



**SBBN**

Sociedade Brasileira de Biociências Nucleares

# ANAIS DA SBBN

ANNALS OF THE BRAZILIAN SOCIETY  
OF NUCLEAR BIOSCIENCES

VOLUME 02  
ANO 2015

ISSN 2525-4634

## **IX CONGRESSO DA SBBN**

**"BIOCIÊNCIAS À LUZ DAS RADIAÇÕES: DAS  
CÉLULAS AOS SERES HUMANOS"**

**09 a 12 de Setembro de 2015**

**Faculdade de Medicina da USP  
São Paulo  
São Paulo, Brasil**

**Elaborado, editado e publicado por:**

## **SOCIEDADE BRASILEIRA DE BIOCÊNCIAS NUCLEARES**

Av. Salvador Allende, s/n, Recreio dos Bandeirantes, Rio de Janeiro, RJ  
Fones: (21) 3496-5551 e (21) 996227320 (presidência); (31) 9617-5043 (secretaria)  
E-mails: presidencia@sbbn.org.br; secretaria@sbbn.org.br  
Skype: SBBN\_Biossegurança SBBN  
Twitter: @SOC\_SBBN  
Facebook: secretariasbbn/facebook.com  
www.sbbn.org.br

### **DIRETORIA EXECUTIVA (2013-1015)**

|                                    |  |
|------------------------------------|--|
| Silvia Maria Velasques de Oliveira | Presidente   |
| Sergio Chaves Cabral               | Vice-PresidenteGeral                               |
| Thiago de Salazar e Fernandes      | DiretorCientífico                                  |
| Fabio Luiz Navarro Marques         | Diretor de Ensino, Eventos e Divulgação Científica |
| Luciene das GraçasMota             | PrimeiraSecretária                                 |
| Liliane de Freitas Bauermann       | SegundaSecretária                                  |
| Sebastião David Santos-Filho       | PrimeiroTesoureiro                                 |
| Adenilson de Souza da Fonseca      | Tesoureiro em exercício                            |
| Mario Bernardo-Filho               | Membro honorário da SBBN                           |
| ValbertNascimento Cardoso          | Membro honorário da SBBN                           |

**PRESIDENTE DO IX CONGRESSO SBBN**  
**Silvia Maria Velasques de Oliveira**

**COMITÊ ORGANIZADOR**

Adenilson de Souza da Fonseca  
Daniela de Paula Faria  
Fabio Luiz Navarro Marques  
Liliane de Freitas Bauermann  
Luciene das Graças Mota  
Mario Bernardo-Filho  
Simone Odília A. Fernandes  
Silvia Maria Velasques de Oliveira  
Thiago de Salazar e Fernandes  
Valbert Nascimento Cardoso

**COMITÊ CIENTÍFICO 2014**

Ademir de Jesus Amaral  
Adenilson de Souza da Fonseca  
Antero Silva Ribeiro de Andrade  
Daniele de Paula Faria  
Fabio Luiz Navarro Marques  
Francisco Cesar A. da Silva  
Liliane de Freitas Bauermann  
Luciene das Graças Mota  
Mariana Brayner Cavalcanti  
Mario Bernardo-Filho  
Martha Simões Ribeiro  
Priscilla Pujatti  
Rodrigo Labat Marcos  
Silvia Maria Velasques de Oliveira  
Simone Odília A. Fernandes  
Thiago de Salazar e Fernandes  
Valbert Nascimento Cardoso

# APRESENTAÇÃO

Após 19 anos de atividades científicas, a SBBN realiza seu décimo congresso na cidade de São Paulo. A ocasião não poderia ser mais emblemática: integrando as comemorações de trinta anos de fundação da Federação das Sociedades de Biologia Experimental (FeSBE). Sendo 2015 o Ano Internacional da Luz, trazemos o tema “**Biociências à luz das radiações: das células aos seres humanos**”.

Em São Paulo, é produzida a maior parte dos radioisótopos usados no país para aplicações em Saúde, Agricultura, Indústria e Meio Ambiente. O desafio da área nuclear é formar recursos humanos em áreas multidisciplinares para produzir tecnologia de ponta com menor custo e acessível para todos os brasileiros, adotando boas práticas de fabricação, biossegurança, proteção radiológica e garantia da qualidade. Neste Congresso, serão apresentadas recentes aplicações de **Biotecnologia** com radionuclídeos artificiais e naturais, **Radioecologia** com avaliação da qualidade da água, **Nanotecnologia** com desenvolvimento de traçadores e novas moléculas, produção de antisseros com venenos irradiados e aprimoramento da qualidade dos medicamentos através de imagens adquiridas com emissores de pósitrons. Para desenhar ensaios pré-clínicos com incorporação de radionuclídeos e criar respectiva modelagem translacional, devem ser valorizadas experiências das diversas áreas de Biologia Experimental presentes na XXX Reunião Anual. O país deve implementar **ensaios clínicos em Cardiologia, Neurologia e Oncologia**, dentre outros e, para isto, é indispensável aproveitar a experiência internacional com radiofármacos, a qual será apresentada pelo Departamento de “Nuclear Sciences and Applications” da Agência Internacional de Energia Atômica. Dificuldades da aceitação pública da energia nuclear podem ser superadas demonstrando-se, tanto para cientistas como para a população em geral, a capacidade do país para enfrentar e superar **acidentes radiológicos**, não apenas logística, mas também tecnicamente. Respeitando-se o Princípio da Justificativa da Proteção Radiológica, as radiações ionizantes devem ser adotadas quando não há alternativas de igual eficácia. Dentre outros, estudos de efeitos biológicos decorrentes de técnicas como **tomografia por coerência ótica, Laser de baixa intensidade, ou fontes de vibração e ondas mecânicas**, permitirão otimizar procedimentos diagnósticos e terapêuticos, bem como a prevenção de enfermidades.

Em radiações ionizantes assim como em radiações não ionizantes, é preciso **trabalhar à luz da Ciência**, modernizando o desenho experimental e aumentando a confiabilidade dos testes pré-clínicos e clínicos, o que poderá demandar tempo superior ao planejado. No entanto, a exigência de produtividade por parte dos órgãos de fomento no país não deve comprometer a qualidade do trabalho científico de qualquer natureza. Agradeço a colaboração dos colegas de São Paulo pela a organização do Workshop pré-congresso e dos membros do Comitê Científico do X Congresso SBBN para a análise dos trabalhos submetidos. Sobretudo, agradeço a generosidade de cada palestrante aceitando nosso convite. Aos visitantes, desejo excelente estadia em São Paulo e feliz retorno para suas cidades.

Silvia Maria Velasques de Oliveira  
Presidente da SBBN

# PROGRAMA DO X CONGRESSO DA SBBN

PROGRAM OF X SBBN CONGRESS

**TERÇA-FEIRA, 8 DE SETEMBRO DE 2015**

**TUESDAY, SEPTEMBER 8<sup>TH</sup> 2015**

**II Workshop on Positron Emitting Radiopharmaceuticals and  
Molecular Imaging: New perspectives**

Coordinator: Fabio Luiz Navarro Marques ([fabio.marques@hc.fm.usp.br](mailto:fabio.marques@hc.fm.usp.br))

Venue: Centro de Medicina Nuclear - Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (CMN-FM-USP)

Travessa da Rua Dr. Ovídio Pires de Campos s/n - Cerqueira Cesar, CEP 05403-010 - São Paulo, SP

Telephone: (11) 26618053 Fax: (11) 30821015.

Registration: [www.sbbn.org.br](http://www.sbbn.org.br)

8:30-9h:00 h Credentials, wellcome and course objectives (Fabio L. N. Marques, CMN-FM-USP)

**9h:00-12h:00 h Experiences in management of research cyclotron facilities: installations, staff and studentstraining program, research projects design, financial support**

Coordinator: Fabio L. N. Marques (CMN-FMUSP)

Suzanne E. Lapi (Mallinckrodt Institute of Radiology, Washington University School of Medicine, St. Louis, USA)

Henia S. BalterBinsky (CUDIM, Universidad de La Republica, Uruguay)

João Alberto Osso Junior(Radioisotope Products and Radiation Technology Section, Division of Physical and Chemical Sciences, International Atomic Energy Agency, Vienna, Austria)

12:00 - 14:00h Lunch interval

**14:00-17:00 h Experiences in producing “non-standard” radionuclides and their potential applications: <sup>11</sup>C, <sup>13</sup>N, <sup>15</sup>O, <sup>64</sup>Cu, <sup>55</sup>Co, <sup>76/77</sup>Br , <sup>86</sup>Y, <sup>89</sup>Zr, <sup>51</sup>Mn, <sup>73/75</sup>Se, <sup>76/77</sup>Br**

Coordinator: João Alberto Osso Junior(International Atomic Energy Agency, Vienna, Austria)

Suzanne E. Lapi; Henia S. Balter Binsky

**QUARTA-FEIRA, 9 DE SETEMBRO DE 2015**

**WEDNESDAY, SEPTEMBER 9<sup>TH</sup> 2015**

**II Workshop on Positron Emitting Radiopharmaceuticals and  
Molecular Imaging: New perspectives**

**8:00 -11:30 h Non-standard PET imaging device or acquisition protocols**

Coordinator: Frederic H. Fahey (Boston Children's Hospital, USA)

Current and New Instrumentation for Preclinical Imaging (Scott Ireland, Brucker Company)

Operational Aspects of Establishing a Multi-Modality Imaging Program (F. Fahey)

Current Adventures in Preclinical Imaging (F. Fahey)

Future Horizons (F. Fahey/Open Discussion)

11:30 – 12:30h Lunch interval

**12:30 -14h:00 h Pharmacology and Radiopharmacology in drug  
developments: Analytical and bioanalytical techniques applied to labeled  
molecules**

Coordinator: Fabio L. N. Marques (CMN-FMUSP)

Development of neuroinflammation drugs

Daniele de Paula Faria (Instituto do Câncer do Estado de São Paulo, ICESP-USP, Brazil)

Metabolites analysis and techniques

Fabio Luiz Navarro Marques (CMN-FMUSP, Brazil)

14:00-14:30 h Closing section

QUARTA-FEIRA, 9 DE SETEMBRO DE 2015

WEDNESDAY, SEPTEMBER 9<sup>TH</sup> 2015

**X CONGRESSO DA SBBN**

08:00 - 12:00h Cursos Pré-FeSBE

12:00 - 14:00h Intervalo para almoço

14:00-16:00h Sessão de Painéis I

16:15-17:15h **Curso 1: Biodosimetria das Radiações Ionizantes.**

AULA 1: Fundamentos de Biodosimetria

Coordenador: Thiago de Salazar e Fernandes (DEN/UFPE)

17:45 - 18:15h Cerimônia de Abertura FESBE

18:20 - 19:20h Conferência de Abertura FESBE



# QUINTA-FEIRA, 10 DE SETEMBRO DE 2015

THURSDAY, SEPTEMBER 10<sup>TH</sup> 2015

08:00-08:50 h

## **Curso 2: Bioestatística: Comparando Amostras.**

Aula 1: Comparando Duas Amostras.

Coordenador: Adenilson de Souza da Fonseca (UERJ)

08:00-08:50

## **Curso 3: Estudos pré-clínicos em radiofarmácia.**

Aula 1: Imagem pré-clínica e desenho experimental

Coordenador: Daniele de Paula Faria (ICESP-USP)

09:00-11:00 h **Módulo temático 1**

## **Biotecnologia com radionuclídeos naturais e artificiais: melhorando a Saúde e a proteção ao meio ambiente**

Coordenador: Jair Mengatti (IPEN/CNEN/SP)

**CP:** Radionuclídeos produzidos em reatores e cíclotrons para pesquisas em Biologia e Medicina

João Alberto Osso Junior (Department of Nuclear Sciences and Applications, International Atomic Energy Agency-IAEA)

**MC:** Radionuclídeos no meio ambiente e qualidade da água

Dejanira da Costa Lauria (Instituto de Radioproteção e Dosimetria – IRD/CNEN)

**CO:** Biophysical and toxicological characterization of polymeric nanoparticles

Patricio, B. F. C. , Prieto, M. J. , Feas, D. , Martinez, C. , Alonso, S. D. V. , Bisch, P. M., Weissmuller, G. ,

Laboratório de Física Biológica (IBCCF-UFRJ), Laboratório de Biomembranas (UNQ)

**CO:** Mimotope peptide of electronegative LDL as agent for atherosclerosis PET imaging

Kazuma S. M., Turato W. M., Liu Y., Cavalcante M.F., Abdalla D. S. P. (FCF-USP)

11:15-12:15 h **Conferência: Radiotracers and Nanotechnology and its applications in biological studies**

Apresentação: Elaine Bortoleti de Araújo (IPEN/CNEN/SP)

Conferencista: Valbert Nascimento Cardoso (FF-UFMG)

12:30-13:30 h **Brucker Lunch Conference: Current Adventures in Preclinical Imaging**

Apresentação: Fabio Luiz Navarro Marques (FMUSP)

Conferencista: Frederic H. Fahey (Boston Children's Hospital, USA)

14:00-14:50 h

**Curso 1: Biodosimetria das Radiações Ionizantes.**

Aula 2:Técnicas de Biodosimetria

Coordenador: Thiago de Salazar e Fernandes(UFPE)

14h50-15h00 Intervalo

15:00-17:00 h **Módulo temático 2**

**Radiações ionizantes para o desenvolvimento e aprimoramento de novas vacinas**

Coordenador: Nanci do Nascimento (IPEN/CNEN/SP)

**MC:** A imunidade induzida por agentes irradiados

Andrés Jimenez Galisteo Jr (IMT-FM-USP)

**MC:** Produção de melhores antissoros com venenos irradiados

Nanci do Nascimento (IPEN/CNEN/SP)

**MC:** Direcionamento imunológico de proteínas irradiadas, uma ferramenta na substituição de adjuvantes

Heitor Franco de Andrade Jr (IMT-FM-USP)

**CO:** Humoral immune response against native and Cobalt 60-irradiated paratygonaiereba rays venom

Thomazi, G. O. C., Glaucie Jussilane Alves, Thompson De Oliveira Turibio, Raquel Da Silva Aires, Carla Simone Seibert, Patrick Jack Spencer, Nascimento

N. (IPEN/CNEN/SP)

**CO:** Avaliação in vitro do potencial citotóxico da 2-alcilciclobutanona em células hepáticas

Barbezan, A. B. , Sales, B. R. , Santana, L. V. , Martins, R., Santelli, G. M. M.,

Villavicencio, A. L. C. H.,

(IPEN/CNEN/SP)

17:15-19:15 h Sessão de Painéis II

**19:30 - 21:00 h**

**ASSEMBLÉIA DELIBERATIVA DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE BIOCÊNCIAS NUCLEARES (SBBN)**

# SEXTA-FEIRA, 11 DE SETEMBRO DE 2015

FRIDAY, SEPTEMBER 11<sup>TH</sup> 2015

08:00-08:50 h

## **Curso 2: Bioestatística: Comparando Amostras.**

Aula 2. Comparando Três Amostras ou Mais Amostras: Análise Paramétrica

## **Curso 3: Estudos pré-clínicos em radiofarmácia.**

Aula 2: PET-SPECT-CT: princípios e fatores que influenciam na experimentação

Coordenador: Daniele de Paula Faria (ICESP-USP)

09:00-11:00h **Simpósio 1**

## **Desafios em modelagem translacional e ensaios clínicos com radiofármacos**

Coordenador: João Alberto Osso Júnior (International Atomic Energy Agency-IAEA)

**MC:** Radiofármacos Baseados em Aptâmeros

Antero Silva Ribeiro de Andrade (CDTN)

**MC:** Desafios para o desenvolvimento de novos radiofármacos: estudos pré-clínicos e requisitos de Boas Práticas de Fabricação

Elaine Bortoleti de Araújo (IPEN/CNEN/SP)

**MC:** Modelo translacional em dosimetria: o que muda em quantificação de imagens cintilográficas?

Lorena Pozzo (IPEN/CNEN/SP)

**MC:** Ensaios clínicos com radiofármacos em Cardiologia, Neurologia e Oncologia: a experiência internacional.

João Alberto Osso Júnior (IAEA)

## **11:15-12:15h Conferência 2: Effects on atomic radiation in children: from Chernobyl to Fukushima**

Apresentação: Silvia M. Velasques de Oliveira (IRD/CNEN)

Conferencista: Dunstana Melo (Director "Center for Countermeasures Against Radiation"- Lovelace Respiratory Research Institute, EUA)

14:00-14:50 h

## **CURSO 1: Biodosimetria das Radiações Ionizantes.**

AULA 3: Análise de expressão proteica.

Mariana Brayner Cavalcanti (DEN/UFPE)

14:50-15:00 h Intervalo

15:00-17:00h **Simpósio 2**

**Exposições às radiações e acidentes radiológicos: correlacionando dosimetria em sistemas biológicos com aspectos clínicos**

Coordenador: Dunstana Melo (LovelaceInstitute, USA)

**MC:** Reconstrução de doses através de simulações

Francisco Cesar da Silva (IRD/CNEN)

**MC:** Marcadores biológicos e dosimetria: por que medir?

Ademir Amaral (UFPE)

**MC:** Interpretação de dados de bioanálise

Joyce Lipzstein (NationalCommissiononRadiologicalProtection-NCRP consultant, USA)

**MC:** Avaliando emergências radiológicas sob a perspectiva médica

Nelson José de Lima Valverde (consultor da Fundação Eletronuclear de Assistência Médica-FEAM e Agência Internacional de Energia Atômica-IAEA)

17h15-19h15 Sessão de Painéis III

# SÁBADO, 12 DE SETEMBRO DE 2015

## SATURDAY, SEPTEMBER 12<sup>TH</sup> 2015

08:00-8:50 h

**Curso 2: Bioestatística: Comparando Amostras.** Aula 3. Comparando Três Amostras ou Mais Amostras: Análise Não Paramétrica

Coordenador: Adenilson S. Fonseca (UERJ)

**Curso 3: Estudos pré-clínicos em radiofarmácia.** Aula 3: Diferentes formas de obtenção de dados: quantitativos, semi-quantitativos e métodos *in vitro*.

Coordenador: Daniele de Paula Faria (ICESP-USP)

09:00-11:00h **Módulo temático 3**

**Técnicas ópticas em diagnóstico e terapia**

Coordenador: Martha Simões Ribeiro (IPEN-CNEN/SP)

**MC:** Tomografia por Coerência Óptica: uma nova ferramenta diagnóstica

Anderson Zanardi de Freitas (IPEN/CNEN/SP)

**MC:** Laserterapia modula a inflamação e auxilia o reparo tecidual

Rodrigo Labat (UNINOVE)

**MC:** Terapia fotodinâmica em infecções tópicas

Martha Simões Ribeiro (IPEN/CNEN/SP)

**CO:** Phthalocyanine-ALA conjugate: a photosensitizer with improved PDT action

Christiane Pavani, Mauricio Da Silva Baptista, Kleber T. De Oliveira, Claudia

Miranda Leal Francisco (UNINOVE, USP, UFSCar)

**CO:** RAC1 GTPASE mediates gamma and UV radiation: Biochemical and biological effects in HeLa cells by controlling DNA damage response and repair pathways

Fabio Luis Forti, YuliThamiresMagalhães, Juliana Harumi Osaki, Gisele Espinha (IQ-USP)

**CO:** Laser de baixa potência modula a expressão gênica de isoformas de cadeia pesada de miosina (I e II), miostatina e calcineurina durante o reparo do músculo esquelético de rato

Raquel Agnelli Mesquita-Ferrari, Agnelo Neves Alves, Kristianne Porta Santos

Fernandes, Beatriz Guimarães Ribeiro, Anna Carolina Ratto Tempestini Horliana,

Sandra Kalil Bussadori (UNINOVE)

**CO:** Light-emitting diode therapy induces analgesia in chemical models of over nociception in mice: analysis of mechanisms of action

Glauce Regina Pigatto, Adair Roberto Soares Dos Santos, Rosane Schenkel De

Aquino, Liliane De Freitas Bauermann (UFMS)

11:00-11:15 h Intervalo

**11:15 - 12:15h Conferência 3****12:15-14:00 h Intervalo para Almoço****14:00-16:00 h Módulo temático 4****Efeitos biológicos em fototerapia e vibrações mecânicas em Saúde**

Coordenador: Mario Bernardo-Filho (UERJ)

**MC:** Fototerapia: Expressão de genes de reparo em tecidos expostos a lasers de baixa potência

Adenilson de Souza da Fonseca (UERJ)

**MC:** Potencialidades do uso das vibrações geradas em plataforma oscilante/vibratória em seres humanos

Mario Bernardo-Filho (UERJ)

**MC:** Efeito da vibração de todo o corpo em parâmetros clínicos em doenças crônicas  
Ana Cristina Rodrigues Lacerda (Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri)**CO:** Exercícios de vibração de corpo inteiro podem interferir na flexibilidade, na marcha e na dor de pacientes com síndrome metabólica?

Danúbia Sá-Caputo, Laisa Paineiras, Eric Heleno Freire Ferreira Frederico, Carlos Guimaraes, Eloa Marconi, Mario Fritsch, WilleOigman, Mario Bernardo Filho (UERJ)

**CO:** Efeitos dos exercícios de vibração de corpo inteiro na concentração de biomarcadores plasmáticos e na velocidade de marcha de mulheres com osteoartrite de joelho

Laisa Liane Paineiras Domingos, Rebeca Graça Costa Cavalcanti, Danúbia Da Cunha De Sá-Caputo, Éric Heleno Freire Ferreira Frederico, Paula Alessandra De Souza Mantilla Giehl, Carlos Alberto Sampaio Guimarães, André Luiz Bandeira Dionízio Cardoso, Eliane De Oliveira Guedes De Aguiar, Mario Bernardo Filho (UERJ)

**14:00-16:00 h Prêmio SBBN de Divulgação Científica**

Coordenador: Luciene G. Mota (SBBN)

**Categoria PG:**Radiolabeling and purity of  $^{99m}\text{Tc}$ -labeled peptides as potential biomarkers for Alzheimer's disease**Sobral, D. V. (HIAE; FCMSCSP; UNIFESP)**Comparação entre os radiofármacos  $[[^{99m}\text{Tc}](\text{O})_2\text{HL91}]$ ,  $[[^{99m}\text{Tc}]\text{glucarato}]$  e  $(^{18}\text{F})\text{FAZA}$  na detecção de hipóxia em cultura de celular e em tumores**Lafratta, A. E. (CMN- ICESP- HC-FMUSP)**Preliminary studies of the antimicrobial activity of the peptide LyeTx I mn- $\Delta\text{K}$

**Fuscaldi, L. L. (UFMG)**

Black grape juice ameliorates motor coordination on irradiated rat brain

**Araldi I.C.C. (UFSM)**

Expressão de genes de reparo do DNA em mioblastos expostos a laser infravermelho de baixa potência

**Trajano L.A.S.N. (UERJ)**

**Categoria IC:**

Radiomarcção de nanopartículas de hidroxiapatita com tecnécio-99m e estudos de estabilidade

**Cavalcante, C. H. (UFMG)**

Fractal analysis of chromatin texture in the identification of genome alterations

**Xavier A.I.S.F. (UFPE)**

16:10-18:00 h Sessão de Painéis IV

18:15-19:15 h Conferência de Encerramento FESBE

19:15 - 20:00 h Cerimônia de Encerramento e Premiação FESBE

# RESUMOS

ABSTRACTS



RADIOBIOLOGIA,  
RADIOFÁRMACOS  
&  
RADIOPROTEÇÃO

RADIOBIOLOGY,  
RADIOPHARMACEUTICALS  
&  
RADIATION PROTECTION

## FRACTAL ANALYSIS OF CHROMATIN STRUCTURE IN THE IDENTIFICATION OF GENETIC ALTERATIONS

Xavier, A. I. S. F. , Bezerra, M. B. C. F. , Bezerra, M. A. C. , Silva, E. B. , Amaral, A. , Fernandes, T. S.  
Departamento de Biofísica e Radiobiologia - UFPE Departamento de Energia Nuclear – UFPE

### Introdução:

A method widely applied for the identification of genetic alterations is the quantification of chromosome aberrations in human peripheral blood lymphocytes. One type of stable aberration is the chromosome translocation, which is useful as a biodosimeter of late exposures to ionizing radiation and also a bioindicator of leukemia. In the nuclear accident of Chernobyl, for example, it was confirmed not only that exposed individuals had higher frequencies of translocations even years after the episode, but also that some of them had higher incidence of acute lymphocytic leukemia (ALL). However, this technique is time consuming and laborious, due to the time for cell culturing (about 48 hours) and to the individual analysis of each chromosome. On the other hand, recent studies have shown the applicability of a method of measuring the fractal dimension of the texture of the chromatin of the nucleus in G0 cells (interphase), not requiring cell culture or the score of chromosomes. This leads to the idea that this approach would be of great importance especially when time is a crucial step for the medical team in the planning of therapies of those demanding urgent interventions, as well as for a quicker management of health risks.

### Objetivos:

With this, the aim of the present research was to estimate the fractal dimensions of the nucleus of lymphocytes from human peripheral blood, from a healthy subject and from a patient with ALL, in order to establish a method for discriminating cells containing DNA damage in a quick and easy way.

### Métodos:

This research was performed using a bank of slides from the Institution. The method was based on capturing the images of 100 normal lymphocytes and 100 cells from a patient with ALL, using EVOS Cell Imaging System with 75% brightness for better visualization of chromatin texture. The images of the cells were submitted to segmentation procedure, optimization and then converted to gray scale (8-bits), using Image-J. This program was also used for calculating the fractal dimension (FD) of the nucleus of cells by the method of box-counting. For comparison between FD of normal and patient cells, it was used ANOVA and Tukey's test with a level of significance of 5%.

### Resultados:

The values of fractal dimension (FD) for 100 nuclei of cells from the control group varied from 2.4727 to 2.5931 (mean of  $2.5053 \pm 0.019$ ) while for 100 cells from the patient with ALL varied from 2.4955 to 2.6388 (mean of  $2.5394 \pm 0.027$ ). The differences of FD between nuclei of normal and lymphocytic cells were statistically different ( $p < 0.005$ ).

### Conclusão:

The fractal dimension (FD) of the chromatin showed to be a valuable tool for the quick and computational identification of cells containing chromosome alterations. This can be of great importance when time is a crucial factor for the beginning of the therapy, as for example, as a screening tool of patients with suspicious of leukemia or for those more severely irradiated after a radiological emergency.

### Apoio Financeiro:

PIBIC/PROPESQ/UFPE.

## CINTILOGRAFIA VERSUS TESTE RESPIRATÓRIO PARA A MEDIDA DO TEMPO DE ESVAZIAMENTO GÁSTRICO

Camargos, C. L. C. , Pinto, H. A. F. , Nunes, S. S. , Sanches, S. M. D. , Marinho, F. P. , Marino, V. S. P. ,  
Simal, C. J. R. , Coelho, L. G. V. , Mota, L. G. ,

Departamento de Anatomia e Imagem - UFMG Instituto Alfa de Gastroenterologia - UFMG  
Serviço de Medicina Nuclear - UFMG Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas - UFMG

### Introdução:

A medida do Tempo de Esvaziamento Gástrico (TEG) é um importante recurso para o diagnóstico de diferentes distúrbios gastrointestinais como dispepsia não ulcerosa, gastroparesia diabética, refluxo gastroesofágico, etc. A cintilografia gástrica com  $^{99m}\text{Tc}$ -estanho coloidal é considerada “padrão ouro” na avaliação do TEG. O teste respiratório com  $^{13}\text{C}$ -ácido octanóico (TR) tem sido proposto como uma alternativa promissora à cintilografia, com a vantagem de não utilizar radiação ionizante. O ácido octanóico é um ácido graxo de cadeia média que, quando marcado com o isótopo estável  $^{13}\text{C}$ , é utilizado no teste respiratório para avaliar o esvaziamento gástrico (EG) de alimentos sólidos, em razão da sua solubilidade e firme retenção em gema de ovo. No duodeno, após a rápida desintegração da fase sólida marcada, o  $^{13}\text{C}$ -ácido octanóico é rapidamente absorvido e transportado para o fígado, via sistema porta, onde é oxidado a  $^{13}\text{CO}_2$  que, por sua vez, é expelido pelos pulmões durante a respiração. O TR, no entanto, parece ser mais adequado para comparações intraindividuais do EG do que para a identificação de retardo no EG por si só na prática clínica. Por esta razão, a cintilografia continua a ser o “padrão ouro” para a avaliação do EG de alimentos sólidos.

### Objetivos:

Comparar o TEG obtido pela cintilografia e pelo teste respiratório.

### Métodos:

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (CAE 03000612.3.0000.5149). No ambulatório de Gastroenterologia do HC/UFMG foram selecionados 30 pacientes, de ambos os sexos, idades entre 23 e 76 anos, apresentando sintomas clínicos sugestivos de EG retardado. Todos os pacientes estavam em jejum de 8 horas antes do exame. O TEG foi medido simultaneamente pela cintilografia e TR, após a ingestão da dieta sólida padrão (319 kcal) marcada com 74MBq de  $^{99m}\text{Tc}$ -estanho coloidal e 100 mg de  $^{13}\text{C}$ -ácido octanóico. Após a ingestão da dieta marcada, as imagens cintilográficas foram adquiridas nos tempos de 0, 1, 2 e 4h. Simultaneamente, foram colhidas amostras do ar expirado a cada 15 minutos nas primeiras 2 horas e a cada 30 minutos nas 2 horas subsequentes, sendo analisadas posteriormente por espectroscopia por infravermelho. O TEG foi calculado por regressão linear, considerando-se alterado um TEG maior do que 90 minutos pela cintilografia e 135 minutos pelo TR. Os dois métodos foram comparados pelo teste de correlação de Pearson de acordo com resultados normais ou alterados.

### Resultados:

A média do TEG obtido pela cintilografia e TR foi de  $111,96 \pm 44,26$  minutos e  $224,31 \pm 96,85$  minutos, respectivamente. Observou-se uma forte correlação, positiva, entre os valores de TEG encontrados pelos dois métodos com um coeficiente de correlação de Pearson de  $r=0,73$ . Os resultados foram concordantes (normais ou alterados) em 79,3% dos pacientes, sendo que, destes, 82,6% apresentaram TEG alterados e 17,4% evidenciaram TEG dentro da normalidade. Dos pacientes que apresentaram discordância de resultados (20,7%), todos apresentaram TEG normal pela cintilografia e alterado pelo TR. Embora o TR apresente a vantagem de utilizar um isótopo estável, ele exige uma normalidade na absorção do intestino delgado e na função pulmonar do paciente, o que pode comprometer a acurácia dos resultados em pneumopatas ou portadores de afecções intestinais disabsortivas.

### Conclusão:

Os estudos evidenciaram uma forte correlação entre a cintilografia e o TR na medida do TEG.

**Apoio Financeiro:**  
PRPq, CNPq, IPEN

## PRELIMINARY STUDIES OF THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF THE PEPTIDE LyeTx I mn-delta K

Fuscaldi, L. L. , Santos, D. M. , Junior, J. T. A. , Boff, D. , Gusmao, K. A. G. , Resende, J. M. , Amaral, F. A. , Lima, M. E. , Fernandes, S. O. A. , Cardoso, V. N. ,

Faculdade de Farmácia - UFMG Instituto de Ciências Biológicas - UFMG Departamento de Química - UFMG

### Introdução:

The high incidence of opportunistic bacterial infections has stimulated the search for new antibiotic agents. Antimicrobial peptides are promising molecules because they exhibit different mechanisms of action compared to classic antibiotics. The cationic peptide LyeTx I was isolated from *Lycosa erythrognatha* venom, known as wolf spider. In its original form of 25 amino acid residues, LyeTx I presents potent antimicrobial activity against bacteria, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), and fungi, *Candida krusei* and *Cryptococcus neoformans* (Amino Acids 39:135, 2010). However, the reduction of the amino acid residues sequence could increase the feasibility of using LyeTx I as a treatment agent or a radiodiagnostic probe for infections.

### Objetivos:

To evaluate the maintenance of the antimicrobial activity of truncated LyeTx I (LyeTx I mn-delta K) against *S. aureus*.

### Métodos:

No animal was used in the present work. LyeTx I mn-delta K was synthesized by stepwise solid-phase using the N-9-fluorenylmethyloxycarbonyl (Fmoc) strategy on a rink amide resin and purified by reverse phase – high performance liquid chromatography (RP-HPLC)-(μBondapak™ C18 column). The purified peptide was sequenced by automated Edman degradation and analyzed by MALDI-TOF mass spectrometry and RP-HPLC (PepMap C18™ column). Microbiological assay was performed in Mueller-Hinton broth against *S. aureus* (ATCC 6538) to obtain minimum inhibitory concentration (MIC); positive and negative controls were used to compare their absorbance with those of the bacterial suspensions with different peptide dilutions by means of Analysis of Variance (ANOVA), followed by Tukey test for multiple comparisons, two-to-two ( $p < 0.05$ ). After that, the bacterial suspensions with different peptide dilutions and positive controls were seeded in order to assess whether LyeTx I mn-delta K presents bactericidal or bacteriostatic activity.

