

ANAIS DA SBBN

ANNALS OF THE BRAZILIAN SOCIETY
ON NUCLEAR BIOSCIENCES

VOLUME 04
ANO 2017

XII CONGRESSO DA SBBN

São Paulo, 9 a 11 de Outubro de 2017

Radioisótopos e Luz em Saúde:

Integrando competências e inovações em Biociências

Radioisotopes and Light in Health:

Integrating competencies and innovations in Biosciences

Anais da Sociedade Brasileira de Biociências Nucleares

ISSN 2525-4634 online publication

ANAIS DA SBBN é uma publicação anual da Sociedade Brasileira de Biociências Nucleares (SBBN) para divulgação de resumos e artigos completos apresentados em congressos e eventos promovidos pela SBBN.

Expediente:

Coordenação: Sociedade Brasileira de Biociências Nucleares (SBBN)

Presidente: Silvia Maria Velasques de Oliveira

Diretor de Ensino, Eventos e Divulgação Científica: Priscilla Brunelli Pujatti

Correspondências: Caixa Postal 34131 CEP 22460-970

Contato: publicacoes@sbbn.org.br

Instruções aos autores: <http://sbbn.org.br/anais-sbbn/>

SOCIEDADE BRASILEIRA DE BIOCIÊNCIAS NUCLEARES

Sede oficial: Boulevard Vinte e Oito de Setembro, 87- Vila Isabel, Rio de Janeiro, RJ

Endereço para correspondência: Caixa Postal 34131 – CEP 22460-970

Portal: www.sbbn.org.br

DIRETORIA EXECUTIVA (2015-2017)

Presidente - Sílvia Maria Velasques de Oliveira
Vice-Presidente - Adenilson de Souza da Fonseca
Primeira Secretária - Luciene das Graças Mota
Segundo Secretário - Rodrigo Gadelha Gontijo
Tesoureira em exercício - Adélia Sahyun
Diretor Científico - Valbert N. Cardoso
Diretora de Eventos - Priscilla B. Pujatti

COORDENAÇÕES CIENTÍFICAS (2015-2017)

Radiobiologia - Liliâne de Freitas Bauermann
Radiofarmácia - Fábio Luiz Navarro Marques
Biofotônica e Fotobiologia - Martha Simões Ribeiro
Vibrações mecânicas - Mário Bernardo-Filho
Regional Nordeste - Thiago de Salazar e Fernandes

PRESIDENTE DO XII CONGRESSO

Sílvia Maria Velasques de Oliveira

COMITÊ ORGANIZADOR

Ademar Benevoló Lugão
Anna Lucia Casañas Haasis Villavicêncio
Elaine Bortoleti de Araújo
Fábio Luiz Navarro Marques
José Augusto Perrotta
Lorena Pozzo
Luciana Malavolta Quaglio
Luciene das Graças Mota
Maria Elisa Chuery Martins Rostelato
Marycel Figols de Barboza
Martha Simões Ribeiro
Rodrigo Gadelha Gontijo
Rodrigo Labat Marcos
Sílvia Maria Velasques de Oliveira

COMITÊ CIENTÍFICO

Ademir de Jesus Amaral
Adenilson de Souza da Fonseca
Divanizia do Nascimento Souza
Edvane Borges da Silva
Fábio Luiz Navarro Marques
Liliâne de Freitas Bauermann
Luciana Malavolta Quaglio
Marcelo Mamede
Mariana Brayner Cavalcanti
Maria Helena Marumo
Martha Simões Ribeiro
Priscilla Brunelli Pujatti
Rodrigo Álvaro Brandão Lopes-Martins
Thiago de Salazar e Fernandes
Valbert Nascimento Cardoso

SUMÁRIO

	Pag.
Apresentação	4
Siglas e instituições participantes	5
Programa completo	7
Roteiros de minicursos	12
Resumos de conferências e mesas redondas	13
Resumos de palestras do Simpósio “ <i>Técnicas para controle populacional de mosquitos vetores Aedes aegypti</i> ”	24
Lista de painéis e comunicações orais (por código de registro no sistema “on line”)	27
Artigos completos	
<i>Development of three-dimensional cellular culture system for testing of biological effects of radiations in tumoral and non-tumoral models</i>	31
Leticia Bonfim, Karina Oliveira Gonçalves e Daniel Perez Vieira	
<i>Expressão das Citocinas TNF, IL-17A, IL-4 e IL-10 em Células Mononucleares do Sangue Periférico Irradiadas “in vitro”</i>	40
Ademir de J. Amaral, Lidía L. Bezerra Leite, Ayala G. do Nascimento, Ewerton C. Diniz, Gicielne F.da Silva, Samuel C. Dantas, Thiago de S. Fernandes, Edvane B. da Silva, Robson C. Veras, Isac A. de Medeiros e Mariana B. Cavalcanti	
<i>Avaliação do efeito de três metais constituintes da monazita sobre a radiosensibilidade de osteoblastos humanos</i>	49
Lucas K.da Fonseca Iwahara, Monica Stuck de Oliveira e Marcus A. Vallim de Alencar	
<i>Avaliação de Doses Equivalentes em PET/CT com 18F Utilizando o Método Monte Carlo com Código MCNPX</i>	60
Walmir Belinato, William S. Santos, Ana P. Perini, Lucio P. Neves, Linda V. E. Caldas e Divanizia N. Souza	
<i>Avaliação dos Efeitos das Radiações Ionizantes em Farinhas – Artigo de revisão</i>	74
Ana P. Nunes de Sá e Anna L. C. H. Villavicencio	
Resumos de trabalhos por eixos temáticos	
Biofotônica	82
Experimentação Animal	106
Radiobiologia e Biodosimetria	111
Imagens moleculares e Radioterapia	123
Instrumentação, Segurança, Dosimetria e Qualidade em irradiações	127
Produção de Radioisótopos	132
Nanobiotecnologia	138
Ressonância Magnética	139
Índice de autores de resumos	140

APRESENTAÇÃO

Em 2014, 2015 e 2016, os congressos da SBBN aconteceram em conjunto com as reuniões anuais da Federação das Sociedades de Biologia Experimental (FeSBE). Em 2017, a promoção da SBBN à categoria de “*sociedade federada*” foi consequência do expressivo aumento de participantes e atividades desenvolvidas na FeSBE nesse período. Em 2015, nos associamos à Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência (SBPC) na área de Ciências Biológicas e da Vida e oferecemos atividades nas reuniões anuais em Porto Seguro (2016) e Belo Horizonte (2017). Em 2017, nos associamos à International Union on Pure and Applied Biophysics (IUPAB). Nos dois últimos anos, temos enfrentado um cenário de dificuldades para a Ciência brasileira e, conseqüentemente, participamos da defesa de causas comuns, através de iniciativas lideradas pela SBPC junto ao MCTIC e demais órgãos do Poder Executivo, entidades de classe e Congresso Nacional.

Em 2017, contamos com o apoio do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN) para realizar um Congresso em seu campus, na Cidade Universitária da USP. O projeto do XII Congresso da SBBN foi aprovado nos comitês de Ciências Biológicas/Biofísica da CAPES, CNPq e FAPESP. Para o tema “*Radioisótopos e Luz: integrando inovações e competências em Biociências*” foi desenhado um programa multidisciplinar e equilibrado entre radiações ionizantes e não ionizantes com foco em diagnóstico e terapia. Palestras de cientistas das sociedades brasileiras de imunologia, farmacologia, ciência dos animais e biologia celular trouxeram ao congresso uma nova abordagem. Para unir os eixos temáticos, foram trocadas experiências sobre estudos não clínicos e clínicos, modelos translacionais, biossegurança, reprodutibilidade em pesquisas biomédicas e técnicas para bioimagens.

Cerca de sessenta professores ministraram palestras em oito mesas redondas, cinco conferências plenas e um simpósio e coordenaram quatro sessões de comunicações orais e seis minicursos, além da avaliação de painéis em dois dias. O Congresso recebeu 134 inscrições para os três dias e 50 convidados para o Simpósio “*Técnicas para controle populacional de mosquitos vetores Aedes aegypti*” no dia 11/10. Noventa inscritos em seis minicursos tiveram aulas teóricas e visitas guiadas a laboratórios do IPEN. Foram apresentados 48 painéis e 12 comunicações orais, sendo conferidas oito menções honrosas a estudantes de pós-graduação.

Nesta quarta edição dos **ANAIS DA SBBN**, publicamos cinco artigos completos (três sobre Radiobiologia, um sobre dosimetria de pacientes submetidos à técnica PET-CT e um artigo de revisão sobre irradiação de alimentos) e resumos de 48 trabalhos apresentados sob formato de comunicação oral ou painéis. Agradeço à Comissão Científica do Congresso pelo trabalho de revisão. Esta publicação assegura que o esforço empreendido para a realização do Congresso possa ser repercutido e que os objetivos da SBBN tenham embazamento em sua competência técnica.

Agradeço às Diretorias da FeSBE e da SBPC pelo trabalho em conjunto e ao IPEN, CNPq, CAPES e FAPESP pela aprovação do projeto do XII Congresso, possibilitando sua execução. Agradeço aos congressistas por sua efetivação participação e contribuições para o alto nível das discussões, recomendações e lições aprendidas, permitindo o contínuo aprimoramento dos eventos da SBBN.

Silvia Velasques de Oliveira

Presidente da SBBN

SIGLAS E INSTITUIÇÕES PARTICIPANTES

ALASBIMN - Asociación Latinoamericana de Sociedades de Biología y Medicina Nuclear
Bufallo University, USA
CUDIM - Centro Uruguayo de Imagenología Molecular, Uruguay
EU-JRC- European Commission, Joint Research Centre, Karlsruhe, Germany
Facultad de Química, Universidad de La Republica, Uruguay
University of Alabama at Birmingham, Wallace Tumor Institute, USA
UNC Charlotte, Chemistry Department, USA
University of Toronto, Canada
University Health Network, Toronto, Canada
WALT- World Association on Laser Therapy
CIEnP – Centro de Inovação e Ensaios Pré-Clínicos
CDTN - Centro de Desenvolvimento de Tecnologia Nuclear
CRCN-NE - Centro Regional de Ciências Nucleares do Nordeste
CENA-Centro de Energia Nuclear na Agricultura
FESBE- Federação das Sociedades de Biologia Experimental
SBBC- Sociedade Brasileira de Biologia Celular
SBBq - Sociedade Brasileira de Bioquímica
SBCAL- Sociedade Brasileira de Ciência dos Animais
SBI - Sociedade Brasileira de Imunologia
SBFTE- Sociedade Brasileira de Farmacologia e Terapêutica Experimental
FCMSCSP - Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo
FIOCRUZ - Fundação Oswaldo Cruz
HCB - Hospital do Câncer de Barretos
Instituto Butantan
ICESP-Instituto do Câncer de São Paulo
InsCer/PUCRS - Instituto do Cérebro-Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS
IFBA - Instituto Federal da Bahia, Campus de Vitória da Conquista, Bahia
IIEPAE- Instituto Israelita de Ensino e Pesquisa Albert Einstein
INCA- Instituto Nacional do Câncer
IPEN - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares
CR - Centro de Radiofarmácia
CLA - Centro de Lasers e Aplicações
CQMA - Centro de Química e Meio Ambiente
CTR - Centro de Tecnologia das Radiações
Universidade Anhembi Morumbi
IRD – Instituto de Radioproteção e Dosimetria
UERJ - Universidade do Estado do Rio de Janeiro
UEG - Universidade Estadual de Goiás, Escola Superior de Educação Física e Fisioterapia
UFABC - Universidade Federal do ABC, Santo André, SP
UFJF - Universidade Federal de Juiz de Fora, MG
UFMG - Universidade Federal de Minas Gerais
FF- Faculdade de Farmácia
FM - Faculdade de Medicina
UMC - Universidade de Mogi das Cruzes. SP
UNINOVE - Universidade Nove de Julho, SP

