HIV/AIDS patients admitted to Hospital Universitário Alcides Carneiro for treatment of opportunistic infections. *Brazilian Journal of Development*, [S. l.], v. 8, n. 7, p. 51769-51791, 2022. DOI: 10.34117/bjdv8n7-204.

RUAN, Yingfei et al. "The largest meta-analysis on the global prevalence of microsporidia in mammals, avian and water provides insights into the epidemic features of these ubiquitous pathogens." *Parasites & vectors* vol. 14,1 186. 1 Apr. 2021, doi:10.1186/s13071-021-04700.

Aprimoramento na avaliação do coração de cães por radiografia

Autora: Rebeca Dourado Araujo de Andrade

Orcid: 0009-0001-3057-7359

Orientador(a): Eduardo Fernandes Bondan

Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Patologia Ambiental e Experimental, Universidade Paulista

Introdução

A avaliação do tamanho cardíaco em cães é importante para o diagnóstico de doenças cardiovasculares, sendo possível utilizar métodos VHS (*Vertebral Heart Scale*, ou Escala Vertebral Cardíaca, em tradução livre) e VLAS (*Vertebral Left Atrial Size* ou Tamanho do Átrio Esquerdo em Relação às Vértebras). Ambos os métodos são utilizados para mensurar o tamanho cardíaco utilizando um segmento específico da coluna vertebral, porém, apresentam limitações em cães com alterações nesta região (BAGARDI, 2022).

Devido essas limitações, Constanza (2023) propôs o método SHR (*Single Heart Ratio* ou Índice Cardíaco por Única Vértebra), passível de utilização em pacientes com alterações na coluna vertebral (Figura 1). A técnica ajuda na diferenciação entre edema pulmonar cardiogênico e não cardiogênico, mesmo na falta de informações ou dificuldades na ausculta (ROSS et al., 2023).

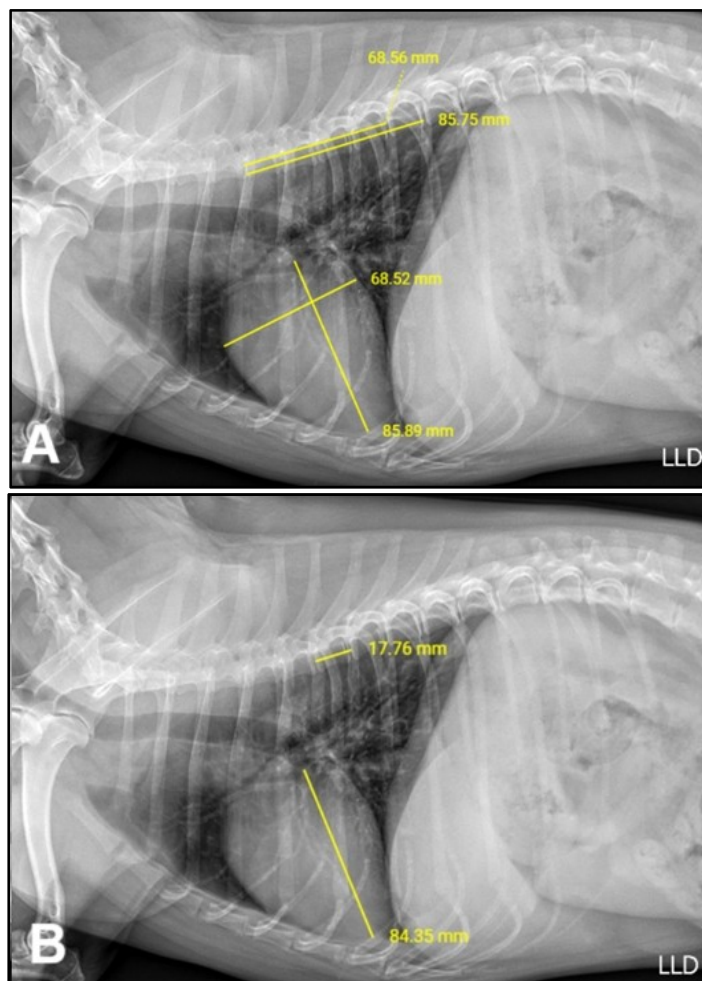
Metodologia

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA), garantindo que todos os procedimentos realizados não causaram dor ou desconforto aos cães envolvidos.

A amostragem será composta por dois grupos de cães, totalizando 60 animais, divididos em 30 saudáveis, com coluna vertebral e ecocardiograma normais, e 30 com alterações vertebrais, mas ecocardiograma normal. Serão incluídos cães de raça definida, entre 2 e 10 anos, com silhueta cardíaca delimitável em radiografias e sem remodelamento cardíaco no ecocardiograma.