### Resultados:

Automated Edman degradation showed that LyeTx I mn-delta K was synthesized in the correct sequence. RP-HPLC analysis revealed that the peptide had a purity of  $98.45 \pm 0.20\%$  ( $n = 3$ ), which was confirmed by MALDI-TOF mass spectrometry ( $1828 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ ). The microbiological assay showed that LyeTx I mn-delta K exhibits a MIC with a median of  $4.27 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  ( $n = 3$ ) and the seeding of the bacterial suspensions with peptide dilutions equal to and higher than MIC (1x, 2x and 4x MIC) showed no bacterial growth.

### Conclusão:

Our data showed that LyeTx I mn-delta K exhibits low MIC and presents bactericidal activity against *S. aureus*. These results are similar to those obtained for the original peptide LyeTx I ( $3.79 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ). However, the reduction of the amino acid residues sequence allowed peptide synthesis with a lower cost. Therefore, the antimicrobial peptide LyeTx I mn-delta K may be used for further in vivo studies in order to determine its feasibility as a treatment agent or a radiodiagnostic probe by means of scintigraphic images.

### Apoio Financeiro:

CAPES; CNPq; FAPEMIG.

## EVALUATION OF APTAMERS LABELED WITH $^{99m}\text{Tc}$ FOR OSTEOMYELITIS DIAGNOSIS BY SCINTIGRAPHY

Santos, S. R. , Ferreira, I. M. , Barros, A. L. B. , Cardoso, V. N. , Diniz, S. O. F. , Andrade, A. S. R. ,  
Radiobiologia - CDTN Radioisótopos – UFMG

### **Introdução:**

Introduction: Osteomyelitis, which is characterized by progressive inflammatory destruction and new opposition of bone, is still a difficult infection to treat. The clinical diagnosis in late stages is achieved easily, but an early accurate diagnosis is more challenging. The early treatment significantly diminishes the rate of complications and morbidity. Staphylococcus aureus is the most commonly agent found in infections of the skin and soft tissues, bone infections (as osteomyelitis) and bone prostheses. Diagnosis by scintigraphy has advantages because it is a non-invasive procedure and is able to perform an early diagnosis even before anatomic changes. Thus, nuclear medicine could contribute to an accurate diagnosis of bacterial infections, since specific radiopharmaceuticals were developed. Acid nucleic aptamers are oligonucleotides that have high affinity and specificity for their molecular targets and are emerging as a new class of molecules for radiopharmaceuticals development.

### **Objetivos:**

Aim: In this study, aptamers selected to Staphylococcus aureus were labeled with  $^{99m}\text{Tc}$  and used for the bacteria identification in an osteomyelitis experimental model.

### **Métodos:**

protocol n° 143/2013. Methods: The aptamers selected to Staphylococcus aureus were directly labelled with  $^{99m}\text{Tc}$  and were evaluated by biodistribution studies. Wistar rats with intraosseous infection in the right paw were used. A random aptamer labelled with  $^{99m}\text{Tc}$  was used in the control group. Six animals were used in each experimental group. All experiments using animals were approved by the Ethics Committee for Animal Experimentation of the Federal University of Minas Gerais (CETEA / UFMG), protocol n° 143/2013.

### **Resultados:**

Results: The aptamers labeled with  $^{99m}\text{Tc}$  were able to identify the infection foci caused by S. aureus displaying a target/non-target ratio of  $2,23 \pm 0,20$  after 3 h. The control group presented a target/non-target ratio  $1,08 \pm 0,23$ . Scintigraphic images revealed a high uptake of the radiopharmaceutical by the kidneys and fast elimination by the bladder. The images also showed higher uptake in the right bone (infected) in relation to the left (control) for the S. aureus infected rat. In the control group was not possible to visualize any difference.

### **Conclusão:**

Conclusion: The results indicated that the radiolabeled aptamers were able to identify specifically the infection foci and they should be further explored for infection diagnosis by scintigraphy.

### **Apoio Financeiro:**

Supported by CDTN/CNEN.

# APTÂMEROS ANTI-CEA MARCADOS COM $^{99m}\text{Tc}$ : ESTUDOS DE ENCAPSULAMENTO EM LIPOSSOMAS PH-SENSÍVEIS DE CIRCULAÇÃO PROLONGADA, BIODISTRIBUIÇÃO E IMAGEAMENTO

Barros, A. L. B. , Leonel, M. F. V. , Andrade, A. S. R. ,

Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas - UFMG Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear, Comissão Nacional de Energia Nuclear - CNEN – CDTN

## Introdução:

O câncer colorretal (CCR) é um dos principais tipos de câncer e o antígeno carcino-embrionário CEA superexpresso nas células tumorais é um marcador tumoral muito utilizado no seu diagnóstico. Aptâmeros selecionados contra esses antígenos, pelas propriedades de alta afinidade e especificidade, tornam-se moléculas promissoras para seu diagnóstico por imagem. Porém, devido à ação de nucleases, in vivo, eles têm sido investigados quanto à associação com lipossomas que possam permitir maior acessibilidade nos sítios tumorais tais como lipossomas pH-sensíveis de circulação prolongada (SpHL). SpHL podem ser desestabilizados nas imediações do tumor permitindo liberação de aptâmeros anti-CEA no sítio tumoral e contribuindo para o diagnóstico, por cintilografia, do CCR.

## Objetivos:

Desenvolver uma formulação de SpHL, encapsular com os aptâmeros anti-CEA Apt3 e Apt3-amino radiomarcados com  $^{99m}\text{Tc}$  e realizar estudos de biodistribuição e imagens cintilográficas em camundongos saudáveis.

## Métodos:

108/2014 do CEUA - UFMG SpHL contendo DOPE, DSPE-PEG e CHEMS foram caracterizados quanto ao tamanho e índice de polidispersão. Aptâmeros Apt3 e Apt3-amino foram marcados com  $^{99m}\text{Tc}$  obtendo-se os complexos  $^{99m}\text{Tc}$ -Apt3 e  $^{99m}\text{Tc}$ -Apt3-amino. SpHL encapsulados com  $^{99m}\text{Tc}$ -Apt3 foram analisados quanto a eficiência de encapsulação (EE) por desidratação-reidratação e congelamento-descongelamento (SpHL contendo complexo foram congelados em N2/5 minutos e, posteriormente, descongelados em banho-maria a 37 °C/5 min./ 3 ciclos sucessivos). Perfil de liberação nos SpHL encapsulados foi realizado em plasma sanguíneo por 30 min. Os testes de biodistribuição e imagens cintilográficas (aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal/UFMG, protocolo 108/2014) foram realizados em camundongos Balb/c machos, saudáveis, idade 6-8 semanas, peso 20-25 g, após 1h e 4h de inoculação dos complexos, contendo atividade de 3,7 MBq, na veia caudal.

## Resultados:

Os SpHL resultaram dispersões com tamanho médio de 110,9 nm e índice de polidispersão de 0,090. O potencial zeta em PBS, salina 0,9%, salina 10 mM, e salina 1 mM e água foi, respectivamente, de -4,13; -3,43; -23,47; -53,67 e -62,80. Após marcação com  $^{99m}\text{Tc}$ , mais de 90% de atividade obtida foi correspondente às espécies complexadas. A EE pelo método de desidratação-reidratação foi de 21,2% e liberação de 26,4% no plasma, porém os tamanhos dos SpHL aumentaram mais de 200%. Pelo método de congelamento-descongelamento, SpHL encapsularam 3,7% e liberaram 44,6% de seu conteúdo. O aumento dos SpHL foi de apenas 13,7%.  $^{99m}\text{Tc}$ -Apt3 livre obteve alta captação na bexiga.  $^{99m}\text{Tc}$ -Apt3-SpHL e  $^{99m}\text{Tc}$ -Apt3-amino-SpHL foram captados no fígado e baço, mas radiação também foi evidenciada no estômago e tireoide para  $^{99m}\text{Tc}$ -Apt3-SpHL indicando sua menor estabilidade.

## Conclusão:

Os SpHL descritos nesse trabalho permitiram baixa encapsulação de aptâmeros anti-CEA. Formulações de SpHL e formas de conjugação alternativas devem ser estudadas para obtenção de carreadores mais adequados para o diagnóstico de CCR por cintilografia.

## Apoio Financeiro:

## APTÂMEROS ANTI-BETA GLUCANA MARCADOS COM $^{99m}\text{Tc}$ PARA IDENTIFICAÇÃO DE INFECÇÃO

Lacerda, C. M. S. , Ferreira, I. M. , Barros, A. L. B. , Fernandes, S. O. A. , Cardoso, V. N. , Andrade, A. S. R. ,

Radiobiologia - CDTN Faculdade de Farmácia - UFMG

### Introdução:

A dificuldade encontrada no diagnóstico precoce de focos infecciosos, sejam eles causados por fungos ou bactérias vem criando a necessidade de se pesquisar novas técnicas para este fim. A diferenciação de inflamação e infecção também é de grande relevância para o direcionamento clínico a ser adotado, assim como a identificação da classe do patógeno envolvido nos casos de infecção.

### Objetivos:

O objetivo deste estudo foi avaliar o aptâmero anti beta-glucana Seq6, marcado com  $^{99m}\text{Tc}$ , para diferenciação entre infecção e inflamação.

### Métodos:

CETEA/UFMG, nº. 143/2013. Primeiramente, estudos in vitro foram realizados, marcando-se o aptâmero com  $^{32}\text{P}$  para avaliar sua capacidade de ligação em beta-glucana (principal componente da parede celular dos fungos), peptidoglicano (componente da parede celular bacteriana) e também em células de *Candida albicans* e *Staphylococcus aureus*. Os aptâmeros foram marcados com  $^{99m}\text{Tc}$  pelo método de marcação direta. A estabilidade da marcação foi avaliada em salina, plasma e excesso de cisteína. Estudos de biodistribuição foram realizados, sendo os experimentos com animais aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação animal da Universidade Federal de Minas Gerais (CETEA/UFMG). Para tal, o aptâmero marcado com  $^{99m}\text{Tc}$  foi administrado via intravenosa em 3 grupos de camundongos Swiss: infectados com *S. aureus*, com *C.albicans* e com inflamação experimental induzida por zimosan. As intervenções foram realizadas na coxa direita dos animais ficando a esquerda como controle.

### Resultados:

Nos ensaios in vitro com  $^{32}\text{P}$  o aptâmero apresentou grande capacidade de ligação aos polissacarídeos beta-glucana e peptidoglicano. A ligação ocorreu também em células de *C. albicans* e *S. aureus*. A pureza obtida na marcação do aptâmero com  $^{99m}\text{Tc}$  foi maior que 90%. Os testes de estabilidade em salina, plasma e excesso de cisteína apresentaram resultados satisfatórios, uma vez que não houve variações significativas nas porcentagens de marcação até o tempo de 24h, mesmo com o aumento da concentração de cisteína. Nos estudos de biodistribuição foi analisada a captação do aptâmero radiomarcado pela coxa infectada do animal em relação a não infectada. Os animais infectados com *C.albicans* apresentaram relação alvo/não alvo de  $1,8 \pm 0,6$ , os infectados com *S. aureus* de  $2,8 \pm 0,6$  e os com inflamação por zimosan de  $1,3 \pm 0,3$ .

### Conclusão:

Para ambos os microrganismos relação alvo/não alvo se mostrou satisfatória para a diferenciação entre infecção e inflamação, uma vez que a captação na coxa infectada foi superior a 50% em relação coxa não infectada. Porém, diferença estatística na relação alvo/não alvo foi verificada somente entre o grupo infectado com *S. aureus* e o com inflamação induzida por zimosan. Sendo assim, os resultados demonstram o potencial do aptâmero Seq6 para utilização no diagnóstico diferencial entre infecção bacteriana e inflamação.

### Apoio Financeiro:

FAPEMIG e CDTN/CNEN.



## BIODISTRIBUTION PROFILE OF SOLID LIPID NANOPARTICLES LABELED WITH TECHNETIUM-99m

Fernandes, R. S. , Ferreira, L. A. M. , Cardoso, V. N. , Barros, A. L. B. ,  
Department of Pharmaceutics - UFMG  
Department of Clinical and Toxicological Analysis - UFMG

### Introdução:

Solid lipid nanoparticles (SLNs) are nanoscale colloidal carriers developed in the past two decades as an alternative system to traditional carriers (emulsions, liposomes, and polymeric nanoparticles) for intravenous applications. Because of their potential as drug carriers, there is much interest in understanding the biodistribution of SLNs after intravenous injection. Nuclear techniques are an interesting method to investigate the in vivo profiles. Radiolabeled nanoparticles represent a new class of agents with great potential for clinical applications. Besides the advantages inherent of the use of nanostructures, such as long blood circulation time and plasma stability, these systems still present the ability to generate high-quality images due to the presence of the radioactive element. In addition to in vivo studies, it is still possible to obtain a theranostic nanoparticle for clinical use, i.e., a combination of therapeutic and diagnostic agents that can simultaneously treat and monitor disease progression.

### Objetivos:

The aim of this work was to evaluate the biodistribution and blood clearance of SLNs labeled with technetium-99m ( $^{99m}\text{Tc}$ ) in healthy mice.

### Métodos:

All animal experiments were performed after approval by Local Ethics Committee (protocol #307/2014). SLNs were prepared by hot melting homogenization method using an emulsification-ultrasound. The mean particle diameter was measured by dynamic light scattering (DLS) using a Zetasizer3000HSA, at a fixed angle of  $90^\circ$  and  $25^\circ\text{C}$ . SLNs were labeled with  $^{99m}\text{Tc}$  by direct labeling method using  $\text{SnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  as reducing agent. The blood half-life of this particle following intravenous injection was determined using blood samples from healthy Balb/c mice (male, 8 weeks, 20 g). Scintigraphic imaging and biodistribution studies were carried out at 1, 4 and 8 hours post-injection. The liver, spleen, kidneys, stomach, heart, lungs, blood, thyroid, intestines and muscle were removed, dried on filter paper, and placed in pre-weighed plastic test tubes.

### Resultados:

The particles size was  $71.63 \pm 2.23$  nm with values of the polydispersity index (PDI) lower than 0.22, suggesting monodispersion. The radiochemical purity carried out by TLC was  $98.08 \pm 0.78\%$ , which allows animal studies. Blood levels of the  $^{99m}\text{Tc}$ -NLS declined in a biphasic manner, with an alpha half-life of 6.3 min and beta half-life of 92.3 min. The area under the curve was  $4173 \text{ \%ID} \cdot \text{min}^{-1}$  ( $n=6$ ). Scintigraphic images and biodistribution studies ( $n=6$ ) showed a high uptake in liver ( $47.37 \pm 10.83 \text{ \%DI/g}$ ), spleen ( $17.94 \pm 3.31 \text{ \%DI/g}$ ), and also a significant uptake in the kidneys ( $9.06 \pm 5.92 \text{ \%DI/g}$ ) at 8 h post-injection.

### Conclusão:

After intravenous administration, nanoparticles showed long blood circulation time. The high accumulation of radioactivity after the administration observed in liver and spleen is in agreement with that observed for other nanoscale particles. The use of  $^{99m}\text{Tc}$ -SLNs for delivering drugs to tumor is still under evaluation.

### Apoio Financeiro:

CAPES, FAPEMIG, CNPq.

## **ESTUDO PARA OBTENÇÃO DO RADIOFÁRMACO (11C)PIB, PARA UTILIZAÇÃO NA DETECÇÃO DA DOENÇA DE PLACAS BETA-AMILÓIDE**

**Carvalho, R. H. F. , Garcez, A. T. , Marques, F. L. N. , Buchpiguel, C. A. , Filho, G. B. , Faria, D. P. , Departamento de Radiologia - FMUSP Laboratório de Neuro-imagem em Psiquiatria (LIM21) - LIM21-HCFMUSP Laboratório de Medicina Nuclear (LIM43) - LIM43-HCFMUSP Centro Translacional em Oncologia - CTO-ICESP Medicina Nuclear - MN-ICESP**

### **Introdução:**

A Doença de Alzheimer é caracterizada pelo depósito, na forma de placas, de uma proteína chamada de amilóide. No início dos anos de 2000 foi desenvolvido, na Universidade de Pittsburgh/USA, um radiofármaco denominado (11C)PIB (Pittsburgh Compound B), que foi capaz de se ligar às placas beta amilóide, permitindo a imagem precoce do processo degenerativo (Klunk et al). Desde então, o (11C)PIB, associado à técnica de imagem de tomografia por emissão de pósitron (PET) tem se difundido como método de imagem diferencial de Doença de Alzheimer ao redor do mundo. Devido a meia-vida física do (11C)carbono, de 20,38 min, cada hospital ou centro de pesquisa deve produzir seu próprio produto e validar seu processo de produção.

### **Objetivos:**

Estabelecer os parâmetros para obtenção do radiofármaco (11C)PIB e avaliar a biodistribuição em modelos animal.

### **Métodos:**

CEUA FMUSP 025/15 Este trabalho foi aprovado por comitê de ética (CEUA FMUSP 025/15). O (11C)CO<sub>2</sub> foi produzido a partir do bombardeamento de nitrogênio-14 em cíclotron GE PETtrace 10 16,5 MeV e transferido para o módulo de síntese Modular-Lab da Eckert Ziegler. O (11C)CH<sub>3</sub>OTf (metiltriflato) foi obtido da reação de: (11C)CO<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>(Ni) + I<sub>2</sub> + AgOSO<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, e imediatamente transferido para um segundo frasco de reação contendo 1 mg de 6-OH-BTA-0 (2-(4-aminofenil)-6-hidroxibenzotiazol) em 0,7 mL de butanona. O produto da reação, (11C)PIB, foi purificado por HPLC utilizando coluna C18 e mistura de acetonitrila:água (40:60) e reformulado de modo a obter o produto em solução salina. O produto foi avaliado quanto a pureza química, radionuclídica, pureza radioquímica, atividade específica, esterilidade e pirogênio. Uma seringa contendo 37 MBq (1 mCi) de (11C)PIB foi preparada para a administração endovenosa em rato Wistar macho (n=3) (~350 g). Após a administração do radiofármaco, uma imagem dinâmica de 60 minutos foi adquirida, estando a região cerebral no campo de visão (FOV) do microPET (Triumph™ Trimodality Gama Medica Ideas). Diferentes regiões de interesse (ROIs) no cérebro foram quantificadas utilizando o conjunto de ferramentas de análise digital de imagens PMOD.

### **Resultados:**

O (11C)PIB foi obtido com pureza radioquímica >98% e atividade específica >80 GBq/μmol, sendo aprovado também nos itens de pureza química, radionuclídica e solvente residual, de acordo com padrões estabelecidos na Farmacopéia Americana para radiofármacos de (18F)flúor e (11C)carbono. O produto mostrou-se estéril e apirogênico. As imagens PET de cérebro de ratos saudáveis mostraram biodistribuição esperada, ou seja, baixa captação cortical (SUV 0,68±0,27) e cerebelar (SUV 0,51±0,23), captação em substância branca (SUV 1,32±0,32) e tálamo (1,54±0,34). As curvas tempo X atividade mostraram rápido eliminação do produto (T<sub>1/2</sub> = 18 minutos), concordante com resultados publicados em literatura.

### **Conclusão:**

O radiofármaco (11C)PIB foi produzido com sucesso, sendo aprovado em todos os testes físico-químicos e biológicos executados e apresentando biodistribuição in vivo esperada, mostrando seu potencial para futura aplicação clínica.

### **Apoio Financeiro:**

FAPESP / CNPq / NAPNA-USP / FUNDAP /

# RADIOMARCAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE HIDROXIAPATITA COM TECNÉCIO-99M E ESTUDOS DE ESTABILIDADE

Cavalcante, C. H. , Soares, D. C. F. , Cardoso, V. N. , Barros, A. L. B. ,  
Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas - UFMG  
Bioengenharia – UNIFEI

## Introdução:

Os sistemas de liberação controlada de fármacos têm sido estudados como alternativa terapêutica em diversos casos devido às suas vantagens farmacológicas e à eficácia do tratamento. Em casos específicos de osteomielite uma abordagem terapêutica são os implantes cerâmicos de hidroxiapatita contendo diferentes antibióticos liberando de forma controlada e local os princípios ativos. Esta prática é utilizada somente em casos onde uma intervenção cirúrgica é necessária, assim é muito limitada. Nesse contexto, as nanopartículas de hidroxiapatita injetadas por via intravenosa podem fornecer uma alternativa terapêutica, por terem potencial uso como agente carreador específico de drogas para tratamento de osteomielite e outras patologias ósseas incluindo o câncer.

## Objetivos:

Realizar a radiomarcação de nanopartículas de hidroxiapatita com tecnécio-99m e avaliar a sua estabilidade in vitro.

## Métodos:

Neste trabalho não foram realizados experimentos em animais. O pó de hidroxiapatita foi sintetizado pela empresa Fluidinova® (NanoXim-Med®). O diâmetro médio, a distribuição de tamanho e o índice de polidispersividade (PDI) das partículas de hidroxiapatita foram caracterizados por espectroscopia de correlação de fótons. O potencial Zeta foi avaliado empregando-se a técnica de mobilidade eletroforética das partículas. Os ensaios foram conduzidos no equipamento Zetasizer Zs (Malvern Instruments, Inglaterra). Para realizar a radiomarcação foram adicionados em um frasco 10 mg de hidroxiapatita, 500 µL de água e 100 µL de uma solução de cloreto estano em HCl 0,25 M (1mg/mL). O frasco foi lacrado e foi realizado vácuo. Adicionou-se ao frasco 0,2 mL de solução de NaCl 0,9% (p/v) contendo 1,5 mCi de pertecnetato de sódio. A mistura reagente foi deixada em banho maria fervente por 15 minutos e resfriada em água corrente. O percentual de TcO<sub>4</sub><sup>-</sup> foi determinado por cromatografia em camada delgada utilizando acetona como fase móvel. Foi avaliada a estabilidade in vitro da suspensão de hidroxiapatita radiomarcada a temperatura ambiente nos tempos de 2, 4 e 24 horas após a marcação.

## Resultados:

Obteve-se uma distribuição de tamanho homogênea, com tamanho médio de  $285,3 \pm 10,3$  nm. O índice de polidispersividade apresentado pela amostra foi de 0,146. O potencial Zeta das nanopartículas de HAs foi de  $-37,5 \pm 1,3$  mV. Ele varia significativamente frente a acidificação do meio, alcançando potencial positivo em pH mais baixo, e o ponto isoelétrico foi determinado em 3,45. O rendimento de marcação foi igual a  $98,7 \pm 0,2$  % (n=3). O complexo formado entre as partículas de hidroxiapatita e os átomos de tecnécio-99m foi avaliado quanto a sua estabilidade durante 24h e os dados obtidos mostraram que a radiomarcação permanece estável durante todo o período apresentando valores superiores a 95%.

## Conclusão:

A formulação apresentou características físico-químicas adequadas para aplicação in vivo. Foi possível obter as partículas radiomarcadas com alta eficiência de marcação e estabilidade. Estes dados fornecem subsídios para a realização de posteriores estudos em animais. Apoio Financeiro: CAPES, CNPq, FAPEMIG, PRPq.

## Apoio Financeiro:

CAPES, CNPq,, FAPEMIG, PRPq

## PREPARO DE COMPLEXO DE ( $^{99m}\text{Tc}$ )TECNÉCIO COM DERIVADO DE TIOSSEMICARBAZONA E AVALIAÇÃO COMO POTENCIAL RADIOFÁRMACO PARA DETECÇÃO DE TUMORES

Lafratta, A. E. , Luz, C. P. , Fernandes, A. G. A. , Faria, D. P. , Carneiro, C. G. , Levy, D. , Ruiz, J. L. M. , Deflon, V. M. , Marques, F. L. N. ,

Departamento de Ciências Exatas e Tecnológicas - UESC Departamento de Radiologia - USP  
Departamento de Radiologia - FMUSP Departamento de Química e Física Molecular - IQSC-USP  
Centro Translacional em Oncologia - ICESP Laboratório de Genética e Hematologia Molecular (LIM31) - LIM-HCFMUSP

### Introdução:

Tiossemicarbazonas e seus derivados são compostos com ampla variedade de aplicações em medicina, em particular como agentes quimioterápicos. Também, na forma de complexos organometálicos, quando utilizando metais radioativos, podem ser utilizados para diagnóstico ou tratamento de tumores.

### Objetivos:

O objetivo desse trabalho é preparar derivado de tiossemicarbazona complexada com ( $^{99m}\text{Tc}$ )tecnécio e avaliar seu potencial uso como radiofármacos para detecção de tumores.

### Métodos:

CEUA FMUSP 372/12 Esse trabalho foi executado segundo aprovação do comitê de ética em pesquisa animal CEUA FMUSP 372/12. Os complexos foram preparados misturando solução de [ $^{99m}\text{Tc}$ ]O<sub>4</sub> (18,5 a 74 MBq) e do Benzil-5-hidroxi-3-metil-5-fenil-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carbodontato (H<sub>2</sub>bdtc), seguido da adição de SnCl<sub>2</sub> e tampões de pH variando de 3 a 7. A pureza radioquímica foi determinada em papel W3MM/acetona e W3MM/NaCl 0,9 %, e por HPLC. A lipofilicidade (LogP) foi determinada por partição na mistura n-octanol/solução NaCl 0,9%. A estabilidade de ligação foi determinada na presença de cisteína, histidina e plasma humano, a 37 °C, em tempos de 1 a 6 horas. Ensaio de captação em células de melanoma murino TM1M e B16F10, biodistribuição in vivo (n=2) e ex vivo em tempos de 15, 60 e 120 minutos (n=4 por tempo) em camundongos C57/bl6 macho de 8 a 12 semana pesando aproximadamente 20 gramas.

### Resultados:

Diferentes complexos foram obtidos em função do pH, sendo que em pH 7 dois deles foram obtidos em rendimentos quantitativos. O complexo 1, [[ $^{99m}\text{Tc}$ ]O(bdtc)(Hbdtc)], cuja estrutura foi caracterizada a partir do composto não radioativo [ReO(bdtc)(Hbdtc)], foi obtido pela adição de 0,64 mL de tampão pH 7, enquanto que com a adição 0,38 mL do mesmo tampão, foi obtido o complexo 2, de representado por [[ $^{99m}\text{Tc}$ ]O(bdtc)Cl]. A pureza radioquímica em cromatografia planar e por HPLC foi superior a 90 % para ambos complexos, com tempos de retenção de 3,2 e 2,1 min, respectivamente, no HPLC. Os valores de logP foram, 1,01 e 1,41, confirmando serem dois compostos lipofílicos. Os complexos mostraram-se estáveis em presença de histidina e histidina, mas na presença de plasma, após 3 horas, foi observado diminuição da pureza radioquímica para 85 %. A captação in vitro do [[ $^{99m}\text{Tc}$ ]O(bdtc)(Hbdtc)], após 1 hora de incubação em células B16F10 e TM1M foi, respectivamente, de 0,7±0,22 % e 0,75±0,06 % , e para o [[ $^{99m}\text{Tc}$ ]O(bdtc)Cl] os valores foram 0,45±0,19 % e 0,83±0,21 %. A biodistribuição ex vivo do [[ $^{99m}\text{Tc}$ ]O(bdtc)(Hbdtc)] apresentou captação no tumor de células B16F10 e TM1M, após 1 hora da administração do radiofármaco, na ordem de 0,31±0,09 % e 0,22±0,05 %, respectivamente. Na análise de biodistribuição in vivo foi observado padrão heterogêneo de distribuição da molécula no tumor de células TM1M.

### Conclusão:

A característica de formação dos complexos de [ $^{99m}\text{Tc}$ ]tecnécio com (H<sub>2</sub>bdtc) é fortemente dependente do pH de reação, e principalmente do volume de tampão pH 7 utilizado. Apesar dos complexos apresentarem instabilidade na presença de plasma, isto só acontece 3 horas após a

incubação, tempo mais que suficiente para alcançar a biodistribuição nos órgãos alvos ou ser eliminado/metabolizado. A captação *in vitro* dos complexos não foi estatisticamente diferente para os dois compostos e nos diferentes tipos de células. A captação do  $[[99mTc]O(bdtc)(Hbdtc)]$  nos tumores, por método *ex vivo*, foram relativamente baixa, mas na aquisição de imagem, *in vivo*, foi possível verificar uma captação heterogênea do complexo no tumor de TM1M, o que precisa ser melhor investigado.

**Apoio Financeiro:**

CAPES, FAPESP 14/22250-1

## **DSPE-PEG2000/DSPE-PEG2000-DTPA MICELLES RADIOLABELED WITH 99mTc AS CANCER THERANOSTIC TOOL**

**Oda, C. M. R. , Leite, E. A. , Fernandes, R. S. , Alves, R. J. , Santos, D. M. , Franco, L. L. , Cardoso, V. N. , Barros, A. L. B. ,**

**Departamento de Produtos Farmacêuticos - UFMG Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas - UFMG Departamento de Bioquímica e Imunologia - UFMG**

### **Introdução:**

Phospholipid based polymeric micelles, as distearoyl-glycero-phosphoethanolamine-N-[methoxy(polyethylene glycol)-2000] (DSPE-PEG) micelles, are nanostructures with interesting properties in cancer treatment and diagnosis. Their physicochemical characteristics allow delivery hydrophobic drugs by passive targeting toward tumor areas, being an attractive platform for cancer imaging. (Theranostics, 2(7): 714, 2012)

### **Objetivos:**

To synthesize a DSPE-PEG-DTPA complex and evaluate blood circulation time and biodistribution using micelles made up of DSPE-PEG/DSPE-PEG-99mTc-DTPA.

### **Métodos:**

All in vivo studies were approved by the local Ethics Committee on Animal Use (CEUA), protocol no 205/2013. The complex DSPE-PEG-DTPA was synthesized from DSPE-PEG-NH<sub>2</sub> and DTPA dianhydride. The characterization was made by mass, UV-vis and IR spectrometry. For radiolabeling, the micellar formulation was prepared using a mixture of DSPE-PEG/DSPE-PEG-DTPA (95:5). 99mTcO<sub>4</sub><sup>-</sup> was determined by thin layer chromatography (TLC), and 99mTcO<sub>2</sub> was removed by filtration (0.22µm). The in vitro stability of the 99mTc-labeled micelle was determined in presence of saline 0.9%(w/v) and mice plasma at 1, 2, 4, 6 and 8 hours (h) post-incubation at 25 and 37 °C, respectively. In vivo studies were performed in healthy BALB/c mice, female (20–25 g), 6-8 weeks old. The clearance was evaluated within 8h after injection. The biodistribution study was evaluated at 1, 4 and 8h post-injection. The tissues were removed and the % of injected dose/g of each organ (%ID/g) was measured in a gamma counter.

### **Resultados:**

According to the characterization, the complex DSPE-PEG-DTPA was successfully obtained. The product DSPE-PEG-DTPA showed a peak at 3150Da (m/z) as theoretically calculated. By analyzing the FTIR spectrum DSPE-PEG-DTPA presented a carbonyl band (~1738 cm<sup>-1</sup>) wider than DSPE-PEG-NH<sub>2</sub>, this data might reflect the formation of amide bond in the expected product. UV-Vis absorbance in 190 nm for DSPE-PEG-DTPA was higher than the sum of the absorbances of the reagents, as expected. The DSPE-PEG/DSPE-PEG-DTPA (95:5) micelles were labeling showing radiochemical yield of 93.8 ± 2.1%(n=5). It was observed a high in vitro stability within 8h of incubation (n=3): 96.6±1.8% (plasma) and 91.0±2.9% (saline). The blood clearance half-life was 83.5 minutes (n=7). Biodistribution and scintigraphic images (n=6) showed high uptake by liver and spleen, mainly 8 h post-injection (7.3±1.7, 30.1±3.3, respectively).

### **Conclusão:**

DSPE-PEG-DTPA was successfully synthesized and the micellar formulation showed high radiolabeling yields and high stability. In vivo studies showed long circulation time. Further in vivo studies are necessary to demonstrate the application of this system as a theranostic probe.

### **Apoio Financeiro:**

CAPES, CNPq, FAPEMIG.