UFU - Universidade Federal de Uberlândia, MG
UFS- Universidade Federal de Sergipe
Universidade Severino Sombra, Vassouras, RJ
USC - Universidade do Sagrado Coração, Bauru, São Paulo
UFP-Universidade Federal dos Pampas, Uruguaiana, RS
UFG- Universidade Federal de Goiás,
Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Goiânia, GO
UFRJ - Universidade Federal do Rio de Janeiro
IF - Instituto de Física
IBCCF - Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho
UFSM - Universidade Federal de Santa Maria
UNICAMP - Universidade de Campinas
UNIFESP - Universidade Federal de São Paulo
UFPE - Universidade Federal de Pernambuco
UNIVAP - Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos
USP - Universidade de São Paulo
FFCLRB - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto
FM- Faculdade de Medicina
IQ - Instituto de Química
ICB - Instituto de Ciências Biomédicas
IFSC- Instituto de Física de São Carlos
Prefeitura Municipal de Quatis
SUCEN/SP-Superintendência de Controle de Endemias de São Paulo

PROGRAMA COMPLETO

Dia 9 de outubro de 2017 (Segunda-feira)

8h:30-9h:00 Mesa de abertura

Coordenadores: Silvia M. V. Oliveira (SBBN) e Wilson. A. P. Calvo (Superintendente do IPEN)
Palestra: Interfaces do Reator Multipropósito Brasileiro (RMB) (José A. Perrotta, IPEN)

9h:00-10h:30 Mesa redonda 1: Modelos experimentais e desafios na área biomédica

Coordenadores: Hernandes F. Carvalho (FeSBE) e Maria Christina Avellar (SBFTE)

Estado da arte dos ensaios pré-clínicos no país (Allisson F. Bento, CIEnP)
A crise de reprodutibilidade de resultados científicos (Marcel Frajblat, UFRJ, SBCAL, FESBE)

11h:00-12h:00 Conferencia 1: Translational Medicine: challenges and perspectives in Oncology

Coordenador: Silvia Velasques (SBBN)
Conferencista: João P. V. Biaso Viola (INCA, SBI)

13h:00-13h:50 MINICURSOS

Laboratório Multiusuário de Nanobiotecnologia
Biossegurança e ensaios pré-clínicos “in vivo”
Técnicas ópticas para diagnóstico e terapia
Controle de qualidade de radiofármacos e qualidade da imagem

14h:00-16h:00 – MESAS REDONDAS

Mesa redonda 2: Nanobiotecnologia, Biofotônica e Teranóstica: impacto em sistemas biológicos

Coordenadores: Ademar B. Lugão (IPEN) e Valbert N. Cardoso (FF-UFMG)

Nanocarreadores aplicados à terapia celular e tratamento de patologias (Antonio C. Tedesco, FFCLRP-USP)

Intersection among novel combinatorial molecules, nanobiotechnologies and biophotonics for theranostic applications (Luiz R. Goulart F^o., UFU)

Mesa redonda 3: Radioterapia: produção de fontes, radiosensibilizadores e planejamento de doses

Coordenador: Divanizia N. Souza (UFS)
Fontes radioativas para Braquiterapia, produção brasileira (Maria Elisa Rostelato, CTR-IPEN)
Radiosensibilizadores e planejamento de doses (Divanizia N. Souza, UFS)
Quantificação do Volume Tumoral Biológico com PET-CT (Marcelo Mamede, FM-UFMG)

16h:00-17h:00 - SESSÃO DE PAINÉIS

Coordenadores: Priscilla B. Pujatti (INCA); Marycel F. de Barboza (IIEPAP) e Luciana Malavolta (FCMSCSP)

Dia 10 de outubro de 2017 (Terça-feira)

8h:00 - 8h:50 **SESSÃO DE COMUNICAÇÕES ORAIS (CO)**

CO1: BIOFOTÔNICA

Coordenadores: Adenilson S. Fonseca (UERJ) e Liliane Bauermann (UFSM)

AO001- Avaliação in vitro de terapia fotodinâmica com nanopartículas redox-responsivas de PPIX. ¹Il. S. Leite; ²J. L. Viviero-Escoto; ³V. S. Bagnato; ⁴N. M. Inada.^{1,3,4}*IFSC-USP*; ²*Chemistry Department-UNC, Charlotte, USA*

AO002- Effects of photobiomodulation therapy and diclofenac on muscle strength in an experimental model of skeletal muscle trauma in diabetic rats. ¹R. L. P. Carvalho; ²N. A. Miguel; ³L. S. Santos; ⁴A. A. T. Napolitano; ⁵G. M. R. Junior; ⁶R. L. Marco; ⁷M. Gaiato; ^{1,2,3,4,5,7}*USC*; ⁶*UNINOVE*

AO003- Efeito da laserterapia na modulação da dor em modelo de tendinite induzida por collagenase - aspectos moleculares e funcionais. ¹R. L. Marco; ²S. Piccirillo; ³P. Almeida; ^{4a}. A. Deno; ⁵R.T. da Silva; ⁶R. A. B. Lopes-Martins; ⁷R. L. P. Carvalho; ⁸R. C. Pallotta. ^{1,2,3,4,8}*UNINOVE*; ^{5,6}*UMC*; ⁷*USC*

CO2: RADIOISÓTOPOS

Coordenadores: Fabio L.N. Marques (FM-USP) e Marycel F. de Barboza (IIEPAE)

AO004- Comparative study of tricarbonyl complexes of ^{99m}Tc in the diagnosis of fungal infections. ¹L. G. Fernández; ²A. L. Reyes; ³M. A. Teran. ^{1,3}*Facultad de Química, Uruguay*; ²*CUDIM*

AO005- Imaging HER2 in response to T-DM1 therapy in breast cancer xenografts. A. V. Massicano; T. Aweda; B. Marquez-Nostra; Reeta el Sayed; R. Beacham; S. Lapi. *University of Alabama at Birmingham, USA*

AO006- Avaliação da imagem PET e biodistribuição ex vivo do radiofármaco ¹⁸F-Fluorestradiol em animais saudáveis. ^{1a}. C. A. Bispo; ²M. B. Silveira; ³R. M. G. Gontijo; ⁴M. R.A.Campos; ⁵C. Malamut; ⁶J. B. Silva; ⁷M. Mamede. ^{1,2,3,4,5,6}*CDTN/CNEN, MG*; ⁷*UFMG, MG, Brasil*

9h:00-10h:45

Mesa redonda 4: Inovações em bioimagens: sistemas ópticos, dinâmicos e híbridos

Coordenadores: Marcelo Mamede (FM-UFMG) e Mercia L. de Oliveira (CRCN)

Label-free imaging of single cell metabolism (Hernandes F. Carvalho, UNICAMP, SBBC)

Aplicação de microPET-CT em modelos animais de neuropatologias (Samuel Greggio, InsCer/PUCRS)

Ressonância quantitativa com controle fisiológico (Felipe Tancredi, IIEPAE)

Uso da radiação ionizante como ferramenta no estudo de amostras biológicas: de corpos embriões a minicérebros (Simone C. Cardoso, IF-UFRJ)

9h:00-10h:45 CURSOS

Formulações farmacêuticas inovadoras para diagnóstico e terapia usando radiotraçadores e bioluminescência

Irradiação e controle de qualidade de fontes radiativas para braquiterapia

11h:00-12h:00 CONFERÊNCIAS

Conferencia 2: Stem Cells and Photobiomodulation Therapy

Coordenador: Martha S. Ribeiro (CLA-IPEN)

Conferencista: Praveen Arany (Buffalo University, USA, WALT President)

Conferencia 3: Targeted Alpha Therapy - Applications and Current Status

Coordenador: Jair Mengatti (CR-IPEN)

Conferencista: Frank Bruchertseifer (European Commission, JRC, Germany)

13h:00-13h:50 CURSOS

Laboratório Multiusuário de Nanobiotecnologia

Biossegurança e ensaios pré-clínicos “in vivo”

Técnicas ópticas para diagnóstico e terapia

Controle de qualidade de radiofármacos e qualidade da imagem

14h:00-16h:00 MESAS REDONDAS

Mesa redonda 5: Terapia Fotodinâmica

Coordenadores: Rodrigo L. Marcos (UNINOVE) e Anderson Z. de Freitas (CLA-IPEN)

Ensaio pré-clínicos e clínicos em terapia fotodinâmica (Natalia M. Inada, IFSC-USP)

Inativação fotodinâmica de fungos fitopatogênicos (Gilberto U. L. Braga, FCFRP-USP)

Novidades em fotossensibilizadores, mecanismos e aplicações da terapia fotodinâmica (Mauricio S. Baptista, IQ-USP, SBBq)

Mesa redonda 6: Desafios do entendimento e tratamento do câncer prostático: um olhar da pesquisa básica e avanços do tratamento clínico

Coordenadores: Elaine B. Araujo (CR-IPEN) e Antero Andrade (CDTN)

Targeting androgen receptor signaling in prostate cancer (Maria C. Avellar, UNIFESP, SBFTE)

Challenges in alpha radioisotopes Ac-225 and Bi-213 production and labelling of antibodies and peptides for clinical use (Frank Bruchertseifer, EC-JRC, Germany)

Experiência de PET/CT em câncer de próstata com PSMA-68Ga (Marcelo L. Cunha, IIEPAE)

Novas Estratégias de tratamento em câncer de próstata (Euclides T. Rocha, H.C. Barretos)

16h:00-17h:00 - SESSÃO DE PAINÉIS (SP2)

Coordenadores: Priscilla B. Pujatti (INCA), Marycel F. Barboza (IIEPAE); Luciana Malavolta (FCMSCSP)

Dia 11 de outubro de 2017 (Quarta-feira)

8h:00 - 8h:50 SESSÃO DE COMUNICAÇÕES ORAIS (CO)

CO3: BIOFOTÔNICA

Coordenadores: Rodrigo A. B. Lopes-Martins (UMC) e Rodrigo L. Marco (UNINOVE)

AO007- Laser infravermelho de baixa potência modifica o parênquima pulmonar após indução de lesão pulmonar aguda em resposta a administração de LPS. ¹L. P. S. Sergio; ²L. A. S. N. Trajano; ^{3a} M. C. Thomé; ⁴S. C. Vicentini; ^{5a} A. Mencalha; ⁶F. de Paoli; ⁷ A. S. Fonseca. ^{1,2,3,5,7}UERJ; ^{4,7}UNIRIO; ⁶UFJF

AO008- Efeitos de lasers de baixa potência na expressão de genes pró-oncogênicos em culturas de células de câncer de mama. K. S. Canuto; A. F. Teixeira; J. R. Alves; A. Mencalha; A. S. Fonseca. UERJ

AO009- Efeitos da terapia fotodinâmica antimicrobiana associada a nanopartículas doadoras de óxido nítrico em leishmaniose cutânea. F.V. Cabral; ²M. T. Pellegrino; ³A. B. Seabra; ⁴M. S. Ribeiro. ^{1,4}IPEN; ^{2,3}UFABC

CO4: RADIOISÓTOPOS E RADIOBIOLOGIA

Coordenadores: Luciana Malavolta (FCM-SCSP) e Ademir Amaral (UFPE)

AO010- Radiomarcção de inibidor de PSMA com ^{177}Lu e avaliação biológica do potencial para aplicação no tratamento do câncer de próstata. J. J. Silva. IPEN, São Paulo, SP

AO011- Peptide LYETX I MNΔK: a potential antimicrobial agent. L. L. Fuscaldi; J. T. A. Júnior; D. Boff; D. M. Santos; V. L. S. Oliveira; L. M. Mata; S. M. Lopes Contarini; S. E. M. Miranda; Flávio A.; S. O. F. Diniz; M. E. Lima; V. N. Cardoso. *UFMG*

AO012- Desenvolvimento de cultivo celular tridimensional para testes de efeitos biológicos das radiações em modelos tumorais e não-tumorais. ¹L. Bonfim; ²K. O. Gonçalves; ³D. P. Vieira. ^{1,3}*IPEN*; ²*UNIFESP*