Todos os cães participantes são pacientes passando por avaliação em centro diagnóstico, realizando radiografia e ecocardiograma como parte do monitoramento do estado de saúde.

Figura 1: Tórax canino em projeção laterolateral direita. A) Paciente com coluna vertebral dentro da normalidade em projeção laterolateral direita com mensurações do método de VHS e B) Mesmo paciente com mensurações do método SHR



Fonte: CDXVET, 2024

Resultados Esperados

Espera-se que a validação do método SHR permita estabelecer padrões específicos por raça, mais adaptados às variações morfológicas em comparação ao VHS (Tabela 1).

O objetivo do estudo é aprimorar a detecção precoce de alterações na silhueta cardíaca, especialmente em cães com alterações na coluna torácica, oferecendo maior precisão e segurança na escolha do tratamento. Além de realizar a comparação do método SHR e métodos já testados previamente (Figura 2).

Conclusão

A proposta de Constanza (2023) é de grande utilidade na avaliação radiográfica cardíaca de pacientes geriátricos, que frequentemente sofrem de alterações degenerativas na coluna vertebral. Com o aumento da expectativa de vida dos animais, a investigação de doenças cardíacas em cães idosos torna-se

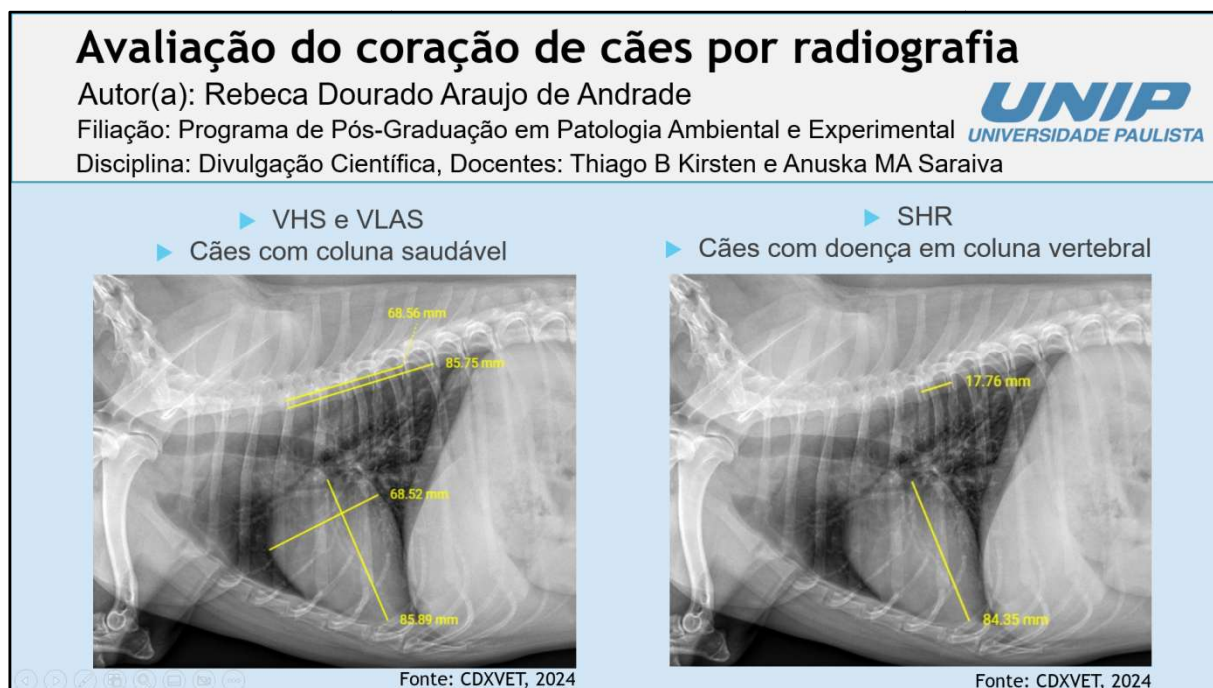
cada vez mais essencial. O método destaca-se por seu valor clínico, auxiliando na tomada do tratamento adequado, particularmente na diferenciação entre edema pulmonar cardiogênico e demais doenças pulmonares similares.