## CLEARANCE AND BIODISTRIBUTION OF DOXORUBICIN LABELED WITH TECHNETIUM-99m

Silva, J. O. , Fernandes, R. S. , Cardoso, V. N. , Oliveira, M. C. , Barros, A. L. B. ,

Análises Clínicas e Toxicológicas - UFMG

Produtos Farmacêuticos - UFMG

### Introdução:

Doxorubicin is an anthracycline antibiotic that is of great importance in the treatment of hematologic and solid tumors, especially in breast tumors. This drug is quickly distributed to tissues, including liver, lungs, heart, kidneys and spleen. Doxorubicin is metabolized by liver to its active metabolite 13-OH-doxorubicinol and rather eliminated by the hepatobiliary route. Part of doxorubicin administered is also eliminated unchanged in the urine. The classical method for evaluation of pharmacokinetic parameters is the high-performance liquid chromatography (HPLC) analysis, due to the high sensitivity and specificity of this method. However, the use of HPLC in the routine is limited, since it is an expensive and laborious method. Therefore, the development of alternative ways to perform these analyzes are required. Nuclear techniques are an interesting method to investigate the in vivo profiles. Radiolabeled molecules with technetium-99m represent a new class of agents with great potential to evaluate these parameters, due to the advantageous properties of  $^{99m}\text{Tc}$ , such as half-life time, energy, and cost.

### Objetivos:

The aim of this study is to standardize the radiolabeling of doxorubicin (DXR) with technetium-99m and to determine the clearance and the biodistribution of this drug in healthy mice.

### Métodos:

CEUA (302/2014) DXR was labeled with  $^{99m}\text{Tc}$  by direct labeling method using  $\text{SnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  as reducing agent. Briefly, 100ug of  $\text{SnCl}_2$  were added to a solution of doxorubicin in PBS buffer (pH 7.4). Technetium-99m, in the form of sodium pertechnetate, was added and the reaction was kept for 30 minutes at room temperature. Labeling efficiency was performed by thin layer chromatography (TLC). The TLC was carried out using silica gel (SG)-coated strips with acetone as the mobile phase, for the determination of free technetium ( $\text{TcO}_4^-$ ).  $\text{TcO}_2$  was removed from the complex by filtration in a syringe filter 0,22um. The blood half-life of this complex after intravenous injection was determined using blood samples from healthy Balb/c mice (male, 8 weeks, 20 g). Blood samples were collected from the tail. Scintigraphic imaging and biodistribution studies were carried out at 1, 4 and 8 hours post-injection. Animals were anesthetized, then euthanized, and organs, such as liver, spleen, kidneys, stomach, heart, blood, thyroid, intestines and muscle were removed, dried on filter paper, and placed in pre-weighed plastic test tubes. All animal experiments were performed after approval by Local Ethics Committee (protocol #302/2014).

### Resultados:

The radiochemical purity measured by TLC was  $97.55 \pm 1.35\%$ , which allows animal studies. Blood levels of the  $^{99m}\text{Tc}$ -DXR declined in a biphasic manner, with an  $\alpha$  half-life of 6.9 min and  $\beta$  half-life of 61.3 min. The area under the curve was  $787.6 \% \text{ID} \cdot \text{min}^{-1}$  (n=6). Biodistribution studies (n=6) showed an uptake in liver, spleen and kidneys, in all times evaluated. Also small amounts of radiation ( $\leq 1.0\%$ ) were observed in thyroid and stomach, which suggest the stability of the  $^{99m}\text{Tc}$ -DXR.

### Conclusão:

Doxorubicin was successfully labeled with technetium-99m and showed high stability after in vivo administration. Images and biodistribution presented significant uptake in liver indicating the metabolism of DXR. Additionally, blood circulation time showed a rapid clearance from the bloodstream allowing early images.

### Apoio Financeiro:

CAPES, FAPEMIG, CNPq.

## PREPARATION AND PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF PACLITAXEL LOADED DSPE-PEG2000 MICELLES

Oda, C. M. R. , Malachias, A. , Paniago, R. M. , Cardoso, V. N. , Oliveira, M. C. , Leite, E. A. , Barros, A. L. B. ,

Department of Pharmaceutics - UFMG

Department of Clinical and Toxicological Analysis - UFMG

Department of Physics – UFMG

### Introdução:

Paclitaxel (PTX) is a highly effective chemotherapeutic against some tumors. However its clinical use is somehow limited due to its poor water solubility and high systemic toxicity. In this way, there is an evident need to develop innovative strategies that overcome the PTX drawbacks and expand its clinical use. A promising alternative is the use of nanostructured systems such as polymer-based micelles. Micelles made up of distearoyl-glycero-phosphoethanolamine-N-[methoxy(polyethylene glycol)-2000] (DSPE-PEG) might be an alternative tool to solubilize hydrophobic drugs, leading to higher uptake in tumor areas due to the enhanced permeability and retention effect. (Biomaterials, 34:1213, 2013.)

### Objetivos:

To prepare and characterize a micellar formulation formed by DSPE-PEG loading PTX for further anticancer treatment.

### Métodos:

This study did not report any in vivo experiment. The micelles were prepared by a self-assembled method. Briefly, PTX and DSPE-PEG(10 mmol/L) were dissolved in chloroform; Next, the solution was evaporated in a rotatory evaporator. Then, saline 0,9% (w/v) was added, followed by 5 minutes in a 40°C water bath and 3 minutes of gently shaking in vortex. In this process, DSPE-PEG self-assembled into core-shell-structured micelles with core-encapsulated PTX. The PTX-loaded DSPE-PEG micelle solution was filtered through 0,22 µm syringe filter to remove non-encapsulated drug. In order to optimize the content of PTX inside the micelles, three different concentrations were tested (0.5; 1.0 and 1.5 mg/mL). Micelles were evaluated according their storage stability within 7 days at 4C. Size of particles was measured by means of Dynamic Light Scattering (DLS) and Small Angle X-ray Scattering (SAXS). Zeta potencial ( $\zeta$ ), encapsulation efficiency (EE), and critical micellar concentration (CMC) were also performed.

### Resultados:

The three different concentrations (0.5; 1.0 and 1.5 mg/mL, n=3) showed similar %EE, 92.8±4.3; 97.4±3.9 and 95.7±1.7, respectively. However, micelles at 1.0 and 1.5 mg/mL showed low stability after storage (%EE, 42.9±11.0 and 21.0±3.0, respectively), while micelles at 0.5mg/mL PTX remains encapsulated into lipid core (%EE, 90.0±2.4). As a result, micelles at 0.5 mg/mL were suitable for further experiments. The D(nm) values was 9.6 (SAXS), and 9.5±2.0 (DLS) for PTX-loaded micelles and 10.0 (SAXS) and 10.1±2.0 (DLS) for blank micelles. The  $\zeta$  was -3,0±0,3 mV (n=3). The EE was 95,0±4,7 % (n=9). And the CMC was 2,4X10<sup>-5</sup> mol/L.

### Conclusão:

According to presented data, the PTX/DSPE-PEG micelles were successfully prepared showing suitable characteristics for in vivo experiments. Therefore, in vivo activity studies will be conducted and reported in due course.

### Apoio Financeiro:

Financial support: CAPES, CNPq, FAPEMIG and LNLS.



## DEVELOPMENT AND PHARMACOKINETIC STUDY OF LONG CIRCULATING PH-SENSITIVE LIPOSOMES, LABELED WITH TECHNETIUM-99m

Nunes, S. S. , Barros, A. L. B. , Oliveira, M. C. , Cardoso, V. N.

CIENCIAS FARMACEUTICAS – UFMG

### Introdução:

Liposomes are spherical vesicles formed spontaneously when phospholipids are exposed to an aqueous environment. They can be used to encapsulate and deliver hydrophilic and lipophilic substances. One limitation of these carriers is the rapid clearance from the blood circulation by the cells of reticuloendothelial system (RES). Poly(ethylene glycol) (PEG) is a highly hydrophilic polymer that has been widely used to improve the stability and pharmacokinetics of drug carriers. It creates a steric barrier preventing the adsorption of opsonin to the liposome surface and prolongs its blood circulation. In this context, there is still a lack of information about what is the best PEG for improving blood circulation time of liposomes. Therefore, studies using PEGs with different size are interesting to provide substantial data to optimize liposomal formulations.

### Objetivos:

The aim of this work was to prepare and characterize different SpHL containing  $^{99m}\text{Tc}$ -HYNIC-bAla-Bombesin(7–14) and to evaluate the influence of the molecular weight of PEG on pharmacokinetic of these liposomes.

### Métodos:

All in vivo studies were approved by the local Ethics Committee on Animal Use (CEUA), protocol no 301/2014. Seven liposomal formulations were prepared with DOPE, CHEMS and mPEG-DSPE (molar ratio 6.5/3.0/0.5) using PEGs with three different MW (1000, 2000 and 5000) in equimolar concentrations (1000:2000, 1000:5000, 2000:5000 and 1000:2000:5000). The liposomes were prepared using the thin-film hydration method, followed by extrusion. The mean particle diameter and zeta potential were measured by dynamic light scattering (DLS) and electrophoretic mobility using a Zetasizer 3000HSA, at a fixed angle of  $90^\circ$  and  $25^\circ\text{C}$ . The peptide bombesin was labeled with  $^{99m}\text{Tc}$  using HYNIC as coligant and was encapsulate in the liposome by the method of freeze/thaw. The blood half-life following intravenous injection was determined using blood samples from healthy female balb/c mice, 20g, 8 weeks ( $n=6$ ). Blood samples were collected from the tail.

### Resultados:

All formulations showed suitable size for intravenous administration ( $\sim 200$  nm) ranging from  $128.6 \pm 6.4\text{nm}$  for PEG 5000 to  $157.0 \pm 7.7\text{nm}$  for 2000:5000. The polydispersity index (PDI) was lower than  $0.17 \pm 0.2$ , suggesting monodispersity. The zeta potential for all formulations were close to neutrality ( $-5.0 \pm 3.8\text{mV}$ ). The radiochemical purity carried out by TLC was  $96.1 \pm 2.9\%$ , which allows animal studies. Encapsulation percentage was calculated  $31.2 \pm 2.7\%$ . By analyzing the blood circulation time the formulation with longer half-life (473 min) and higher AUC ( $915.7 \text{ \%ID}\cdot\text{min}^{-1}$ ) was PEG1000:5000

### Conclusão:

All formulations showed size and zeta potential suitable for intravenous administration, but PEG1000:5000 presented longer blood half-life and higher area under the curve than other formulations and it will be used for biodistribution studies and scintigraphic images.

### Apoio Financeiro:

CAPES, FAPEMIG, CNPq

## DOSE-RESPONSE CALIBRATION CURVE FOR MICRONUCLEUS ASSAY: PRELIMINARY STUDY

Mendes, M. E. , Hwang, S. F. , Andrade, A. M. G. , Mendonca, J. C. G. , Santos, N. , Lima, F. F. ,  
SEDIN/DIPED - CRCN-NE/CNEN  
Departamento de Genética - UFPE

### Introdução:

The in vitro cytokinesis-block micronucleus (CBMN) assay was developed by Fenech and Morley in 1985, with this method is possible quantify chromosome breakage and loss in nucleated cells [Ann Ist Sanità 45(3), 260-264, 2009]. The CBMN assay, which can be used as an alternative method for scoring dicentric chromosomes, is done in lymphocytes and converted into absorbed dose using the dose-response calibration curves [EPR-Biodosimetry, Viena, 2011].

### Objetivos:

This study aimed to start construction of the dose-response calibration curve for MN in the Brazilian Northeast region.

### Métodos:

09186813.7.00005208 Blood samples (5 ml) were collected from one healthy voluntary and irradiated with gamma rays (Gamma cell 220 irradiator). It was obtained three different absorbed doses: 0.50, 0.75 and 1 Gy. The protocol for cell culture, cytological preparation and criteria for selecting binucleated and for scoring micronuclei were based on IAEA manual (2011). All samples were tested for analyze your conformity with Poisson distribution [Rad Environ Biophys, 48, 197-203, 2009]. It was used the Dose Estimate [Heal Phy Soc, 98(2), 290-295, 2010] for build the calibration curve.

### Resultados:

In this work was analyzed more than 4000 viable binuclear cells and the number of micronuclei (MN) scored, their frequencies of MN from four different absorbed doses were 0.005, 0.029, 0.053 and 0.094. The background of MN's frequency (0Gy) was in conformity with literature [EPR-Biodosimetry, Viena, 2011]. It was confirmed that had an increase of MN's frequencies associated with elevation of absorbed doses. All doses points were test for Poisson distribution with dispersion index and u values were calculated (-0.100, -0.635, -0.320 and 1.180). It possible observed that u values were not significant, because all u values were in the range of  $\pm 1.96$  in the 95% confidence limits, this demonstrates that in vitro experiment follows the model of Poisson distribution. However, the 1 Gy point presented overdispersion's tendency. Analyzing others works, it was observed the same tendency of overdispersion of cell distribution of MN even at doses below 1.0 Gy, and this probably come to the point that it had on significant dispersion [Mut Res/Gen Tox and EnvirMut, 760, 17-22, 2014; Mut Res, 359, 151-157, 1996]. This overdispersion appearance may be associated with many factors that influencing the formation and origin of MN, and still difficult determinate exactly if the MN is formatted just for fragments acentric, dicentric or both aberrations. In this work the fitted coefficients were  $Y = (0.0050 \pm 0.0022) + (0.0036 \pm 0.0229)D + (0.0845 \pm 0.0278)D^2$ . The fitted calibration curve not obtained good results with only four absorbed doses, because the chi-square value is not relevant ( $X^2=0.15$ ,  $df=1$ ;  $p$  value=0.0). Other studies demonstrated good results with yours calibrations curves, because they analyzed more than 1000 binuclear cells and over an voluntary, thus they increased the confidence of yours results [Mut Res/Gen Tox and EnvirMut, 760, 17-22, 2014; Mil. Med. Sci. Lett, 80, 28-37, 2011].

### Conclusão:

To confirm our results and finish the curve construction, it is necessary to use other doses, different voluntaries and analyze a larger number of cells in order to obtain more robust results.

### Apoio Financeiro:

Authors would like to acknowledge CNPq for the financial support.

## DOSIMETRIA CITOGENÉTICA: A IMPORTÂNCIA DO CONTROLE DE QUALIDADE DE PROFISSIONAIS

Maltz LBS, Leone., Nascimento, D. F. , Silva, N. M. , Benevides, T. F. , Leoncio, S. R. , da Silva Borges, E., Brayner Cavalcanti, M., Fernandes, T. S. , Amaral, A.

1 Departamento de Energia Nuclear - UFPE 2 Departamento de Biofísica e Radiobiologia, Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, 3 Centro Acadêmico de Vitória – UFPE

### Introdução:

A dosimetria citogenética (biodosimetria) é utilizada para estimar a dose absorvida a partir da quantificação de aberrações cromossômicas (ACs) instáveis (dicêntricos, anéis e fragmentos), em linfócitos do sangue periférico humano. Por se tratar de uma análise de extrema importância (“padrão ouro”) em casos de incidentes radiológicos, recomenda-se que os laboratórios especializados realizem treinamentos de capacitação e qualificação dos seus profissionais. Neste trabalho, foi estudado um modelo de controle de qualidade de profissionais envolvidos em dosimetria citogenética, a partir da intercomparação de resultados de análises de ACs apresentados pelos analistas, possuindo diferentes níveis de qualificação.

### Objetivos:

Propor um modelo de controle de qualidade de profissionais envolvidos na análise citogenética em biodosimetria.

### Métodos:

CEP/CCS/UFPE N° 031/09 Este estudo foi do tipo randomizado e cego. Utilizando um Acelerador Linear de 6 MV, foram irradiadas 2 amostras de sangue periférico com doses de 2 e 3 Gy, separadamente. Seguindo o protocolo da IAEA (2011), após cultivo celular, foram confeccionadas 2 lâminas para cada amostra. As lâminas foram disponibilizadas para 4 analistas, identificados pelas letras A, B, C e D, objetivando a contagem de 30 metáfases por espécime, em dois momentos: primeiramente, foi analisada a lâmina confeccionada a partir de amostras irradiadas com 3 Gy; em seguida, após treinamento, foi analisada a lâmina obtida da irradiação com 2 Gy. Durante o processo de capacitação, os resultados da primeira leitura (lâmina de 3 Gy) foram apresentados e discutidos pela equipe do trabalho, sendo apresentado os possíveis erros de análise citogenética, destacando-se os aspectos associados às sobreposições cromossômicas, constrições de braço longo de submetacêntricos, e proximidades entre os cromossomos. Após a leitura das lâminas, as doses foram estimadas utilizando o software CABAS, que é dedicado à biodosimetria.

### Resultados:

Antes da capacitação, para a dose de 3 Gy, os analistas A, B, e C encontraram frequências de dicêntricos de 0,56; 0,36 e 0,43, correspondendo às doses estimadas de 3,06; 2,44 e 2,67 Gy e que estão dentro dos 95% de intervalo de confiança (2,3 - 3,1 Gy). O analista D, por sua vez, encontrou uma frequência de dicêntricos de 0,03, valor este associado a 0,65 Gy. Num processo de triagem, que busca identificar se houve ou não exposição individual à radiação ionizante, todos os analistas indicariam que teria havido exposição, embora a dose estimada pelo técnico D estivesse muito abaixo da dose real. Após a capacitação desses profissionais, constatou-se que todos os analistas encontraram frequências de dicêntricos dentro do esperado de sorte que: para a dose de 2 Gy, os valores estimados foram 1,6; 1,77; 2,06 e 1,6 Gy, todos dentro dos 95% de intervalo de confiança. Assim, após a capacitação, todos estariam aptos a estimar a dose dentro de níveis aceitáveis.

### Conclusão:

Constatou-se que o controle de qualidade de técnicos é fundamental para identificar as dificuldades desses profissionais na avaliação de aberrações cromossômicas, ampliando com eficácia a capacidade analítica de laboratórios em casos de incidentes radiológicos. Esta metodologia pode servir como modelo de programas de qualidade de analistas em laboratórios de biodosimetria.

**Apoio Financeiro:**  
CNPq e Departamento de Energia Nuclear.

## C-BANDING IN THE IDENTIFICATION OF RADIATION-INDUCED MICRONUCLEUS

Lima, S. C. , Amaral, A. J. , Fernandes, T. S. ,  
Departamento de Energia Nuclear – UFPE

### **Introdução:**

The evaluation of absorbed dose by biomarkers can be a crucial step for the health management of irradiated people. The scoring of unstable chromosome aberrations (CA) from peripheral lymphocytes, such as dicentrics, acentric fragments and centric rings, is the most used biological technique for dose assessment. However, this approach is laborious and time consuming. Micronuclei (MN), a kind of chromosome aberration byproduct, are cytoplasm chromatin masses that arise from centric or acentric fragments, but also from the loss of entire chromosomes. MN have the appearance of small nuclei, in addition to the cell's nucleus. Although MN assays are quicker than the scoring of unstable chromosome aberrations, they can be originated by chemical stress, being less specifically related to individual exposure to ionizing radiation than unstable CA. Thus, a technique that highlight centromeres, such as C-banding, would make possible to distinguish the radiation-induced micronuclei from those caused by the loss of whole chromosomes.

### **Objetivos:**

To evaluate the use of C-banding for the identification of radiation-induced MN.

### **Métodos:**

CEP/CCS N° 079/2009. A peripheral blood sample from a healthy donor was irradiated with 3 Gy using Co-60 source (dose rate: 156.55 cGy.min<sup>-1</sup>). Then, the cells were incubated at 37 °C (5% CO<sub>2</sub>) for 72 h with cytochalasin B added at 24 h in the culture medium. The slides were divided into two groups: one directly stained with 5% Giemsa and another previously submitted to C-banding. For each method, 500 binucleated cells were analyzed for detection of MN.

### **Resultados:**

In preparations stained with Giemsa, MN appeared as uniformly stained structures, while by C-banding, some MN showed a highlighted centromeric region, indicating that they did not derive from acentric fragments.

### **Conclusão:**

The C-banding technique allows differentiating between MN resulting from acentric chromosome material characteristic of ionizing radiation damage, from those originated of whole-chromosome losses, which is a characteristic of chemical agents. This distinction is useful in order to associate MN assay to individual radiation exposure, allowing a better dose estimation by this fast biological technique.

### **Apoio Financeiro:**

FACEPE - Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco

## COMPARAÇÃO ENTRE OS RADIOFÁRMACOS $[[99mTc](O)2HL91]$ , $[[99mTc]GLUCARATO]$ - E (18F)FAZA NA DETECÇÃO DE HIPÓXIA EM CULTURA DE CELULAR E EM TUMORES

Lafretta, A. E. , Evangelista, M. J. A. , Luz, C. P. , Marques, F. L. N. , Faria, D. P. , Machado, C. M. L. , Prando, S. , Buchpiguel, C. A.

Medicina Nuclear - ICESP Laboratório de Investigação Médica 43 - HCFMUSP Centro Translacional de Oncologia - ICESP Departamento de Radiologia e Oncologia - FMUSP

### Introdução:

Hipóxia é uma das causas do aumento da resistência à radioterapia e de alguns tipos de quimioterapia, e sua identificação em tumores é altamente relevante. O uso de radiofármacos tem possibilitado a identificação desse fenômeno através de técnica não invasiva, permitindo mapear mudanças fisiológicas associadas à hipóxia (p. ex. aumento de lactato, H<sup>+</sup>, oxi-redução competitiva de outros substratos).

### Objetivos:

O objetivo deste trabalho é comparar os radiofármacos  $[[99mTc](O)2HL91]$ ,  $[[99mTc]glucarato]$ - e (18F)FAZA, em modelos in vitro e in vivo, como marcadores de hipóxia em tumores.

### Métodos:

272/10 e 273/10 Este trabalho foi aprovado em comitê de ética da FMUSP sob os números CEP 272/10 e 273/10. Complexos  $[[99mTc](O)2HL91]$  e  $[[99mTc]glucarato]$ - foram preparados pela reação dos ligantes 1 mg de HL91 e 12 mg de ácido glucárico, 0,025 e 0,5 mg de SnCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, respectivamente, e 37-111 MBq de TcO<sub>4</sub><sup>-</sup>; os produtos foram analisados por cromatografia planar (papel ou TLC). O (18F)FAZA foi obtido pela reação de (18F)fluoreto com 5 mg do 1-(2,3-diacetil-5-tosil-( $\alpha$ -D-arabinofuranosil)-2-nitroimidazole, seguido de hidrólise alcalina e purificação por HPLC; o produto foi analisado por HPLC em coluna C18 - 4  $\mu$ m x 250 mm x 4,6 mm e fase móvel EtOH:NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> - 5 mM (95:5). O coeficiente de partição (LogP) foi determinado na mistura N-octanol/água. Células de melanoma murino B16F10 foram cultivadas e semeadas em placas de cultura de 4 cavidades por 12 a 24 h, soluções dos radiofármacos foram adicionadas em diferentes placas e encubadas em condições de normóxia e hipóxia, por períodos de 15, 60 e 120 min, o meio de cultura foi extraído, as células foram lavadas com PBS e lisadas com NaOH, a radiatividade no meio, no lavado e no lisado foi determinada em contador de poço. Os camundongo C57Bl/6, machos, com aproximadamente 7 semanas e 25 gramas, foram inoculados com B16F10 e após crescimento tumoral (7 a 10 dias), injetados com um dos radiofármacos para aquisição de imagens em sistema híbrido PET/SPECT/C dedicado a pequenos animais. Tumor e tecidos de referência foram excisados e analisados para distribuição global em um contador do tipo poço.

### Resultados:

A pureza radioquímica para os três radiofármacos foi superior a 90 %, antes da injeção. O coeficiente de partição (LogP) foi de 0,12 para o  $[[99mTc](O)2HL91]$  e de -2,7 para o  $[[99mTc]glucarato]$ -, de acordo com o esperado. Estudos de captação em células de B16F10 mostraram taxa de captação, em condições de normóxia e hipóxia de 0,20 % e 0,98 %, para o (18F)FAZA, 0,71 % e 4,08 %, para o  $[[99mTc](O)2HL91]$ , enquanto que para o  $[[99mTc]glucarato]$ - o valores foram da ordem de de 0,20 % independente da condição. O estudo de distribuição ex vivo mostrou uma taxa de captação no tumor (%/ g órgão) de 0,04 % para o  $[[99mTc]glucarato]$ -, 0,34 % para o (18F)FAZA e 2,89 % para o  $[[99mTc](O)2HL91]$  , a razão tumor/sangue foi de 1,49 %, 1,39 % e 3,01 %, respectivamente. A distribuição dos radiofármacos permitiu observar a captação do (18F)FAZA em pontos difusos dentro de regiões tumorais; o mesmo foi observado para o  $[[99mTc]glucarato]$ -, porém em menor intensidade, por outro lado, o  $[[99mTc](O)2HL91]$ , mostrou intensa captação na região interna do tumor.

**Conclusão:**

Os radiofármacos foram obtidos em alta pureza e o estudo de captação in vitro, demonstrou qualidade superior do  $[[99mTc](O)2HL91]$  em relação a  $(18F)FAZA$ , enquanto o  $[[99mTc]glucarato]$ - demonstrou-se ineficaz para o processo. Os dados de biodistribuição ex vivo e in vivo, corroboram os dados in vitro, demonstrando que o  $[[99mTc](O)2HL91]$  apresenta as melhores qualidades para determinação de áreas de hipóxia em tumores.

**Apoio Financeiro:**

FAPESP/CNPq

## RADIOLABELING EFFICIENCY AND PURITY OF <sup>131</sup>I-PEPTIDES. RELEVANCE TO STUDY OF GLIOBLASTOMA

Sobral, D. V. , Durante, A. C. R. , Miranda, A. C. C. , Barboza, M. F. , Cabral, F. R. , Malavolta, L.  
Departamento de Ciências Fisiológicas - FCMSCSP Instituto do Cérebro – IIPAE

### Introdução:

Cancer cells overexpress many peptide receptors. Radiolabeled peptides that bind with high affinity and specificity to the receptors on tumor cells hold great potential for diagnostic imaging and targeted radionuclide therapy. In this work, we present new approaches to evaluate the efficiency of radiolabeled small peptide fragments that are overexpressed in a wide variety of human cancers, including glioblastoma.

### Objetivos:

The aim of this work was to establish an efficient radiolabeling protocol of the <sup>131</sup>I-peptide fragments that interact with the epidermal growth factor receptor (EGFR) and cell adhesion molecule (integrin  $\alpha v\beta 3$ ).

### Métodos:

Não ocorreram experimentos em humanos e/ou animal. The Glu-Glu-Glu-Glu-Tyr-Phe-Glu-Leu-Val peptide and their analogue Glu-Asp-Glu-Asp-Tyr-Phe-Glu-Leu-Val derived from EGFR and the Gly-Arg-Gly-Asp-Tyr-Val peptide derived from RGD were synthesized accordingly to the standard Fmoc protocol, purified and radiolabeled with the <sup>131</sup>I. We have investigated and optimized (radio-) iodination using chloramin-T technique in order to obtain radiolabeled peptides with higher stability and activity. In regard to the radiolabeling approach, the <sup>131</sup>I radioisotope was used to label the peptide sequences at Tyr residues. The labelling was performed at pH 7.0 using 200 - 800  $\mu$ Ci of <sup>131</sup>I-Na in phosphate buffer at 25°C at different times using peptide concentrations of 25 - 100  $\mu$ g/mL. The radiolabelling efficiency and purity were checked by Whatman 3MM and TLC-SG (Al) in different mobile phases and solid extraction phase (Sep-Pak C18 filter), respectively. All the chromatographic analyses were realized in triplicate.

### Resultados:

All peptides were efficiently synthesized and radiolabeled. The results showed that the labeled peptides migrate from the origin  $R_f = 0.1 - 0.2$  and the radionuclide migrates to front  $R_f = 0.9$ . All peptides showed an average of radiochemical efficiency  $90 \pm 5\%$  and radiochemical purity around  $87\% \pm 3$  to all the peptides evaluated after the protocol definition ( $n = 6$  experiments). Better radiochemical yields were obtained for all peptide fragments when the labelling reactions were performed at pH 7.0, using an activity of radioisotope between 200-800  $\mu$ Ci and a reaction time of 90 seconds. Meanwhile, no significant difference was observed in the radiochemical purity at concentrations of 25, 50 and 100  $\mu$ g/mL for all peptides. Furthermore, the stability of labelling was evaluated from 30 min to 72 hours. The data showed that all peptides were stable within 72 hours, but more than 24 hours best results were observed when the peptides were stored in the refrigerator ( $n = 3$  experiments).

### Conclusão:

The peptides were efficiently synthesized and the tested radiolabeling strategies showed successful results. Moreover, the results obtained in this study are consistent to adapt in the clinical application. We believe that this technology might be useful for a broad range of in vitro and in vivo diagnostics using this type of peptides.

### Apoio Financeiro:

Capes



## MIMOTOPE PEPTIDE OF ELECTRONEGATIVE LDL AS AGENT FOR ATHEROSCLEROSIS PET IMAGING

Kazuma, S. M. , Cavalcante, M. F. , Turato, W. M. , Liu, Y. , Abdalla, D. S. P. ,

Mallinckrodt Institute of Radiology - WUSTL Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP

### **Introdução:**

Atherosclerosis is inflammatory disease of arterial wall, most triggered by modified low-density lipoprotein (LDL) including electronegative LDL [LDL(-)]. Based on phage display, we selected a peptide targeted to anti-LDL(-) monoclonal antibody, acting as mimetic for its epitope. P1 mimotope peptide was investigated as a new PET imaging agent for atherosclerosis.

### **Objetivos:**

Evaluate the efficiency of the radiolabeled peptide P1 as radiopharmaceutical in an experimental model of atherosclerosis.

### **Métodos:**

20130230 The DOTA-P1 and NOTA-P1 peptides were radiolabeled with  $^{64}\text{Cu}$  (37 MBq) using ammonium acetate buffer pH 5.5 and 1 nmol of the peptide at  $45^{\circ}\text{C}$  for 1 hour. Both peptides were challenged with EDTA and analyzed by radio-HPLC.  $^{64}\text{Cu}$  gold nanoclusters ( $^{64}\text{CuAuNC}$ ) was synthesised with water, 50 mM  $\text{HAuCl}_4$ , 2.5 mM PEG-750 Da, 10 mM PEG-750 Da, 148 MBq of  $^{64}\text{Cu}$  and 40 mM sodium borohydride and incubated overnight at room temperature, purified by ultracentrifugation. P1 peptide was conjugated to  $^{64}\text{CuAuNC}$  using 100 fold molar excess of N-(3-dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide (EDC) and N-hydroxysulfosuccinimide (Sulfo-NHS), incubated for 2 hours, purified by ultracentrifugation. Radiochemical purity  $^{64}\text{CuAuNC-P1}$  was analyzed by TLC and FPLC. Animal studies were approved by the Washington University Animal Studies Committee, protocol number 20130230. ApoE $^{-/-}$  mice (male, 6-8 weeks old, 20-30 g weight, 7-8 weeks fed on hipercholesterolemic diet, n=4) and C57Bl/6 as control mice (male, 20 g weight, 6-8 weeks old, n=4) were injected with 0.37 MBq of  $^{64}\text{Cu-DOTA-P1}$ ,  $^{64}\text{Cu-NOTA-P1}$  and  $^{64}\text{CuAuNC-P1}$  for PET imaging acquisition. Static images with gold nanoclusters were performed 1, 3, 24 and 48 hours after injection, while 30-60 minutes dynamic images were made for peptides. Statistical analysis were performed using one-way ANOVA with Bonferroni posttest, with significance level considered as  $P < 0.05$ .

### **Resultados:**

Radiochemical purity was more than 95% and specific activity was 37 MBq/nmol for both peptides.  $^{64}\text{CuAuNC-P1}$  demonstrated 100% of radiochemical purity by TLC and FPLC. Standardized uptake value (SUV) from PET images demonstrated higher uptake of  $^{64}\text{Cu-DOTA-P1}$  ( $0.64 \pm 0.14$  % injected dose/gram) and  $^{64}\text{Cu-NOTA-P1}$  ( $0.87 \pm 0.12$  % injected dose/gram) by apoE $^{-/-}$  mice compared to C57Bl/6 mice. For gold nanoclusters, higher uptake of  $^{64}\text{CuAuNC-P1}$  ( $7.41 \pm 0.48$  % injected dose/gram) was found in apoE $^{-/-}$  mice than  $^{64}\text{CuAuNC-P1}$  ( $6.311 \pm 0.32$  % injected dose/gram) the control C57Bl/6 mice in 1 h pos-injection.

### **Conclusão:**

These are preliminary results using P1 conjugated to  $^{64}\text{CuAuNC}$  as well both  $^{64}\text{Cu-DOTA-P1}$  and  $^{64}\text{Cu-NOTA-P1}$  were promising, but further experiments should confirm the specificity of P1 as a tracer for atherosclerosis as blocking with cold P1 in PET imaging. Herein, we demonstrated the potential use of P1 as a tool for atherosclerosis PET imaging.

### **Apoio Financeiro:**

FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa de Estado de São Paulo) Mallinckrodt Institute of Radiology in Washington University in Saint Louis.