8h:30-10h:45 SIMPÓSIO: Técnicas para controle populacional de mosquitos vetores *Aedes aegypti* - Parte I

Coordenador: Anna L. Villavicêncio (IPEN)

9h:00-10h:45 MESAS REDONDAS

Mesa redonda 7: Fotomodulação em Fisioterapia e Odontologia

Coordenadores: Adenilson S. Fonseca (UERJ) e Kristianne P. S. Fernandes (UNINOVE)

Potencial uso da fotobiomodulação em tendinites (Rodrigo A. B. Lopes-Martins, UMC)

Fotobiomodulação em células inflamatórias (Kristianne P. S. Fernandes, UNINOVE)

Ensaio clínico e pré-clínicos da fotobiomodulação em lesão cerebrovascular e traumatismo medular (Mario O. Lima, UNIVAP)

Mesa redonda 8: Ensino de Biociências com equipes multidisciplinares

Coordenador: Silvia M. Velasques de Oliveira

Ensino superior- formação de equipes multidisciplinares em medicina nuclear (Mariella Terán, Universidade de La Republica, Uruguay e ALASBIMN)

Treinamento em serviço-Insalubridade e periculosidade e as Normas de Segurança Ocupacional (Ademir Amaral, UFPE)

Ensino Médio - Física com atividades investigativas (Deise M. Vianna, IF-UFRJ)

11h:00-12:00 CONFERÊNCIAS

Conferencia 4: Efeitos da radiação na esterilização do *Aedes aegypti*

Coordenador: Anna L. Villavicêncio (IPEN)

Conferencista: Valter Arthur (CENA/IPEN/SP)

Conferencia 5: Photodynamic Treatment Planning and Dosimetry: Development of an Universal Applicable Treatment Optimization process based on Monte Carlo simulations

Coordenador: Martha S. Ribeiro (CLA-IPEN)

Conferencista: Lothar Lilge (Department of Medical Biophysics, University of Toronto and University Health Network, Toronto, Canada)

12h:00 - 12h:30 CERIMÔNIA DE PREMIAÇÕES

Coordenador: Luciene G. Mota (SBBN)

13h:00 - 16h:00 CURSOS

Visitas guiadas a laboratórios

14h:00-17h:00

SIMPÓSIO: Técnicas para controle populacional de mosquitos vetores *Aedes aegypti* - Parte II

Coordenador: Anna L. Villavicêncio (IPEN)

Pesquisas com controle biológico de *Aedes aegypti* (Carlos Coutinho, SUCEN/SP)

Improvement of transgenic strains of *Aedes aegypti* for the control of arbovirus transmission in Brazil (Margareth de L. Capurro-Guimarães, ICB-USP)

TIE para controle populacional de *Aedes aegypti* na Ilha de Fernando de Noronha, Pernambuco: Resultados preliminares (Edvane B. Silva, UFPE)

ROTEIROS DE MINICURSOS

1) Laboratório multiusuário de nanobiotecnologia

Coordenador: Ademar B. Lugão. Professor: Koiti Araki (IQ-USP)

2) Irradiação e controle de qualidade de fontes radiativas para braquiterapia

Coordenador e Professor: Maria Elisa Rostelato (IPEN)

3) Controle de qualidade de radiofármacos e qualidade da imagem

Coordenador: Elaine Bortoleti (IPEN)

- Métodos de controle de qualidade aplicados à radiofármacos: Neusa T. O. Fukumori (IPEN)
- Gestão e controle de qualidade em radiofarmácia: Elaine Bortoleti (IPEN); Ivani Bortoleti (FMUSP)
- Visita monitorada aos Laboratórios de Controle de Qualidade do IPEN: Elaine Bortoleti (IPEN), Neusa Fukumori (IPEN), Marycel Barboza (HIAE)

4) Biossegurança e ensaios pré-clínicos “in vivo”

Coordenação: Lorena Pozzo (IPEN)

- Biossegurança em experimentação animal: Francisco Romero (FCMSCSP)
- Formação de imagens com microPET-SPECT-CT: Lorena Pozzo (IPEN)
- Parâmetros de qualidade em imagens de pequenos animais: Daniele de Paula Faria

5) Princípios de óptica do tecido para diagnóstico e terapia

Coordenadores e professores: Martha Simões (IPEN) e Anderson Zanardi (IPEN/CLA)

- Radiação eletromagnética e Luz; Interação luz-tecido biológico
- Óptica do tecido biológico: conceito de coeficientes de absorção, espalhamento e atenuação
- Terapias baseadas em luz; Técnicas diagnósticas baseadas em luz
- Grandezas e unidades físicas associadas

6) Formulações farmacêuticas inovadoras para diagnóstico e tratamento usando radiotraçadores e bioluminescência

Coordenador e professor: Valbert Nascimento Cardoso (UFMG)

- Desenvolvimento de novas formulações farmacêuticas, com nanotecnologia para diagnóstico por meio de imagens cintilográficas em inflamações e infecções
- Avaliação de tratamento de tumores em modelos experimentais por imagens de bioluminescência e fluorescência

RESUMOS DE CONFERÊNCIAS

CONFERENCES ABSTRACTS

STEM CELLS AND PHOTOBIMODULATION THERAPY

Praveen R Arany

University at Buffalo, NY, USA

Email: prarany@buffalo.edu

Our increasing understanding of the mechanisms of low dose biophotonics treatments is ushering in an era of personalized, precision-medicine for a wide range of human diseases. Photobiomodulation therapy offers a practical approach to harnessing the tremendous progress in stem cell biology and biomedical technologies for human clinical translation. As highlighted in a recent special issue in Photomedicine and Laser Surgery, light offers a non-invasive, unique approach to communicate with stem cells by activating specific molecular pathways and directing their behavior for optimal therapeutic outcomes. Our group has been focused on investigating the wound healing and tissue regeneration promoting aspect of PBM therapy and outlined a molecular pathway involving the conformational activation of latent TGF- β 1 via a redox-generation as a key pathway. This presentation will provide an overview of our former work that led to the discovery of this specific pathway and our applications to a wide range of stem cells from various anatomical niches including dental, bone marrow, skin and mucosa. A special emphasis will be placed on our recent work that focusing on defining clinical and molecular biomarkers that have enabled precise determination of PBM dose thresholds as well as describe the pathways of laser-mediated damage at higher doses to enable optimal dosing. The talk will finally provide an overview of the biological and biophysical (device) parameters that we are currently standardizing to develop safe and robust clinical PBM regimens. Given the tremendous breadth of PBM applications, the significant promise of this therapy has a potential to revolutionize health care and exciting new developments will be discussed.

PHOTODYNAMIC TREATMENT PLANNING AND DOSIMETRY: DEVELOPMENT OF AN UNIVERSAL APPLICABLE TREATMENT OPTIMIZATION PROCESS BASED ON MONTE CARLO SIMULATIONS

Lothar Lilge

Department of Medical Biophysics, University of Toronto and University Health Network, Toronto, Canada; Email: llilge@uhnres.utoronto.ca

The majority of novel cancers are now being diagnosed in low and middle-income countries, which often lack resources and a range of therapeutic options. Minimally invasive therapies such as Photodynamic Therapy (PDT) or photothermal therapies (PTT) could become treatment options, albeit widespread acceptance is hindered by multiple factors ranging from training of surgeons in optical therapeutic techniques, lack of easily usable treatment optimizing tools and prediction of the anticipated treatment outcome. Based on the publicly available FullMonte software in combination with other open source image processing tools, a work plan is proposed that allows for personalized treatment planning. Starting with, generating in silico 3D tetrahedral models, based on contoured clinical images, execution of the Monte Carlo simulation and presentation of the 3D fluence rate distribution a treatment plan is presented which minimizes the number of light sources to be placed while attaining the prescribed energy density for the target and the organs at risk. Calculation of the forward solution of photon transport in biological tissues is executed in less than a minute even for 3D models comprising 10^6 tetrahedral elements. The inverse solution that is optimization of the source placement require 1-2 hours. Largest sources of errors are uncertainties in the contouring and unknown tissue optical properties. Hence, the proposed workflow includes also perturbation of the planning tissue optical properties, uncertainties in the photon source placement and contouring errors, to validate the invariance of the attained solution against these unknowns. Lastly, the Monte Carlo simulations will also identify the locations for the most opportune photon density sensors to obtain the true tissue optical properties and quantify the uncertainty of the source fibre placement.

TARGETED ALPHA THERAPY - APPLICATIONS AND CURRENT STATUS

Frank Bruchertseifer

European Commission, Joint Research Centre, Karlsruhe, Germany

Email: frank.bruchertseifer@ec.europa.eu

The field of targeted alpha therapy has been developed rapidly in the last decade. Besides ^{223}Ra , ^{211}At and $^{212}\text{Pb}/^{212}\text{Bi}$ the alpha emitters ^{225}Ac and ^{213}Bi are promising therapeutic radionuclides for application in targeted alpha therapy of cancer and infectious diseases. The presentation will give a short overview about the current clinical treatments with alpha emitting radionuclides and will place an emphasis on the most promising clinical testing of peptides and antibodies labelled with ^{225}Ac and ^{213}Bi for treatment of metastatic castration-resistant prostate cancer patients with glioma and glioblastoma multiforme, PSMA-positive tumor phenotype and bladder carcinoma in situ.

ALPHA RADIOISOTOPES Ac-225 AND Bi-213: PRODUCTION AND LABELLING OF ANTIBODIES AND PEPTIDES FOR CLINICAL USE

Frank Bruchertseifer

In various preclinical and clinical works the potential of the alpha emitters ^{225}Ac and ^{213}Bi as therapeutic radionuclides for application in targeted alpha therapy of cancer and infectious diseases was demonstrated. Both alpha emitters are available with high specific activity from established radionuclide generators. Their favorable chemical and physical properties have led to the conduction of a large number of preclinical studies and several clinical trials, demonstrating the feasibility, safety and therapeutic efficacy of targeted alpha therapy with ^{225}Ac and ^{213}Bi . This presentation will give an overview about the methods for the production of ^{225}Ac and ^{213}Bi , the $^{225}\text{Ac}/^{213}\text{Bi}$ radionuclide generator systems, labelling of peptides and antibodies with ^{225}Ac and ^{213}Bi and relevant in vivo and in vitro works.

RESUMOS DE MESAS REDONDAS

ROUND TABLES ABSTRACTS

MESA REDONDA 2: NANOBIOTECNOLOGIA, BIOFOTÔNICA E TERANÓSTICA: IMPACTO EM SISTEMAS BIOLÓGICOS

Round table 2 - Nanobiotechnology, Biophotonics and Theranostics: impact on biological systems

NANOCARREADORES APLICADOS À TERAPIA CELULAR E TRATAMENTO DE PATOLOGIAS

Antonio Cláudio Tedesco

Centro de Nanotecnologia, Engenharia Tecidual e Fotoprocessos voltado a Saúde- Grupo de Fotobiologia e Fotomedicina FFCLRP-USP, Ribeirão Preto, SP

Email: atedesco@usp.br

A habilidade do corpo em restabelecer sua integridade frente aos mais diferentes tipos de danos é essencial para a manutenção de vida. Qualquer organismo vivo, em sua interação constante com o meio ambiente e com outros organismos, eventualmente enfrenta situações adversas, como infecções, perdas funcionalidade e outros problemas oriundos de várias patologias. A necessidade de intervenção preservando ou restaurando as funções originais destes tecidos é fundamental para continuidade da vida. Nos últimos anos uma nova área de pesquisa em atenção à saúde humana, conhecida como Engenharia Tecidual, ou mais genericamente, Medicina Regenerativa vem se desenvolvendo rapidamente. Esta se baseia na terapia celular e no desenvolvimento de novas técnicas e novas modalidades terapêuticas com a função básica de restabelecer nas células, nos tecidos, bem como no corpo humano a sua integridade. A grande maioria dos

procedimentos e propostas faz uso de duas ferramentas conhecidas já a algumas décadas, como a Nanotecnologia e a biofotônica.