Tabela 1: Referência de valor VHS de acordo com raça canina em decúbito laterolateral direito

Raça	Faixa de normalidade
Boston Terrier	8,9 – 14,5
Dachshund	8,7 – 10,7
Labrador retriever	10,3 – 10,5
Lhasa apso	8,0 – 11,2
Lulu da Pomerânia	8,7 – 12,3
Poodle	9,1 – 11,1
Pug	8,9 – 12,5
Shih-tzu	8,3 – 10,7
Yorkshire terrier	8,7 – 11,1

Fonte: Adaptado de Jepsen-Grant (2013)

Figura 2: Esquema ilustrativo que resume o projeto científico



Fonte: Autor (2024)

Referências

BAGARDI, M.; LOCATELLI, C.; MANFREDI, M.; BASSI, J.; SPEDIACCI, C.; GHILARDI, S.; ZANI, D. D.; BRAMBILLA, P. G. Breed-specific vertebral heart score, vertebral left atrial size, and radiographic left atrial dimension in Cavalier King Charles Spaniels: Reference interval study. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, v. 63, n. 2, p. 156-163, 2022.

BUCHANAN, J. W.; BÜCHELER, J. Vertebral scale system to measure canine heart size in radiographs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 206, n. 2, p. 194-199, 1995.

CONSTANZA, D.; GRECO, A.; PIANTEDOSI, D.; BRUZZESE, D.; PASOLINI, M.; COLUCCIA, P.; CASTIELLO, E.; BAPTISTA, C.; MEOMARTINO, L. The heart to single vertebra ratio: A new objective method for radiographic assessment of cardiac silhouette size in dogs. *Veterinary Radiology and Ultrasound*, v. 64, p. 378-384, 2023.

JEPSEN-GRANT, K.; POLLARD, R. E.; JOHNSON, L. R. Vertebral heart scores in eight dog breeds. *VeterinaryRadiology&Ultrasound*, v. 54, n. 1, p. 3-8, 2013.

ROSS, E. S.; VISSER, L. C.; SBARDELLATI, N.; POTTER, B. M.; OHLENDORF, A.; SCANSEN, B. Utility of VLAS and VHS to aid detection of congestive heart failure in dogs with respiratory signs. *JournalofVeterinaryInternal Medicine*, v. 37, p. 2021-2029, 2023.

Aplicações do extrato de *Viscum album* de espécies coletadas no inverno sobre células de melanoma

Autor: Thiago Reynes Matheus

Orcid: 0009-0004-1876-6132

Orientador(a): Elizabeth Cristina Perez Hurtado

Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Patologia Ambiental e Experimental, Universidade Paulista

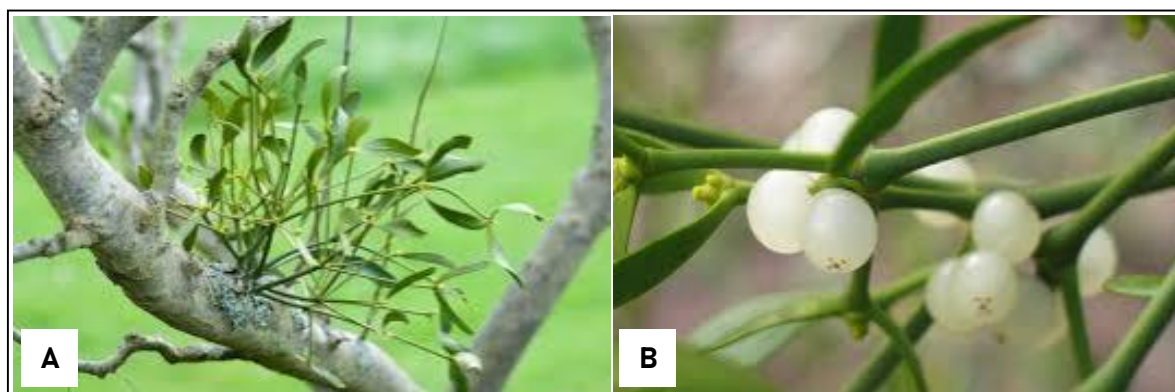
Introdução

O melanoma é um tipo de câncer de pele de perfil maligno que se desenvolve a partir de uma proliferação descontrolada de melanócitos, células produtoras melanina. A melanina tem função protetora para a pele contra a incidência excessiva de radiação ultravioleta. A incidência excessiva pode com o tempo evoluir para um quadro de melanoma (Sabag et al., 2020).

A identificação precoce dos casos de melanoma consiste em uma etapa de extrema importância para definição do tratamento, uma vez que estatisticamente menos de 10% dos pacientes têm sobrevida superior a cinco anos após identificação de metástases (Purim et al., 2020).