## RADIOLABELING AND PURITY OF $^{99m}\text{Tc}$ -LABELED PEPTIDES AS POTENTIAL BIOMARKERS FOR ALZHEIMER'S DISEASE

Barboza, M. F. , Sobral, D. V. , Durante, A. C. R. , Miranda, A. C. C. , Nakaie, C. R. , Cabral, F. R. , Malavolta, L. ,

Instituto do Cérebro - HIAE Ciências Fisiológicas - FCMSCSP Biofísica - UNIFESP

### Introdução:

Amyloid plaques formation and accumulation is a hallmark of Alzheimer's disease [AD]. The development of radiolabeled peptides with binding affinity to amyloid plaques in the brain is therefore in the forefront of imaging biomarker research: Nucl. Med. Biol. 39; 315, 2012. Recently, peptide fragments based upon the Ab-amyloid peptide present in AD were efficiently labeled with the  $^{99m}\text{Tc}$  radioisotope: In Lebl M. (Ed.) Proceed. 23rd Am. Pept. Symp. Hawaii, EUA, 2013, p. 170-171.

### Objetivos:

The goal of this work was to evaluate the ability of these radiolabeled peptides as biomarkers for amyloid plaques present in Alzheimer's disease.

### Métodos:

001/2011 All procedures were carried out after the approval of the Ethics Committee in Research from the Santa Casa de Sao Paulo School of Medical Sciences under the number 001/11. Based upon the (1-42) Ab-amyloid peptide present in Alzheimer's disease, the VGGVIAH, LPFFDH, KLVFFH and VHHQKLVFFAED fragments were synthesized and purified. By using a very convenient method: Nat. Biotechnol. 17, 897, 1999, it was possible to carry at the His of beta-amyloid peptide fragments, the organometallic aqua-ion  $[\text{}^{99m}\text{Tc}(\text{H}_2\text{O})_3(\text{CO})_3]^+$ , abbreviated TcCO, directly from  $[\text{}^{99m}\text{TcO}_4]^-$  under 1 atm of CO. The radiochemical efficiency was detected in TLC-SG (Al) in saline 0.9% after 90 minutes of reaction time. All the chromatographic analyses were realized in triplicate. The affinity of these peptides for amyloid plaques was realized using brain homogenate of transgenic mouse [B6.Cg-Tg(PDGFB APPSwInd)20Lms/2J]. This experiment was realized in triplicate for each sample (4 radiolabeled peptides and TcCO as control). The biodistribution and uptake studies of biomarkers were performed in mice (C57Bl/6), weighing 18-25g and up to 3 months old, anesthetized with isoflurane. The radiolabeled peptides were administered with activity (0.51 to 0.58mCi / 100 $\mu\text{L}$ ) through the tail vein. The animals were euthanized at 5, 10 and 30 minutes after dosing (n = 3 animals at each time and peptide). The organs of interest were removed, weighed and quantified in a gamma counter - in order to evaluate the uptake in different organs.

### Resultados:

After the protocol definition, all the peptides (10-4M) were efficiently radiolabeled with an average of  $91 \pm 5\%$  when an activity of  $^{99m}\text{TcCO}_3$  around 12-14mCi was used (n = 5 for each peptide). Radiochemical purity was also determined using Sep-Pak, C-18 with averages higher than  $80 \pm 7\%$ , with the exception of peptide VHHQKLVFFAED, which a fraction of the activity was retained on Sep-Pak, possibly because this peptide has twice the molecular weight of the other fragments. Employing the binding assay using brain homogenate of transgenic mouse we obtained binding specificity to amyloid deposits around  $50 \pm 4\%$  for all peptides. This percentage decreased to less than 1% when only the TcCO was analyzed (n = 3 experiments). The studies of in vivo biodistribution showed that the uptake of the compounds in the mouse brain was rapid and so was the clearance. The activity in the brain (% ID/g) at 5 min it average  $2.08 \pm 0.94$  and in 30 min decreased to  $0.39 \pm 0.08$  according to the peptide under study (n = 2 experiments).

### Conclusão:

In conclusion, the VGGVIAH, LPFFDH, KLVFFH and VHHQKLVFFAED peptides were efficiently synthesized and showed potentiality as biomarkers for amyloid plaques. The tested radiolabeling strategies showed successful results. Preliminary results obtained from the binding studies and

biodistribution showed high affinity of peptides to amyloid plaques and the radiolabeled peptides were able to overcome the blood-brain-barrier. We believe that this technology might be useful for a broad range of in vitro and in vivo diagnostics using this type of peptides.

**Apoio Financeiro:**

Supported by FAPESP (Proc. 2010/20197-5).

## ESTUDOS PRELIMINARES PARA OBTENÇÃO DE ANTICORPO RITUXIMAB CONJUGADO A HYNIC E MARCAÇÃO COM [99mTc]TECNÉCIO.

Martins, E. B. , Pérez, M. L. , Montana, R. L. , Marques, F. L. N. ,

Laboratório de Medicina Nuclear (LIM43) - LIM43-HCFMUSP Centro de Isótopos - CENTIS - Cuba

### Introdução:

Rituximab é um anticorpo (AC) monoclonal quimérico que possui elevada afinidade de para o antígeno CD20, expresso por mais de 90% das células B de linfomas. A especificidade do AC o torna atrativo para a medicina nuclear. Emprega-lo como carreador de isótopos radioativos, particularmente metais, confere uma estratégia interessante para diagnóstico por imagem. Para tanto se faz necessário conjugar ao AC uma molécula com capacidade para complexar metais, como o HYNIC (hidrazinonicotinamida), ligante seletivo para [99mTc]tecnécio.

### Objetivos:

O objetivo desse trabalho é avaliar diferentes condições para a conjugação do ligante HYNIC ao anticorpo rituximab, bem como as melhores condições para marcação do conjugado com [99mTc]tecnécio.

### Métodos:

Não houve ensaios in vivo ao longo do estudo. Não houve ensaios in vivo ao longo do estudo. Conjugação: 50 µL de HYNIC (3,8 mg/mL DMSO anidro) foram adicionados em 0,5 mL de tampão NaHCO<sub>3</sub> (pH 8,2) contendo 5 mg de anticorpo rituximab (Centis-Cuba) a solução foi encubada a 0 °C (n=1) ou 21 °C (n=1) por 1 h, sob agitação; as soluções foram purificadas em coluna PD10 e a concentração do AC foi determinada a 280 nm em espectrofotômetro NanoDrop™. O produto das conjugações foi empregado em estudo exploratório para verificação do método de radiomarkação. Marcação (n=1 para cada formulação): Foi utilizado PBS 0,1 M e pH 7,0; Sn = SnCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O dissolvido em solução de HCl. Com o produto da conjugação realizada a 0° C foram preparadas 4 diferentes formulações fixando a tricina em 20 mg/ 200 uL de PBS: F1= 100 µL da solução de AC e 100 µg de Sn; F2= 300 µL da solução de AC e 100 µg de Sn ; F3= 100 µL da solução de AC e 40 µg de Sn; F4= 1 mL da solução de AC e 50 µg de Sn, também foi fixada a concentração de Sn em 40 ug; F5= 300 µL da solução de AC, 10 mg de tricina /100 µL de PBS; F6= 100 µL da solução de AC, 5 mg de tricina / 100 µL de PBS. Com o produto da conjugação realizada a 21° C foram preparadas mais 5 diferentes formulações: F7= 100 µL da solução de AC, 20 mg de tricina / 200 µL de PBS e 50 µg de Sn. F8: 150 µL da solução de AC, 16 mg de tricina / 160 µL de PBS e 50 µg de Sn. F9: 100 µL da solução de AC, 250 µg de tricina / 200 µL de PBS e 31,25 µg de. F10: 500 µL da solução de AC, 250 µg de tricina / 200 µL de PBS e 31,25 µg de Sn. F11: 550 µL da solução de AC foram concentrados para 100 uL, à solução foram adicionados 20 mg de tricina / 200 µL de PBS e 10 µg de Sn. Todas as formulações foram marcadas com 20-30 MBq (540-810 uCi) e mantidas em incubação à temperatura ambiente por 30 minutos. A eficiência de marcação foi verificada por cromatografia em camada delgada empregando os seguintes sistemas: 1- ITLC-SG / NaCl 0,9%; 2- Papel Whatman 1 / acetona; 3- ITLC-SG impregnado com albumina / EtOH:NH<sub>3</sub>:H<sub>2</sub>O (2:1:5).

### Resultados:

A pureza radioquímica de cada formulação (n=1) é dada a seguir: Formulações com produto da conjugação a 0° C: F1= 21,87%; F2= 30,84%; F3= 33,57%; F4= 60,01%; F5= 40,49%; F6= 24,40%. Formulações com produto da conjugação a 21° C: F7= 66,20%; F8= 64,40%; F9= 26,66%; F10= 44,20%; F11= 88,21%.

### Conclusão:

Os resultados evidenciaram uma maior eficácia do método de conjugação a 21° C, uma vez que apresentou maior eficiência de marcação, sugerindo maior taxa de conjugação. O método de concentração da solução de anticorpo a menores volumes interferiu positivamente no processo de formação do complexo, apresentando a maior eficiência de marcação. As concentrações dos

componentes da formulação se mostraram fatores limitantes para a radiomarcagem sendo necessários maiores estudos para a otimização do método.

**Apoio Financeiro:**

Fundap

## ESTUDO DE MÉTODOS DE CONTROLE DE QUALIDADE DO $^{99}\text{Mo}$ UTILIZADO EM GERADORES $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ PRODUZIDOS NO IPEN-CNEN/SP .

Said, D. S. , Brambilla, T. P. , Matsuda, M. M. N. , Osso Junior, J. A. ,  
Centro de Radiofarmácia - IPEN-CNEN/SP

### Introdução:

O  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  é o radionuclídeo mais utilizado em medicina nuclear. No Brasil, os geradores  $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$  são produzidos exclusivamente pelo Centro de Radiofarmácia do IPEN-CNEN/SP, com  $^{99}\text{Mo}$  importado de diferentes fornecedores. O  $^{99}\text{Mo}$  ( $t_{1/2} = 66$  h), por ser um produto de fissão do  $^{235}\text{U}$ , pode estar acompanhado por uma série de radioisótopos altamente prejudiciais para a saúde humana. Dessa forma, para que o gerador seja utilizado de maneira segura, é necessário que o  $^{99}\text{Mo}$  passe por um rigoroso controle de qualidade, incluindo análises de purezas química, radioquímica e radionuclídica. Os limites para as suas impurezas são estabelecidos pela Farmacopeia Europeia, que ainda recomenda os métodos para a realização dessas análises. O controle de qualidade também é uma exigência da ANVISA para a concessão do registro do gerador. Embora existam métodos descritos de controle de qualidade do  $^{99}\text{Mo}$ , observa-se uma dificuldade de implementação desses métodos por parte dos produtores de geradores, provavelmente devido à falta de praticidade dos métodos e pela extensa lista de reagentes utilizados. Apesar disso, há a possibilidade de se adotar outras metodologias desde que validadas e aprovadas pelas autoridades competentes.

### Objetivos:

O objetivo desse trabalho é desenvolver e adaptar a tecnologia de controle de qualidade do  $^{99}\text{Mo}$  para que seja implementado no Centro de Radiofarmácia do IPEN-CNEN/SP, já que esse controle ainda não é realizado rotineiramente. Além disso, espera-se que o método desenvolvido possa ser adaptado futuramente para a rotina de produção do  $^{99}\text{Mo}$  no novo Reator Multipropósito Brasileiro.

### Métodos:

Não foi realizado experimento com animais ou humanos. Nesse trabalho foi realizado um estudo qualitativo e quantitativo de impurezas radionuclídicas emissoras gama do  $^{99}\text{Mo}$ . Para isso, amostras de  $^{99}\text{Mo}$  de diferentes fornecedores foram analisadas por meio de um espectrômetro gama. Também foi estudada a interferência dos picos do  $^{99}\text{Mo}$  no espectro durante a análise das impurezas. Cartuchos de troca iônica de 6 tipos e em 3 meios diferentes foram testados para a separação do  $^{99}\text{Mo}$ , com o intuito de minimizar essa interferência. As performances das separações foram quantificadas inicialmente por meio de amostras radioativas e um calibrador de dose. Os testes subsequentes foram realizados com amostras não radioativas e os resultados quantitativos foram obtidos por meio da técnica de ICP-OES.

### Resultados:

As principais impurezas emissoras gama do  $^{99}\text{Mo}$  são os radioisótopos  $^{131}\text{I}$ ,  $^{103}\text{Ru}$  e  $^{132}\text{Te}$ . O limite para cada um deles corresponde a  $5 \times 10^{-3}$  % da radioatividade total. Os resultados dos testes realizados por espectrometria gama mostram que a interferência da atividade do  $^{99}\text{Mo}$  não permite a detecção das impurezas nesses níveis, sendo necessária a remoção da maior quantidade possível de  $^{99}\text{Mo}$  da amostra para que os resultados possam ser emitidos com rapidez, sem esperar que o  $^{99}\text{Mo}$  decaia. Os testes com cartuchos de troca iônica para retenção do  $^{99}\text{Mo}$  indicaram que os cartuchos empacotados com alumina (ácida, básica e neutra) são os mais eficientes, com porcentagens de retenção acima de 99% em meio HCl pH 1,5. No entanto, esses cartuchos acabam retendo também porcentagens significativas de Ru e Te.

### Conclusão:

Os resultados mostram que a separação do  $^{99}\text{Mo}$  é uma etapa necessária para detecção e quantificação

de impurezas emissoras gama nos níveis estabelecidos pela Farmacopeia Europeia. Cartuchos de troca iônica empacotados com alumina se mostram promissores na separação do  $^{99}\text{Mo}$ . Porém a retenção de parte das impurezas é uma desvantagem do método.

**Apoio Financeiro:**

Os autores agradecem à CNEN (Comissão Nacional de Energia Nuclear) pelo apoio financeiro.

## OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE (18F)FLUORAÇÃO DO GRUPO PROSTÉTICOS 4-NITRO-BENZALDEÍDO PARA RADIOMARCAÇÃO DE PEPTÍDEOS

Evangelista, M. J. A. , Luz, C. P. , Carvalho, R. H. F. , Marques, F. L. N. ,

Medicina Nuclear - ICESP Laboratório de Medicina Nuclear (LIM43) - LIM43-HCFMUSP

Departamento de Radiologia - FMUSP

### Introdução:

Radiofármacos derivados de peptídeos têm ganhado importante espaço em pesquisa básica e como agente de diagnóstico clínico, por permitir observar a interação desses peptídeos em processos biológicos, tanto por medidas in vitro quanto por imagem. O radioisótopo (18F)flúor tem sido utilizado para marcar os peptídeos, mas o processo não ocorre de forma direta; inicialmente é necessário marcar uma molécula orgânica, muitas vezes chamadas de grupo prostético, e depois conjugar essa molécula ao peptídeo.

### Objetivos:

O objetivo desse trabalho é estudar as melhores condições reacionais para (18F)fluoração do grupo prostético 4-nitrobenzaldeído.

### Métodos:

Projeto não utilizou animais ou órgãos e fluidos humanos. O (18F)fluoreto foi obtido da reação  $180(p,n)18F$ , bombardeando  $H_2[18O]$  por íons  $H^+$  acelerados em um ciclotron GE (16 MeV). O (18F)fluoreto foi ativado por formação do par iônico  $[K(Kriptofix 2.2.2@)]^+ (18F)^-$  e destilação azeotrópica da  $H_2O$  utilizando acetoneitrila. As reações de fluoração foram realizadas sobre o 4-nitrobenzaldeído em acetoneitrila, utilizando massas de 1 a 10 mg do aldeído, e aquecimento convencional a 100 oC ou 110 oC por 1, 5 e 10 min, ou aquecimento microondas (100 W / 30oC) por 1, 2 e 4 min. Os rendimentos das marcações foram verificados através de cromatografia em camada delgada, em suporte TLC-SG-RP e acetona, e analisados em detetores de radiação.

### Resultados:

Para a (18F)fluoração de 4-nitrobenzaldeído, a 100 oC por 10 min, os rendimentos obtidos em acetoneitrila foram: 1 mg = 6,51 %; 5 mg = 10,81 % e 10 mg = 48,55 %; fixando a massa em 5 mg e temperatura de 110 oC, os rendimentos foram: 1 min = 6,05 %; 5 min = 8,51 % e 10 min = 22,6 %; no aquecimento por micro-ondas, com massa de 5 mg, os resultados foram 1 min = 11,4 %; 2 min = 22,3 % e 4 min = 25,1 %. Assim, ficou evidente que o aumento de massa do substrato e tempo de reação melhorou o rendimento, todavia, quando se fixa a massa em 5 mg e tempo de 10 min, a variação de temperatura em 10 oC, o rendimento dobra. O uso do micro-ondas permitiu reduzir drasticamente o tempo de reação, com manutenção de rendimento na casa dos 20 %.

### Conclusão:

Os resultados obtidos demonstraram a importância do efeito da massa, temperatura e tempo no processo, e outras interpolações necessitam ser realizadas para melhorar os resultados. Todavia, o uso do micro-ondas indica ser uma alternativa para permitir diminuir o tempo de reação, o que é limitante em reações radioquímicas.

### Apoio Financeiro:

FAPESP 2010/14342-2 e 2011/10565-0



# DOSE DE RADIAÇÃO PROVENIENTE DA 18F-COLINA EM PACIENTES COM CÂNCER DE PRÓSTATA SUBMETIDOS AO EXAME PET/CT PARA ESTADIAMENTO E REESTADIAMENTO

Gama, P. A. M. , Ferreira, D. R. , Anjos, F. A. , Alves, N. F. , Mamede, M. ,  
Unidade de Pesquisa e Produção de Radiofármacos - CDTN Departamento de Anatomia e Imagem - FM-UFMG

## Introdução:

No Brasil, o câncer de próstata (CP) é o segundo tipo de câncer mais comum entre os homens. Em 2011, o Instituto Nacional de Câncer (INCA) estimou 13.129 mortes por CP no Brasil e a estimativa de novos casos é de 68.800 mil homens com o câncer em 2014. A tomografia por emissão de pósitrons (PET) associada à tomografia computadorizada (CT) (PET/CT) é uma modalidade de imagem eficiente, sensível e acurada para diagnóstico e acompanhamento de pacientes com câncer. A 18F-colina (18F-FCH) é um radiofármaco recentemente introduzido na tecnologia PET/CT para avaliação de pacientes com câncer de próstata e sua acurácia no estadiamento e reestadiamento dessa doença tem sido avaliada por diversos autores. A colina é um componente da fosfatidilcolina, elemento importante na composição das membranas celulares. A biossíntese da membrana celular é muito rápida em tecidos tumorais devido à replicação celular e a regulação da atividade da colina quinase, particularmente aumentada em células do CP, induz a uma maior captação da colina. Para uma avaliação correta da dose de radiação no paciente e da otimização dos protocolos de imagem, é necessário um conhecimento da biodistribuição e cinética dos compostos administrados. Em 2014, a Comissão Internacional de Proteção Radiológica (ICRP) publicou o quarto adendo do relatório `A dose de radiação para pacientes de radiofármacos` (Publicação 53). Este relatório fornece modelos biocinéticos, dose absorvida e dose efetiva por unidade de atividade administrada para cinco novos radiofármacos, incluindo a 18F-colina.

## Objetivos:

Estimar a dose de radiação proveniente da 18F-FCH em pacientes com câncer de próstata submetidos ao exame de PET/CT para estadiamento e reestadiamento.

## Métodos:

CAAE 09288112.0.0000.5149 Para avaliar a dose de radiação proveniente do exame de PET devido à atividade do radiofármaco injetado no paciente, foram utilizados modelos de distribuição da 18F-FCH propostos pela ICRP 53 (Adendo 4). O modelo biocinético é baseado em trabalhos científicos e apresenta valores de dose absorvida por unidade de atividade administrada. A atividade radioativa injetada nos pacientes foi calculada com base em sua massa corporal. Neste estudo, foi considerado um fator de 3.7 MBq/kg e utilizados os dados de 18 pacientes com idade entre 53 e 65 anos. O protocolo utilizado foi mesmo para todos os pacientes com varredura da base crânio à raiz da coxa.

## Resultados:

A média  $\pm$  SD da dose efetiva devido à incorporação do radiofármaco foi de  $(4,53 \pm 0,79)$  mSv. Os órgãos que apresentaram maior média  $\pm$  SD de dose absorvida foram os rins  $(25,88 \pm 4,53)$  mGy, o fígado  $(16,28 \pm 2,85)$  mGy e a bexiga  $(15,74 \pm 2,75)$  mGy.

## Conclusão:

É possível observar que o órgão que apresentou maior dose absorvida foi os rins, uma vez que, a excreção da 18F-FCH é renal. Assim, além da otimização das atividades administradas em pacientes com câncer próstata submetidos ao estudo de PET/CT com 18F-FCH, medidas para aumentar a excreção renal do radiofármaco deve ser considerada na prática clínica.

## Apoio Financeiro:

## AVALIAÇÃO IN VITRO DO POTENCIAL CITOTÓXICO DA 2-ALCILCICLOBUTANONA EM CÉLULAS HEPÁTICAS

Barbezan, A. B. , Sales, B. R. , Santana, L. V. , Martins, R. , Santelli, G. M. M. , Villavicencio, A. L. C. H.  
Centro de Tecnologia das Radiações – IPEN

### Introdução:

A irradiação de alimentos apresenta-se como um método seguro para a preservação e armazenamento em longo prazo, quando comparada a outros métodos químicos de conservação de alimentos, os quais deixam resíduos tóxicos (Agric. Food Chem. 51; 927, 2003). A irradiação de alimentos é realizada através da utilização de feixes de elétrons acelerados, raios-X ou radiação gama ( $^{60}\text{Co}$  ou  $^{137}\text{Cs}$ ). As 2-Alcilociclobutanonas (2-ACBs), surgem quando os triglicerídeos, que são ácidos graxos e estão presentes nos alimentos são submetidos a irradiação (J. Food Prot. 67; 142, 2004). O ácido graxo em questão a ser estudado é o palmítico que quando irradiado forma 2 - dodecilociclobutanona (2-DCB). Enquanto alimentos irradiados têm muitas propriedades benéficas conhecidas, o efeito de consumo a longo prazo dos alimentos irradiados permanece desconhecido, vários fatores dietéticos, incluindo lipídios que variam em tipo e quantitativamente em ácidos graxos em sua composição de ácidos podem influenciar na patogênese do câncer do cólon pois já se sabe que parte é eliminada através das fezes e parte permanece depositada nos tecidos adiposos (Div. Can. Prev. Am. Hel. Fond. Can, 2003). A investigação aprofundada do efeito de 2-ACBs em vários tipos de cânceres (principalmente os que podem surgir no trato digestório devido ao acúmulo de gordura visceral) é extremamente importante, neste trabalho em específico câncer hepático.

### Objetivos:

Avaliar possíveis danos citotóxicos, através do teste de viabilidade celular MTT observando a influência de diversas concentrações da Dodecilociclobutanona em diferentes tempos de incubação em células hepáticas das linhagens HEPG2, BRL3A e HTC.

### Métodos:

Experimentos realizados somente em linhagens celulares in vitro. O composto 2-DCB foi solubilizado em etanol a 2%. As linhagens celulares derivadas de hepatocarcinoma humano (HepG2), hepatocarcinoma de rato (HTC) e fígado normal de rato (BRL3A), foram cultivadas em meio de cultura suplementado com 10% de soro fetal bovino. As células foram plaqueadas na densidade de  $5 \times 10^3$  HepG2,  $4 \times 10^3$  BRL3A e  $2 \times 10^3$  de HTC cél/poço numa placa de 96 poços. O efeito citotóxico da 2-DCB foi avaliado nas concentrações de  $100\mu\text{M}$ ,  $300\mu\text{M}$  e  $500\mu\text{M}$ , durante 24 e 48 horas. Os testes foram realizados de acordo com instruções do kit CellTiter 96 Aqueous Non-radioactive Cell Proliferation Assay, em triplicatas (biológica e experimental) e os resultados foram analisados pelo programa Prisma GraphPad.

### Resultados:

Em 24h nenhuma linhagem celular apresentou sensibilidade nas concentrações testadas. Em 48h 25% das células HepG2 foram sensíveis na concentração de  $500\mu\text{M}$ . O efeito citotóxico da 2-DCB para linhagem BRL3A o composto foi citotóxico em todas as concentrações, sendo que o efeito foi dose dependente. Na linhagem celular HTC 55% das células foram inviabilizadas na concentração de  $500\mu\text{M}$ .

### Conclusão:

O composto 2-DCB apresenta citotoxicidade em 48h em todas as linhagens estudadas sendo que as linhagens BRL3A e HTC o efeito é dose-dependente. Estudos mais aprofundados são necessários para identificar os mecanismos moleculares pela qual a composto em questão atua.

### Apoio Financeiro:

IPEN/CNEN e CNPQ

## BIOPHYSICAL AND TOXICOLOGICAL CHARACTERIZATION OF POLYMERIC NANOPARTICLES

Patricio, B. F. C. , Prieto, M. J. , Feas, D. , Martinez, C. , Alonso, S. D. V. , Bisch, P. M. , Weissmuller, G. ,  
Laboratório de Física Biológica - UFRJ Laboratorio de Biomembranas – UNQ

### Introdução:

The use of nanoparticles as drug carriers promises properties such as controlled, prolonged and sustained release of the active ingredient, reduction of the required dose for therapeutic effect and the toxic effects. In addition, it is well known that in inflamed tissue, the endothelium possess around 250 nm gaps between cells, so particles with size between 4-250 nm will deliver the therapy through the unhealthy endothelium only. However this kind of therapy requires a toxicological study. The use of zebrafish (*Danio rerio*) to study acute and chronic toxicity of drug and nanoparticles are growing. They are relatively easy to use and give a first idea of the biodistribution of the nanoparticles.

### Objetivos:

The aim of this study is to produce polymeric nanoparticles, evaluating the parameters in relation to the size of the nanoparticles.

### Métodos:

CE-UNQ 2/2014 Nanoparticles were produced by the method of double emulsion using poly-lactic acid (PLA) and poly-vinyl alcohol (PVA) as polymers. During this process, we test changes in the output power (55, 60 and 90W) to obtain smaller nanoparticles. The nanoparticle morphology and dimension of the nanoparticles were obtained by atomic force microscopy (AFM) using PeakForce Tapping Mode (PFQNM)® and light scattering and were analysed by ANOVA nonparametric test using Graphpad Prism®. The toxicity of the nanoparticles were tested on zebrafish WT. It was analyzed neurotoxicity (N=8/group), cardiotoxicity, hepatotoxicity and histological changes (N=5/group) in three concentration of each nanoparticles produced. The results were analyzed with ANOVA test using Graphpad Prism®. All experiments were approved by the ethical committee of Universidad Nacional de Quilmes (CE-UNQ 2/2014).

### Resultados:

The nanoparticles exhibited spherical shapes, when analyzed through AFM topographic images. In the adhesion and elasticity images it was possible to determine a heterogeneous surface of the nanoparticles, probably because of the use of different polymers in the preparation. The average and size range of the nanoparticles were different depending on the output power of sonication. The best output power was 60W with a mean size of  $150 \pm 57$  nm with the lower size of 23 nm and the higher size of 470 nm. Nanoparticles did not present neurotoxicity. Nanoparticles produced with 55W shown a higher hepatotoxicity. Higher concentrations of nanoparticles produced with 60 and 90W induces tachycardia and low concentration of these same nanoparticles induces bradycardia.

### Conclusão:

Nanoparticles of PLA/PVA were successfully manufactured by the double emulsion methodology and this new mode of analysis by AFM allows the evaluation of the nanoparticles physical properties. Also, it was possible to determine optimal output power sonication to produce nanoparticles, which can be used in further studies. With the zebrafish model it was possible to have an idea of the biodistribution of the nanoparticles and the most affected organs.

### Apoio Financeiro:

Capes, Faperj, CNPq

## **PROTOCOL TO TREAT PEOPLE WITH WOUNDS CONTAMINATED WITH RADIOACTIVE MATERIAL STANDPOINT OF RADIOLOGICAL PROTECTION**

**Tauhata, L. , Reis, A. A. , Neto, L. B. , Cruz, P. A. L. , Lopes, A. G. ,**

**Metrologia - IRD/LNMRI Dosimetria - DIDOS/IRD Health Physics Measurements, Radiation Protection - LANL**

### **Introdução:**

In many laboratories is common handle ampoules, flasks and jars containing radionuclide solutions for performing measurements, markings and conducting radiochemical steps procedures. In these operations can occur accidental rupture of these glassware and cause cuts and injuries, with penetration of chemical and radioactive material in the body of the operator. The physical-chemical properties define the degree of solubility of the material. When the incorporation of radioactive material occurs through wound, the material incorporated immediately comes into contact with blood. Once in contact with the blood, which is considered the transfer compartment, the material will have the behavior described by the biokinetic models presented by the International Commission on Radiological Protection (ICRP) 56 (1990), 67 (1992), 69 (1995) and 71(1995). If the incorporated compound is soluble, on contact with the blood, it will be dissolved and distributed throughout the body, depositing contaminant with chemical affinity and is excreted mainly via feces and urine. If the compound is insoluble, much of the radioactive activity is retained at the wound site. According to the Report No.156, 2006 of the National Council on Radiation Protection and Measurements (NCRP), the scientific literature contains reports of cases in more than 2,100 wounded contaminated with radionuclides. It was highlighted that: - The vast majority of infected wounds occurred in facilities involved in the production, manufacture or maintenance of nuclear weapons components and the contaminants involved were actinides (uranium, plutonium and americium); - More than 90% of injuries occurred in the hands and arms, particularly in the fingers; - About 90% of the wounds were involved in mechanical damage perforations; chemical burns and acid solutions. The vast majority of these reported injuries occurred with workers in facilities that process plutonium. Since 1990, the use of depleted uranium (DU) munitions in military resulted in injuries in combat with shrapnel of this material. One of the dramatic and recent cases occurred during the Iraq war, when 21 American vehicles (tanks and armored cars) were bombarded by the American air force, with missiles made with depleted uranium (DU). In this event, 11 soldiers were killed and about 50 others were severely wounded, requiring special medical care. The depleted uranium contains about 99.8% <sup>238</sup>U mass, has high density and very high degree of hardness that allows use in ammunition to pierce tanks and armored cars. When a bullet pierces a tank, DU is fragmented into many pieces with high temperature and speed and reaches all its occupants. These occurrences demanded hard work for teams of radiation protection technicians and medical staff, involving detection techniques and dosimetry to evaluate possible potential doses, X-rays to locate and measure the fragments in the bodies of soldiers, biokinetic models to monitor contamination and its consequences and the use of specialized surgical resources. In addition to the contaminated wounds resulting in industrial and military situations, the medical use of radioactive materials as a radiographic contrast agent may result in the development of granulomas at the sites of injection, a kind of foreign body reaction complicated by the radiation spot. While there are numerous biokinetic and dosimetric models for radionuclides intake by inhalation, ingestion and injection, for use in accident situations in nuclear and radioactive facilities, a model of treatment for the infection of a person through contaminated wounds does not have the same degree of evolution, consensus and security than in previous cases. Since the mid-1990s the NCRP in collaboration with the ICRP established a scientific committee to develop a biokinetic model, which permits to estimate the absorbed dose in all organs and the whole body, including the most likely path taken by the radionuclide attached to the chemical and the most affected organs. This resulted in the NCRP Report 156 which submitted a comprehensive review and, in some cases, including the

reanalysis of the data related to the animal behavior biokinetic radionuclides wounds. The data were used to set values for the parameters of a comprehensive compartmental model based on biochemical and physiological response of the body to a wound. Information is also presented on the etiology of wounds contaminated with radionuclides and biological processes of healing, including carcinogenesis and strange body responses. The NCRP report 156 details the main methods of measurement, monitoring and dosimetry wounds contaminated with radionuclides, medical management of injuries, chelation techniques and decontaminating chemicals. They are provided many data studies with  $^{239}\text{Pu}$ ,  $^{241}\text{Am}$ ,  $^{232}\text{Th}$ ,  $^{235}\text{U}$ ,  $^{85}\text{Sr}$ ,  $^{137}\text{Cs}$  and Depleted Uranium and  $^{227}\text{Ac}$ . Human data of occupational exposures, military and medical are provided to relate the results obtained in animals with human experience. Dose coefficients for local doses and organs are presented, as well as a summary of the wound monitoring methodology. Finally, the current procedures for the treatment of infected wounds are discussed.

### **Objetivos:**

The lack of a protocol setting out the procedures and places to care for victims with injuries for measuring contamination, first aid and referred to a specialized medical center in the area, indicates the degree of doubt and uncertainty that an institution or a society may face when the occurrence of one or more events of this kind. For this reason, the objective of this work is to establish a protocol for treating victims of injury with radioactive material from the standpoint of the Radiological Protection. To exemplify the protocol, possible emergency situations in the source preparation at National Metrology Laboratory on Ionizing Radiation (LNMRI) from Institute for Radiation Protection and Dosimetry (IRD) are discussed.