A Nanotecnologia é o ramo da ciência que se ocupa do desenvolvimento de sistemas e compostos em uma escala muito pequena (10^{-9} do metro) que facilmente interage com os vírus, bactérias e células. Ao mesmo tempo o uso da Biofotônica, abre novas e infinitas possibilidades de aplicação em variadas áreas da saúde. A combinação destas três vertentes de estudos e suas aplicações em diferentes patologias cria infinitas possibilidades de cura para várias doenças. Três aproximações fundamentais vêm sendo utilizada nesta linha de estudos (1) transplante de órgãos, (2) a reconstrução cirúrgica, feita com o uso de dispositivos mecânicos, desenvolvidos em escala nano e micrométrica, (3) terapia celular. Câncer e muitas outras doenças não-oncológicas, como as doenças neurodegenerativas do sistema nervoso central, vem se beneficiando de tais ferramentas para o desenvolvimento de novos sistemas de veiculação de droga alvo-específicas associada a protocolos bem definidos de ativação buscando sempre uma melhor resposta biológica. A associação da Engenharia tecidual, nanotecnologia e biofotônica marcam uma nova era no tratamento de várias patologias. Este será o alvo principal da abordagem apresentada nesta sessão.

INTERSECTION AMONG NOVEL COMBINATORIAL MOLECULES, NANOBIOTECHNOLOGIES AND BIOPHOTONICS FOR THERANOSTIC APPLICATIONS

Luiz R. Goulart Filho

Laboratory of Nanobiotechnology, Institute of Genetics and Biochemistry, Federal University of
Uberlândia (UFU), Campus Umuarama Uberlândia, MG

Email: lrgoulart@ufu.br

The current frontiers in biological sciences demand an interface among disciplines of biology, chemistry, and physics to achieve new paradigms on applied nanobiotechnologies to health. New rationale is required to use available technologies that intersect among imaging, electrochemistry, biophotonics, nanotechnologies and combinatorial molecules. We will discuss examples of selected epitope-based peptides, combinatorial antibodies, and nucleic acid (aptamers) in association with nanobiotechnologies for multiple applications in biomedical sciences. Combinatorial libraries displaying very diverse set of random peptides, or large repertoire of antibody fragments' fused to the capsid surface of filamentous phage, or nucleic acid aptamers have been successfully exploited in the discovery of novel biomarkers, and are considered excellent platforms for the discovery of high-affinity ligands. The selected ligands may be directly used in phage-based ELISA immunoassays, flow cytometry, or associated with other infield technologies, resulting in simple, specific, sensitive, and low-cost immunodiagnostic tests. Interestingly, these combinatorial selection platforms have also generated important targets-specific ligands that can be used in joint applications for both diagnostics and therapeutics. It is the only method to obtain specific antibodies bypassing the immunization step, which mimics the maturation process of human antibody *in vivo*, resulting in high affinity antibody ligands, which may be suitable to human administration and potentially applicable to clinical diagnosis and treatment. Among many applications, biosensing involves the interplay of fundamental disciplines, demanding specific knowledge on physical chemistry (nanoparticles), materials science (polymers), physics (optics and solid state), biology (antigen, antibody, biochemistry, genetics, substrates, and clinical information of diseases) and engineering (electronics and microfabrication). Our aim is to translate these parameters into universal biosensor platforms. Briefly, we will show that combinatorial technologies can reveal functional determinant sites of molecules, which are combined with multiple research tools, techniques, and instruments to enabled entirely novel approaches for diagnostics and therapeutics. The search for universal and robust theranostic platforms have been the highest challenges in the medical field, due to the variable disease spectra, different pathogenetic backgrounds, specific sampling, the complex interactions with vectors and environments, resulting in very diverse phenotypes. Therefore, only multidisciplinary teams and novel nanobiotechnological approaches can meet the demand of smart solutions to control human diseases.

Acknowledgments: The authors gratefully acknowledge the financial support of the Brazilian Funding Agencies: CAPES (Rede Nanobiotec/Brasil, Project N. 8), FAPEMIG (Pronex APQ-02413/08), and MCT/CNPq (Institute of Science and Technology in Theranostics and Nanobiotechnology).

MESA REDONDA 3: RADIOTERAPIA: PRODUÇÃO DE FONTES, RADIOSENSIBILIZADORES E PLANEJAMENTO DE DOSES

Round table 3 - Radiotherapy: Production of sources, safety and treatment dose planning

FONTES RADIOATIVAS PARA BRAQUITERAPIA, PRODUÇÃO BRASILEIRA

Maria Elisa C. M. Rostelato

Centro de Tecnologia das Radiações

Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN Email: elisaros@ipen.br

No Brasil o câncer é um dos principais problemas de saúde pública, constituindo-se em significativa causa de mortalidade. A cada ano aumenta o número de casos de câncer no País, e parte destes pacientes são tratados com Braquiterapia com fontes radioativas. A Braquiterapia, irradiação a curta distância, é uma forma de tratamento de lesões que se baseia na inserção de fontes radioativas em tumores. Neste processo, a radiação ionizante destrói com eficiência as células malignas. O tratamento com Braquiterapia pode ser realizado de forma singular ou associado a outras técnicas. Os implantes são feitos para vários tipos de tumores, a saber: cavidade oral, pescoço, colo do útero, mama, cérebro, pele, próstata, olho, etc. Entre as vantagens específicas da radiação externa, pode-se ressaltar a capacidade de dar forma à distribuição da isodose em lesões irregulares, a acentuada diminuição da dose fora da área de implante (poupando tecidos normais).

Fios de Irídio-192: As fontes para Braquiterapia são, usualmente, na forma de fios flexíveis de 0,3mm e 0,5mm de diâmetro e que podem ser facilmente cortados no comprimento requerido para cada aplicação. Estes fios consistem de um núcleo de uma liga Platina-Irídio (80/20) encapsulado em um tubo de Platina ou Aço Inox. O revestimento tem a finalidade de filtrar os raios beta. A atividade específica, para terapia de baixa taxa de dose (LDR), está compreendida entre 1mCi/cm e 4mCi/cm, sendo que a principal característica requerida é a homogeneidade da atividade ao longo do fio, que não deve apresentar variação maior que 5% num fio de 50cm de comprimento. A meia-vida do Irídio-192 é de 74 dias. O objetivo do IPEN foi implantar um laboratório para produção de fontes de Irídio -192, ou seja, a determinação de um método de ativação dos fios e a construção de uma célula quente para manipulação, controle de qualidade e embalagem dos fios. A finalidade do trabalho foi tornar o País auto-suficiente na produção destas fontes e com preços cerca de 50% menores que o importado.

Sementes de Iodo-125: Na braquiterapia, pequenas sementes contendo Iodo-125, material radioativo, são implantadas diretamente na próstata e uma grande dose de radiação é liberada apenas na próstata atacando o tumor, não atingindo os órgãos sadios próximos. Como a ocorrência de efeitos colaterais é menor, 85% dos pacientes com até 70 anos de idade, permanecem potentes sexualmente após o tratamento e raramente apresentam problemas de incontinência urinária. O implante com sementes é um procedimento de baixo impacto, não é cirúrgico e a pessoa pode retornar à atividade normal dentro de um a três dias. Os implantes atuais com sementes de Iodo-125 estão sendo realizados no Brasil, utilizando-se sementes importadas. O custo do produto para os hospitais e clínicas especializadas é significativo e a técnica exige, em geral, a aplicação de 80 a 120 sementes por paciente. Com o desenvolvimento das sementes feitas pelo IPEN/CNEN/SP, o Brasil passa a ser um dos poucos países do mundo, a dominar a tecnologia de produção de sementes

de Iodo-125. Com a implantação rotineira, espera-se produzir sementes a um custo de no mínimo, 30% menor que as importadas. A estimativa de demanda das sementes de Iodo-125 é de 8.000 sementes/mês. A finalidade do projeto é capacitar o país na produção das sementes, a um custo compatível com a realidade brasileira, disponibilizar o produto para classe médica evitando as dificuldades de importação e os custos alfandegários, permitir ao maior número de pacientes o acesso a esta modalidade de terapia.

RADIOSSENSIBILIZADORES E PLANEJAMENTO DE DOSES

Divanizia do Nascimento Souza

Departamento de Física, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE Email:

divanizi@ufs.br

Os programas de garantia da qualidade em radioterapia (CQRT) buscam validar o pressuposto de que todos os pacientes tratados com radioterapia recebem doses de radiação uniforme, conforme protocolos clínicos que quantificam a extensão das variações de dose de radiação que podem ocorrer ao longo dos tratamentos. As avaliações de CQRT são utilizadas como ferramenta para padronizar prospectivamente o tratamento ou para verificá-lo retrospectivamente de acordo com as orientações clínicas. Tal suposição de uniformidade de tratamento requer uma definição clara e precisa das diretrizes do tratamento no planejamento do tratamento. Os efeitos causados pela interação da radiação com os tecidos vivos apresentam variações marcantes do ponto de vista fisiológico, clínico e de evolução entre diferentes indivíduos. A resposta tecidual a doses elevadas de radiação geralmente segue um padrão característico determinado pela radiosensibilidade da população de células envolvidas, qualidade da radiação e padrão temporal de desenvolvimento de lesão e reparação. O curso dos efeitos pode variar dependendo das doses empregadas e da condição do paciente.

Os radiosensibilizadores destinam-se a aumentar a probabilidade de morte de células tumorais, sem efeitos significativos nos tecidos normais. Alguns fármacos empregados como radiosensibilizadores têm como alvo diferenças fisiológicas características de cada tumor, particularmente a hipóxia associada à radorresistência. O oxigênio é o radiosensibilizador primário de células hipóxicas, sendo a radiosensibilidade o diferencial entre células normais versus hipóxicas. Então, a aplicação concomitante de agentes radiosensibilizadores com radioterapia vem sendo praticada na clínica de modo a maximizar o efeito benéfico da radioterapia e ao mesmo tempo minimizar os efeitos colaterais relativos a esse tipo de radioterapia. A resistência adquirida à radiação é uma das principais causas de fracasso da radioterapia e de subsequente recidiva tumoral. Várias abordagens têm sido utilizadas para limitar a resistência de radiação, melhorando simultaneamente a eficácia e a segurança desse tipo de. As três principais abordagens envolvem aumento da radiosensibilidade do tecido tumoral, reversão da resistência à radiação do tecido tumoral e aumento da radorresistência do tecido saudável. A potencialização do dano radioinduzido tem impacto direto na redução de doses radioterapêuticas com menor efeito tóxico geral e, portanto, com ganho de eficiência para erradicação de tumores sólidos. Diversas substâncias, inclusive com incorporação de nanopartículas, vêm desempenhando um papel chave ou apresentando boas perspectivas para uma maior da eficácia da radioterapia. Mas os regimes ideais de combinação de radioterapia e quimioterapia de radissensibilização ainda estão a ser estabelecidos. Nesta revisão, resumiremos as pesquisas que vêm sendo realizadas sobre radiosensibilizadores com a finalidade de discutir sobre planejamento de doses em radioterapia, inclusive para aplicações em neoplasias não malignas.

QUANTIFICAÇÃO DO VOLUME TUMORAL BIOLÓGICO COM PET-CT

Marcelo Mamede

Departamento de Anatomia e Imagem, Faculdade de Medicina-Universidade Federal de Minas

Gerais

Email: mamede.mm@gmail.com

O planejamento radioterápico tridimensional requer a utilização de várias metodologias de imagem. Atualmente, as metodologias em uso (ex. TC e RM) estão focadas na morfologia dos tumores, sem dados do "status" tumoral. A utilização da tecnologia de PET/CT vem agregar dados fisiopatológicos dos tumores que

são importantes para a determinação das doses administradas para tratamento/controle do câncer. Entretanto, não há um consenso no uso desta metodologia. Assim, técnicas de reconstrução de imagem vêm sendo utilizadas com esse objetivo com grande impacto clínico.