Os protocolos tradicionais de tratamento quimioterápico envolvem custos e efeitos colaterais muitas vezes limitantes. A partir desse cenário, a adoção de terapias complementares e integrativas tornou-se uma prática recorrente. Diminuição de níveis de toxicidade, efeitos colaterais mais brandos, e, inclusive alinhamento unicamente a partir de terapias homeopáticas trazem novas interpretações sobre como abordar casos oncológicos (Wagenknecht et al., 2023).

Figura 1: (A) Frutos *Viscum album*; (B) *Viscum album* em árvore



Fonte: inject center

O uso de extratos aquosos ultra-diluídos de *Viscum album* como parte de protocolos terapêuticos integrativos são uma referência recorrente para pacientes oncológicos, linha essa voltada principalmente para manejo de sintomas e melhora generalizada de qualidade de vida (Thronicke et al., 2022).

Os extratos de *Viscum album* têm sua origem a partir de diferentes árvores hospedeiras. Esse preparo leva em consideração rígidos processos científicos que levam em consideração não somente a árvore, mas também condições climáticas e estação do ano. Dentre as principais espécies utilizadas estão as seguintes árvores: *Malus domestica*, *Quercus sp.*, *Ulmus sp.*, *Abies sp.*, e *Pinus sp* (Figuras 1A-B) (Melo et al., 2018).

O objetivo do projeto busca avaliar *in vitro* os efeitos de diferentes diluições homeopáticas de *Viscum album* extraídos de espécies coletadas durante o inverno europeu sobre células de melanoma murino.

Metodologia

Medicamentos, veículos e cegamento

As tinturas mães (TMs) de *Viscum album* utilizadas no estudo serão disponibilizadas gentilmente pela Profa. Dra. Carla Holandino da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Estas TMs serão preparadas conforme a farmacopeia homeopática brasileira, a partir de plantas colhidas de árvores hospedeiras, na estação do inverno e serão encaminhadas para a farmácia homeopática HN Cristiano, em São Paulo, para obtenção das ultradiluições homeopáticas. Serão utilizadas três potências já testadas em estudos anteriores: 12DH, 200CH e 5LM, como indicado na Figura 2. Além dessas diluições a tintura mãe será também avaliada junto com os controles do veículo (água nas potências de 12DH, 200CH e 5LM) e do quimioterápico o carboplatina (B-platin – Blausiegel®) na concentração de 10%. Como controle negativo, células B16F10 serão mantidas somente com meio completo nos períodos correspondentes sem adição de nenhum tratamento. As amostras serão cegadas no laboratório da instituição, por pesquisadores não envolvidos no projeto. Para isto, os rótulos de todos os medicamentos serão substituídos por códigos (letras) desconhecidos pela equipe, sendo estes códigos revelados somente após a análise estatística (Prado et al., 2022).

Serão analisados 12 grupos de células que envolvem um grupo controle, grupos tratados exclusivamente com o quimioterápico e grupos de tratamento do quimioterápico aliado ao *Viscum album* em diferentes diluições a fim de identificar diferentes picos de ação dos tratamentos.

Figura 2: Ultradiluições



Fonte: Anna Claudia Delphino

Resultados Esperados

É esperado que os grupos que utilizam diluições da tintura mãe de *Viscum album* colhidos no inverno promovam diminuição do metabolismo celular, além de morte por necrose devido a alta citotoxicidade das diluições, além de modulação dos processos celulares em relação ao metabolismo, replicação e estresse oxidativo, incluindo possíveis alterações nos padrões inflamatórios, mitose e migração celular. A Figura 3 ilustra o resumo do projeto de pesquisa.

Figura 3: Resumo do projeto de pesquisa



Fonte: Próprio autor

Referências

- Melo, M. N. de O., Oliveira, A. P., Wiecekowsky, A. F., Carvalho, R. S., Castro, J. de L., de Oliveira, F. A. G., Pereira, H. M. G., da Veiga, V. F., Capella, M. M. A., Rocha, L., & Holandino, C. (2018). Phenolic compounds from *Viscum album* tinctures enhanced antitumor activity in melanoma murine cancer cells. *Saudi Pharmaceutical Journal*: SPJ: The Official Publication of the Saudi Pharmaceutical Society, 26(3), 311–322.
- Prado, P. B., Holandino, C., Baumgartner, S., Silva, T. C., Bonamin, L. V., & Hurtado, E. C. P. (2022). In vitro evaluation of the effects of *Viscum album* homeopathic preparations on murine melanoma cells. *International Journal of High Dilution Research* - ISSN 1982-6206, 21(1), 20–20.
- Purim, K. S. M., Bonetti, J. P. C., Silva, J. Y. F., Marques, L. B., Pinto, M. C. S., & Ribeiro, L. C. (2020). Características do melanoma em idosos. *Revista Do Colégio Brasileiro de Cirurgiões*, 47.
- Sabag, N., Yakobson, A., & Silberstein, E. (2020). Recent Changes and Innovations in Melanoma Treatment: A Review. *The Israel Medical Association Journal*: IMAJ, 11(22), 704–710.
- Thronicke, A., Schad, F., Debus, M., Grabowski, J., & Soldner, G. (2022). *Viscum album*; L. Therapy in Oncology: An Update on Current Evidence. *Complementary Medicine Research*, 29(4), 362–368.
- Wagenknecht, A., Dörfler, J., Freuding, M., Josfeld, L., & Huebner, J. (2023). Homeopathy effects in patients during oncological treatment: a systematic review. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 149(5), 1785–1810.