### **Métodos:**

Não se aplica, o trabalho NÃO utiliza experimentação animal e nem humana. The method of working involves the determination the nature, activity of the radionuclide and the chemical form in which it lies when its penetration into the body via a wound. With this data it is possible to estimate the equivalent dose and effective dose, in the various organs components of the human body and whole body and particularly, the induced biological effect by the radioactive compound, directly or indirectly. This estimate is made, using a computer program for evaluating the committed dose and effective dose, called AIDE (Activity and Internal Dose Estimates) (BERTELLI et al, 2008) that provide the dose conversion factors. With this estimation, the chelation procedures or mitigation the potential damage to the victim, may be suggested according the nature of the radionuclide, the type of compound and the site of injury, as first care. Then the victim will be referred to a specialized medical center and monitored by radiation protection technicians to release the patient. The procedures adopted in the treatment of victims will be based on an estimated activity built during the accident, as recommended by the publication NCRP Report 161, 2008.

3.1. Inventory of radionuclides This paper suggests establishing the inventory of radioactive material used by the institution, the activities and physical and chemical form involved. In the inventory, the radionuclides that can cause higher dose or physical harm should be marked and need to be handled with most care. For example, in the LNMRI, the radionuclides used for preparing and supplying calibrated radioactive sources for the country.

3.2. Selection of the most important radionuclides for protocol development The selection of the radionuclide from the inventory cataloged, as a first approximation, is made using criteria as that have the biggest value of dose coefficient values using the, the degree of dangerous associated to its physicochemical proprieties, the requirements of experimental procedures for the measurement of the activity in the wound and the rest of the body, as also de decontamination process. The values of dose coefficients are published for radionuclide ingestion in the ICRP 67 and 69, for inhalation in ICRP 71 and Intake in ICRP 72 (1995).

3.3. Measurement System Among the procedures for answering an emergency situation, a key concern is to check the health of the victim. After that it is need to seek information on the type of incident if has radioactive material involved, to prepare for first aid

procedures. If the presence of radioactive material is confirmed, the service should only be started with the use of personal protective equipment, so there is no contamination of the attendant technician. In many emergency situations is not possible to choose the appropriate or the best detector, for example, when one group of people is bombarded with artifact containing radioactive material. In this case, it uses what is available at the moment. The choice of the measurement system or detector depends of the type of radionuclide radiation, technical procedure to be done, the victim's status and the accident scenario occurred.

3.3.1. To check the presence of radioactive material in the wound To check the presence of radioactive material in the wound a very sensitive detector is required, but the other its metrological properties not need to be so good. In this case, the use of a portable detector like a Personal Radiation Detector PRD, constituted by a Geiger-Muller tube and one NaI(Tl) or CsI(Tl) detector coupled, is very useful. For the same purpose, the use of portables NaI(Tl) or Proportional counter are efficient. In many institutions or emergency attendance groups, the use of coupled Geiger-Muller probes is very frequent.

3.3.2. Identification of the radionuclide To identify the radionuclide and determine its activity in the wound various measurement systems can be used. One most used is the IdentiFINDER detector, constituted by a NaI(Tl) cristal with multichannel in the electronic processor, that make the counting and shows the spectrum of the radionuclide. Other detector that should primarily be used is the Cadmium telluride detector, which allows the identification of the radionuclide by detecting X-rays and / or gamma radiation emitted by it, with high resolution in energy. Depending on the chosen radionuclide would be very useful for surgical debridement purposes to determine the depth of contamination within the soft tissue by, for example, ratios between measures of low energy X-rays or using the attenuation curves of gamma radiation emitted by the radionuclide with many kinds of portable detectors and laboratory set-up system. Theses attenuation curves are obtained, in the laboratory, using thin layers of absorber of equivalent tissue material, with many types of experimental set-up, like: without collimation and shielding, with collimation, with collimation and shielding.

3.3.2. Activity Determination The determination of the activity of the radionuclide will be performed through the use of calibration and efficiency curves constructed with standard radioactive sources like as existing in the in LNMRI, for each kind of detector available. Using the measurements data of counting or dose equivalent rate in the established distance from the surface of the person with wound and the attenuation curve for the present radionuclide, is possible to obtain one estimate of the activity of the fragment or source in one depth estimated or measured.

3.3.3. Determination of contamination in the body If possible or needed, calibration procedures and measures in vivo using the whole-body counter are made to quantify the activity of the radionuclides in the event of wound contamination by soluble substance. Normally, this kind of measurements made for a follow-up of the decontamination process of the victims in the specialized medical center.

3.4. Estimation of the dose and efficacy of decontamination procedures The estimate of committed equivalent dose in organs and effective dose will be made using the software AIDE. This program calculates the activity and the internal dose from the specification:

- contamination via: inhalation, ingestion, injection and wound;
- radionuclide;
- type of merger: acute, continuous or periodic;
- quantities to be calculated: the absorbed dose, equivalent dose,
- fraction of gastrointestinal absorption by blood, transport parameters;
- biokinetic model;
- type of output results: activity excreted in urine and feces and retained in organs.

The program also allows the interpretation of bioassays: in vivo and in vitro. A comparison of the dose values obtained through injury measurements performed before the decontamination procedures and those obtained through in vivo measurements after decontamination can provide quantitative indicators on the effectiveness of decontamination performed.

3.5. Detectors used and laboratory infrastructure For the realization of the measurement in the laboratory, the detectors used are: a)- IdentiFINDER NHG, 1.4"x 2" NaI(Tl) and an internal GM tube, Flir model; b)- Cadmium Telluride detector c)- High Pure Germanium

detector The measurements were made in Radionuclide Metrology Laboratory of LNMRI of the IRD, which has currently many absolute and relative calibration systems of radionuclide and other detection systems.

### Resultados:

To exemplify the type of measurements made, the Figure 1 shows the results obtained for  $^{241}\text{Am}$  as radionuclide and attenuation curve, using the polymethyl methacrylate as tissue-equivalent material as absorber, with experimental set-up without collimation and shielding. Figure 1: Attenuation curve for 60 keV of  $^{241}\text{Am}$  with polymethyl methacrylate as tissue equivalent material as absorber, and IdentiFINDER detector. Using the relative difference of dose equivalent rate counting between two points, and one estimate of wound depth in the victim, is possible to obtain the activity of the fragment or its value in their medium point, or the equivalent dose rate correspondent. To illustrate the different procedures of measurements in real situation of the scenario of the accident occurrence and using different detectors, the results are shown in the Figure 2. Figure 2: Attenuation curves for 60 keV of  $^{241}\text{Am}$ , obtained with different detectors, using as quantity the Dose Equivalent rate in tissue, simulated by polymethyl methacrylate. To show the influence of the set-up arrangement, different situations are shown in the Figure 3, and the data are compared with the expected value published by the National Institute of Standards and Technology (NIST), USA. Figure 3: Attenuation curves with IdentiFINDER detector. It is seen that in good conditions of measurements, the experimental value obtained for attenuation coefficient is nearly to the theoretical or expected value in about 5%.

### Conclusão:

With the sequence of the experimental measurement suggested in this work is possible to construct the one protocol for attendance the victims with wound with radioactive material before to transfer the victim to specialized medical center for treatment and decontamination. ANEXO PROTOCOL FOR ACCIDENT WITH CONTAMINATION RADIOACTIVE MATERIAL In an accidental situation of contamination by radioactive material in a laboratory that makes handling radioactive sources, whether in the form of solution or powder, must follow a protocol of first aid measures. However, there is not a protocol with this information in the National Laboratory of Metrology of Ionizing Radiation (LNMRI) of the IRD. In the IRD, handling solution in ampoule involves breaking the same, so it is essential to pay much attention and be careful, however, can happen some ampule be very old and the glass be more fragile or operator break the wrong way the ampoule, accidentally to stick with the glass and be contaminated by the solution of material. As a result, the operator can receive a dose internal, depending on the type of radionuclide and their activity. Below are some essentials steps that must be performed when there is this type of accident · The patient must first be stabilized; · To evaluate whether there were internal and external contamination; · In the case of external contamination, contaminated clothing should be removed; · The area of ??contamination must be determined and surrounded, and the paged alarm signal; · It is necessary to wash the area that was damaged with a physiological saline solution or soapy water for a few minutes to prevent further incorporation of radioactive material through the wound. It is contraindicated the use of hot water due to subsequent vasodilation, which can increase the uptake of the radionuclide; · The medical physicist must start with the identification and quantification of contaminants radionuclides through a portable detector that is available. If the detector used is a PRD it only indicates whether there is contamination. Already identifiers, such as IdentiFINDER, identify the radionuclide and provides the dose rate which if determined in two points, can to estimate depth of the wound contamination; · After the identification of the radionuclide, dose rate and its energy of emission is possible to obtain incorporated activity; · If such intake activity remains high, it is recommended to perform an in vivo counting at whole body counter and collect biological samples for in vitro analysis; and treatment with decontamination agents may be sufficient in that cases or, in more severe cases, the excision of the contaminated tissue should be considered;

Measurements more accurate with the solid state detector can be useful to provide reliable results;

- Feeding AIDE software with bioassays data can obtain activity in each organ, as well as the committed and equivalent doses. Also can be used tables from “Dose Coefficients for Intakes of Radionuclides via Contaminated Wounds” (2014) to obtain the activity and doses estimates;
- The effectiveness of decontamination process and activity values that remain can be obtained by repeating the previous measurements;
- If the doses are still high, the patient should be referred to the Naval Hospital Marcilio Dias who specializes in this type of treatment, for better evaluation. Therefore, it is necessary to contact the professional hospital and give then all previous information;
- All information must be documented by the radiation safety and medical personnel;
- Ideal situation: it is necessary have a radiation protection security staff and medical staff available at the contamination site;
- The occurrence of internal contamination with or without damage should be sending to a hospital emergency department or facility for special radiation treatment (if available) to medical treatment and evolution, as well as evaluation of internal contamination.

**Apoio Financeiro:**



## HUMORAL IMMUNE RESPONSE AGAINST NATIVE AND COBALT 60-IRRADIATED PARATRYGON AIEREBE RAYS VENOM

Thomazi, G. O. C. , Alves, G. J. , TurÍbio, T. O. , Aires, R. S. , Seibert, C. S. , Spencer, P. J. , Nascimento, N.

Centro de Biotecnologia - IPEN - CNEN/SP

### Introdução:

Poisonings and traumas caused by poisonous freshwater fishes such as rays are considered a major public health problem and the therapy of these cases is based only on the symptoms of patients, which implies in its low efficiency, causing suffering for the victims. Injuries are painful, difficult to heal, cause extensive necrosis and systemic effects, such as fever, cold, sweating, nausea, vomiting and agitation (HADDAD JR. 2003; HADDAD JR. et al., 2004.). The composition and mechanism of action of ray venoms are the subject of several studies and have not been fully elucidated. Besides the venom, the mucus that covers the back of these animals also features toxic activity (DOS SANTOS et al., 2011). Freshwater stingrays are divided in four genera (Potamotrygon, Paratrygon, Plesiotrygon and Heliotrygon) and most studies are related to the Potamotrygon genus, although Paratrygon rays present a wide geographic distribution in Brazil (FREDERICK et al., 2012) and are responsible for a large amount of accidents. In this sense, this study aims to evaluate and compare the humoral immune response in animals inoculated with venom or mucus of Paratrygon aiereba rays in their native and irradiated with  $^{60}\text{Co}$  form. Ionizing radiation has proven excellent as a tool in decreasing toxicity of venoms and isolated toxins resulting in better immunogens for the production of serum, contributing to the welfare of the serum producing animals.

### Objetivos:

In the specific case of accidents by rays, as there is no specific treatment, this study may enable the development of an appropriate serum therapy.

### Métodos:

IPEN/SP n.º 126/13 P. aiereba rays were collected in Ribeirão do Carmo, a Tocantins River tributary in Porto Nacional ? TO (license n.º 45407-1/ICMBio). All captured animals were deposited in the fish collection of the Federal University of Tocantins. The mucus samples (800?g/mL) and venom samples (400?g/mL) of P. aiereba were irradiated for 2 hours at 2kGy using gamma rays from a  $^{60}\text{Co}$  source at room temperature and in the presence of atmospheric oxygen. Animal experimentation was carried out as approved by the Ethics Committee on the use of animals IPEN/SP n.º 126/13, where Swiss female mice (~22g) were immunized with the native mucus venom and New Zealand rabbits (~3,5 kg) were immunized with the mucus or venom irradiated with  $^{60}\text{Co}$ . The antibodies were titrated by ELISA.

### Resultados:

The preliminary results show that the antibody produced against mucus was able to recognize the venom. This finding is very important since the mucus is present in biggest amounts, is easier to get than the venom and it can be used without killing de rays. It's known that the irradiation process can abolish the proteolytic activity, the main responsible for injury in the animals employed in the serum production.

### Conclusão:

So, when the rabbits were immunized with irradiated ray venom, we promoted animal welfare and also got antibodies that also could recognize non irradiated ray venom.

### Apoio Financeiro:

CNPq e IPEN-CNEN/SP

BIOFOTÔNICA,  
FOTOBIOLOGIA  
&  
VIBRAÇÕES  
MECÂNICAS

BIOPHOTONICS,  
PHOTOBIOLOGY  
&  
MECHANICAL VIBRATION

## **LASER DE BAIXA POTÊNCIA MODULA A EXPRESSÃO GÊNICA DE ISOFORMAS DE CADEIA PESADA DE MIOSINA (I E II), MIOSTATINA E CALCINEURINA DURANTE O REPARO DO MÚSCULO ESQUELÉTICO DE RATO**

**Alves, A. N. , Fernandes, K. P. S. , Ribeiro, B. G. , Horliana, A. C. R. T. , Bussadori, S. K. , Mesquita-ferrari, R. A. ,**

**Pós-graduação em Ciências da Reabilitação - UNINOVE Pós-graduação em Biofotônica Aplicada às Ciências da Saúde - UNINOVE**

### **Introdução:**

A determinação do tipo de cadeia pesada de miosina (CPM) expressa é um ponto muito importante no processo de reparo muscular já que reflete tanto o progresso do processo de diferenciação quanto à capacidade e tipo de contração (lenta ou rápida) da fibra muscular ao longo do processo de reparo. As características fenotípicas predominantes das fibras musculares é determinada pela composição e tipos da CPM presentes na unidade contrátil do tecido muscular que é regulada por proteínas envolvidas no trofismo muscular, tais como miostatina (MSTN) e calcineurina (Cn). Nos últimos anos, o laser de baixa potência (LBP) tem emergido com uma opção para o tratamento de lesões musculares e tem mostrado efeitos positivos sobre a modulação do reparo muscular. Contudo seu efeito sobre a modulação da expressão de isoformas de CPM, MSTN e Cn durante o processo de reparo ainda não foi investigado.

### **Objetivos:**

Avaliar os efeitos do LBP sobre a expressão gênica de CPM I (contração lenta), CPM II (contração rápida), MSTN e Cn durante o reparo do músculo esquelético.

### **Métodos:**

AN0009/2013 A metodologia deste estudo foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animais da Universidade Nove de Julho. Foram utilizados 49 animais ratos, machos, da linhagem Wistar, com 14 semanas de idade e pesando entre 200-230 gramas divididos em 03 grupos: (1) Grupo controle (n=7); (2) Grupo criolesionado sem tratamento (n=21) e (3) Grupo criolesionado tratado com LBP (n=21). Os grupos criolesionados foram analisados em 3, 7 e 14 dias após a indução da lesão. A criolesão foi realizada por meio de duas aplicações de um bastão metálico de extremidade plana previamente resfriado em nitrogênio diretamente no ventre do músculo tibial anterior (TA). O tratamento iniciou-se 2h após a indução da lesão e foi realizado diariamente utilizando o LBP com comprimento de onda 780 nm, potência de saída 40 mW, área do feixe de 0.04 cm<sup>2</sup>, densidade de energia de 10 J/cm<sup>2</sup>, tempo de aplicação 10 segundos por ponto, 8 pontos irradiados e energia total de 3.2 J. Após os períodos experimentais, os animais foram eutanasiados e os músculos TA foram removidos para a extração do RNA total e análise dos genes CPM I e II, MSTN, Cn e GAPDH por PCR em tempo real. Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística (ANOVA/Tukey; p<0,05).

### **Resultados:**

Os resultados demonstraram que após três dias o tratamento com o LBP foi capaz de promover uma redução na expressão gênica de CPM tipo I (0,43±0,21 vs 0,88±0,22 UA; p<0,001), CPM II (0,62±0,16 vs 1,12±0,28 UA; p<0,01) e Cn (0,52±0,06 vs 1,16±0,15 UA; p<0,001) em comparação ao grupo lesionado que não recebeu tratamento. Já após sete dias o tratamento com LBP promoveu redução na expressão gênica de CPM tipo II (0,57±0,09 vs 1,01±0,15 UA; p<0,01) e Cn (0,55±0,13 vs 1,01±0,12 UA; p<0,001) em comparação ao grupo lesionado que não recebeu tratamento. Contudo, em 14 dias o tratamento promoveu redução na expressão gênica de Cn (1,40±0,31 vs 2,10±0,55 UA; p<0,05) e aumento na expressão gênica de MSTN (1,26±0,23 vs 0,89±0,18 UA; p<0,001) e CPM tipo II (1,02±0,21 vs 0,65±0,06 UA; p<0,01) em comparação ao grupo lesionado que não recebeu tratamento.

**Conclusão:**

O LBP promoveu efeitos positivos modulando a expressão gênica de isoformas de CPM, MSTN e Cn durante o reparo do músculo esquelético.

**Apoio Financeiro:**

UNINOVE, FAPESP (2013/21540-3; 2014/12381-1) e CAPES.

## **VIABILIDADE CELULAR, PRODUÇÃO DE RADICAIS LIVRES, APOPTOSE E NECROSE EM CULTURAS DE MIOBLASTOS EXPOSTOS A LASER INFRAVERMELHO DE BAIXA POTÊNCIA**

Trajano, L. A. S. N. , Silva, C. L. , Carvalho, S. N. , Cortez, E. , Mencialha, A. L. , Fonseca, A. S. , Stumbo, A. C. ,

Departamento de Histologia e Embriologia - UERJ Departamento de biofísica e biometria - UERJ  
Departamento de Ciências Fisiológicas – UNIRIO

### **Introdução:**

A terapia com laser de baixa intensidade (TLBI) é considerada segura e eficaz para o tratamento de lesões musculares. No entanto, o mecanismo envolvido no efeito benéfico da terapia com laser não está totalmente compreendido.

### **Objetivos:**

Avaliar a viabilidade celular, a geração de radicais livres, a apoptose e a necrose nas culturas de mioblastos expostas ao laser infravermelho de baixa potência em fluências utilizadas em protocolos terapêuticos.

### **Métodos:**

Não é necessário o envio do trabalho para o comitê de ética porque o trabalho foi realizado com linhagem celular Culturas de mioblastos C2C12 em diferentes concentrações (2 e 10%) de soro fetal bovino (SFB), foram expostas ao laser infravermelho de baixa potência (808nm, 100mW) em diferentes fluências (10, 35 e 70J/cm<sup>2</sup>) e avaliada viabilidade celular, geração de espécies reativas de oxigênio (EROs), apoptose e necrose após 24, 48 e 72 horas. A viabilidade celular foi avaliada por ensaio de WST-1, EROs, apoptose e necrose foram avaliados por citometria de fluxo. Todos os ensaios foram repetidos 5 vezes.

### **Resultados:**

Os dados obtidos foram (média±desvio-padrão): a viabilidade celular na concentração de 2% de SFB reduziu de 100,0±0,00 para 90,4±18,33 após 24 horas, de 100,0±0,00 para 78,0±14,28 após 48 horas e de 100,0±0,00 para 74,6±13,54 após 72 horas. A exposição ao laser aumentou a viabilidade celular na fluência de 10J/cm<sup>2</sup> na concentração de 2% de SFB após 48 horas de 78,0±14,28 para 94,5±11,51 e após 72 horas de 74,6±13,54 para 89,9±12,66. Não foi observada alteração significativa na geração de EROs. A apoptose reduziu em culturas expostas a 70J/cm<sup>2</sup>, em 2% de SFB, de 8,2±2,40 para 4,6±1,27 após 72 horas e a necrose aumentou na fluência de 10J/cm<sup>2</sup> em culturas em 2% de SFB após 24 horas da exposição ao laser de 3,7±2,10 para 32,3±19,17. Não houve nenhuma alteração em culturas expostas ao laser infravermelho em 10% de SFB.

### **Conclusão:**

Os resultados mostraram que a exposição ao laser em fluências utilizadas em protocolos terapêuticos altera apoptose e necrose em culturas de mioblastos. Estes efeitos poderiam ser benéficos para o reparo do tecido muscular, dependendo das condições fisiológicas das células expostas ao laser infravermelho de baixa potência.

### **Apoio Financeiro:**

Faperj, Capes.

## EXPRESSÃO DE GENES DE REPARO DO DNA EM MIOBLASTOS EXPOSTOS A LASER INFRAVERMELHO DE BAIXA POTÊNCIA

Trajano, L. A. S. N. , Machado, A. C. S. , Sergio, L. P. S. , Mencalha, A. L. , Fonseca, A. S. ,

Departamento de Histologia e Embriologia - UERJ Departamento de Biofísica e Biometria – UERJ

### Introdução:

A terapia laser de baixa potência (TLBP) tem sido utilizada com sucesso para tratamento de diferentes doenças com base em seu efeito bioestimulatório. Entretanto, poucos estudos estão disponíveis sobre potenciais efeitos da TLBP sobre o DNA e a estabilidade genômica. Assim, a avaliação da expressão de genes de reparo DNA pode ser um importante componente da bioestimulação induzida pela TLBP.

### Objetivos:

Avaliar a expressão de genes envolvidos no reparo por excisão de bases e de nucleotídeos e genes relacionados à estabilidade genômica em mioblastos expostos ao laser infravermelho de baixa potência utilizado protocolos clínicos.

### Métodos:

CEUA/038/2012 Culturas de mioblastos C2C12, em diferentes concentrações (2 e 10%) de soro fetal bovino (SFB), foram expostas ao laser infravermelho de baixa potência (808nm, 100 mW) em diferentes densidades de energia (10, 35 e 70J/cm<sup>2</sup>) e coletadas após duas horas para extração de RNA total, síntese de DNA complementar (cDNA) e avaliação da expressão gênica pela reação quantitativa em cadeia da polimerase em tempo real para os genes: ATM, P53, ERCC1, XPC, APE1, OGG1. GAPDH foi utilizado como gene de referência.

### Resultados:

Os resultados da expressão relativa foram (média±desvio-padrão): para ATM na concentração de 10% de SFB alterou de 1,1±0,56 para 281,3±131,13 (35J/cm<sup>2</sup>) e 37,9±12,85 (70J/cm<sup>2</sup>), em 2% de SFB, de 1,1±0,35 para 66,1±35,47 (35J/cm<sup>2</sup>). Para P53, em 10% SFB, aumentou de 0,9±0,47 para 444,5±194,55 (35J/cm<sup>2</sup>) e, em 2% SFB, de 1,1±0,57 para 49,8±21,19. Para ERCC1, em 10% SFB, de 0,7±0,49 para 2205,4±1132,23 (35J/cm<sup>2</sup>), em 2% SFB, de 1,2±0,65 para 415,1±210,91 (35J/cm<sup>2</sup>). Para XPC, em 10% SFB, de 0,8±0,57 para 52,2±30,16 (35J/cm<sup>2</sup>) e, em 2% SFB, de 1,9±1,72 para 137,6±59,07 (35J/cm<sup>2</sup>). Para APE1, em 10% SFB, de 1,2±0,48 para 8,0±1,54 (35 J/cm<sup>2</sup>) e 11,9±4,31 (70J/cm<sup>2</sup>), em 2% SFB, de 1,7±0,71 para 13,6±9,90 (35J/cm<sup>2</sup>) e 22,1±1,57 (70J/cm<sup>2</sup>). Para OGG1, em 10% SFB, de 1,1±0,54 para 7,2±4,35 (35J/cm<sup>2</sup>), em 2% SFB, de 1,3±0,94 para 3,41±1,49 (10J/cm<sup>2</sup>).

### Conclusão:

Os resultados mostraram que a exposição ao laser infravermelho de baixa potência altera a expressão dos genes de estabilização genômica e de genes relacionados ao reparo por excisão de nucleotídeos e por excisão de base.

### Apoio Financeiro:

CAPES, FAPERJ.

## TERAPIA COM LASER DE BAIXA POTÊNCIA MODULA EXPRESSÃO GÊNICA DE ENZIMAS OXIDANTES E ANTIOXIDANTES NO TECIDO PULMONAR APÓS EXPOSIÇÃO AO FORMALDEÍDO

Macedo, R. S. , Gomes, F. , Leal, M. P. , Braga, T. , Camara, N. O. S. , Lino-dos-santos-franco, A. ,  
Programa de Pós-graduação em Biofotônica Aplicada as Ciências da Saúde - UNINOVE Programa  
de Pós-graduação em Imunologia – USP

### Introdução:

O Formaldeído (FA) é um agente químico amplamente utilizado em diversas indústrias, em laboratórios de anatomia, patologia, histologia, emitido pela queima de combustíveis, pela queima do gás de cozinha e também expelido na fumaça do cigarro. A literatura tem mostrado a correlação da exposição a poluentes e desenvolvimento e/ou exacerbação de doenças pulmonares. Dados obtidos no nosso grupo mostram que a exposição ao FA induz estresse oxidativo no tecido pulmonar evidenciado pelo desbalanço de enzimas oxidantes/antioxidantes (Toxicol Lett 207:278, 2011). Com o crescimento de doenças pulmonares ocasionadas pela poluição, terapias que melhorem o desconforto respiratório e também reduzam os custos despendidos com doenças pulmonares são de grande importância. Dentre as terapias usadas para patologias que acometem o pulmão, o laser de baixa potência (LBI) tem sido avaliado, uma vez que é uma terapia não invasiva e sem efeitos colaterais. No entanto, seus mecanismos necessitam ser explorados.

### Objetivos:

Investigar os efeitos do LBI sobre o estresse oxidativo no tecido pulmonar após exposição ao FA.

### Métodos:

AN0029.2014 Ratos Wistar machos (70 dias, 160g) foram expostos ao FA (1%, 90 min/dia, 3 dias) e irradiados ou não com laser de diodo (CW Diode Laser, MMOptics, 660 nm, 0.785cm<sup>2</sup>, 5J/cm<sup>2</sup>, 30mW, 60s/point, total 540s) 1 h e 5 h após cada exposição ao FA. Para obtenção de valores basais usamos ratos não manipulados. O laser foi administrado diretamente na pele em nove pontos do aparelho respiratório (traqueia e lobos pulmonares direito e esquerdo). Após 24h da última exposição ao FA analisamos as expressões gênicas de catalase (CAT), heme-oxigenase-1 (HO-1), superóxido dismutase 1 e 2 (SOD), ciclooxygenase 2 (COX-2), óxido nítrico sintase induzida (iNOS) e constitutiva (cNOS). O projeto foi aprovado pelo comitê de ética em experimentação animal da Universidade Nove de Julho com protocolo nº AN0029.2014.

### Resultados:

Os dados mostraram que o tratamento com LBI em ratos expostos ao FA aumentou a expressão gênica de HO-1 (468%)(HO-1 FA: 1,10 ± 0,09; LBI+FA: 5,10±0,52) e SOD-1 (304%)(SOD-1 FA: 2,30±0,19; LBI+FA: 7,0±0,75), enquanto não alterou a expressão de catalase (FA: 1,98±0,2; LBI+FA:1,21±0,15) e SOD-2 (FA:1,9±0,19; LBI+FA:1,83±0,21) no tecido pulmonar. Ainda, redução nas expressões gênicas pulmonares de iNOS (330%)(FA: 2,18±0,22; LBI+FA:0,53 ±0,07), cNOS (411%)(FA: 1,62±0,18; LBI+FA:0,49±0,052) e COX-2 (455%)(FA: 1,64±1,82; LBI+FA:0,35±0,038) foram observadas após tratamento com LBI. A Análise e expressão foi normalizada pela expressão de HPRT.

### Conclusão:

Tratamento com LBI reduz o estresse oxidativo induzido pela exposição ao FA através da redução de enzimas oxidantes como iNOS, cNOS e COX-2 concomitante ao aumento de enzimas antioxidantes como SOD-2 e HO-1. Concluímos que a laserterapia é uma importante ferramenta para o tratamento de doenças pulmonares caracterizadas por estresse oxidativo.

### Apoio Financeiro:

## BLACK GRAPE JUICE AMELIORATES MOTOR COORDINATION ON IRRADIATED RAT BRAIN

Araldi, I. C. C. , Freitas, R. B. , Lera, J. P. B. , Sevilla, M. F. G. , Athayde, M. L. , Bauermann, L. F. ,  
Department of Physiology and Pharmacology - UFSM Department of Pharmaceutical Sciences -  
UFSM Department of Physiology - ULE

### Introdução:

Radiotherapy (RT) is one strategy for brain tumour management. RT is delivered in fractionated doses and it can cause several neurological impairments.

### Objetivos:

Our study investigated the radiomodifying effect of black grape juice (BGJ) on motor coordination after whole brain irradiation (WBI) in rats assessed by rota-rod assay.

### Métodos:

All animals were used according to the Committee on Care and Use of Experimental Animal Resources from University of León, León, Spain. Before WBI, 40 male Wistar rats (seven weeks old, weighing 200-250g at beginning) were anesthetized with xylazine and ketamine (7.5/60mg per kg of body weight, I.P.). The animals were placed underneath a Cerrobend® plate shielding their bodies so that only the heads were exposed to X-rays, receiving 8 fractions of 4 Gy each, delivered along 2 weeks. Rats were divided into four groups: (NG) non-irradiated, glucose and fructose solution supplemented (GFS); (NJ) non-irradiated, BGJ supplemented; (RG) irradiated, GFS supplemented; (RJ) irradiated, BGJ supplemented. Both BGJ and GFS were administered by gavage 4 days before, during, and 4 days after WBI procedure. Rota-rod tests were performed one month after WBI to assess the effect of X-rays exposure on motor coordination using a commercial apparatus. Motor performance was assessed by recording the time elapsed until the first fall off the rotating rod. Two trials (one per day) were performed over 5 min with increasing velocity (2.5 rpm every 30 s). Data were analyzed using two-way ANOVA. Results were considered statistically significant when  $p < 0.05$ .

### Resultados:

At the first trial, no significant differences were found in the latency to fall off for all groups (NG:141.66±13.35, NJ:145.40±14.62, RG:159.54±9.86, RJ:164.85±12.36seconds). However, on the second day, irradiated rats latency was shorter than others (NG:272.00±9.23, NJ:249.60±10.11, RG:152.36±6,81 RJ:207.60±7.15 seconds). RJ group showed better motor coordination than RG group, indicating the protective effect of BGJ for cerebellar function.

### Conclusão:

Preliminary results indicate that BGJ supplementation is able of mitigating alterations on cognition, motor capacity, and memory. Our hypothesis is based on the antioxidant properties of BGJ because the alterations observed on cranial RT were admittedly mediated by oxidative stress and its composition is rich in quercetin, resveratrol, caffeic acid and others.

### Apoio Financeiro:

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).



## PHthalocyanine-ALA CONJUGATE: A PHOTOSENSITIZER WITH IMPROVED PDT ACTION

Baptista, M. S. , Oliveira, K. T. , Francisco, C. M. L. , Pavani, C. ,

Programa de Pós-Graduação em Biofotônica aplicada às Ciências da Saúde - UNINOVE

Bioquímica - USP Departamento de Química - UFSCar

### Introdução:

Photodynamic therapy (PDT) is a protocol for treatment of diseases based in the use of a photosensitizer (PS), light at appropriate wavelength and oxygen. Phthalocyanines are a class of molecules, which present interesting photophysical properties for PDT use however, low water solubility. Recently, a new phthalocyanine linked to 5-aminolevulinic acid (ALA) and presenting improved water solubility was synthesized.<sup>1</sup> These ALA molecules can be released in cellular environment, been further converted to protoporphyrin IX (PPIX) and both PPIX and the phthalocyanine can act simultaneously. Due to differences in absorption wavelengths of PSs, the concomitant use of two light sources is necessary to achieve improved PDT efficacy.

### Objetivos:

The aim of this work is to characterize the PDT efficiency of the {Tetrakis-[2-(5-ammonio-4-oxapentanoyloxy)ethoxy]phthalocyaninato}zinc(II) tetramethanesulfonate (2) compared to its precursor [tetrakis-(2-hydroxyethoxy)phthalocyaninato]zinc(II) (1) in cell culture, measuring the dark and phototoxicity of these molecules.