MESA REDONDA 4: INOVAÇÕES EM BIOIMAGENS: SISTEMAS ÓPTICOS, DINÂMICOS E HÍBRIDOS

Round table 4 - Innovations in Bioimaging: Optical, Hybrid and Dynamic Systems

LABEL-FREE IMAGING OF SINGLE CELL METABOLISM

Hernandes F. Carvalho

Instituto de Biologia – Unicamp e Natl. Inst. Sci. Technol. Of Photonics Applied to Cell Biology (INFABiC) Email: hern@unicamp.br

Cells are the unit of life. Assessing molecular features of single cells depends on equipments, is commonly based on indicators and measurements are frequently indirect. In addition, most high-resolution techniques are incompatible with life and stabilization of the cell structures and its components is necessary. More recently, instrumentation and detectors have evolved to a point that monitoring live cells while acquiring molecular signatures is becoming feasible. I will report on a successful partnership between Biology and Physics to set a World-class laboratory to handle and monitor single cells. More specifically, I will address two techniques: Fluorescence lifetime imaging microscopy (FLIM) and coherent anti-Stokes Raman Scattering microscopy (CARS) and present results of their use in studies of cells and tissues. I will also introduce our strategies to integrate them in high content analyses in association with microfluidic and other microfabricated devices, to speed up and miniaturize common screening tests for drug discovery.

APLICAÇÃO DE MICROPET EM MODELOS ANIMAIS DE NEUROPATOLOGIAS

Samuel Greggio

Instituto do Cérebro do Rio Grande do Sul – PUCRS Centro de Pesquisa Pré-Clínica, Porto Alegre, RS

Email: samuel.greggio@pucrs.br; <http://inscer.pucrs.br/centro-de-pesquisa-pre-clinica/>

O InsCer tem em seus principais objetivos associar tecnologia de ponta e pesquisa aplicada em benefício do paciente. Assim, pode-se estabelecer um elo translacional constante entre a pesquisa e assistência médica. O Centro de Pesquisa Pré-Clínica é uma unidade de pesquisa básica, multiusuário e multidisciplinar que permite aos pesquisadores de diferentes áreas e domínios se reúnam em torno de um objetivo comum: avaliar, desenvolver e aplicar novas tecnologias, processos e tratamentos em neurologia. Neste contexto, o foco da palestra será expor projetos de pesquisa que utilizam a tecnologia de microtomografia por emissão de pósitrons (microPET) em estudos que utilizam modelos animais de neuropatologias. Esta palestra contribuirá para a divulgação das áreas de neurociências, radiofarmácia e imagem molecular pré-clínica e, também, no estímulo à formação de recursos humanos especializados nestes campos de conhecimento.

RESSONÂNCIA QUANTITATIVA COM CONTROLE FISIOLÓGICO

Felipe B. Tancredi

Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP

Email: felipe.tancredi@gmail.com

Ressonância magnética (RM) é uma modalidade de imagem médica que oferece uma diversidade de contrastes entre os tecidos, dependendo do protocolo que é executado no equipamento. Novos protocolos têm permitido que se obtenha imagens cujos sinais podem ser revertidos nas características biofísicas dos tecidos que lhes deram origem. Os pixels, ou sinais, dessas imagens deixam de representar uma intensidade

de unidade arbitrária e passam a ter significado. O contraste de RM não mais se limita a distinguir estruturas anatômicas, mas oferece medida de composição e processos de transferência. Não é a toa que a quantificação por RM tem ganhado grande destaque na radiologia. Exemplos de quantificação por RM incluem a elastografia, que permite medir o grau de dureza do fígado; a PCA-MRI, técnica bem vulgarizada que permite medir velocidade de fluidos em grandes vasos e dutos; e a *Arterial Spin Labeling* (ASL), que tem sido usada para estudar o fluxo de sangue no leito capilar. A espectroscopia, técnica largamente empregada na avaliação de tumores, não é quantitativa, mas semi-quantitativa, já que mede as concentrações dos diferentes compostos hidrogenados relativamente ao sinal de água, o qual, não sendo calibrado, impede a medida de solutos em termos absolutos. A RM funcional também sofria desse mesmo tipo de problema, mas as coisas têm mudado. A RM funcional permite estudar a dinâmica de processos fisiológicos. Esse tipo de estudo requer um estímulo que perturbe a homeostase tissular momentaneamente; e uma série de imagens que acompanhe a resposta fisiológica associada ao estímulo. A RM funcional mede diferenças de estados. Porém, sem uma métrica do estado de repouso para servir como referencial absoluto, como acontece na maioria das vezes, as medidas funcionais são geralmente relativas. Recentemente, estudos de RM funcional tem se valido de técnicas de imagem quantitativa, como a ASL, para suas aquisições dinâmicas. Dessa maneira, tem sido possível produzir mapas funcionais quantitativos das respostas hemodinâmicas cerebrais causadas pelos mais diversos estímulos neuronais (como cognitivo, visual, auditivo), físicos (como alterações posturais e LBNP) e químicos (como injeção/ingestão de drogas e modulações nas concentrações de gases respiratórios). Controle do estímulo fisiológico é parte essencial de estudos funcionais, pois garante reprodutibilidade das medidas de imagem. O controle pode ser realizado sem ajustes por sinal de retroalimentação, o que diminui a complexidade do experimento, mas o grau de reprodutibilidade alcançado com o método é limitado. Métodos de controle clássico, usando *feed-back* e funções lineares ou modelos fisiológicos a priori, têm melhor desempenho. Mas os mais promissores são aqueles baseados em inteligência artificial, a exemplo do sistema desenvolvido pela Universidade de British Columbia para controle de gases anestésicos. Nessa apresentação tratarei de diferentes técnicas de controle fisiológico para estudo da dinâmica de fluidos cerebrais, com ênfase no controle inteligente de gases respiratórios para avaliação da resposta hemodinâmica cerebral, ou reatividade vascular, ao CO₂.

USO DA RADIAÇÃO IONIZANTE COMO FERRAMENTA NO ESTUDO DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS: DE CORPOS EMBRIOIDES A MINICÉREBROS

Simone Coutinho Cardoso

Instituto de Física, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro - Email:
simone@if.ufrj.br

Um grande número de tecnologias atuais utiliza a radiação X como instrumento para um maior conhecimento de detalhes sobre a matéria, destacando-se a sua aplicação na medicina e biologia. Na última década, o interesse científico nestas áreas aumentou significativamente. Os estudos têm como interesse principal medir concentrações de elementos traço objetivando estudar o desenvolvimento de certas doenças que são inacessíveis por métodos convencionais ou com resultados contestáveis. O papel de alguns elementos traço é bem conhecido e existe justificativa fisiológica para que suas concentrações se alterem em certas situações. Existem outros elementos que as funções desempenhadas ainda não são bem entendidas, mas verifica-se, experimentalmente, que suas concentrações mudam sob certas situações ou patologias. Nesta palestra, serão abordados alguns estudos desenvolvidos que utilizaram desde corpos embriões a minicérebros. Entre eles cabe o destaque ao Estudo da Pluripotencialidade de Células-Tronco a Nível Atômico que abriu a possibilidade de explorar a técnica de Fluorescência de Raios-X para estudar doenças neurológicas a nível embrionário. Uma das doenças estudadas foi a esquizofrenia, cujos mecanismos fisiológicos e bioquímicos que levam à doença não são bem entendidos, apesar de ser muito estudada por técnicas médicas e biológicas. A proposta foi avançar no entendimento dos aspectos moleculares, celulares e metabólicos de doenças neurais, através do uso de células-tronco de pluripotência induzida (iPS). Estes dados, em combinação com análises bioquímicas, compreendem um conjunto de informações nunca obtidas sobre o processo biológico destas doenças, a nível embrionário, permitindo a avaliação de novos fármacos específicos e personalizados a pacientes com resistência a medicamentos convencionais para tratamento de doenças como, por exemplo, esquizofrenia e Dravet.

MESA REDONDA 5: TERAPIA FOTODINAMICA

Round table 5 - Photodynamic Therapy

ENSAIOS PRÉ-CLÍNICOS E CLÍNICOS EM TERAPIA FOTODINÂMICA

Natalia Mayumi Inada

Departamento de Física e Ciência dos Materiais, Grupo de Óptica, Instituto de Física de São Carlos,
Universidade de São Paulo, São Carlos, SP

Email: nataliainada@ifsc.usp.br

Como toda pesquisa de excelência propondo novos procedimentos em diversas áreas da saúde, os estudos pré-clínicos são fundamentais para translacionar o que ainda é experimental, para a fase de pesquisa clínica. Não é diferente com a Terapia Fotodinâmica, modalidade terapêutica que há uns anos era considerada apenas a segunda ou terceira alternativa e hoje, está elencada como a terapia de escolha em diversos casos, especialmente quando a opção é minimizar os efeitos adversos do tratamento considerado “padrão-ouro”. Esse avanço deve-se principalmente ao expressivo aumento das pesquisas na área de Biofotônica, impulsionado pela necessidade de implementação desta técnica entre as especialidades como a dermatologia, ginecologia, odontologia e otorrinolaringologia. São pesquisas que vão desde o tratamento de lesões pré-malignas em pele e em colo de útero, até o câncer. As infecções fúngicas e bacterianas – causadoras de doenças ou contaminando materiais como tubos de endoscopia, instrumentos cirúrgicos e leitos hospitalares também têm pesquisas dedicadas para o seu combate, cujos trabalhos são essenciais devido ao aumento da resistência dos microrganismos aos quimioterápicos mais avançados. Nesta palestra serão apresentados os ensaios pré-clínicos e clínicos realizados e em andamento pelo Grupo de Óptica do Instituto de Física de São Carlos, com seus desafios e avanços nos últimos anos.

INATIVAÇÃO FOTODINÂMICA DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS

Gilberto Úbida Leite Braga

Depto de Análises Clínicas, Toxicológicas e Bromatológicas, Faculdade de Ciências
Farmacêuticas de Ribeirão Preto, USP, Ribeirão Preto, SP

Email: gbraga@fcrp.usp.br

O controle de fungos fitopatogênicos tem enfrentado problemas semelhantes aos observados na área clínica, como a seleção de linhagens tolerantes e o número reduzido de antifúngicos disponíveis. Adicionalmente, o aumento da preocupação dos consumidores quanto à qualidade dos produtos agrícolas e ao cuidado com o meio ambiente têm estimulado a busca por métodos alternativos de controle de patógenos que sejam menos tóxicos aos seres humanos e danosos ao meio ambiente. Existe, portanto, uma grande necessidade do desenvolvimento de estratégias inovadoras para o controle das doenças de planta e também dos patógenos transmitidos por alimentos. O tratamento fotodinâmico antimicrobiano (TFDA), cuja eficácia já foi demonstrada na clínica médica, tem sido avaliado na área agrícola para o controle de fungos fitopatogênicos que causam doenças tanto na pré como na pós-colheita e também para eliminar patógenos transmitidos por alimentos de origem vegetal minimamente processados. Nós estamos avaliando o efeito do TFDA com diferentes fotossensibilizadores (FS) sintéticos, como os corantes fenotiazínicos, e naturais, como as furanocumarinas, em diversas espécies de fungos fitopatogênicos de interesse, tanto *in vitro* como *in planta*. Os resultados têm mostrado que o TFDA é capaz de matar as diferentes espécies de fungos, de maneira eficaz, sem provocar danos nos tecidos da planta hospedeira. Também estão sendo realizados estudos mecanísticos para avaliar os efeitos do TFDA com os diversos FS em diferentes estruturas subcelulares, tanto em células quiescentes, como conídios, como em metabolicamente ativas, como hifas. A demonstração da eficácia do TFDA *in planta* e a ausência de danos à planta hospedeira abrem a interessante perspectiva do uso dessa estratégia alternativa para o controle de fungos fitopatogênicos.