Parte 2

POPs de Aulas Práticas



POP: Extração do DNA do morango

Autores: Ana Paula Soares da Silva e Debora Rhayanne de Medeiros Matias

Extração do DNA do morango

Objetivo da técnica: Extrair o DNA do morango, que consiste em seu material genético; Visualizar a molécula de DNA; Aplicar conceitos de genética.

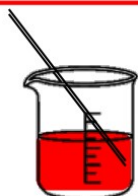


Selecione 3 morangos, retire os cabos verdes.



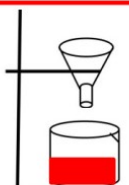
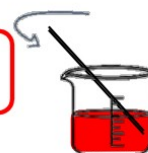
Triturar os morangos com auxílio de almofariz e pistilo até obter uma pasta homogênea. Transferir a pasta de morango para um Becker de 250ml.

Em outro Becker de 250ml adicionar 150ml de água, 15ml de detergente e 5g de NaCl. Mexer bem e devagar com bastão de vidro até obter uma mistura homogênea.



Adicionar à pasta de morango 50ml da solução preparada. Misturar levemente com o bastão de vidro.

Incubar em temperatura ambiente por 30 minutos, mexer levemente a cada 5 minutos com o bastão de vidro.



Filtrar o homogeneizado em funil de vidro coberto com gaze, sobre um Becker de 250ml.

Em um tubo de ensaio de 20ml colocar 2,5ml do extrato obtido com auxílio de uma pipeta pasteur.



Delicadamente despeje sobre o extrato 5ml de álcool etílico. Não misture. Aguarde 3 minutos. Observe que neste momento o DNA começa a subir para porção transparente da solução

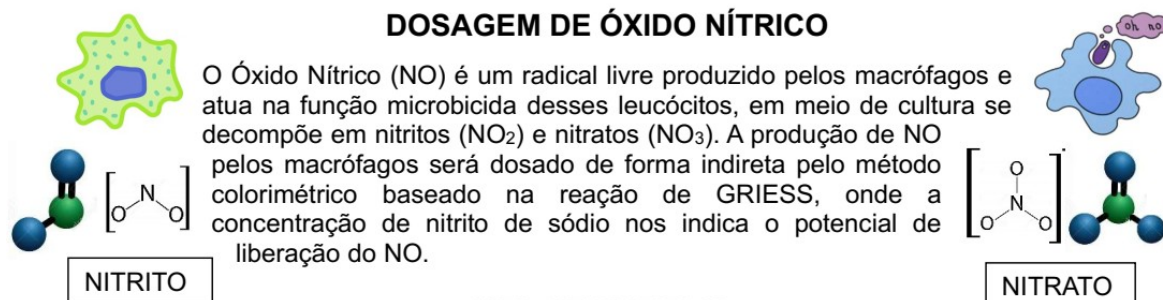
Com auxílio de uma pipeta pasteur colete o DNA e acomode-o em eppendorf com álcool 70%.



Revisado e Aprovado por: Anuska M. Alvares-Saraiva

POP: Dosagem de óxido nítrico

Autores: Anna Claudia Delphino dos Santos, Juliana Braga Gomes e Thiago Reynes Matheus



LISTA DE MATERIAL

7 tubos falcon 15mL 8 tubos de ensaio de 5 mL (baby) Bequer 100mL



Placa 96 poços (ELISA)

Caixas de ponteiros de 1000µL e 200µL



Pipetas: P1000 e P200

Pipeta graduada de 10mL

Proveta 50mL



REAGENTES P/ NO

SOLUÇÃO MÃE OU REAGENTE p/ curva

140mg de nitrito de sódio
+ 10mL de água destilada

REAGENTES DE GRIESS (c/ ácido acético)