### Métodos:

This work was carried out in cell culture, therefore it was unnecessary to be evaluated by a research ethics committee. The human cervical adenocarcinoma cell line (HeLa ATCC CCL-2) was used in 96 well plates (104 cells/well) and exposed to phthalocyanine solutions during 3 or 24 hours. Cells were maintained in PBS in the dark or irradiated in PBS with: A) red LED (639±20nm ; 7.5mW/cm<sup>2</sup>; final dose 7,2 J/cm<sup>2</sup>); B) blue LED (401±20nm; 8.2 mW/cm<sup>2</sup>; final dose 7,9 J/cm<sup>2</sup>) or C) blue+red LED (15,1 J/cm<sup>2</sup>). Cell survival was measured 48 hours after treatment, using the MTT assay. Each condition was tested in quintuplicate.

### Resultados:

The dose-response curves were determined in the 5-120mmol/L range. The PS 1 exhibited IC<sub>50</sub> values around 115mmol/L in the dark and irradiated with A or B, showing there is absence of light effect in these cases while compound 2 showed no toxicity in these conditions. On the other hand, when the combination of the two LED systems was used (C) the effect of the PSs was potentiated and the IC<sub>50</sub> irradiated is smaller than in the dark. Since both phthalocyanines absorb light around 400 and 640nm the higher phototoxicity may be simply a result of higher absorption of light and consequently, higher generation of reactive oxygen species. Summarizing the data, 1 presented IC<sub>50</sub> of 115 mmol/L and 42.5 mmol/L for 3 hours incubation, in the dark and irradiated with C respectively; while 2 showed no toxicity in the dark and IC<sub>50</sub> of 53.5 mmol/L when irradiated with C. For 24 hours incubation with the PSs, the IC<sub>50</sub> values in the dark and irradiated with C were: 4.5 and 2.7 mmol/L for PS 1 and 11.5 and 4.1 mmol/L PS 2. Considering the photodynamic efficiency, i.e., the IC<sub>50</sub> ratio dark/irradiated, the PS 2 is more effective (2.8) than PS 1 (1.7) mainly due to the synergistic effect related to the presence of two photosensitizers.

### Conclusão:

The phthalocyanine-ALA conjugate presents improved photodynamic action against carcinoma cells in culture compared to its precursor, thus the action of combined photosensitizers is an efficient strategy to obtain more effective PDT protocols.

### Apoio Financeiro:

FAPESP

## **EFEITO DA IRRADIAÇÃO COM LASER DE BAIXA POTÊNCIA PREVIAMENTE À INDUÇÃO DA LESÃO MUSCULAR SOBRE A EXPRESSÃO GÊNICA DE MYOD, MIOGENINA E IL-6**

**Ribeiro, B. G. , Alves, A. N. , Cantero, T. M. , Bussadori, S. K. , Fernandes, K. P. S. , Mesquita-ferrari, R. A.**

**Pós-graduação em Ciências da Reabilitação - UNINOVE Pós-graduação em Biofotônica Aplicada às Ciências da Saúde - UNINOVE Graduação em Biomedicina - UNINOVE**

### **Introdução:**

A lesão muscular é comum no meio esportivo e resulta em afastamento dos atletas aos treinos e competições, redução do desempenho muscular e aumento na ocorrência de novas lesões musculares. Após a lesão, há infiltração de células inflamatórias que liberam citocinas, tal como a interleucina 6 (IL-6) que regula a atividade das células satélites (CS) durante o processo de reparo, mas quando em excesso pode exacerbar o processo inflamatório aumentando o dano tecidual. As CS são células precursoras miogênicas que são ativadas após uma lesão para a formação de nova fibra muscular e, durante esse processo, expressam fatores regulatórios miogênicos, tais como MyoD e miogenina, responsáveis por regular o processo de reparo muscular. O laser de baixa potência (LBP) vem sendo utilizado como um recurso capaz de reduzir o dano muscular e acelerar o processo de reparo, mas pouco se sabe sobre seus efeitos quando aplicado previamente à uma lesão.

### **Objetivos:**

Avaliar o efeito da irradiação com LBP previamente à indução da lesão sobre a expressão gênica de MyoD, miogenina e IL-6 durante o reparo músculo esquelético de rato.

### **Métodos:**

AN16/2012 Para a realização do estudo, foram utilizados 56 ratos Wistar (AN16/2012), fêmeas, pesando em média  $220 \pm 15$ g, distribuídos aleatoriamente em 4 grupos: Controle (n=7); Sham (n=7); Somente irradiado com LBP (n=7), Somente lesão (n=21); Irradiado previamente à indução da lesão (n=21). A irradiação com o LBP (780 nm, 10 J/cm<sup>2</sup>; 40 mW, 3.2 J) foi realizada uma única vez imediatamente antes à indução da lesão. A lesão foi induzida com bastão metálico resfriado em nitrogênio líquido na superfície ventral do músculo tibial anterior (TA). Ao término dos períodos experimentais de 1, 3 e 7 dias, os animais foram eutanasiados com superdose de anestésico e os músculos TA foram removidos para análise da expressão gênica de MyoD, miogenina e IL-6 por PCR em tempo real quantitativo. Os dados foram expressos em média e desvio-padrão. A comparação entre os grupos foi realizada pelo teste de ANOVA/Tukey após os dados se apresentarem paramétricos.

### **Resultados:**

O grupo irradiado previamente com LBP e lesionado apresentou redução na expressão de IL-6 ( $1,34 \pm 0,16$  UA) após 3 dias quando comparado ao grupo somente lesão ( $2,52 \pm 0,76$  UA) nesse mesmo período. O mesmo comportamento foi observado no período de 7 dias, sendo verificada uma redução na expressão de IL-6 no grupo irradiado e lesionado ( $1,57 \pm 0,34$  UA) quando comparado ao grupo somente lesionado ( $2,59 \pm 0,40$  UA). Não houve diferença na expressão gênica de MyoD e miogenina entre os grupos avaliados em todos os períodos experimentais.

### **Conclusão:**

A irradiação prévia com LBP reduziu a expressão gênica de IL-6 após 3 e 7 dias. Portanto, o LBP administrado imediatamente antes à indução da lesão modula positivamente a expressão de IL-6 durante o processo de reparo do músculo esquelético de rato.

### **Apoio Financeiro:**

UNINOVE, FAPESP (2013/21540-3; 2014/12381-1) e CAPES.

# **RAC1 GTPASE MEDIATES GAMMA AND UV RADIATION BIOCHEMICAL AND BIOLOGICAL EFFECTS IN HELA CELLS BY CONTROLLING DNA DAMAGE RESPONSE AND REPAIR PATHWAYS**

**Magalhães, Y. T. , Espinha, G. , Osaki, J. H. , Forti, F. L. ,  
Departamento de Bioquímica - IQ-USP**

## **Introdução:**

Rac1 is a small GTPase related to Ras that controls essential cellular functions particularly related to the cellular skeleton and motility (migration, lamellipodia formation, membrane ruffling, polarity and adhesion). Rac1 is overexpressed in many tumor cells where it has been shown to be involved in proliferation and checkpoint control of the cell cycle under treatment with ionizing radiation or chemotherapeutic drugs, and its implications for the control of DNA damage response and repair are gaining growing efforts, but are still not completely understood.

## **Objetivos:**

Here we compare HeLa cells (human cervical cancer cells) with mutants expressing either the dominant-negative Rac1 (HeLa-Rac1-N17) or the constitutive active Rac1 (HeLa-Rac1-V12) based on their responses to different types of DNA damage following exposure to gamma or ultraviolet radiation.

## **Métodos:**

Did not accomplish experiments on animals. did not accomplish experiments on humans. Exponentially growing HeLa cells were transduced with retroviral constructs (pCM) alone or carrying the wild type Rac1 (WT) and the mutated Rac1 at A12V (Rac1-V12) or T17N (Rac1-N17). These cell lines were submitted to low doses of gamma radiation (0.5; 2 and 5Gy) or ultraviolet radiation types A (50 KJ/m<sup>2</sup>), B (80 J/m<sup>2</sup>) and C (4 J/m<sup>2</sup>) and evaluated accordingly through migration (scratch assay), proliferation (growth curves), survival (clonogenic assay), DNA repair (alkaline comet assay) and DNA damage response (DDR pathway) experiments. The Rac1 signaling pathway was accessed through pull-down assays (activity or Rac1-GTP levels) associated to western blots, and stress fibers formation by immunofluorescence (phalloidin staining).

## **Resultados:**

All radiation treatments led to increased levels of active Rac1 (bound to GTP), including but in less extension in the Rac1-N17 clone, which also exhibited higher levels of stress fibers in contrast to the found in HeLa cells harboring active Rac1. These effects culminated in impairment of the migration of Rac1 mutants and HeLa cells following the radiation treatments, despite the lower motility observed in the dominant-negative clone. With regard to proliferation and genomic stability, the Rac1-N17 clone was more sensitive to gamma and UV radiation, exhibiting reduced proliferation and survival consistent with increased DNA damage and delayed/ reduced DNA repair observed in this clone and compared to the HeLa-Rac1-V12 clone and the parental HeLa cells. The DNA damage response pathway, as indicated by p<sub>H2AX</sub> and p<sub>Chk1</sub> levels, was increased in HeLa cells and Rac1-V12 clone, but was not effectively triggered in the Rac1-N17 after the radiation treatments, which is likely the main cause of DNA damage accumulation that drives Rac1-deficient cells to increased cell death.

## **Conclusão:**

Rac1 GTPase signaling plays an important role in mediating the DNA damage response and repair mechanisms in HeLa cells contributing to their sensitivity to gamma and ultraviolet radiation treatments. This finding could be useful for therapies associating Rac1 inhibition with ionizing radiation treatments for applications in other types and clinical grades of cancers.

## **Apoio Financeiro:**

CNPq, Fapesp and Capes

## COMPARAÇÃO DO EFEITO DA LASERTERAPIA DE BAIXA POTÊNCIA E DO DICLOFENACO SOBRE OS ASPECTOS FUNCIONAIS EM MODELO EXPERIMENTAL DE LESÃO MUSCULAR POR TRAUMA EM RATOS DIABÉTICOS.

Santos, L. S. , Ribeiro, J. S. , Saltorato, J. C. , Júnior, G. M. R. , Simionato, L. H. , Bortoluci, C. H. F. ,  
Carvalho, R. L. P. ,  
Fisioterapia – USC

### Introdução:

O diabetes mellitus (DM) está relacionado com infecções, atraso no processo de reparo tecidual, do fechamento e contração da lesão. Exercício físico tem sido prescrito para prevenção e tratamento de pacientes com DM. Sabe-se que lesões musculares estão relacionadas à prática de atividade física, podendo provocar perda funcional em graus variáveis. A laserterapia de baixa potência (LBP) apresenta excelentes resultados no processo de reparo do musculoesquelético (Photochem Photobio, 89, 508, 2013). Entretanto pouco se sabe a respeito do processo de recuperação funcional após tratamento com LBP em lesão no quadro de diabetes.

### Objetivos:

O presente trabalho teve como objetivo avaliar aspectos funcionais decorrentes da lesão muscular por trauma em ratos diabéticos, comparando tratamentos com LBP, com diclofenaco e com ambos os tratamentos.

### Métodos:

34/13 Métodos: Foram utilizados ratos Wistar machos, pesando em torno de 300g e idade entre 8 e 10 semanas. Os ratos foram randomizados em grupos de 6 animais. O trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no uso de Animais da Universidade Sagrado Coração, Protocolo N° 34/13. A indução do DM foi realizada através da administração intraperitoneal de estreptozotocina, em dose única, concentração de 50 mg/kg de peso corporal, diluída em tampão citrato 0,1M pH 4,5. O trauma foi aplicado no músculo tibial anterior, utilizando uma miniguilhotina, contendo um bloco de peso de 200g, deixado cair de uma altura de 20 cm. Os grupos lesados receberam tratamento, 1 hora após a lesão, com diclofenaco por via tópica (11,6 mg/g) ou foram irradiados com LBP (3 J, 810 nm, 100 mW), ou receberam os dois tratamentos em conjunto. Para avaliação funcional da marcha, foi utilizado o índice funcional do ciático. Nesta avaliação os animais caminharam por um corredor de acrílico transparente, no qual as pegadas no assoalho foram filmadas e utilizadas para a análise funcional. Este procedimento foi repetido duas vezes com cada animal. Os resultados foram expressos como médias  $\pm$  EPM e submetidos ao teste t-Student não pareado ou análise de variância (ANOVA) seguida da aplicação do teste Tukey para múltiplas comparações. Valores de  $P < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes.

### Resultados:

Nos grupos avaliados 6 horas após protocolo de lesão por trauma, foi observado que o índice funcional apresentou aumento, estatisticamente significativo, em todos os grupos lesionados quando comparados ao grupo hígido ( $6,38 \pm 0,78$ ) e ao grupo diabetes ( $6,52 \pm 0,49$ ) com  $p < 0,01$ . Nos grupos 12 horas, o índice funcional apresentou aumento, estatisticamente significativo, Os grupos lesão+laser ( $10,32 \pm 0,80$ ) e lesão+laser+diclofenaco ( $9,25 \pm 0,54$ ) apresentaram menor dificuldade de deambulação, comparados aos grupos lesão ( $11,48 \pm 0,49$ ) e lesão+diclofenaco ( $12,10 \pm 1,10$ ) com  $p < 0,05$  e  $p < 0,01$ , respectivamente. Nos grupos 24 horas, o índice funcional apresentou aumento, estatisticamente significativo, nos animais de todos os grupos lesionados. O grupo lesão+laser+diclofenaco ( $8,36 \pm 0,49$ ) apresentou menor dificuldade de deambulação, comparado aos demais grupos tratados e ao grupo lesão ( $12,64 \pm 0,62$ )  $p < 0,01$ . O índice funcional não apresenta unidade de medida, pois são resultantes do IFC (Índice Funcional do Ciático)

**Conclusão:**

Pode-se concluir que o tratamento com LBP associada ao diclofenaco, foi efetivo na melhora do padrão de marcha de animais diabéticos, nos protocolos de avaliação 12 e 24 horas.

**Apoio Financeiro:**

FAPESP - Processo: 2013/22041-0

## **EFEITO DA VIBRAÇÃO GERADA EM PLATAFORMA OSCILANTE/VIBRATÓRIA NO NÍVEL DE DOR DE PACIENTES COM GONARTROSE**

**Domingos, L. L. P. , Marconi, E. M., Caputo, D. C. S. , Aguiar, E. O. G. , Giehl, P. A. S. M. , Cavalcanti, R. G. C. , Bernardo-filho, M. ,  
DEPARTAMENTO DE BIOFÍSICA E BIOMETRIA – UERJ**

### **Introdução:**

Exercícios de vibração de corpo inteiro (EVCI) são produzidos quando vibração gerada em plataforma oscilante/vibratória (POV) é transmitida para um indivíduo em contato com a plataforma ligada. O tempo de trabalho intercalado com tempo de repouso e os parâmetros biomecânicos, como a frequência e a distância pico a pico (DPP), são de elevada importância, e devem ser definidos no planejamento de protocolos envolvendo EVCI. Dentre os efeitos gerados pelos EVCI podem ser incluídos melhora da força e potência muscular, da flexibilidade e do equilíbrio, e a diminuição da dor. Esses exercícios podem ser uma opção para tratamento não medicamentoso de pacientes com incapacidade funcional, como no caso da relacionada com a gonartrose. A dor associada à gonartrose pode reduzir a qualidade de vida do indivíduo. A escala numérica da dor (END) tem sido usada em vários trabalhos para quantificar o nível de dor.

### **Objetivos:**

Analisar o efeito de vibração gerada em POV no nível de dor em indivíduos com gonartrose após sessões de EVCI.

### **Métodos:**

(CAAE 19826413.8.0000.5259) Trabalho aprovado pelo Comitê de ética em pesquisa em seres humanos do Hospital Universitário Pedro Ernesto - HUPE (CAAE 19826413.8.0000.5259). Os participantes assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido antes de qualquer procedimento. A POV usada nesse trabalho é do tipo que apresenta movimentos alternados de subida e descida de uma base de forma alternada, isto é, no momento em que o lado esquerdo sobe, o lado direito desce e vice-versa (Novaplate Fitness Evolution®, DAF Produtos Hospitalares Ltda, Estek As, São Paulo). Indivíduos de ambos os sexos (n=14) foram divididos em: grupo controle (CG) (n=7) e grupo submetido ao EVCI (GEVCI) (n=7). Os pacientes encaminhados com diagnóstico confirmado de gonartrose por médico do Setor Ortopedia do HUPE/UERJ foram submetidos a 10 (dez) sessões de vibração gerada em POV (duas sessões semanais). Todos os pacientes ficaram sentados em uma cadeira com as mãos apoiadas nos joelhos e com os pés (descalços) na base da POV em 3 DPP (2,5, 5,0 e 7,5 mm), permanecendo em cada DPP por 3 min com 1 min de repouso entre elas. Com o GC, a POV estava desligada. O tempo total de cada sessão foi de 11 minutos. A frequência utilizada foi de 5 Hz na primeira sessão, aumentando 1 Hz por sessão, chegando a última com 14 Hz. A intensidade da dor foi obtida através da END. O avaliador solicitou que o paciente numere sua dor em uma escala de 0 (zero) a 10 (dez), onde, o "0" (zero) representa a ausência de dor e o "10" é uma dor intensa. Todos os pacientes foram questionados antes e após cada sessão de EVCI (GC e GEVCI). Um fator referente à dor (FRD) foi calculado dividindo-se o nível de dor após o procedimento e a dor inicial. A análise estatística apropriada foi empregada (Wilcoxon rank test,  $p \leq 0,05$ ).

### **Resultados:**

No GC não houve uma redução significativa ( $p \leq 0,17$ ) do nível da dor (FRD de  $1 \pm 0,00$  para  $0,803 \pm 0,692$ ), porém observou-se uma redução significativa ( $p \leq 0,02$ ) do nível de dor no GEVCI (FRD de  $1 \pm 0,00$  para  $0,478 \pm 0,469$ ).

### **Conclusão:**

Conclui-se que os efeitos biológicos dos EVCI parecem ser responsáveis por diminuir significativamente o nível de dor em pacientes com gonartrose.

### **Apoio Financeiro:**

CNPq FAPERJ UERJ

## **EFEITOS BIOLÓGICOS DE UM EXTRATO DE CORIANDRUM SATIVUM EM RATOS SUBMETIDOS À VIBRAÇÃO GERADA EM PLATAFORMA OSCILANTE/VIBRATÓRIA**

**Frederico, E. H. F. F. , Guimaraes, C. A. S. , Cardoso, A. L. B. D. , Almeida, L. P. , Mantilla-Giehl, P. A. S., Costa-Cavalcanti, R. G. , Guedes-Aguiar, E. O. , Paineiras-Domingos, L. L. , Sa-Caputo, D. C. , Bernardo-Filho, M. ,**

**Departamento de Biofísica e Biometria – IBRAG**

### **Introdução:**

Investigações tem mostrado que a exposição direta à vibração gerada em plataforma vibratória/oscilante produz exercício de vibração de corpo inteiro (EVCII). A ação dessas vibrações pode ser devida a um efeito direto em tecidos/órgãos ou indireto decorrente da alteração dos níveis de determinados biomarcadores plasmáticos. Estudos da biodistribuição de radiofármacos tem ajudado no diagnóstico de doenças, assim como avaliação de efeitos de medicamentos e agentes físicos em órgãos em modelos experimentais. Autores têm demonstrado o efeito do EVCII em associação com algumas substâncias. Produtos naturais têm sido usados pelo Homem como alimento e como medicamento. *Coriandrum sativum* (CS), conhecido popularmente como coentro, é utilizado na medicina popular para o tratamento de diabetes, complicações gastrintestinais e pela sua atividade antifúngica e antibacteriana.

### **Objetivos:**

Avaliar o efeito do EVCII em associação com o CS na biodistribuição do radiofármaco pertecnetato de sódio ( $\text{Na}^{99\text{mTcO}_4}$ ) e na concentração de biomarcadores plasmáticos em ratos Wistar.

### **Métodos:**

CEUA/IBRAG/UERJ, 041/2013 O modelo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética para Uso de Animais Experimentais (CEUA/IBRAG/UERJ, 041/2013). Ratos Wistar machos (250-350g, 3-4 meses,  $n=20$ ) foram divididos em quatro grupos e submetidos a diferentes tratamentos por quarenta dias consecutivos. O grupo controle (CON) recebeu por gavagem 1,0 mL de água deionizada. O grupo tratado 1,0 mL de CS 8mg/mL (COR) pela mesma via. Os ratos que foram submetidos ao EVCII (50 Hz) (PLA) também receberam 1,0 mL de água deionizada. O grupo COR+PLA recebeu 1,0 mL de CS 8mg/mL e foi submetido ao EVCII. Vinte e quatro horas após os diferentes tratamentos, os animais foram anestesiados e administrados o  $\text{Na}^{99\text{mTcO}_4}$  (com atividade de 3,7 MBq) via plexo ocular. Após 10 minutos, amostras de sangue obtido por punção cardíaca foram usadas para determinação dos biomarcadores (glicose, ureia, creatinina, colesterol, triglicerídeo, HDL, aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, fosfatase alcalina, bilirrubina total, bilirrubina direta, amilase, lipase, CK, cálcio, magnésio, proteína total) utilizando um equipamento automatizado (COBAS INTEGRA 400 plus, Roche, Basel, Switzerland). Os animais foram mortos e os órgãos retirados (tireóide, estômago, intestino, rim, fígado, pâncreas, cérebro, osso, pulmão, coração, baço, músculo, sangue, pênis, testículo e vesícula seminal), pesados, contada a atividade e determinada a porcentagem de atividade incorporada por grama de tecido/órgão (%ATI/g). Com auxílio do programa estatístico BioEstat5.0 foi feita a análise de variância (ANOVA) Kruskal-Wallis e pós-teste de Student-Newman-Keuls para a comparação dos grupos. Os resultados foram expressos em média $\pm$ desvio padrão.

### **Resultados:**

Foi observada diminuição estatisticamente significativa ( $p<0,05$ ) na %ATI/g no testículo comparando os grupos COR ( $0,12\pm 0,02$ ) e PLA ( $0,06\pm 0,03$ ). Nos outros órgãos estudados não foram observados diferença estatística entre os grupos ( $p>0,05$ ). Relacionado aos biomarcadores, não foram encontrados alterações significantes ( $p>0,05$ ) entre os grupos.

### **Conclusão:**

Analisando os dados encontrados nesta investigação, os resultados indicam que os tratamentos não são capazes de promover alterações metabólicas que pudessem modificar a concentração dos

biomarcadores estudados, mas o tratamento com EVCI promoveria efeitos no testículo, que em comparação com o tratamento com o extrato de coentro, diminui a captação do  $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ .

**Apoio Financeiro:**

CNPq, FAPERJ e UERJ.



## **EFEITOS DOS EXERCÍCIOS DE VIBRAÇÃO DE CORPO INTEIRO NA CONCENTRAÇÃO DE BIOMARCADORES PLASMÁTICOS E NA VELOCIDADE DE MARCHA DE MULHERES COM OSTEOARTRITE DE JOELHO**

**Costa-Cavalcanti, R. G., Sa-Caputo, D. C., Paineiras-Domingos, L. L., Frederico, E. H. F. F., Mantilla-Giehl, P. A. S., Guimaraes, C. A. S., Cardoso, A. L. B. D., Guedes-Aguiar, E. O., Bernardo-Filho, M.**  
**Histologia e Embriologia - IBRAG Fisiologia - FCM Departamento de Biofísica e Biometria - IBRAG**

### **Introdução:**

Osteoartrite (OA) é uma doença crônica não transmissível (DCNT) relacionada com o sistema musculoesquelético, caracterizada pela degradação da cartilagem articular, remodelação do osso subcondral, mudanças nos músculos e ligamentos. O joelho é uma das articulações mais afetadas pela OA, sendo a gonalgia um dos sintomas mais característicos que acarreta limitações nas atividades diárias. A prática de atividades físicas que proporcionem analgesia e melhora da força e cinestesia nos membros inferiores, possibilitando facilidades na realização de atividades diárias, é a principal ênfase de tratamento. Os exercícios de vibração de corpo inteiro (EVCI) realizados pelo indivíduo em contato com a superfície da plataforma oscilante/vibratória (POV) ligada promovem a melhora do quadro algico de processos articulares, da velocidade de marcha, da força, do equilíbrio e da potência muscular. Também podem alterar a concentração plasmática de diversos biomarcadores.

### **Objetivos:**

Avaliar a variação da concentração plasmática de biomarcadores relacionados ao metabolismo ósseo e muscular e as alterações no tempo de deslocamento de um percurso de 3 metros em mulheres com OA de joelho submetidos aos EVCI.

### **Métodos:**

CAAE 19826413.8.0000.5259 Estudo aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE) da Universidade do Estado do Rio de Janeiro com o número CAAE 19826413.8.0000.5259. As pacientes que participaram desse trabalho (n=8, 65,12±11,12 anos e IMC=37,06±9,08) foram selecionadas por médico ortopedista após avaliação clínica e exames complementares e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido antes de qualquer procedimento do estudo. O protocolo estabelecido envolve 10 sessões de EVCI, 2 vezes por semana (5 semanas). Cada sessão totalizou 11 minutos, sendo 3 minutos de EVCI, seguido por 1 minuto de descanso em cada amplitude (2,5; 5 e 7,5 mm). A coleta de sangue em jejum e a avaliação da velocidade de marcha foram realizadas previamente ao início dos EVCI e posteriormente às 5 semanas de exercícios. As análises plasmáticas incluem aspartato aminotransferase (AST), cálcio (CA), creatinina (CR), creatinofosquinase (CPK) e fosfatase alcalina (FAL). A avaliação do tempo de deslocamento para percorrer a distância de 3 metros em superfície plana foi realizada por cronometragem. Análise estatística foi realizada comparando-se os valores dos parâmetros estudados antes e após o EVCI pelo teste Wilcoxon rank, com  $p \leq 0,05$ .

### **Resultados:**

As medidas dos biomarcadores sanguíneos analisados ao início dos EVCI e após 5 semanas foram respectivamente, sem alteração significativa ( $p > 0,05$ ), AST 26,12±10,85U/L e 26,12±10,09U/L,  $p = 0,5$ ; CA 10,36±2,55mg/dL e 9,6±1,15mg/dL,  $p = 0,24$ ; CR 0,95±0,29mg/dL e 1,06±0,37mg/dL,  $p = 0,13$ ; CPK 132,87±59,53U/L e 118,37±49,47U/L,  $p = 0,22$ ; FAL 88,37±31,66U/L e 88,00±31,89U/L,  $p = 0,5$ . O tempo gasto para percorrer a distância de 3m foi reduzido de 10,29±8,24 segundos para 6.36±3.00 segundos,  $p = 0,02$ .

### **Conclusão:**

Após 10 sessões de EVCI não são observadas alterações na concentração plasmática dos marcadores

relacionados ao metabolismo ósseo e muscular avaliados, o que poderia indicar que os EVCI não geram prejuízos aos músculos e ossos. A diminuição do tempo gasto no deslocamento pode ser considerada importante para a melhoria na execução das atividades diárias de mulheres com OA.

**Apoio Financeiro:**

UERJ, Faperj e CNPq.

## DOSE-RESPONSE CALIBRATION CURVE FOR MICRONUCLEUS ASSAY: PRELIMINARY STUDY

Mendes, M. E. , Hwang, S. F. , Andrade, A. M. G. , Mendonca, J. C. G. , Santos, N. , Lima, F. F. ,  
SEDIN/DIPED - CRCN-NE/CNEN Departamento de Genética – UFPE

### Introdução:

The in vitro cytokinesis-block micronucleus (CBMN) assay was developed by Fenech and Morley in 1985, with this method is possible quantify chromosome breakage and loss in nucleated cells [Ann Ist Sanità 45(3), 260-264, 2009]. The CBMN assay, which can be used as an alternative method for scoring dicentric chromosomes, is done in lymphocytes and converted into absorbed dose using the dose-response calibration curves [EPR-Biodosimetry, Viena, 2011].

### Objetivos:

This study aimed to start construction of the dose-response calibration curve for MN in the Brazilian Northeast region.

### Métodos:

09186813.7.00005208 Blood samples (5 ml) were collected from one healthy voluntary and irradiated with gamma rays (Gamma cell 220 irradiator). It was obtained three different absorbed doses: 0.50, 0.75 and 1 Gy. The protocol for cell culture, cytological preparation and criteria for selecting binucleated and for scoring micronuclei were based on IAEA manual (2011). All samples were tested for analyze your conformity with Poisson distribution [Rad Environ Biophys, 48, 197-203, 2009]. It was used the Dose Estimate [Heal Phy Soc, 98(2), 290-295, 2010] for build the calibration curve.

### Resultados:

In this work was analyzed more than 4000 viable binuclear cells and the number of micronuclei (MN) scored, their frequencies of MN from four different absorbed doses were 0.005, 0.029, 0.053 and 0.094. The background of MN's frequency (0Gy) was in conformity with literature [EPR-Biodosimetry, Viena, 2011]. It was confirmed that had an increase of MN's frequencies associated with elevation of absorbed doses. All doses points were test for Poisson distribution with dispersion index and u values were calculated (-0.100, -0.635, -0.320 and 1.180). It possible observed that u values were not significant, because all u values were in the range of  $\pm 1.96$  in the 95% confidence limits, this demonstrates that in vitro experiment follows the model of Poisson distribution. However, the 1 Gy point presented overdispersion's tendency. Analyzing others works, it was observed the same tendency of overdispersion of cell distribution of MN even at doses below 1.0 Gy, and this probably come to the point that it had on significant dispersion [Mut Res/Gen Tox and EnvirMut, 760, 17-22, 2014; Mut Res, 359, 151-157, 1996]. This overdispersion appearance may be associated with many factors that influencing the formation and origin of MN, and still difficult determinate exactly if the MN is formatted just for fragments acentric, dicentric or both aberrations. In this work the fitted coefficients were  $Y = (0.0050 \pm 0.0022) + (0.0036 \pm 0.0229)D + (0.0845 \pm 0.0278)D^2$ . The fitted calibration curve not obtained good results with only four absorbed doses, because the chi-square value is not relevant ( $X^2=0.15$ ,  $df=1$ ;  $p$  value=0.0). Other studies demonstrated good results with yours calibrations curves, because they analyzed more than 1000 binuclear cells and over an voluntary, thus they increased the confidence of yours results [Mut Res/Gen Tox and EnvirMut, 760, 17-22, 2014; Mil. Med. Sci. Lett, 80, 28-37, 2011].

### Conclusão:

To confirm our results and finish the curve construction, it is necessary to use other doses, different voluntaries and analyze a larger number of cells in order to obtain more robust results.

### Apoio Financeiro:

Authors would like to acknowledge CNPq for the financial support.

## **EFEITOS DO LASER DE BAIXA INTENSIDADE EM JOELHO DE RATOS ADULTOS NA ARTRITE GOTOSA EXPERIMENTAL**

**Bomboi, L. A. A. , Teixeira, F. M. , Bomfim, F. R. C. , Esquisatto, M. A. M. ,  
Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas – Uniararas**

### **Introdução:**

Artrite gotosa é uma inflamação das articulações sinoviais causada pela deposição de cristais de urato oriundo de um distúrbio metabólico agravado pela dieta rica em purinas. Em razão dos efeitos colaterais da terapia prolongada com anti-inflamatórios, o uso de laser de baixa intensidade pode ser uma alternativa eficaz no controle da inflamação e no reparo de lesões nos tecidos articulares.

### **Objetivos:**

O objetivo desse estudo foi analisar os efeitos do laser de baixa intensidade de Arseneto de Gálio (AsGa -  $\lambda=830\text{nm}$ ) nos tecidos articulares em joelho de ratos Wistar adultos após indução da artrite experimental com pirofosfato de cálcio.

### **Métodos:**

Prot.CEUA no. 009/2014 Foram utilizados quinze ratos Wistar do sexo masculino, com peso médio de 200g. Os animais foram distribuídos em três grupos: A (controle), B (artrite induzida) e C (artrite induzida e tratada com laser de baixa intensidade). Os animais dos grupos B e C foram anestesiados e a artrite foi induzida com a solução de 2mg de pirofosfato de cálcio em 0,05 mL de solução fisiológica por animal e injetados duas vezes no joelho direito em intervalos de 24h. A laserterapia (AsGa -  $\lambda=830\text{nm}$ , 1000Hz, densidade de potência=0,51W/cm<sup>2</sup> densidade de energia=3J/cm<sup>2</sup>, energia total=0,24J/12s) foi aplicada pontualmente na região patelar do joelho direito após 48h da indução por 7 dias consecutivos. Após o tratamento foi realizada a eutanásia dos animais dos três grupos e os joelhos foram retirados e processados para análise morfológica e morfométrica dos tecidos articulares onde foram aferidos: número de condrócitos ativos e inativos (n/104  $\mu\text{m}^2$ ), espessura da cartilagem articular ( $\mu\text{m}$ ) e área de fibras colágenas birrefringentes (em %). Além disso, a sinóvia foi avaliada segundo o escore específico para resposta inflamatória. Os dados quantitativos foram comparados por ANOVA e pós-teste de Tukey (p<0,05).