NOVIDADES EM FOTOSSENSIBILIZADORES: MECANISMOS E APLICAÇÕES DA TERAPIA FOTODINÂMICA

Mauricio da Silva Baptista

Departamento de Bioquímica, Instituto de Química, USP Email: baptista@iq.usp.br

Já faz décadas que a medicina aprendeu a usar as reações de oxidação fotossensibilizada para induzir morte celular em tecidos doentes e, conseqüentemente, para tratar várias doenças com a luz, em um procedimento clínico chamado de terapia fotodinâmica (PDT). Com o intuito de aperfeiçoar a eficiência nas reações fotossensibilizadas almejamos desenvolver maneiras sutis desencadear especificamente mecanismos controlados de morte celular com luz. Mostrarei que pequenos danos nas mitocôndrias induzem preponderantemente morte celular apoptótica, enquanto que danos em lisossomos induzem morte com autofagia. A maximização da eficiência de indução de morte celular ocorre através do dano paralelo na mitocôndria e no lisossomo, que induz ativação e inibição de autofagia, aumentando a eficiência de morte celular em centenas de vezes. Apresentaremos novas moléculas orgânicas e nanopartículas híbridas orgânicas/inorgânicas, que possuem propriedades biológicas mais específicas para maximização da morte celular fotoinduzida. Novidades dos trabalhos desenvolvidos em parceria com os grupos da FM-ABC nas áreas de oftalmologia e no tratamento do pé diabético serão também apresentados.

MESA REDONDA 6: DESAFIOS DO ENTENDIMENTO E TRATAMENTO DO CÂNCER PROSTÁTICO: UM OLHAR DA PESQUISA BÁSICA E AVANÇOS DO TRATAMENTO CLÍNICO

Round table 6 - Challenges in understanding and treatment in prostate cancer: basic research and advances in clinical treatment

TARGETING ANDROGEN RECEPTOR SIGNALING IN PROSTATE CANCER

Maria Christina W. Avellar

Section of Experimental Endocrinology, Department of Pharmacology, Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo (EPM/UNIFESP)

Email: avellar@unifesp.br

Although the incidence rates of prostate cancer vary greatly in Western countries where screening programs are more developed, this remains one of the most frequent cancers and a leading cause of cancer death. The current main treatments for localized prostate cancer are radical prostatectomy, radiation therapy with or without androgen deprivation therapy, and active surveillance. Testicular androgen suppression (castration via orchiectomy or gonadotropin-releasing hormone analogues) reduces circulating testosterone levels, but does not achieve adequate androgen ablation within the prostate cancer microenvironment due to adrenal and intratumoral steroid contributions. These residual androgen extratesticular sources allow prostate cancer cells to survive, adapt, and develop into castration-resistant prostate cancer (CRPC), commonly a lethal phenotype of advanced prostate cancer. The clinical efficacy of next-generation androgen synthesis inhibitors has recently confirmed that CRPC continues to depend on the androgen receptor (AR)-signaling pathways. However, primary and secondary resistance mechanisms to AR-signaling agents inevitably drive continued disease progression as a result of AR re-activation. With increased understanding of the mechanisms underlying this AR reactivation, there is a need for more effective therapies targeting AR-dependent and independent signaling mechanisms to improve patient outcomes. Here we will focus on clinically relevant mechanisms of CRPC, including new aspects on AR and AR-signaling mechanisms, and ongoing efforts to develop drugs and combinational therapies with other treatment modalities such as radiation therapy.

NOVAS ESTRATÉGIAS DE DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO EM CÂNCER DE PRÓSTATA

Euclides Timoteo da Rocha

Serviço de Medicina Nuclear, Hospital do Câncer de Barretos

Email: euclidestimoteo@uol.com.br

O câncer de próstata é a causa mais comum de câncer em homens, e a terceira causa de mortalidade. Apesar dos avanços em terapia nas últimas décadas, uma proporção dos homens irá desenvolver doença local ou à distância com aumento do PSA (prostatic specific antigen). O estadiamento com CT (computed tomography) ou MRI (magnetic resonance imaging) tem limites porque estas metodologias têm como pilar da informação a anatomia, a modificação da morfologia. Logo, diagnóstico preciso de recorrência é importante para tomada de decisão e direcionamento terapêutico. Dessa forma, PET/CT como modalidade híbrida de imagem alia informação funcional e morfológica. Um dos conceitos mais interessantes em Medicina Nuclear é de molécula teranóstica, isto é, molécula que pode ser usada tanto para diagnóstico quanto para tratamento. Um exemplo clássico é o mIBG (meta iodo benzil guanidina), a qual tem sido empregada para diagnóstico e tratamento de tumores neuroendócrinos. Recentemente, o PSMA (prostate-specific membrane antigen) tem ganho luz como agente para imagem e tratamento em pacientes com câncer de próstata. O PSMA encontra-se super expresso em pacientes com doença metastática ou recorrência, mesmo com PSA baixo. Vários estudos têm mostrado resultados promissores tanto em PET/CT para diagnóstico, quanto para aplicações terapêuticas. Logo, esta estratégia imagem-tratamento com PSMA em câncer de próstata tem o potencial para produzir excelentes resultados.

EXPERIÊNCIA DE PET/CT EM CÂNCER DE PRÓSTATA COM PSMA-68Ga

Marcelo Livorsi da Cunha

Serviço de Medicina Nuclear, Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP

Desde sua introdução na literatura médica, há cerca de 5 anos, o PET /CT com PSMA-⁶⁸Ga vem modificando condutas e direcionando novos tratamentos em pacientes com câncer de próstata. Suas principais aplicações até momento são: avaliação de pacientes com recidiva bioquímica, estadiamento de pacientes com câncer de próstata de alto risco e como método de seleção para tratamento com radioisótopos (papel teranóstico).

Pacientes com câncer de próstata tratados com cirurgia (prostatectomia radical) ou radioterapia apresentam taxas elevadas de sobrevida global e de sobrevida livre de doença para 5 e 10 anos. Contudo, sabe-se que até 50% dos pacientes irão desenvolver recorrência bioquímica, evidenciada por um aumento nos níveis séricos antígeno prostático específico (PSA) no prazo de 10 anos após o tratamento primário.

Métodos de imagem convencionais como tomografia computadorizada, cintilografia óssea e mesmo a ressonância magnética são muito úteis nessa investigação, mas se mostram incapazes de encontrar lesões em pelo menos 25% dos casos, mesmo quando empregados em associação. O PET-CT com PSMA-⁶⁸Ga pode apontar com boa sensibilidade lesões responsáveis pela elevação do PSA, seja no pós-operatório precoce como na recidiva bioquímica mais tardia, mesmo em pacientes com níveis de PSA sérico não tão altos.

No estadiamento de pacientes com câncer de próstata de alto risco os resultados dos trabalhos publicados até aqui, embora incipientes, mostram uma superioridade do método sobre aqueles tradicionalmente utilizados - novamente a tomografia computadorizada e a ressonância magnética - no estadiamento linfonodal e a cintilografia óssea, na avaliação de doença à distância (lesões ósseas).

O papel teranóstico do marcador PSMA também vem ganhando crescente importância no cenário de terapia oncológica, uma vez que cada vez mais, novos trabalhos com β -emissores (Lu-177) e mesmo α -emissores (Actínio-225) tem mostrado resultados notáveis em pacientes com câncer de próstata metastático, refratários aos tratamentos disponíveis. Novas perspectivas para pacientes então tidos como intratáveis começam a surgir e evidenciam a importância da terapia com radioisótopos, uma área em franca expansão na medicina nuclear.

MESA REDONDA 8: ENSINO DE BIOCIÊNCIAS COM EQUIPES MULTIDISCIPLINARES

INSALUBRIDADE E PERICULOSIDADE E AS NORMAS DE SEGURANÇA OCUPACIONAL

Ademir Amaral

Laboratório de Modelagem e Biodosimetria Aplicada- DEN-UFPE

Email: amaral@ufpe.br

Risco pode ser definido como a probabilidade de ocorrência de um efeito adverso. Nas diferentes atividades humanas, a busca da redução do risco fez da segurança um tema essencial. No ambiente do trabalho, por exemplo, a Segurança Ocupacional objetiva gerenciar os riscos inerentes às atividades efetivamente desempenhadas, de sorte que a exposição individual e coletiva seja controlada. O gerenciamento do risco envolve especialistas com diferentes formações para avaliação do chamado "risco objetivo", que obedece às leis estatísticas. Entretanto, um dos maiores desafios desses especialistas está em dialogar com o público em geral, cuja percepção do risco é culturalmente construída. No ambiente de trabalho, uma condição de insalubridade é normalmente associada ao exercício de atividades acima dos limites de tolerância, enquanto que uma atividade é considerada perigosa quando sua execução ocorre em situação de elevado risco à vida ou à integridade física do trabalhador. De acordo com as Normas Regulamentadoras de Segurança e Medicina do Trabalho, em vigor no Brasil, atividades que se enquadram como insalubres ou perigosas ensejam compensação pecuniária, ou seja, pagamento de adicional para o exercício da profissão. Entretanto, em muitas situações, o desconhecimento e o apelo emocional levam à potencialização da percepção do risco, acarretando tomadas de decisão totalmente dissociadas do conhecimento técnico-científico. Este trabalho busca contribuir para melhor entendimento dos aspectos técnico-científicos que alicerçam as Normas de Segurança Ocupacional sobre Insalubridade e Periculosidade.

SIMPÓSIO SOBRE TÉCNICAS PARA CONTROLE POPULACIONAL DE MOSQUITOS VETORES *Aedes aegypti*

Symposium “Techniques for population control of *Aedes aegypti*”

Coordenação: Anna Lúcia Villavicêncio

Centro de Tecnologia das Radiações, IPEN/CNEN/SP, São Paulo, SP. Email: villavic@ipen.br

O COMBATE AO MOSQUITO *Aedes aegypti* É UMA NECESSIDADE E UM DESAFIO

Anna Lúcia Villavicêncio

A Técnica do Inseto Estéril responde à emergência dessa demanda como uma das ações cabíveis e promissoras no controle de populações do mosquito vetor, principal responsável pela transmissão da Zica, dengue e chikungunya. Como parte das atribuições científicas do IPEN-CNEN/SP, estamos contatando e centralizando o respaldo de parcerias com entomologistas para a parte específica de criação e manipulação dos vetores com outros institutos governamentais no Estado de São Paulo, tais como o Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Instituto da Universidade de São Paulo (CENA/USP) em Piracicaba, que também pode oferecer treinamento na técnica do macho estéril acoplado à bactéria *wolbachia* (IIT) e com a Superintendência de Controle de Endemias (SUCEN), com uma estrutura diferenciada para programas de controle de vetores e combate químico de sua proliferação, além de possibilitar o incremento dos programas de treinamento e capacitação do pessoal de saúde dos municípios visando aumentar a eficiência já existente das intervenções de controle do problema pela SUCEN em parceria com o IPEN utilizando técnicas nucleares com finalidade pacífica e sem deixar resíduos químicos no ambiente.

Neste contexto, o IPEN pode contribuir numa ação emergencial de irradiação em massa das pupas dos mosquitos vetores com a utilização das máquinas de grande porte e capacidade de um volume de até 2.000 mosquitos por minuto, de ^{60}Co e de aceleradores de elétrons, além de oferecermos uma plataforma colaborativa para compartilhamento e disseminação do conhecimento científico sobre a aplicação das técnicas nucleares na alimentação, agricultura e saúde.

IPEN - APLICAÇÃO DE TÉCNICAS NUCLEARES VOLTADO PARA A ÁREA DA SAÚDE

Wilson Aparecido Parejo Calvo

Superintendente do IPEN/CNEN/SP. Email: wapcalvo@ipen.br

O IPEN/CNEN/SP tem destacada atuação em vários setores da atividade nuclear entre elas, nas aplicações das radiações e radioisótopos, em reatores nucleares, em materiais e no ciclo do combustível, em radioproteção e dosimetria, cujos resultados vem proporcionando avanços significativos no domínio de tecnologias, na produção de materiais e na prestação de serviços de valor econômico e estratégico para o país, possibilitando estender os benefícios da energia nuclear à segmentos maiores de nossa população.