Preparar na hora do uso, misturando mesmo volume do Reagente A e Reagente B

REAGENTE A

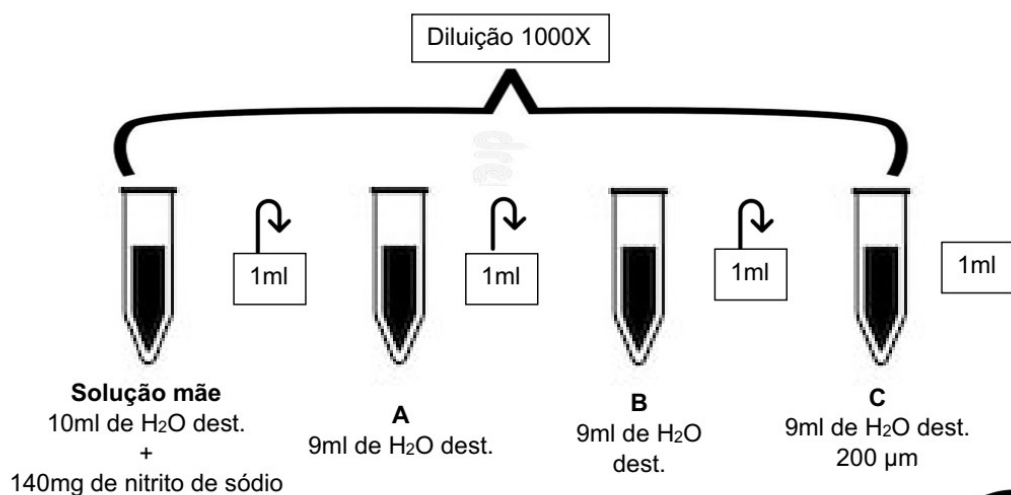
50mg SULFANILAMIDA diluída em 2,5ml ácido acético 30%

REAGENTE B

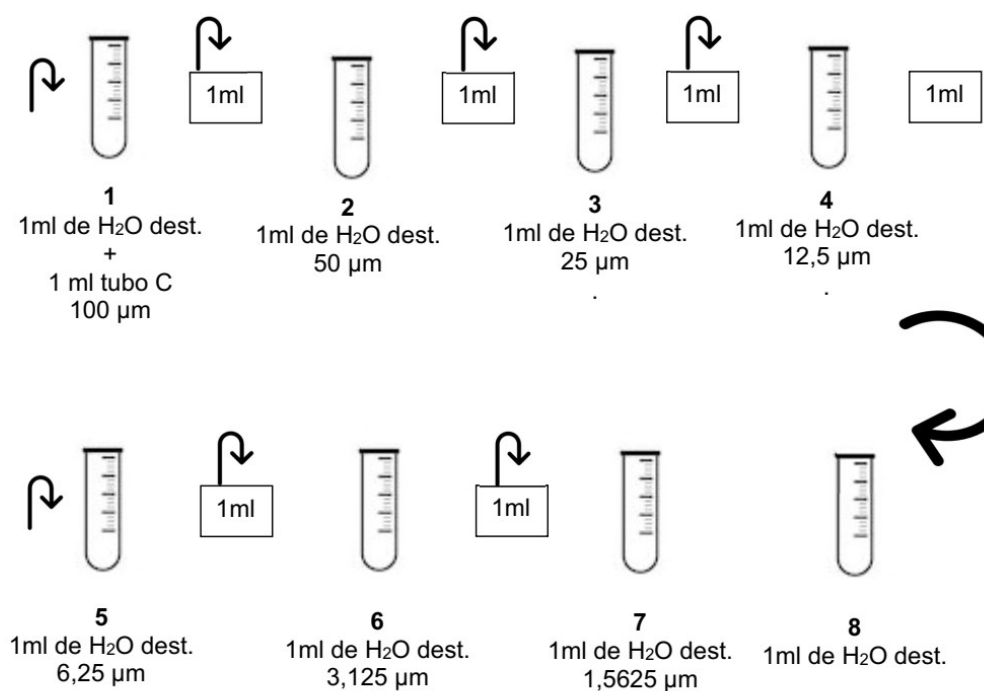
5mg NEED diluída em 2,5ml de ácido acético 60%

Observação: se necessário, ajustar os volumes mantendo a concentração de sais proporcionalmente.