### **Resultados:**

A sinóvia e a cartilagem articular da tíbia (T) e fêmur (F) do grupo A apresentaram características morfológicas compatíveis a normalidade. No grupo B, a sinóvia apresentou organização irregular e grande quantidade de infiltrados inflamatórios (escore 4). para a região, recobrando quase toda a sinóvia. No grupo C, a sinóvia apresentou diminuição da inflamação com quantidade moderada de infiltrados inflamatórios (escore 2). A organização da cartilagem articular não apresentou diferenças entre os grupos, porém foi observada redução na basofilia da matriz extracelular no B e características semelhantes entre A e C. Não foram observadas diferenças na contagem de condrócitos ativos (F: A - 78,4 $\pm$ 14,8; B - 71,5 $\pm$ 9,3; C - 74,2 $\pm$ 8,1 e T: A - 66,1 $\pm$ 7,8; B - 68,9 $\pm$ 9,2; C - 72,4 $\pm$ 6,9) e inativos (F: A - 10,2 $\pm$ 4,3; B - 8,1 $\pm$ 3,6; C - 7,7 $\pm$ 4,1 e T: A - 12,8 $\pm$ 4,8; B - 8,9 $\pm$ 4,1; C - 8,4 $\pm$ 3,8) entre os grupos para a cartilagem articular da tíbia e fêmur. Da mesma forma não foram detectadas diferenças na espessura da cartilagem articular (F: A - 97,8 $\pm$ 8,1; B - 86,5 $\pm$ 8,8; C - 84,7 $\pm$ 9,4 e T: A - 76,6 $\pm$ 9,2; B - 72,4 $\pm$ 8,8; C - 69,6 $\pm$ 7,3). A área de fibras colágenas birrefringentes na matriz cartilaginosa não apresentou diferenças entre os grupos para as superfícies articulares da tíbia e fêmur (F: A - 27,9 $\pm$ 6,1; B - 24,8 $\pm$ 5,4; C - 25,4 $\pm$ 6,8 e T: A - 34,8 $\pm$ 5,9; B - 29,3 $\pm$ 4,8; C - 32,6 $\pm$ 5,1).

### **Conclusão:**

A laserterapia nos parâmetros utilizados para AsGa-830nm diminuiu o processo inflamatório na sinóvia e preserva a basofilia da cartilagem, quando comparado aos animais com artrite induzida, sem, contudo, alterar os parâmetros morfométricos avaliados.

### **Apoio Financeiro:**

FUNDAÇÃO HERMÍNIO OMETTO.

## **EXERCÍCIOS DE VIBRAÇÃO DE CORPO INTEIRO PODEM INTERFERIR NA FLEXIBILIDADE, NA MARCHA E NA DOR DE PACIENTES COM SÍNDROME METABÓLICA?**

**Sa-Caputo, D.C., Paineiras-Domingos, L. L. , Frederico, E. H. F. F. , Guimaraes, C. A. S. , Marconi, E. M., Fritsch, M. , Oigman, W. , Bernardo-Filho, M.**

**Departamento de Biofísica e Biometria - UERJ Faculdade de Ciências Médicas – UERJ**

### **Introdução:**

O exercício regular é uma intervenção terapêutica não farmacológica que apresenta redução da morbidade e mortalidade da doença aterosclerótica, melhora da qualidade de vida na insuficiência cardíaca, na diabetes tipo 2, na síndrome metabólica (SM) e na doença pulmonar obstrutiva crônica. A modalidade de exercício envolvendo vibração gerada em plataforma oscilante/vibratória (PVO), os exercícios de vibração de corpo inteiro (EVCI), podem ser considerados como exercício aeróbico. EVCI tem sido empregados em pacientes com doenças diversas, assim como em pessoas saudáveis para melhora da performance. Podem produzir efeitos biológicos quando a vibração é transmitida a uma pessoa que está em contato direto com a base da plataforma, normalmente na posição de pé. Protocolos envolvendo esses EVCI são variados e parâmetros como distância pico a pico e frequência da vibração devem ser considerados; assim como o tempo de permanência na plataforma e o tempo de repouso em cada sessão.

### **Objetivos:**

Analisar o efeito das vibrações geradas em POV na flexibilidade anterior de tronco (FAT), na marcha e na dor de portadores de SM.

### **Métodos:**

CAAE 0025.0.228.000-11 Estudo aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE) da Universidade do Estado do Rio de Janeiro com o número CAAE 0025.0.228.000-11. Foram admitidos 10 pacientes (8 mulheres e 2 homens), com idade  $58 \pm 9$  anos, peso  $85 \pm 10$  kg, altura  $1,62 \pm 0,07$  cm, IMC  $31,46 \pm 6$ . Foram realizadas 10 sessões de EVCI, com frequência inicial de 5 Hz e final de 14 Hz, sendo acrescido 1 Hz a cada sessão. Para mensurar o nível de dor foi utilizada a escala numérica de dor (de zero a dez). Para verificação da FAT, foi solicitada a flexão anterior de tronco e medida a distância do dedo médio da mão ao chão. A marcha foi avaliada através de uma caminhada de 3 metros com seu tempo cronometrado. A avaliação da dor e da FAT foi realizada em todas as sessões, antes e após a realização dos EVCI. A marcha foi avaliada antes da primeira sessão e após a última. As análises estatísticas foram realizadas através do programa Biostat 5.0 e o teste aplicado foi Wilcoxon.

### **Resultados:**

Os pacientes apresentaram melhora significativa da FAT ( $p = 0,02$ ) e da dor ( $p = 0,01$ ) com o protocolo realizado. Com relação a marcha, encontramos  $p > 0,05$ .

### **Conclusão:**

Como o paciente com SM pode ter limitações para realizar atividade física, este estudo revela que os EVCI são capazes de melhorar a flexibilidade anterior de tronco e o nível de dor de portadores de SM que foram submetidos ao protocolo citado. Não houve interferência na marcha destes pacientes. Estes achados são importantes para esta população, pois a redução da dor e melhora da flexibilidade podem contribuir para uma melhora na qualidade de vida dos portadores de SM. Desta forma os EVCI podem ser considerados uma alternativa interessante para o manejo destes pacientes.

### **Apoio Financeiro:**

CNPq, FAPERJ e UERJ.

## EFEITO DA TERAPIA LED DE BAIXA POTÊNCIA SOBRE O REMODELAMENTO DE COLÁGENO DURANTE O PROCESSO REPARO DO MÚSCULO ESQUELÉTICO APÓS CRIOLESIÃO

Melo, C. A. V. , Candeo, L. C. , Alves, A. N. , Deana, A. M. , Fernandes, K. P. S. , Silva, D. F. T. , Nunes, F. D. , Horliana, A. C. R. T. , Mesquita-ferrari, R. A. ,  
Saúde – Uninove

### Introdução:

As lesões musculares são a causa mais freqüente de incapacidade física e a fototerapia tem demonstrado efeitos positivos sobre o processo de regeneração muscular. O colágeno possui grande importância para o tecido muscular estando relacionado a transmissão de força durante a contração muscular, sendo desta forma diretamente relacionado a funcionalidade deste tecido. Assim sendo, durante o processo de reparo há necessidade que o colágeno depositado seja devidamente organizado e distribuído para restabelecer a arquitetura tecidual.

### Objetivos:

Avaliar os efeitos da terapia LED de baixa potência sobre o remodelamento do colágeno no músculo esquelético de ratos após lesão aguda.

### Métodos:

AN00015/2013 A metodologia deste estudo foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animais da Universidade Nove de Julho (AN00015/2013). Foram utilizados 35 animais ratos, machos, da linhagem Wistar, com 14 semanas de idade e pesando entre 200-230 gramas divididos em 04 grupos: (1) Grupo controle (2) Grupo Sham (n=5); (3) Grupo criolesionado sem tratamento (n=15) e (4) Grupo criolesionado tratado com LED (n=15). Os grupos criolesionados foram analisados em 1, 3 e 7 dias após a indução da lesão. A criolesão foi realizada por meio de duas aplicações de um bastão metálico de extremidade plana previamente resfriado em nitrogênio diretamente no ventre do músculo tibial anterior (TA). O tratamento iniciou-se 2h após a indução da lesão e foi realizado diariamente utilizando o equipamento LED comprimento de onda: 850 nm, potência de saída: 30 mW, área do feixe de 1 cm<sup>2</sup> e tempo de aplicação 107 segundos por ponto, 1 ponto irradiado e energia total de 3.2J e a aplicação foi realizada diariamente. Após os períodos experimentais, os animais foram eutanasiados e os músculos TA foram removidos para análise de quantidade e distribuição das fibras colágenas pela coloração de picosirius sob luz polarizada. Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística (ANOVA/Tukey; p<0,05).

### Resultados:

Os resultados demonstraram que após três e sete dias o tratamento com o LED foi capaz de aumentar a deposição de fibras colágenas (4,50 UA ± 0,37 e 6,78 UA ± 0,61 respectivamente, p<0,01) em comparação ao grupo lesionado que não recebeu tratamento também avaliado após 3 e 7 dias (2,80 UA ± 0,26 e 3,47 UA ± 0,39 respectivamente, p<0,01).

### Conclusão:

A terapia LED 850 nm promoveu o aumento das fibras de colágeno durante o processo de reparo muscular após criolesão.

### Apoio Financeiro:

UNINOVE, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nivel Superior (CAPES) e a fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP (processos: 2011/17638-2; 2013/21540-3) pelo suporte financeiro.

## EFEITOS DA TERAPIA LASER DE BAIXA POTÊNCIA EM CÉLULAS FMM1 E MDA-MB-231 SUBMETIDAS À RADIAÇÃO IONIZANTE

Silva, C. R. , Ribeiro, M. S. ,

Centro de Lasers e Aplicações – IPEN

### Introdução:

O câncer tem se tornado um problema de saúde pública mundial. O Instituto Nacional do Câncer (INCA) estima que no Brasil, no ano de 2015, surjam 576 mil novos casos, representando a segunda maior causa de mortes por esta doença. Entre os tratamentos oferecidos para o câncer, podemos destacar a radioterapia, que utiliza fontes ionizantes para erradicar ou impedir a proliferação das células cancerígenas. Entretanto, a radioterapia pode também danificar células sadias vizinhas ao tumor. Assim, tratamentos coadjuvantes que possam diminuir os efeitos deletérios da radioterapia são extremamente importantes. Neste contexto, a terapia laser de baixa potência (TLBP) surge como alternativa para modular a resposta das células frente à radiação ionizante.

### Objetivos:

O presente estudo possui como objetivo verificar os efeitos da terapia laser de baixa potência nas células FMM1 (fibroblastos de tecido conjuntivo sadio) e MDA-MB-231 (células de câncer de mama) após a exposição à radiação ionizante.

### Métodos:

O trabalho foi realizado in vitro. As células foram cultivadas em meio DMEN e armazenadas em estufa com 5% de CO<sub>2</sub>. A irradiação ionizante foi realizada em um irradiador de Cobalto- 60 tipo Gamacell com a dose de 2.5 Gy. As células foram tripsinizadas, contadas em hemocitômetro com a concentração de 1.10<sup>5</sup> células/mL e armazenadas em triplicata em placa de 96 poços com 200 µL de meio. Vinte e quatro-h após a radiação ionizante, as células foram expostas à TLBP. Foi utilizado um laser de emissão em  $\lambda = 660$  nm com potência de 40 mW e área de 0,04 cm<sup>2</sup>. A distância entre o laser e a monocamada de células foi mantida constante e a ponteira do laser foi mantida em contato direto com o fundo da placa. As células foram irradiadas por 30 s e 60 s, correspondendo a densidades de energia de 30 (G30) e 60 (G60) J/cm<sup>2</sup>, respectivamente. Após 24 h da TLBP, a viabilidade celular foi determinada através do método de exclusão de células coradas com azul de trypan a 0,4% e a contagem das células viáveis foi realizada em hemocitômetro durante 4 dias. Os experimentos foram realizados em triplicata em três momentos diferentes (n=9). A análise estatística foi realizada no programa PRISMA com os testes Shapiro Wilk para testar normalidade, Anova One-Way para comparação das médias. O teste de Tukey foi realizado para identificar diferenças significativas quando  $p < 0,05$ .

### Resultados:

Os resultados obtidos para as células FMM1 mostraram que a TLBP aumentou significativamente a viabilidade celular em relação ao grupo controle em todos os dias analisados independente da densidade de energia empregada. Nossos dados mostraram que já no segundo dia de experimento o grupo controle pós-irradiação ionizante apresentou  $7,028 \pm 1,28$  células/mL, enquanto que o G30 apresentou  $13,42 \pm 1,64$  células/ mL e o G60,  $10,72 \pm 1,36$  células/ mL. Para as células da linhagem MDA-MB-231, os resultados mostraram que a TLBP não influenciou a viabilidade celular, independentemente da densidade de energia utilizada. De fato, o grupo controle mostrou  $28,84 \pm 4,38$  células/mL, G30 =  $24,97 \pm 3,49$  células/mL e G60 =  $24,97 \pm 3,47$  células/mL.

### Conclusão:

Considerando os parâmetros utilizados, nosso trabalho demonstra que a TLBP aumentou a viabilidade celular de células sadias após radiação ionizante. Para as células tumorais, nenhuma resposta à TLBP foi observada. Estes resultados sugerem que o laser de baixa potência poderia ser utilizado em pacientes oncológicos pós-radioterapia.

### Apoio Financeiro:

Agradecemos ao IPEN, CNEN, CNPQ e FAPESP.

# **EFEITO DO LASER DE BAIXA POTÊNCIA ASSOCIADO COM DICLOFENACO DE SÓDIO NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO EM PELE DE RATOS**

**Dalmaso, R. B. M. , Cruz, L. G. B. , Torres-Silva, R. , Pallotta, R. C. , Silva, P. A. , Lopes-Martins, R. A. B., Marcos, R. L.**

**Pós graduação - UNINOVE**

**Núcleo de Pesquisas Tecnológicas - UMC**

**Farmacologia – USP**

## **Introdução:**

A pele é um tecido de revestimento que sofre permanente ação do ambiente, muitas vezes de forma agressiva, levando a lesão deste tecido. Geralmente em seu processo de reparo ocorrem alterações estruturais que evoluem para o desenvolvimento de uma cicatriz. Neste caso o tecido pode apresentar alterações morfológicas que interferem em suas propriedades mecânicas e este processo de reparo produz um tecido com propriedades diferentes do tecido original. Dessa forma, a utilização de terapias que favoreçam esta reparação é importante para buscar uma qualidade melhor da cicatriz. A terapia com laser de baixa potência aparece como um recurso utilizado na modulação do processo inflamatório auxiliando no processo de reparo da pele.

## **Objetivos:**

Avaliar o efeito da terapia com laser de baixa potência e sua associação com o anti-inflamatório Diclofenaco de sódio, no processo de reparo da pele de ratos, após a indução de um processo lesivo, observando aspectos morfológicos e biomecânicos.

## **Métodos:**

AN0045.2014 Foram utilizados ratos wistar, entre 150g à 200g, com 3 meses de idade. Após anestesiados, foram realizadas 2 lesões cortantes no dorso do animal, utilizando um bisturi cirúrgico. Os animais foram divididos em 5 grupos: Controle (CTL), Cicatriz sem tratamento (NT), Cicatriz + anti-inflamatório (DIC), cicatriz + laser 3J (L3J) e cicatriz + associação laser 3J e diclofenaco de sódio (L+D). O tratamento farmacológico e a terapia laser foram realizados imediatamente após a indução da lesão e mantida a irradiação diária até o sétimo dia. Após 28 dias, os animais foram eutanasiados com hiperdosagem do mesmo anestésico e o tecido foi imediatamente retirado para análises.

## **Resultados:**

O grupo NT apresentou desequilíbrio na proporção de colágeno tipo I e III (68% vs 32%) refletindo no aumento da rigidez e facilidade de ruptura, reduzindo a força máxima de ruptura (18N). Tanto o grupo DIC quando o grupo L3J apresentaram significativa melhora das propriedades mecânicas (26N e 23N VS NT) e na organização histológica. O grupo L+D apresentou maior deformação (3,37mm VS NT) quando comparado ao grupo NT.

## **Conclusão:**

Concluimos que a utilização do diclofenaco de sódio da laserterapia melhoram determinadas propriedades mecânicas da pele neste modelo de lesão. A associação da laserterapia com a farmacoterapia parece alterar estas propriedades mecânicas. Porém, mais estudos devem ser realizados visando entender a proporção e organização das fibras de colágeno ou mesmo o estudo de tempos de reparo superiores ao utilizados neste estudo

## **Apoio Financeiro:**

CAPES, CNPq



## RESPOSTA MUSCULAR APÓS TÉCNICA DE TUBULIZAÇÃO COM PREENCHIMENTO DE TECIDO ADIPOSEO ASSOCIADO À LASERTERAPIA

Santana, I. C. , Santos, T. C. P. , Dare, L. R. , Dias, D. V. , Simionato, L. H. , Carvalho, R. L. P. , Viterbo, F., Junior, G. M. R. ,

Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação - USC  
Centro de Ciências da Saúde - USC  
Anatomia Humana - UNIPAMPA  
Cirurgia - FMB/UNESP

### Introdução:

Os nervos periféricos são constantemente alvos de lesões de origem traumática e raramente apresentam recuperação sem intervenção cirúrgica quando apresentam perda tecidual. Assim várias técnicas de tubulização utilizando-se de materiais biológicos (vasos, nervos, veia, etc) ou não biológicos (tubos de polietileno, silicone, etc) com ou sem preenchimento (tecido adiposo, células-tronco, etc) estão sendo testados. Entretanto, mesmo com todo refinamento técnico obtido com a microcirurgia, ainda não se obtém total recuperação motora. Tal fato se justifica pela degeneração muscular, atrofia e perdas funcionais geradas pela desnervação.

### Objetivos:

Assim, este trabalho tem por objetivo avaliar a recuperação muscular após lesão nervosa periférica comparando o efeito da laserterapia e do preenchimento com tecido adiposo na técnica de tubulização.

### Métodos:

CEUA/USC: 8853300315 Foram utilizados 60 ratos da linhagem Wistar, machos, com 80 dias de vida, fornecidos pelo Biotério da Universidade do Sagrado Coração, divididos aleatoriamente em seis grupos com 10 animais cada: Grupo Controle (GC), Grupo Desnervado (GD), Grupo Tubulização (GT), Grupo Tubulização com Gordura (GTG), Grupo Tubulização e Laser (GTL) e Grupo Tubulização com Gordura e Laser (GTGL). Os grupos tubulização receberam enxerto de veia jugular. Os grupos com denominação de gordura receberam o preenchimento com gordura e os grupos com a denominação laser, receberam tratamento de laserterapia após a cirurgia de tubulização. O tratamento com laser foi realizado 3 vezes por semana, com duração de 90 segundos, durante 150 dias, com comprimento de onda de 830nm com pulso em modo contínuo. Foram avaliados fatores morfométricos das fibras musculares (diâmetros e áreas) dos músculos Extensor Longo dos Dedos (EDL), Sóleo e Tibial Cranial (TC), além de testes de força e funcionais (IFC).

### Resultados:

Na análise morfométrica os grupos apresentaram respectivamente para os músculos EDL, Sóleo e TC os seguintes resultados:  $2998 \mu\text{m}^2 \pm 213$ ;  $2872 \mu\text{m}^2 \pm 222$  e  $4351 \mu\text{m}^2 \pm 264$  para o GC,  $2722 \mu\text{m}^2 \pm 355$ ;  $2323 \mu\text{m}^2 \pm 322$  e  $3852 \mu\text{m}^2 \pm 391$  para o GTGL,  $2377 \mu\text{m}^2 \pm 307$ ;  $2086 \mu\text{m}^2 \pm 299$  e  $3184 \mu\text{m}^2 \pm 317$  para o GTG,  $2123 \mu\text{m}^2 \pm 231$ ,  $1911 \mu\text{m}^2 \pm 212$  e  $3051 \mu\text{m}^2 \pm 248$  para o GTL,  $1619 \mu\text{m}^2 \pm 282$ ,  $1428 \mu\text{m}^2 \pm 274$  e  $1582 \mu\text{m}^2 \pm 296$  para o GT,  $154 \mu\text{m}^2 \pm 47$ ;  $123 \mu\text{m}^2 \pm 33$  e  $172 \mu\text{m}^2 \pm 58$  para o GD. No teste de força os resultados são apresentados de Newton (N). O grupo GTGL obteve o melhor valor quando comparado com o GC, atingindo para o músculo TC o valor de  $0,97 \text{ N} \pm 0,12$  contra  $1,21 \text{ N} \pm 0,23$  do GC, para o músculo EDL  $0,71 \text{ N} \pm 0,09$  contra  $0,87 \text{ N} \pm 0,08$  do GC e para o sóleo  $0,68 \text{ N} \pm 0,08$  contra  $0,86 \text{ N} \pm 0,07$  do GC. Os valores dos índices funcionais apresentados pelos grupos foram: GC - 7,11 / GD -96,13 / GT -79,22 / GTG -53,23 / GTL -63,87 / GTGL -34,12, onde novamente o GTGL apresentou o melhor resultado. Os índices funcionais não apresentam unidades de medidas, pois são gerados pela fórmula do IFC (índice Funcional do Ciático).

### Conclusão:

Com base nos resultados apresentados, pudemos concluir que a laserterapia pode ser utilizada como

um protocolo favorável para a recuperação funcional de indivíduos com lesão nervosa periférica, pois os resultados apresentam dados superiores morfológica e funcionalmente nos grupos tratados com laser.

**Apoio Financeiro:**

USC

## **EFEITO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE LASERTERAPIA E FARMACOTERAPIA NA TENDINITE INDUZIDA POR COLAGENASE EM RATOS**

**Torres-Silva, R. , Pallotta, R. C. , Alvares, L. M. , Dalmaso, R. B. M. , Almeida-silva, P. , Lopes-martins, R. A. B. , Arnold, G. , Marcos, R. L. ,**

**Pós Graduação - UNINOVE**

**Pós Graduação - UMC Laboratoire de Physique et Mécanique Textiles - Université de Haute-Alsace**

### **Introdução:**

As tendinopatias são alterações na saúde do tendão, geralmente frequentes e difíceis de serem tratadas, com uma variedade de tratamentos onde o mais utilizado é o farmacológico para o alívio da dor com resultados pouco satisfatórios devido aos seus efeitos indesejáveis no uso prolongado. A busca de novas terapias não farmacológicas no tratamento destas doenças bem como o entendimento das associações entre terapia farmacológica e não farmacológica assume papel de destaque na área médica. A terapia com laser de baixa potência aparece como terapia promissora na modulação da inflamação aguda e crônica com ausência de efeitos adversos. No entanto, o estabelecimento de parâmetros clínicos para a utilização desta técnica é extremamente importante para sua validação.

### **Objetivos:**

O objetivo do trabalho foi estudar o efeito do laser de baixa potência e sua associação com anti-inflamatório Diclofenaco de sódio, no reparo do tendão após a indução da tendinite, através da observação das alterações histológicas pela quantificação na proporção de colágeno tipo I e III e da avaliação da resistência do tendão.

### **Métodos:**

Comitê de ética AN0037/2013. Foram utilizados ratos Wistar machos pesando entre 150 e 200g, provenientes do Biotério da UNINOVE. Os animais foram separados em 5 grupos: Controle, com tendão saudável (CTL), Tendinite não tratado (NT), Tendinite e tratado com Diclofenaco de sódio (DIC), Tendinite e tratado com Laser de baixa potência (L3J) e Tendinite tratado com associação de Diclofenaco e Laser (D+L). Para indução da tendinite os animais dos grupos NT, DIC, L3J e D+L foram anestesiados e receberam injeção transcutânea de colagenase (100µg/animal) na região posterior da pata direita, no tendão calcâneo. Os tratamentos iniciaram imediatamente à indução da tendinite e continuaram diariamente até o 7º dia. Após 28 dias os animais foram eutanasiados e o tendão foi removido para análises.

### **Resultados:**

Os animais do grupo NT apresentaram alterações na proporção de colágeno I (20%) e redução na força máxima de tração (45%) quando comparado ao grupo CTL. Ambos os grupos DIC e L3J apresentaram melhora da força máxima de tração (47,9 e 47,4 VS NT), bem como proporção de colágeno que foram similares ao grupo CTL. O grupo D+L apresentou aumento da capacidade de deformação (48%) bem como alteração na proporção de colágeno tipo I (redução de 20%) e tipo III (aumento de 10%) comparados ao grupo CTL.

### **Conclusão:**

A terapia com laser de baixa potência melhorou o reparo do tendão após a indução da tendinite enquanto que sua associação com Diclofenaco aumentou a capacidade de deformação do tendão, porém, com menor força de tração.

### **Apoio Financeiro:**

CAPES, CNPq

## LIGHT-EMITTING DIODE THERAPY INDUCES ANALGESIA IN CHEMICAL MODELS OF OVER NOCICEPTION IN MICE: ANALYSIS OF MECHANISMS OF ACTION

Pigatto, G. R. , Aquino, R. S. , Bauermann, L. F. , Santos, A. R. S.

Fisiologia - UFSC Fisiologia e farmacologia - UFSM

### Introdução:

The tissue radiation using light fonts like LED (Light Emitting Diode), from the red to infrared spectrum range, is indicated on pain treatment. LED therapy also produces the healing tissue injuries, decreased erythema, edema, and accelerates nerve regeneration. However, there are few studies on the mechanisms action of LEDT in controlling pain.

### Objetivos:

The objective of this study was to evaluate the analgesic effect of LEDT in chemical models of overt nociception in mice, well as to investigate the involvement of the L-arginine/NO pathway, adenosinergic and glutamatergic system, and transient receptor potential (TRP) channels in the mechanism(s) underlying the antinociceptive effect of LEDT.

### Métodos:

Não se aplica a experimentação humana To that purpose, female mice swiss (n=8), 2 months (25-35 g) were submitted to LED (Anodyne® device, LED infrared light with energy density of 20,8 J/cm<sup>2</sup>, 390 mW for 20 min) applications, and after the nociceptive response was evaluated by monitoring writhing/licking or biting behaviour following the acetic acid (0.6%/site, i.p.), formalin (2,5%/paw, first phase), glutamate (20 µmol/paw), capsaicin (5.2nmol/i.pl., activator of TRPV1 channels), cinnamaldehyde (10 nmol/i.pl., activator of TRPA1 channels), menthol (1.2mmol, i.pl., activador of TRPM8 channels) or acidic saline (pH; 5.0, activator of acid-sensing ion channels, ASIC) administrations. To verify if the LED analgesia in the pain caused by cinnamaldehyde depends on the activation of L-arginine/NO pathway or adenosinergic system, mice were pretreated with L-arginine (precursor of nitric oxide, 600 mg/kg, i.p.), D-arginine (isomer inactive of L-arginine, 600 mg/kg, i.p.), caffeine (a nonselective adenosine receptor antagonist, 10 mg/kg, i.p.) or saline (10 ml/kg, i.p.) 20 min before the application of LED, L-NOARG (an inhibitor of nitric oxide synthase, 75 mg/kg, i.p.), adenosine (an endogenous adenosine receptor agonist, 100 mg/kg, i.p.). All experiments were previously approved by the UFSC's CEUA (PP00745).

### Resultados:

The LED significantly ( $p < 0.05$ ) reduced the nociception caused by acetic acid (C=24.7±1.5, LED=8.5±2.2); formalin (C=78.2±4.2, LED=51.4±1.3); glutamate (C=154.7±9.3, LED=103.3±6.8); capsaicin (C=72.1±5.8, LED=43,1±3,5); cinnamaldehyde (C=63.9±4.3, LED=25,9±3,7); menthol (C=228.8±41.1, LED=114.7±22.6); acidic saline (C=166.8±19.8, LED=84.3±16.2) as compared with control group. In addition, the antinociception caused by LED was significantly prevented ( $p > 0.05$ ) by pretreated of mice with L-arginine (LED=15±2.3; L-Arg/LED=31.6±4.8) and caffeine (LED=15±2.3; Caf/LED=31±4), respectively, but not by D-arginine (LED=15±2.3; D-ARG=18,5±3.1) on cinnalmadehyde-induced pain. Furthermore, in the same condition, the L-arginine and caffeine completely reversed ( $p > 0.05$ ) the antinociception caused by L-NOARG (L-NOARG=20.2±5.4; L-NOARG/L-ARG=74.3±7.7) and adenosine (Ad=22.7±4.4; Caf/Ad=48.3± 6.2), respectively.

### Conclusão:

Our results demonstrate, for the first time, that LED promotes important analgesic effect, an action that is likely mediated by a reduction of the activation of nociceptors by TRPs agonist (i.e. cinnamaldehyde, capsaicin, menthol and acidified saline) and glutamate, probably by inhibition of the L-arginine/NO pathway or activation of the adenosinergic system.

### Apoio Financeiro:

CNPq, CAPES, UFSM, UFSC

## **EFEITO DO LASER DE BAIXA POTÊNCIA ASSOCIADO AO USO DE CARVÃO ATIVADO NO PROCESSO DE REPARO ÓSSEO EM TÍBIA DE RATOS**

**De Almeida-Silva, P., Sampaio, A. B. A. , Pallotta, R. C. , Dalmaso, R. B. M. , Foster, F. G. , Torres-Silva, R. , Martins, R. A. B. L. , Amaral-labat, G. , Lens e Silva, G. F. B. , Marcos, R. L.**

**Pós graduação - UNINOVE Núcleo de Pesquisas Tecnológicas - UMC Departamento de Metalurgia e Engenharia de Materiais – USP**

### **Introdução:**

Os defeitos ósseos são causados por diversos fatores e o processo de reparo pode ser lento, onde as fases inflamatória, proliferativa e de remodelação deste tecido são extremamente importantes para a qualidade do reparo. Existem diversas terapias onde a principal é a cirúrgica e neste caso, o uso de substitutos ósseos pode ser indicado. No entanto o processo de reparo pode necessitar de auxílio. Assim, a utilização do carvão ativado como substituto ósseo quando a aplicação do laser de baixa potência para auxílio do reparo ósseo pode ser uma alternativa para estes problemas.

### **Objetivos:**

O objetivo deste trabalho foi verificar a utilização do carvão ativado como substituto ósseo e a interação deste com a laserterapia, no processo de reparo ósseo em tíbias de ratos, avaliando alterações histológicas, bioquímicas e biomecânicas.

### **Métodos:**

AN-----/-- Foram utilizados 35 ratos wistar, entre 150g à 200g, com 3 meses de idade. Os animais foram anestesiados com associação de cloridrato de quetamina e (90mg/Kg e 10mg/Kg, IP). Depois de anestesiados, os animais foram colocados em mesa cirúrgica, a pele foi dissecada e foram confeccionados defeitos ósseos monocorticais na região central da tíbia direita dos ratos.

Imediatamente após a cirurgia os ratos foram randomizados e divididos nos seguintes grupos: Controle (CTL), Lesão não tratado (NT), Lesão tratado com carvão ativado (CA), Lesão tratado com associação do carvão ativo e laser 830nm, 6J – 100mW (CA+L) e lesão tratado com Hidroxiapatita (HA). Após 28 dias os animais foram eutanasiados com hiperdosagem do mesmo anestésico, o sangue foi coletado e a tíbia foi retirada para análises histológicas, bioquímicas e biomecânicas.

### **Resultados:**

O grupo NT apresentou redução nas forças de flexão (36% VS CTL) e alterações histológicas relacionadas a desorganização do tecido. Os grupos HA e CA+L não apresentaram melhora das propriedades mecânicas, porém, o grupo CA+L apresentou melhora dos aspectos histológicos. Somente o grupo CA apresentou melhora das forças de flexão (29% VS NT), relacionado com melhora dos aspectos histológicos e redução dos níveis de fosfatase alcalina (13% VS CTL). Os grupos NT apresentou níveis de fosfatase alcalina elevados (45% VS CTL).

### **Conclusão:**

A utilização de carvão ativado parece melhorar o reparo ósseo induzido neste estudo. A associação do laser com o carvão ativado não apresentou melhora **das propriedades biomecânicas** apesar dos resultados histológicos apresentarem um aspecto melhor.