A multidisciplinaridade das atividades do setor nuclear, tem permitido conduzir amplo e variado programa de pesquisas e desenvolvimentos em outras áreas. Dentre essas, Biotecnologia, Física Nuclear e de Radioquímica, Materiais Avançados, como a obtenção e preparação de cerâmicas especiais, biomateriais e crescimento de monocristais para o uso em lasers. Um rigoroso programa de controle radiológico e de segurança nuclear é conduzido em todas as instalações nucleares e radioativas do *IPEN*. Este programa inclui monitorações radiológicas, pessoal e ambiental, atendimento a emergências radiológicas, análises radiotóxicológicas, avaliações riosanitárias, calibração de monitores de radiação, tratamento e acondicionamento de rejeitos

nucleares de baixa atividade. O *IPEN* é ainda responsável, em associação com a USP, pela condução de programas de pós-graduação em nível de mestrado e doutorado. A CAPES tem avaliado os cursos de pós-graduação do IPEN com os melhores conceitos, colocando-o entre os melhores cursos de pós-graduação do país.

PERSPECTIVAS PARA CONTROLE BIOLÓGICO DE *Aedes aegypti*

Carlos José P C Araújo-Coutinho

Superintendência de Controle de Endemias (SUCEN/SP)- Coordenação do Laboratórios de Referência e Desenvolvimento Científico

Os mosquitos da espécie *Aedes aegypti* são importantes vetores de agentes etiológicos ao homem, tendo sido associados a surtos de Dengue, zika, Chikungunya e Febre Amarela. As estratégias de controle são realizadas, majoritariamente, através da aplicação de inseticidas químicos, que apresentam desvantagens, tais como: seleção de resistência nas populações de inseto alvo; alto custo de desenvolvimento de novas moléculas para uso em populações resistentes; não possuem especificidade, atuando então sobre organismo não alvo e podem ser tóxicos para vertebrados. Dessa forma, há uma demanda crescente por alternativas aos inseticidas químicos. O controle biológico tem se mostrado de grande valia para o controle de invertebrados em saúde pública, uma vez que se caracteriza pelo uso de organismos patógenos altamente especializados aos insetos alvo. Além disso, por serem organismos vivos, ou produtos dos mesmos, apresentam uma baixa taxa de seleção de resistência.

EFEITOS DA RADIAÇÃO NA ESTERILIZAÇÃO DO *Aedes aegypti*

Valter Arthur

Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo (CENA/USP), Piracicaba, SP

Entre os principais insetos vetores no Brasil, destaca-se o *Aedes aegypti* popularmente conhecido como o mosquito da dengue que atualmente é considerada a principal praga de importância médica veterinária. Essa praga tem assumido um papel relevante na expansão das áreas de transmissão das doenças virais como Dengue, Chikungunya, Zika e Febre Amarela, no Brasil e em países de climas tropicais. A principal forma de controle destas doenças continua sendo sem sombra de dúvida a redução populacional dos mosquitos vetores. A liberação de insetos estéreis é uma das mais importantes alternativas ao uso de produtos químicos. Por ser uma técnica seletiva e ambientalmente segura e com sucesso já comprovado no controle de pragas agrícolas e agropecuárias. O CENA por ter experiência na área de controle de insetos por radiação ionizante desde a década 70. Em 2012 foi proposto o uso da Técnica Macho Estéril para controle populacional de *Aedes aegypti*, foram realizados experimentos em laboratório para a determinação da dose esterilizante, visando a liberação de machos estéreis no controle dessa praga.

IMPROVEMENT OF TRANSGENIC STRAINS OF *AEDES AEGYPTI* FOR THE CONTROL OF ARBOVIRUS TRANSMISSION IN BRAZIL

Margareth de Lara Capurro-Guimarães

Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo (ICB-USP)

The most common strategy employed to combat target mosquito species is the Integrated Vector Management (IVM), which comprises the use of multiple activities and various approaches to preventing the spread of a vector in infested areas. IVM programs are becoming ineffective; and the global scenario is threatening, requiring new interventions for vector control and surveillance. Since

1940, the vector control has changed very little, showing that the integrated vector management (IVM) has an important role and these new techniques should be incorporated in order to increase the chances to avoid transmission. The possibility of using transgenic mosquitoes to fight against those diseases has been discussed over the last two decades and this use of transgenic lines to suppress populations or to replace them is still under investigation through field and laboratory trials. As an alternative, the available transgenic strategies could be improved by coupling suppression and substitution strategies. The idea is to first release a suppression line to significantly reduce the wild population, and once the first objective is reached a second release, using a substitution line could be then performed. This hypothesis is based on the use of transgenic lines of *Ae. aegypti*, to be adding methodology of dengue control already used. The results using RIDL technology show that this strategy is viable to reduce mosquitoes population. However, it is unique and can be improved. Our strategy is based on the creation and use of three strains of genetically modified *Ae. aegypti*. The first act in suppressing populations (male sterile) in association with the second strain that is genetically modified to produce only males (female sex reversion - GSS) and the third acting in introducing gene (Virus-lethal). In terms of innovation and improvement in population suppression, our strain have two points: the first is that for the production of male-sterile, tetracycline not be used in mass production (only in the colonies), thereby reducing the cost of production thus as the treatment of produced water. In addition to obtaining, the GSS strain (males only) would not need to physically separate the males from the females and 100% of the production will be released, greatly improving the efficiency of the process.

TÉCNICA DE IRRADIAÇÃO DO INSETO ESTÉRIL (TIE) PARA CONTROLE POPULACIONAL DE *Aedes aegypti* NA ILHA DE FERNANDO DE NORONHA, PERNAMBUCO: RESULTADOS PRELIMINARES

Edvane Borges da Silva

Departamento de Energia Nuclear, Universidade Federal de Pernambuco

Email: edvborges@hotmail.com

Espécies invasoras como *Aedes aegypti* têm assumido um papel relevante na expansão das áreas de transmissão de doenças virais como dengue, Chikungunya, zika e Febre Amarela, especialmente nos países tropicais. A principal forma de controle destas doenças continua sendo a redução populacional dos mosquitos vetores, sendo a Técnica do Inseto Estéril (TIE) uma alternativa ao uso de produtos químicos, por ser uma técnica seletiva e ambientalmente segura e com sucesso comprovado no controle de pragas agrícolas e agropecuárias. Em uma cooperação UFPE-FIOCRUZ, foi proposto o uso da TIE para o controle populacional de *Aedes aegypti*. Inicialmente foram realizados experimentos em laboratório e em condições simuladas de campo, onde foi estabelecida a dose esterilizante a ser utilizada e avaliada a competitividade dos machos estéreis na disputa com machos selvagens por acasalamento com fêmeas selvagens. A segunda fase do projeto, foi implementada em condições reais de campo. O local escolhido foi a Vila da Praia da Conceição, localizada na Ilha de Fernando de Noronha/PE, Brasil, onde, desde dezembro de 2015 vêm sendo liberados insetos esterilizados. Nesse contexto, será relatada a experiência do uso da técnica desde os experimentos iniciais até a fase atual de campo.

LISTA DE PAINÉIS E COMUNICAÇÕES ORAIS

CÓDIGO	TÍTULO
774	RADIOMARCAÇÃO DE INIBIDOR DE PSMA COM 177LU E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DO POTENCIAL PARA APLICAÇÃO NO TRATAMENTO DO CÂNCER DE PRÓSTATA
777	OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE MARCAÇÃO DO PSMA-617-DOTA COM LUTÉCIO-177
781	LASER INFRAVERMELHO DE BAIXA POTÊNCIA EM MODO DE EMISSÃO PULSADO ALTERA OS NÍVEIS DE RNA MENSAGEIRO DE GENES DE REPARO MUSCULAR DEPENDENTE DA POTÊNCIA EM RATOS WISTAR.
782	LASER INFRAVERMELHO DE BAIXA POTÊNCIA EM DIFERENTES POTÊNCIAS PROTEGE LESÃO MUSCULAR CONTRA DANO DE DNA.
783	ESTUDO DE PURIFICAÇÃO DE MO-99 POR SUBLIMAÇÃO EM FORNO TUBULAR
784	ESTUDO DOS PARÂMETROS DE RECONSTRUÇÃO EM IMAGENS MICROPET
785	LASER INFRAVERMELHO DE BAIXA POTÊNCIA ALTERA OS NÍVEIS RELATIVOS DE RNA MENSAGEIRO DE GENES DE REPARO DE DNA EM LESÃO PULMONAR AGUDA INDUZIDA POR SEPSIS EM RATOS WISTAR
786	LASER INFRAVERMELHO DE BAIXA POTÊNCIA MODIFICA O PARÊNQUIMA PULMONAR APÓS INDUÇÃO DE LESÃO PULMONAR AGUDA EM RESPOSTA A ADMINISTRAÇÃO DE LPS
787	AVALIAÇÃO DO EFEITO DE TRÊS METAIS CONSTITUINTES DA MONAZITA SOBRE A RADIOSENSIBILIDADE DE OSTEOBLASTOS HUMANOS
788	DOWNREGULATION OF NF- κ B1 ENHANCES THE RADIOSENSITIVITY OF RENAL CELL CARCINOMA
789	EFEITOS DE LASERS DE BAIXA POTÊNCIA NA EXPRESSÃO DE GENES PRÓ-ONCOGÊNICOS EM CULTURAS DE CÉLULAS DE CÂNCER DE MAMA
794	UPREGULATION OF PEROXIDASE-6 IN HUMAN RENAL ADENOCARCINOMA CELLS 786-0, AFTER IONIZING RADIATION.
795	RADIOSENSITIZATION OF HUMAN PROSTATE CELL LINE LNCAP BY [6]-GINGEROL
796	DESENVOLVIMENTO DO RADIOIMUNOCONJUGADO, CETUXIMABE-DTPA-IN111, PARA ESTRATIFICAÇÃO DE PACIENTES À TERAPIA DIRIGIDA AO EGFR.
797	ESTUDO DA VIABILIDADE DO USO DO APTÂMERO ANTI-MUC1 COMO VETOR ALVO DIRECIONADOR DE 1,10-FENANTROLINA PARA RADIOSENSIBILIZAÇÃO DE CÉLULAS DE CÂNCER DE MAMA
798	DICHROMATIC AND MONOCHROMATIC LASER RADIATION EFFECTS ON RESISTANCE ANTIBIOTIC, BIOFILM FORMATION AND DIVISION RATE OF PANTOEVA AGGLOMERANS
799	IMPLEMENTAÇÃO DA TERAPIA DE LASER BAIXA POTÊNCIA NO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE
801	EVALUATION OF LOW DOSES OF GAMMA IRRADIATION IN THE FORMATION OF MINERALIZATION NODULES IN OSTEOBLASTS CULTURE