Preparo da CURVA DE NITRITO DE SÓDIO:



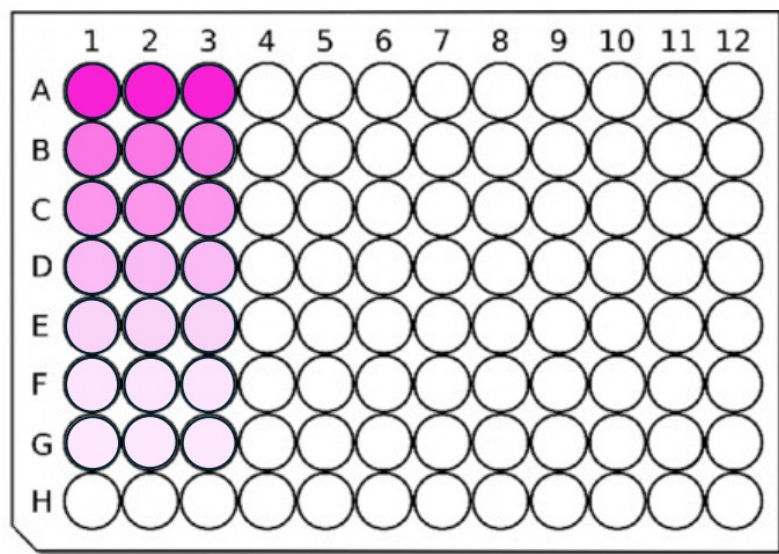
Início da CURVA SERIADA:



PROTOCOLO

- Em placas de 96 poços:
 - Acrescentar 100µL/poço de cada diluição em triplicata (3 poços).
 - Acrescentar 100µL/poço do reagente de GRIESS, em todos os poços
- Para leitura e registro da densidade ótica:
 - Deixar a placa 10min. sobre a bancada
 - Utilizar espectrofotômetro para leitura a 540nm

Método colorimétrico:



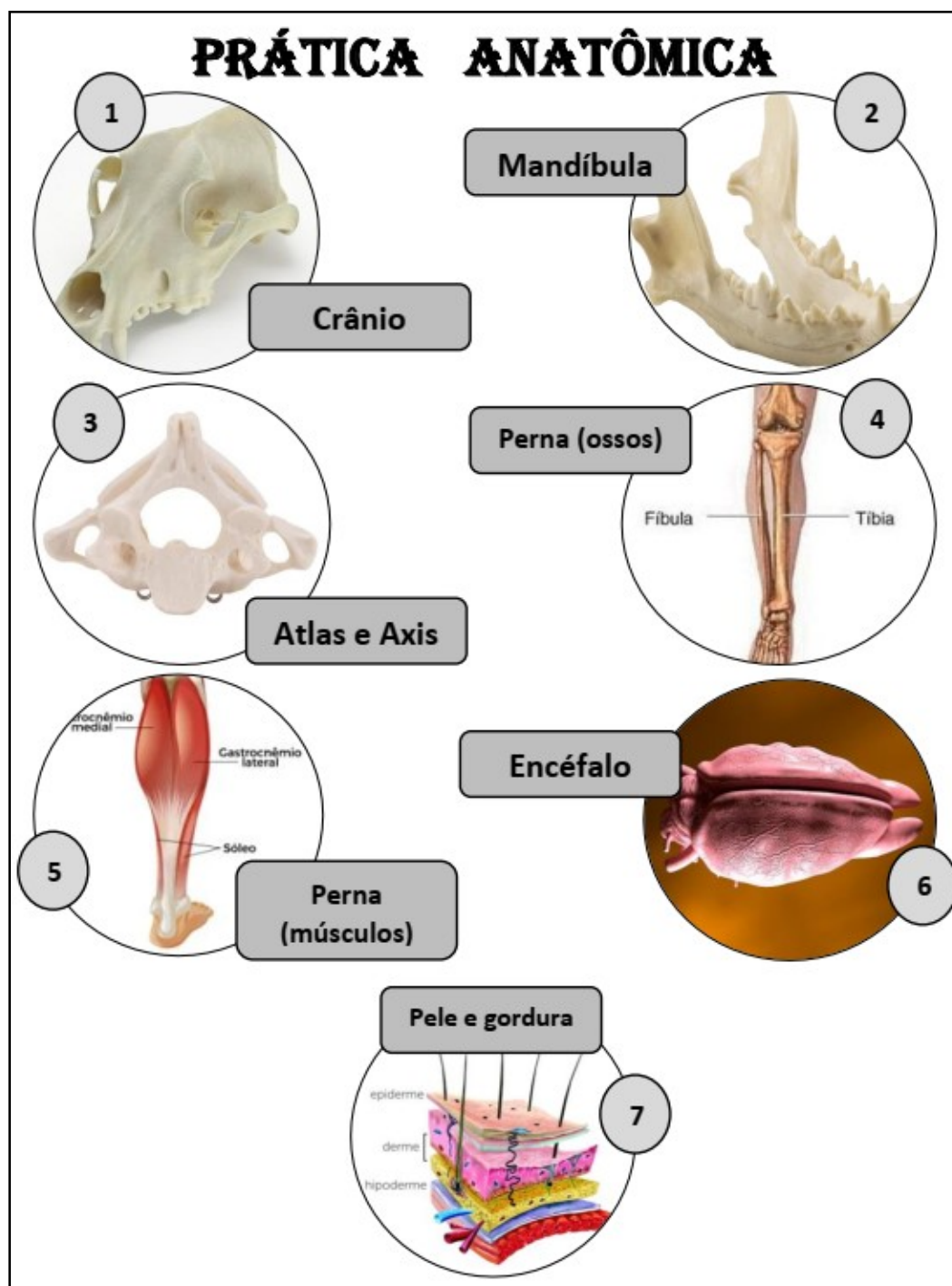
Fonte: Autores, 2024

POP: Dosagem de óxido nítrico - pág 3/3

Revisado e Aprovado por: Anuska M. Alvares-Saraiva

POP: Práticas em anatomia e microscopia

Autores: Daniel Nascimento Lago Santos e Rebeca Dourado Araujo de Andrade



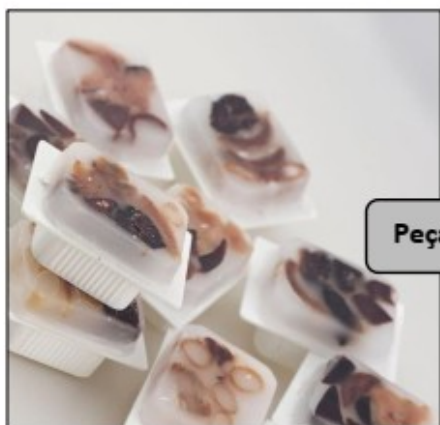
PRÁTICA DE MICROSCOPIA



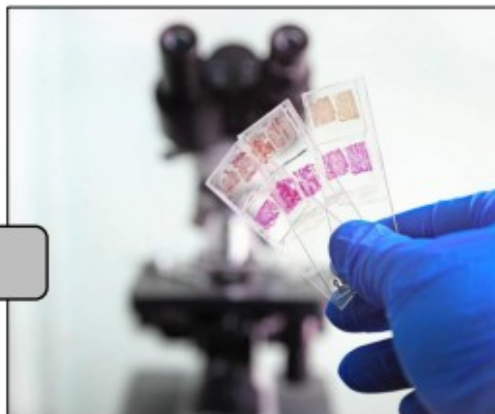
Microscópio



Contador de células



Peça emblocada



Lâminas

Microscopia de Amostras Histopatológicas

Objetivo

Definir as etapas necessárias para a análise de amostras histopatológicas sob microscopia em aula prática.

Materiais

1. Lâminas histológicas contendo cortes de tecido
2. Microscópio óptico Nikon Eclipse E200 com objetivas
3. Monitor Nikon Digital Sight
4. Óleo de imersão
5. Solução de limpeza para lentes
6. Lenços de papel
7. Solução de formol 10%
8. Peça macroscópicas de encéfalo, tíbia e fíbula (com gastrocnêmio) de roedor, conservadas em formol 10%
9. Peça macroscópica de tíbia, fíbula (de cão) e crânio (de cão e roedor).

Procedimento da etapa microscópica

1. Identificar estruturas do microscópio óptico
2. Ajustar a iluminação e calibrar o microscópio
3. Colocar a lâmina na platina do microscópio
4. Iniciar a observação com a objetiva de 4x
5. Ajustar o foco utilizando o macrômetro e micrômetro
6. Explorar toda a lâmina de modo sistemático
7. Aumentar a ampliação conforme necessário para detalhes específicos
8. Capturar imagens

Procedimento da etapa macroscópica

1. Identificar a face das peças anatômicas
2. Identificar as estruturas anatômicas de acordo com o anexo do POP

Segurança e considerações éticas

1. Utilizar EPI (jaleco e luvas) ao manusear lâminas e amostras
2. Garantir o descarte correto do material descartável utilizado

Referências

ABRAHAMSOHN, P. Histologia. Porto Alegre: Artmed, 2021.
KÖNIG, H.; LIEBICH, H. E. Anatomia dos animais domésticos: texto e atlas colorido. 7. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2021.

POP: Práticas em anatomia e microscopia – pág 3/3

Revisado e Aprovado por: Anuska M. Alvares-Saraiva