### **Apoio Financeiro:**

CAPES, CNPq

## O PAPEL DO ULTRASSOM TERAPÊUTICO SOBRE O INFILTRADO DE MACRÓFAGOS EM MÚSCULO LESIONADO

Junior, E. M. S. , Ribeiro, J. S. , Pereira, N. S. , Mesquita-ferrari, R. A. , Bussadori, S. K. , França, C. M.,  
Fernandes, K. P. S. ,

Programa de Pós-graduação em Ciências da Reabilitação - UNINOVE Programa de Pós-graduação em Ciências da Reabilitação e em Biofotônica Aplicada às Ciências da Saúde - UNINOVE

Curso superior em Odontologia - UNINOVE

### Introdução:

As interações entre o músculo e os macrófagos que o invadem após a ocorrência da lesão são determinantes para a evolução do reparo deste tecido. O ultrassom terapêutico (UST), vem sendo utilizado na clínica para o tratamento de lesões musculares, mas seu mecanismo de ação ainda não está totalmente elucidado, bem como não estão definidos os parâmetros dosimétricos ideais para sua utilização. O UST se utiliza de vibrações mecânicas de alta frequência criadas através de energia elétrica que é convertida em energia sonora através de um cristal piezoelétrico. Ao entrar em contato com o tecido, essas vibrações são capazes de causar alterações de caráter bioquímico e fisiológico, dependendo dos parâmetros dosimétricos escolhidos. Estudos recentes mostram que o modo pulsado nas frequências de 1 e 3 MHz e intensidades de 0,2 a 5,0 W/cm<sup>2</sup>, é o mais utilizado na prática clínica.

### Objetivos:

Avaliar o efeito do UST sobre o infiltrado de macrófagos durante o processo de reparo do músculo esquelético de ratos.

### Métodos:

An0026/2014 Foram utilizados 45 ratos Wistar, machos, pesando em média 220±15g, divididos em 03 grupos: (1) Controle (n=5); (2) Criolesionados sem tratamento (n=20); (3) Criolesionados e tratados com UST (n=20). Sendo esses grupos avaliados após 1, 2, 3 e 7 dias. A criolesão consistiu de duas aplicações de bastão resfriado em nitrogênio líquido diretamente no músculo tibial anterior (TA). Foi utilizado para o tratamento diário o UST no modo estacionário, pulsado 1:4, com frequência de 1 MHz e intensidade de 0,4 W/cm<sup>2</sup>, durante 3 minutos. Ao término dos períodos experimentais de 1, 2, 3 e 7 dias, os animais foram eutanasiados com superdose de anestésico e os músculos TA foram removidos para análise do infiltrado de macrófagos durante o remodelamento muscular que foi realizada por meio de imunomarcagem (positividade para CD68). As imagens foram analisadas por meio da ferramenta plugin Count Cells do software Image J (National Institute of Health - NIH, EUA). Foram utilizados 2 cortes para cada animal, divididos em 10 áreas (aumento de 200 vezes). A comparação entre os dados foi realizada pelo teste de ANOVA/Tukey. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de ética no uso de animais da UNINOVE (An0026/2014).

### Resultados:

Nos períodos de 1, 3 e 7 dias após a lesão não houve diferença entre o grupo lesionado (475±93; 1288±145; 457±118) e o grupo lesionado e tratado com UST (608±142; 1088±233; 359±105) com relação ao número de macrófagos encontrados na área da lesão, já no segundo dia após a ocorrência da lesão, houve uma diminuição significativa no número de macrófagos nos animais tratados com UST (1568±116) com relação aos animais não tratados (2150±354).

### Conclusão:

O UST foi capaz de modular o infiltrado de macrófagos no período 48 h, indicado como pico da presença de macrófagos durante o processo de reparo do músculo esquelético. A presença intensa e a permanência de macrófagos no tecido lesionado pode ampliar o dano inicial, deste modo a modulação de sua presença pode ser positiva e pode ser um dos mecanismos de ação deste recurso terapêutico.

### Apoio Financeiro:

FAPESP 2013/07502-1

## **ANÁLISE FUNCIONAL DO EFEITO DA LASERTERAPIA NO REPARO DE LESÃO NERVOSA PERIFÉRICA APÓS TÉCNICA DE TUBULIZAÇÃO PREENCHIDA COM TECIDO ADIPOSEO**

**Pile, N. S. , Furtado, M. N. , Santana, I. C. , Saltorato, J. C. , Dare, L. R. , Dias, D. V. , Bortoluci, C. H. F. , Viterbo, F. , Junior, G. M. R. ,**

**Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação - USC Centro de Ciências da Saúde - USC Anatomia Humana - UNIPAMPA Cirurgia - FMB/UNESP**

### **Introdução:**

Lesões nervosas periféricas são comuns e podem desencadear ao paciente uma grande perda sensitiva e funcional. Para minimizar essa perda e reduzir o número de pacientes inválidos, melhorando sua qualidade de vida, muitas técnicas e tratamentos cirúrgicos e pós-cirúrgicos são estudados. A terapia com células-tronco derivadas de tecido adiposo é uma delas, uma vez que são células mesenquimais pluripotentes com capacidade de diferenciação em várias linhagens. Contudo, esse método ainda apresenta sucesso restrito in vitro, impactando na área clínica por tratar-se de uma técnica invasiva, com riscos de mutagênese além de altos custos. Outra técnica é a neurorrafia término-terminal, considerada como o padrão ouro para a reabilitação de pacientes que não apresentam perda de tecido, para fazer a união dos cotos proximais e distais é utilizado uma sutura simples. Como recurso terapêutico complementar, a laserterapia tem ganhado destaque por ser um tratamento não invasivo e possuir resultados positivos na regeneração e recuperação funcional.

### **Objetivos:**

O objetivo da pesquisa foi avaliar o efeito da laserterapia no reparo de lesão nervosa periférica após a técnica de tubulização preenchida com tecido adiposo.

### **Métodos:**

CEUA/USC: 4474300315 Foram utilizados 60 ratos da linhagem Wistar, machos, com 80 dias de vida, fornecidos pelo Biotério da Universidade do Sagrado Coração, divididos aleatoriamente em seis grupos com 10 animais cada: Grupo Controle (GC), Grupo Desnervado (GD), Grupo Tubulização (GT), Grupo Tubulização com Gordura (GTG), Grupo Tubulização e Laser (GTL) e Grupo Tubulização com Gordura e Laser (GTGL). Os grupos tubulização receberam enxerto de veia jugular. Os grupos com denominação de gordura receberam o preenchimento com gordura e a denominação laser receberam tratamento de laserterapia após a cirurgia de tubulização. O tratamento com laser foi realizado 3 vezes por semana, com duração de 90 segundos, durante 150 dias, com comprimento de onda de 830nm. Foram avaliados fatores morfométrico das fibras nervosas e dos axônios, além de testes eletrofisiológicos e funcionais (IFC).

### **Resultados:**

Os resultados obtidos corroboram com o esperado pela utilização da laserterapia. As variáveis morfométricas estudadas, bem como a análise funcional realizada mostram que o efeito da laserterapia na regeneração nervosa foi benéfica, apresentando resultados estatisticamente superiores nos grupos com tratamento com laser (GTL e GTGL) quando comparado com os grupos sem tratamento (GT e GTG). Os valores dos índices funcionais apresentados pelos grupos foram: GC -7,11 / GD -96,13 / GT -79,22 / GTG -53,23 / GTL -63,87 / GTGL -34,12. Na análise morfométrica dos nervos as médias das variáveis área da fibra, área do axônio, diâmetro da fibra, diâmetro do axônio, área da bainha e espessura da bainha foram respectivamente de: 57,16 / 18,24 / 7,72 / 4,12 / 39,23 / 3,43 para o GC, 39,84 / 11,82 / 7,01 / 2,84 / 28,03 / 4,10 para GTGL, 32,13 / 7,29 / 6,01 / 2,44 / 24,11 / 3,22 para o GTG, 30,88 / 7,73 / 6,25 / 2,62 / 24,08 / 3,31 para o GTL, 15,21 / 5,10 / 3,72 / 2,02 / 9,03 / 1,64 para o GT. Na análise eletrofisiológica obtivemos os valores de latência e amplitude respectivamente de: 1,32 e 22,11 para o GC, 1,78 e 19,13 para o GTGL, 1,85 e 17,37 para o GTG, 1,83 e 17,82 para o GTL, 1,94 e 14,64 para o GT, 0 e 10 para o GD.

**Conclusão:**

Com base nos resultados apresentados, pudemos concluir que a laserterapia atuou de maneira favorável para potencializar a regeneração nervosa, propiciando uma melhora morfológica e funcional.

**Apoio Financeiro:**



## LASERTERAPIA REDUZ INFLAMAÇÃO PULMONAR INDUZIDA PELA EXPOSIÇÃO A POLUENTE

Miranda-da-silva, C. , Leal, M. P. , Braga, T. , Ligeiro-de-oliveira, A. P. , Chavantes, M. C. , Franco, A. L. S.

Biofotônica aplicada as ciências da saúde – UNINOVE

### Introdução:

O crescimento de doenças pulmonares tem levado a esforços para o desenvolvimento de novas terapias, particularmente para o controle da inflamação. Dentre as terapias, o laser de baixa intensidade (LBI) tem merecido destaque, uma vez que é uma terapia não invasiva, sem efeitos colaterais e com ações antiinflamatórias e antioxidantes importantes, porém seus mecanismos necessitam ser explorados. Nesse sentido, utilizamos o Formaldeído (FA), um poluente ambiental e ocupacional, para indução da inflamação das vias aéreas. O FA é um agente químico amplamente utilizado em diversas indústrias, em laboratórios de anatomia, patologia, histologia, emitido pela queima de combustíveis, pela queima do gás de cozinha e também expelido na fumaça do cigarro. A inflamação pulmonar induzida pela exposição ao FA constitui um interessante e importante modelo de doença respiratória (Toxicol Appl Pharmacol, 214:35, 2006).

### Objetivos:

Investigar os efeitos do LBI na inflamação pulmonar induzida pela exposição ao FA.

### Métodos:

AN0029.2014 Ratos Wistar machos adultos (70 dias, 160g) foram expostos a inalação de FA (1%) ou seu veículo (90 min/dia, 3 dias) e irradiados ou não com laser de diodo (CW Diode Laser MMOptics, 660 nm, 0.785cm<sup>2</sup>, 5J/cm<sup>2</sup>, 30mW, 60s/ponto, total 540s) 1 h e 5 h após cada exposição ao FA. Ratos não manipulados foram usados para obtenção de valores basais. Foram realizadas 9 aplicações no aparelho respiratório (traquéia e lobos pulmonares direito e esquerdo) por contato direto com a pele. Após 24h da última exposição ao FA quantificamos as células presentes no sangue, medula óssea e pulmão, atividade da enzima mieloperoxidase pulmonar, liberação e expressão gênica de citocinas no lavado broncoalveolar (LBA). O projeto foi aprovado pelo comitê de ética em experimentação animal da Universidade Nove de Julho com protocolo nº AN0029.2014.

### Resultados:

Os dados mostraram que o tratamento com LBI reduziu a migração de neutrófilos (281%) e mononucleares (251%) no LBA, reduziu a migração de células mononucleares (167%) no sangue e não alterou a celularidade na medula óssea. Ainda, níveis reduzidos de IL-6 (275%) e TNF (454%) foram observados concomitantes ao aumento de IL-10 (218%) no LBA. Aumentada expressão gênica de IL-10 (239%) também foi observada após tratamento com LBI.

### Conclusão:

Tratamento com LBI reduz a inflamação pulmonar induzida pela exposição ao FA através da redução de IL-6 e TNF no LBA e aumento na liberação e expressão gênica de IL-10. Por fim, concluímos que a terapia com LBI pode representar uma importante ferramenta auxiliando no tratamento de doenças pulmonares induzidas por poluentes.

### Apoio Financeiro:

## EFEITO DA TINTURA DE ALÇAÇUZ (*Glycyrrhiza glabra*) ASSOCIADA A LASERTERAPIA SOBRE A ATIVIDADE MITOCONDRIAL DE CÉLULAS DE CARCINOMA EPIDERMÓIDE ORAL

Sousa, K. B. , Moraes, S. A. , Schalch, T. D. , Ferrari, R. A. M. , Bussadori, S. K. , Fernandes, K. P. S.  
Biofotônica – Uninove

### Introdução:

O carcinoma epidermóide de boca representa 95% dos cânceres da cavidade oral, tendo como opções de tratamento, a cirurgia, a radioterapia, a quimioterapia ou a combinação destes. Todas estas modalidades terapêuticas são altamente debilitantes e apresentam efeitos colaterais graves. Diante disto, existe a necessidade de desenvolver terapias que combinem alta eficácia e mínimos efeitos adversos. Fitoterápicos como a tintura de alçaçuz (*Glycyrrhiza glabra*) e o laser de baixa potência (em parâmetros dosimétricos específicos) têm demonstrado capacidade de inibir a proliferação celular de algumas linhagens tumorais, porém o efeito combinado destes recursos ainda não foi descrito.

### Objetivos:

Analisar o efeito da tintura de alçaçuz associada ou não a irradiação com laser de baixa potência sobre a atividade mitocondrial de células de carcinoma epidermóide oral (linhagem SCC9).

### Métodos:

Trabalho in vitro As células SCC9 foram cultivadas em meio DMEM/F12 suplementado com soro fetal bovino (10%) e hidrocortisona (400 ng/mL). Para os experimentos, as culturas de células irradiadas ou não com o laser de AsGaAl Twin-laser® (MM Optics) de 780nm (0,38 J, 40mW, 162 mW/cm<sup>2</sup>, 12 segundos) foram semeadas (2x10<sup>4</sup> células por poço em triplicata em placas de 96 poços) com tintura de *Glycyrrhiza glabra* (0,00025 g/μL e 0,0005 g/μL em equivalentes de compostos fenólicos). Culturas não irradiadas e não tratadas com a tintura de alçaçuz serviram como controle. As placas foram incubadas por 48 horas em estufa a 37°C com 5% de CO<sub>2</sub> e então a atividade mitocondrial foi avaliada pelo método MTT. Foram realizados três experimentos independentes. Os resultados expressos em densidade ótica (DO) foram submetidos à análise estatística utilizando ANOVA/Tukey (p < 0,05).

### Resultados:

As células irradiadas com laser (DO = 0,11 ± 0,01); as irradiadas com laser e tratadas com alçaçuz 0,00025 g/μL (DO= 0,13 ± 0,00); as tratadas com alçaçuz 0,0005 g/μL (DO = 0,11 ± 0,01) e as irradiadas com laser e tratadas com alçaçuz 0,0005 g/μL (DO= 0,11 ± 0,00) apresentaram diminuição na atividade mitocondrial (p<0.001) quando comparados às células do grupo controle (DO = 0,16 ±0,02). Não houve diferença entre a DO das células tratadas com alçaçuz 0,00025 g/μL (DO 0,16 ±0,02) e a DO das células do grupo controle (DO = 0,16 ±0,02).

### Conclusão:

A tintura de alçaçuz e a irradiação laser (na combinação de parâmetros utilizada neste estudo) foram capazes de inibir a atividade mitocondrial das células SCC9 após 48 de incubação, evidenciando um potencial antitumoral tanto do fitoterápico como da combinação de parâmetros de irradiação utilizada. Porém novos estudos devem ser realizados, agregando outras linhagens celulares, avaliando mecanismos de ação e utilizando modelos animais para que estes recursos possam vir a ser considerados como alternativa terapêutica no tratamento de carcinomas.

### Apoio Financeiro:

## **EFEITO DA FOTOTERAPIA SOBRE A REGENERAÇÃO DO MÚSCULO ESQUELÉTICO DE RATOS SENIS APÓS LESÃO AGUDA**

**Barbosa, D. V. D. E. , Brito, A. , Ribeiro, B. G. , Fernandes, K. P. S. , Bussadori, S. K. , Mesquita-Ferrari, R. A.**

**Programa de Mestrado e Doutorado em Ciências da Reabilitação - UNINOVE**

**Programa de Mestrado e Doutorado em Biofotônica Aplicada às Ciências da Saúde - UNINOVE**

### **Introdução:**

O envelhecimento causa alterações morfofisiológicas no músculo esquelético associadas à inflamação prolongada e reduzida substituição das fibras musculares danificadas por fibras novas, interferindo no processo de regeneração do músculo esquelético. O laser baixa potência (LBP) tem demonstrado modular de forma positiva o processo inflamatório resposta inflamatória e no remodelamento do colágeno muscular, acelerando o processo de reparo.

### **Objetivos:**

Avaliar os efeitos do LBP sobre o infiltrado inflamatório e a mionecrose em músculo esquelético de ratos senis após criolesão em músculo tibial anterior.

### **Métodos:**

002/2014 A metodologia utilizada no presente estudo foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Animais da UNINOVE (protocolo 002/2014). Foram utilizados ratos (linhagem Wistar), machos idosos de 20 meses (400-650g) mantidos no biotério da UNINOVE. Os animais foram distribuídos em 03 grupos experimentais: - Grupo 1 Controle: animais não submetidos a procedimento (lesão ou LBP) (n= 5); - Grupo 2 Criolesão sem tratamento com (n= 10); - Grupo 3 Criolesão tratado com LBP (n=10). O tratamento com LBP utilizou os parâmetros (780nm; 1W/cm<sup>2</sup> densidade de potência; 40mW de potência; 3,2J de energia total; tempo de 10s). Foi iniciado 2h após a lesão e, após 1 dia, foi realizado o sacrifício dos animais. Para avaliar o infiltrado inflamatório e a mionecrose foram obtidos cortes histológicos que foram corados com H&E. Para análise quantitativa, cinco áreas correspondentes à região da lesão foram fotografadas com auxílio de microscópio de luz convencional. As imagens foram analisadas no software Image J, sendo contabilizados os achados morfológicos descritos a partir de três cortes de cada animal. Os dados obtidos apresentaram distribuição normal (dados paramétricos) e foram analisados pelo teste One-Way ANOVA/Bonferrony (p ≤0,05).

### **Resultados:**

A análise quantitativa evidenciou redução significativa do número de células inflamatórias no grupo criolesionado e tratado com laser após 1 dia da lesão (1282±288 céls/mm<sup>2</sup>) comparado ao grupo criolesionado não-tratado (1732±179 céls/mm<sup>2</sup>) e grupo controle (869±103 céls/mm<sup>2</sup>), p<0,05. A análise da mionecrose realizada nos mesmos grupos também apresentou redução significativa no grupo tratado (289±27 céls/mm<sup>2</sup>) comparado ao grupo não-tratado (448±49 céls/mm<sup>2</sup>) e grupo controle (5±3,6 céls/mm<sup>2</sup>), p<0,05.

### **Conclusão:**

A irradiação com LBP após lesão aguda em animais senis demonstrou ser capaz de reduzir o infiltrado inflamatório e a mionecrose.

### **Apoio Financeiro:**

FAPESP ( 2014/13109-3; 2014/12381-1), UNINOVE.

## **EFEITO DO ULTRASSOM TERAPÊUTICO SOBRE OS ASPECTOS MORFOLÓGICOS DURANTE REPARO MUSCULAR DE RATO APÓS CRIOLESIÃO**

**Ribeiro, J. S. , Junior, E. M. S. , Cardoso, B. G. R. , Santos, L. A. D. , Silva, E. , Bussadori, S. K. ,  
Fernandes, K. P. S. , Mesquita-ferrari, R. A.**

**Docente dos Programas de Pós-graduação em Ciências da Reabilitação e em Biofotônica Aplicada às Ciências da Saúde - Uninove**

**Graduando em Fisioterapia - Uninove**

**Mestranda no Programa de Pós-graduação em Ciências da Reabilitação - Uninove**

**Doutoranda no Programa de Pós-graduação em Ciências da Reabilitação - Uninove**

**Mestrando no Programa de Pós-graduação em Ciências da Reabilitação - Uninove**

**Docente do Programa de Pós-graduação em Biofotônica aplicada à Ciências da Saúde - Uninove**

**Doutorando no Programa de Pós-graduação em Biofotônica aplicada à Ciências da Saúde - Uninove**

### **Introdução:**

O músculo esquelético é um tecido dinâmico, composto por fibras musculares e células satélites embebidas em uma matriz extracelular que apresenta excelente capacidade de regeneração. Após a lesão, inicia-se o processo de reparo com a fase inflamatória/ degenerativa, onde há infiltração de células inflamatórias que fagocitam o tecido necrosado (mionecrose). Essa fase é importante para uma regeneração muscular eficiente, mas se persistente pode aumentar o dano tecidual. Dessa forma, o Ultrassom terapêutico (UST) tem sido utilizado por promover um reparo muscular de melhor qualidade e menor duração, porém, não há padronização quanto aos parâmetros utilizados, na literatura. O ultrassom terapêutico (UST) é muito utilizado, na prática clínica, com intuito de promover de forma mais rápida e de melhor qualidade o reparo muscular frente aos diferentes tipos de lesão, porém os estudos com ultrassom ainda são escassos, não havendo padronização quanto aos parâmetros utilizados. Estudos recentes mostram que o modo pulsado nas frequências de 1 e 3 MHz e intensidades de 0,2 a 5,0 W/cm<sup>2</sup>, é o mais utilizado na prática clínica.

### **Objetivos:**

Avaliar o efeito do UST sobre o infiltrado inflamatório e mionecrose, durante o processo de reparo do músculo esquelético de ratos.

### **Métodos:**

An0026/2014 Foram utilizados 45 ratos Wistar, machos, pesando em média 220±15g, divididos em 03 grupos: (1) controle (n=5); (2) criolesionados sem tratamento (n=20); (3) criolesionados e tratados com UST (n=20). Sendo esses grupos avaliados após 1, 2, 3 e 7 dias. A criolesão consistiu de duas aplicações de bastão resfriado em nitrogênio líquido diretamente no músculo tibial anterior (TA). Foi utilizado para o tratamento diário o UST no modo estacionário, pulsado 1:4, com frequência de 1 MHz e intensidade de 0,4 W/cm<sup>2</sup>, durante 3 minutos. Ao término dos períodos experimentais de 1, 2, 3 e 7 dias, os animais foram eutanasiados com superdose de anestésico e os músculos TA foram removidos para análise morfológica, sendo os cortes corados com hematoxilina e eosina. Em seguida, as lâminas foram fotografadas e a mionecrose e infiltrados inflamatório quantificados. Para análise quantitativa, cinco áreas (aumento de 400X), correspondentes a 50% da área total da lesão, foram fotografadas com auxílio de microscópio de luz convencional (ZeissAxioplan 2, Alemanha). As imagens foram analisadas usando o plugin Count Cells do software Image J (National Institute of Health - NIH, EUA). Foram contabilizadas as células inflamatórias totais e a mionecrose por área. A comparação entre os dados foi realizada pelo teste de ANOVA/Tukey. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de ética no uso de animais da UNINOVE (An0026/2014).

**Resultados:**

Os resultados evidenciaram uma redução do infiltrado inflamatório no grupo lesionado tratado com UST após 1 dia ( $1234 \pm 30$  adicionar céls/área); 2 dias ( $1720 \pm 56$  céls/área); 3 dias ( $3586 \pm 84$ ) e 7 dias ( $740 \pm 23$  céls/área) em relação aos grupos somente lesionados, avaliados após 1 dia ( $1358 \pm 63$  céls/área); 2 dias ( $1848 \pm 37$  céls/área); 3 dias ( $3855 \pm 170$  céls/área) e 7 dias ( $1167 \pm 26$  céls/área). Com relação à mionecrose não houve diferença entre os grupos lesionados e não tratados após 1,2 e 3 dias, contudo houve uma redução significativa após 7 dias no grupo que recebeu o UST ( $137 \pm 17$  céls/área) em relação ao grupo somente lesionado do mesmo período ( $274 \pm 24$  céls/área).

**Conclusão:**

O tratamento com UST promoveu uma modulação do processo inflamatório, induzindo uma redução do infiltrado inflamatório e da mionecrose, durante o processo de reparo do músculo esquelético de ratos, submetidos à lesão aguda.

**Apoio Financeiro:**

FAPESP 2014/12381-1

## CHEMOTAXIS OF MACROPHAGES AND NEUTROPHILS IN DIABETIC WOUND HEALING UNDER DIFFERENT LASER THERAPY REGIMENS – EXPERIMENTAL STUDY

Santana, C. L. , Souza, A. P. , Mesquita-ferrari, R. A. , Silva, D. F. T. , Bussadori, S. K. , Fernandes, K. P. S. , Pancera, K. M. , França, C. M. ,

PPG em Biofotônica Aplicada às Ciências da Saúde – UNINOVE

### **Introdução:**

The wound repair in diabetic individuals is usually deficient and can lead to difficulty in healing due to an impaired cellular response. The phagocytes, i.e. neutrophils and macrophages, are pivotal cells in this process. It has been shown that laser therapy can aid in the closure of these wounds, but the mechanisms are poorly understood.

### **Objetivos:**

Evaluate if laser therapy could modulate the phagocytes chemotaxis during wound repair.

### **Métodos:**

0 Diabetes type 1 was induced in Wistar female rats by an intraperitoneal injection of streptozotocin. Fourteen days later, wounds were made with a punch of 8 mm on the dorsum of the rats and subsequently the animals were randomly divided in 3 groups and were subjected to two schemes of delivery of laser light  $\lambda = (660 \pm 2)$  nm,  $P = 30$  mW with single dose and fractionated dose. Experimental groups were: (1) control group (CG)- submitted to ulcer treatment; (2) single dose (SDG)- received laser therapy with  $4\text{J}/\text{cm}^2$ ,  $t = 104$  s; (3) fractionated dose (FDG)- received laser on days 1, 3, 8 and 10 being  $1\text{J}/\text{cm}^2$ ,  $t = 26$  s, totaling a  $4\text{J}/\text{cm}^2$  treatment. After euthanasia on days 1, 3, 8, 15 and 22, the samples were routinely processed for immunohistochemistry to detect neutrophils and macrophages. The tissue was photographed and cells were counted by a blinded pathologist. The Kruskal-Wallis test was performed to analyze the data

### **Resultados:**

On Day 1 the SDG presented the highest neutrophil count ( $p < 0.05$ ). On Day 3 the CG presented more neutrophils ( $p < 0.05$ ) and SDG presented more macrophages ( $p < 0.05$ ).

### **Conclusão:**

Laser therapy in a single dose of  $4\text{J}/\text{cm}^2$  improves the chemotaxis of phagocytes in the first days of wound healing. The FDG was not different from control.

### **Apoio Financeiro:**

FAPESP # 2012/01944-0

## ESPECTROSCOPIA IN VIVO DA PELE COM LÍQUEN ESCLEROSO

Guedes, G. H. , Belotto, R. A. , Itri, R. , Baptista, M. S. , Silva, D. F. T. ,

Programa de Pós Graduação em Biofotônica Aplicada às Ciências da Saúde - UNINOVE  
Ambulatório - HPB Departamento de Física Aplicada - IFUSP Departamento de Bioquímica -  
IQUSP

### **Introdução:**

O líquen escleroso (LE) é uma doença linfócito mediada e de etiologia pouco conhecida que pode ocasionar intenso prurido, estenose, intensa dor e trauma na pele. O tratamento padrão para esta doença é o uso de corticosteroide tópico para restringir o sintoma clínico e tentar espaçar os surtos. Atualmente, terapias alternativas são investigadas, principalmente as fototerapias, as quais necessitam de melhor entendimento quanto à interação radiação-tecido e, portanto, às modificações ópticas que o alvo biológico exerce sobre a luz que o atravessa (fotodiagnóstico) e também, às modificações ópticas que a radiação luminosa exerce sobre o tecido (fototerapia).

### **Objetivos:**

Sendo assim, o objetivo desse estudo foi comparar a pele acometida pelo LE em relação à pele sadia, por meio da espectroscopia de reflexão in vivo.

### **Métodos:**

A pesquisa foi realizada apenas com seres humanos. Vinte pacientes do Hospital Pérola Byington, em São Paulo, com diagnóstico histológico de LE participaram do estudo após aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa, sob parecer número 768.168. A pele sadia foi medida numa área afastada do LE, totalizando 40 medições, isto é, uma medição em área sadia e outra em área doente, em cada uma das 20 pacientes. Foi utilizado o espectrofotômetro modelo USB2000 (Ocean Optics) para obtenção da reflexão entre 400 nm e 1000 nm.

### **Resultados:**

A reflexão do LE foi diferente daquela da pele sadia, conforme evidenciado pelos espectros.

### **Conclusão:**

Inferir sobre o estado fisiológico tecidual a partir das propriedades da luz que a atravessa é uma tarefa complexa. Contudo, o desafio é tentador e promissor devido ao fato da caracterização óptica do tecido biológico conter informação valiosa não apenas para a otimização da fototerapia, mas também para o fotodiagnóstico.

### **Apoio Financeiro:**

FAPESP, processo nº 2012/50680-5

# FOTOMODULAÇÃO DA PRODUÇÃO DE TNF- $\alpha$ POR MACRÓFAGOS J774 ATIVADOS

Souza, N. H. C. , Mesquita-Ferrari, R. A., Oliveira, A. P. L. , Silva, D. F. T. , Bussadori, S. K. ,  
Fernandes, K. P. S. ,

Programa de Pós-graduação em Ciências da Reabilitação, Programa de Pós-graduação em  
Biofotônica aplicada as Ciências da Saúde – UNINOVE

## Introdução:

Os macrófagos são células essenciais para o processo de reparo tecidual devido a sua capacidade de adotar uma variedade de fenótipos em resposta ao meio microambiente em que estão inseridos. Após a ocorrência de uma lesão tecidual, os macrófagos do fenótipo M1 produzem altas quantidades de citocinas e outros produtos de caráter pró-inflamatório como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ). Por outro lado, o laser em baixa intensidade (LBI) é um recurso terapêutico utilizado na prática clínica, no intuito de modular o processo inflamatório e acelerar o reparo, porém seus resultados apresentam total dependência de seus parâmetros dosimétricos e do tipo celular ou tecidual envolvido.

## Objetivos:

Avaliar o efeito do LBI vermelho (660nm) e infravermelho (780nm) sobre a produção de TNF- $\alpha$  por macrófagos J774 ativados para o fenótipo M1.

## Métodos:

Não se aplica devido o trabalho ser com linhagem de células (Linhagem J774) Os macrófagos de linhagem J774 foram ativados por meio da incubação com LPS (1 $\mu$ g/mL) e IFN- $\gamma$  (0,2 $\mu$ g/mL) por 4 h. Após este período, as células foram irradiadas com LBI em 6 parâmetros (660 e 780nm: 70 mW/17,5J/cm<sup>2</sup>/0,8J; 660 e 780nm: 40 mW/ 10J/cm<sup>2</sup>/ 0,4J e 660 e 780nm: 20mW/ 5J/cm<sup>2</sup>/0,2J) e permaneceram por mais 24 horas com 5% de CO<sub>2</sub> à 37°C. Foram realizados três experimentos independentes com amostras em triplicata. Os resultados foram submetidos à análise estatística ANOVA/Tukey e diferenças foram considerados significantes quando p<0.05.

## Resultados:

Após 24 horas da irradiação, o grupo ativado (187,51+37,56 pg/mL) apresentou menor produção de TNF- $\alpha$  que o grupo ativado e irradiado com LBI 660nm 20mW (270,87+39,36 pg/mL) e maior produção que os grupos ativados e irradiados com LBI de 660nm 40mW (113,66+53,16 pg/mL) e LBI de 780nm 70mW (67,33+23,05pg/mL), entre o grupo ativado e os outros grupos experimentais não houveram diferenças estatísticas. O grupo ativado e irradiado com o LBI de 660nm 20mW (270,87+39,36 pg/mL) apresentou maior produção de TNF- $\alpha$  que o grupo ativado e irradiado com LBI de 660nm 40mW (113,66+53,16 pg/mL) e 660nm 70mw (135,61+33,22pg/mL). O grupo ativado e irradiado com LBI de 780nm 20mW (138,90+52,76 pg/mL) apresentou uma maior produção de TNF- $\alpha$  que o grupo ativado e irradiado com LBI de 780nm 70mW (67,33+23,05 pg/mL). Em relação a mesma potência utilizada mas com LBI vermelho e infravermelho, o grupo ativado e irradiado com o LBI de 660nm 20mW (270,87+39,36 pg/mL) apresentou maior produção de TNF- $\alpha$  que o grupo ativado e irradiado com 780nm 20 mW (138,90+52,76 pg/mL).

## Conclusão:

O laser em baixa intensidade em ambos os comprimentos de onda (660nm e 780nm) foi capaz de modular a produção de TNF- $\alpha$  porém de maneira diferenciada reforçando a importância da escolha correta do dosimetria para o tipo celular e para o tecido que serão alvo da terapia com laser.

## Apoio Financeiro:

FAPESP processos: 2013/23051-0 e 2013/07502-1