- 802 FOTOATIVAÇÃO DA DOXORRUBICINA POR LED AZUL REDUZ A VIABILIDADE DE CÉLULAS MDA-MB-231 DE CÂNCER DE MAMA E INDUZ AUMENTO DO ESTRESSE OXIDATIVO
- 803 PEPTIDE LYETX I MNAK: A POTENTIAL ANTIMICROBIAL AGENT
- 804 AVALIAÇÃO DAS DOSES EM PET/CT UTILIZANDO O MÉTODO DE MONTE CARLO
- 805 AVALIAÇÃO DA IMAGEM PET E BIODISTRIBUIÇÃO EX VIVO DO RADIOFÁRMACO 18F-FLUORESTRADIOL EM ANIMAIS SADIOS
- 806 COMPARISON OF RADIOLABELING EFFICIENCY OF PEPTIDES CONTAINING THE RGD DOMAIN USING THE TC-99M AND I-131 RADIOISOTOPES
- 807 NEW METHODOLOGY FOR FIXING IODINE IN RADIOACTIVE SOURCES USED FOR EPOXY RESIN
- 808 EXPRESSÃO GÊNICA DE MARCADORES INFLAMATÓRIOS NO TRATAMENTO DA PERIODONTITE CRÔNICA EM MODELO ANIMAL
- 809 EFEITOS DA TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIMICROBIANA ASSOCIADA A NANOPARTÍCULAS DOADORAS DE ÓXIDO NÍTRICO EM LEISHMANIOSE CUTÂNEA
- 810 TERAPIA COM LASER EM BAIXA INTENSIDADE NA PROLIFERAÇÃO DE CÉLULAS DE CÂNCER DE MAMA.
- 812 AVALIAÇÃO DA REGENERAÇÃO NERVOSA UTILIZANDO TERAPIA LASER DE BAIXA INTENSIDADE APÓS TÉCNICA DE TUBULIZAÇÃO COM PREENCHIMENTO DE TECIDO ADIPOSE
- 813 RESPOSTA DA REGENERAÇÃO MUSCULAR APÓS TÉCNICA DE TUBULIZAÇÃO COM PREENCHIMENTO DE TECIDO ADIPOSE E TERAPIA LASER DE BAIXA INTENSIDADE
- 814 EFFECTS OF PHOTOBIO-MODULATION THERAPY AND DICLOFENAC ON MUSCLE STRENGTH IN AN EXPERIMENTAL MODEL OF SKELETAL MUSCLE TRAUMA IN DIABETIC RATS
- 815 ASSESSMENT OF INTESTINAL PERMEABILITY AND BACTERIAL TRANSLOCATION EMPLOYING NUCLEAR METHODS IN MURINE MUCOSITIS
- 816 USO DE TERAPIA COM LUZ DE BAIXA POTÊNCIA PARA ACELERAÇÃO DA CICATRIZAÇÃO DE QUEIMADURAS NAS FASES SUBAGUDA E CRÔNICA EM RATOS WISTAR COM DIABETES
- 817 AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DE P53 EM CÉLULAS DE CÂNCER DE MAMA (MCF-7) TRATADAS COM RESVERATROL E RADIAÇÃO IONIZANTE
- 818 EFEITO DO AZUL DE METILENO FOTOATIVADO NA PROLIFERAÇÃO E VIABILIDADE EM CULTURA DE CÉLULAS DE TUMOR DE BEXIGA T24.
- 819 EFEITO DA LASERTERAPIA NA MODULAÇÃO DA DOR EM MODELO DE TENDINITE INDUZIDA POR COLAGENASE – ASPECTOS MOLECULARES E FUNCIONAIS
- 820 DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO BASEADO EM CROMATOGRAFIA GASOSA PARA QUANTIFICAÇÃO DO ISOPROPANOL EM PREPARAÇÕES RADIOFARMACÊUTICAS
- 822 BACTERIAL INFECTION IDENTIFICATION BY AN ANTI-PEPTIDOGLYCAN APTAMER LABELED WITH TECHNETIUM-99M

- 823 DESENVOLVIMENTO DE CULTIVO CELULAR TRIDIMENSIONAL PARA TESTES DE EFEITOS BIOLÓGICOS DAS RADIAÇÕES EM MODELOS TUMORAIS E NÃO-TUMORAIS.
- 824 NANOPARTÍCULAS DE OURO COMO AGENTE FOTOSENSIBILIZADOR PARA ATEROSCLEROSE
- 825 ALTERAÇÕES NA QUALIDADE DE VIDA PROVOCADAS PELOS EFEITOS IMEDIATOS DA IODOTERAPIA
- 826 INFLUÊNCIA DA TAXA DE DOSE DE RADIAÇÃO GAMA NA SOBREVIVÊNCIA DE LINFÓCITOS HUMANOS
- 827 AVALIAÇÃO DA FREQUÊNCIA DE MICRONÚCLEOS EM AMOSTRAS DE SANGUE PERIFÉRICO, IRRADIADAS IN VITRO, DE PORTADORAS DE CÂNCER DE COLO UTERINO
- 828 AVALIAÇÃO DA MISTURA DE GEL CLÍNICO COM SULFATO DE COBRE COMO MODIFICADOR DOS TEMPOS DE RELAXAÇÃO DO GEL EM RESSONÂNCIA MAGNÉTICA
- 829 EXPRESSÃO DAS CITOCINAS TNF, IL-17A, IL-4 E IL-10 EM CÉLULAS MONONUCLEARES DO SANGUE PERIFÉRICO IRRADIADAS IN VITRO
- 830 COMPARATIVE STUDY OF TRICARBONILIC COMPLEXES OF ^{99m}Tc IN THE DIAGNOSIS OF FUNGAL INFECTIONS.
- 831 IMAGING HER2 IN RESPONSE TO T-DM1 THERAPY IN BREAST CANCER XENOGRAFTS
- 833 REVISÃO: AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DAS RADIAÇÕES IONIZANTES EM FARINHAS.
- 834 AVALIAÇÃO IN VITRO DE TERAPIA FOTODINÂMICA COM NANOPARTÍCULAS REDOX-RESPONSIVAS DE PPIX

ARTIGOS COMPLETOS

Development of three-dimensional cellular culture system for testing of biological effects of radiations in tumoral and non-tumoral models

Leticia Bonfim^{1(*)}, Karina Oliveira Gonçalves², Daniel Perez Vieira¹

1- Radiobiology Laboratory, Biotechnology Center, IPEN / CNEN-SP, Av. Lineu Prestes, 2242, São Paulo, SP, Brazil

2- Department of Physics, UNIFESP, Diadema, SP, Brazil

(*) Email: leticia.bonfim@ipen.br

ABSTRACT

Pre-clinical drug testing is currently based on based on monolayer or 2D (2D) cell cultures and, despite the large-scale use of this form of culture, there is already scientific evidence that the cellular disposition in monolayers does not adequately simulate tissue physiology, as it prevents cells from expressing their characteristics in a manner analogous to that found in the organism. For this purpose, the work aimed to produce three-dimensional structures, referred as spheroids, using magnetic levitation by adding iron nanoparticles to the cultures and with the aid of magnets. Electron microscopy showed particles with about 20nm in diameter. FTIR (Fourier-transform infrared spectroscopy) analysis showed stretches compatible with iron and amino acid (Lysine) binding. The images showed the formation of spherical bodies until the ninth day. LnCap spheroid diameter varied from (mean \pm error) $434.407 \pm 50.018 \mu\text{m}$ (5th day) to $264.574 \pm 13.184 \mu\text{m}$ (9th day). Cultures of CHO ranged from $229.237 \pm 5.278 \mu\text{m}$ to $236.719 \pm 12.910 \mu\text{m}$ in the same period. Spheres generated by magnetic levitation could be measured by digital means and compared throughout the experiment. The tool can be used to test the biological effects of radiation and / or radiopharmaceuticals in culture.

Key words: Iron oxide; nanoparticles; magnetic levitation; 3D culture

RESUMO

O teste pré-clínico de medicamentos baseia-se atualmente em culturas celulares em monocamadas ou 2D (2D) e, apesar do uso em larga escala desta forma de cultura, já existe evidência científica de que a disposição celular em monocamadas não simula adequadamente a fisiologia do tecido, pois evita que as células expressem suas características de maneira análoga à encontrada no organismo. Com esta finalidade, o trabalho visou produzir estruturas tridimensionais denominadas esferóides, usando levitação magnética mediante adição de nanopartículas de ferro às culturas e com o suporte de ímãs. A microscopia eletrônica mostrou partículas com cerca de 20 nm de diâmetro. A análise FTIR (Fourier-transform infrared spectroscopy) mostrou estiramentos compatíveis com ligação de ferro e aminoácido (lisina). As imagens mostraram a formação de corpos esféricos até o nono dia. O diâmetro esferoidal LnCap variou de (média \pm erro) $434,407 \pm 50,018 \mu\text{m}$ (5º dia) para $264,574 \pm 13,188 \mu\text{m}$ (9º dia). As culturas de CHO-KI

variaram de $229,237 \pm 5,278$ a $236,719 \pm 12,910$ μm no mesmo período. As esferas geradas por levitação magnética podem ser medidas por meios digitais e comparadas ao longo do experimento. A ferramenta pode ser usada para testar os efeitos biológicos da radiação e / ou radiofármacos em cultura.

Palavras-chave: Óxido de ferro; nanopartículas; levitação magnética; cultura 3D

1. INTRODUCTION

Currently, antitumor activity *in vitro* testing of drugs are performed in experimental models based on monolayer two-dimensional (2D) cell culture. Despite the large-scale use of this form of culture, there is already scientific evidence that the cellular disposition in monolayers do not simulate tumor physiology accurately, since it prevents cells from expressing their characteristics in a manner analogous to those found in the organism (Griffith, 2006). In addition, in the process of developing new drugs, a low percentage of success has been observed and many drugs showed significant antitumor activity in preclinical studies (Hutchinson, 2011; Hickman, 2014).

To achieve more similarity to that observed *in vivo*, it would be required a broader field of interactions between cells, what could be accomplished using three-dimensional culture techniques. This method has been receiving some attention as ways to simulate the tumor environment and promote the cell reorganization, cell-cell interaction and extracellular matrix proteins, and when cultured by this method the cells can form spheroids (Kuwashima, 1993; Song, 2004; Papusheva, 2010).

There are some methods capable of three-dimensional cell culture, being coating of culture plates with agarose one of the most used methods, which allows the formation of spheroids, which are characteristic cell aggregates with some physiological resemblance to natural conditions (Kuwashima, 1993). Another method is based on creation of three-dimensional clusters of cells with the use of magnetic levitation. For this method, iron nanoparticles are added to the cells and, with the aid of magnets, form spheroids of no more than few millimeters in diameter. Magnetic formed spheroids are cultivated suspended in the culture medium and remain viable for weeks allowing cells to produce their own extracellular matrix without inducing significant toxicity (Souza, 2010).

The intention of this work was to obtain suspended spheroids at the air-liquid interface by magnetic levitation with the addition of iron oxide nanoparticles in the cultures to stablish a test system for future assessment of effects of ionizing radiations in 3D cultures. To obtain greater stability and biocompatibility the nanoparticles were functionalized with Polyethyleneglycol (PEG) a polymer, which has been used in the literature as coating for the nanoparticles due to its high solubility and

affinity with the amine group (Ali, 2016; Laurent, 2008; Babič, 2008). Adherence to cell surfaces occurred by the addition of L-Lysine, an amino acid whose positive charge (at physiological pH) that bind to negatively charged cell surfaces (Babič, 2008).

2. MATERIALS AND METHODS

Cell Lines: LnCap (human prostate cancer) and CHO-KI (chinese hamster ovary) cells, maintained as liquid nitrogen stabilates at Center of Biotechnology (IPEN/CNEN-SP) were cultured separately with 5 mL RPMI 1640 medium, pH 7.4 (Gibco, Grand Island, USA), supplemented with 10% fetal bovine serum (Cultilab, Campinas, Brazil), 1g/L Sodium Bicarbonate (Sigma-Aldrich, Missouri, USA) and 1% penicillin and streptomycin solution (Gibco, Carlsbad, USA) in sterile plastic bottles for culture with 25cm² of culture area (Corning, Tewksbury, USA). Cell bottles are maintained in an incubator under controlled atmosphere (95% O₂, 5% CO₂, 37° C).

Synthesis of iron oxide nanoparticles: Particle suspensions were produced by coprecipitation using FeCl₃.6H₂O and FeSO₄.7H₂O as Fe³⁺ and Fe²⁺ sources, respectively. The iron ion solution was added to a flask containing NaOH (1.6 M) under sonication and constant bubbling of N₂ for 3 hours. After production, the particles were washed with deionized water. All solutions were prepared using degassed deionized water, with subsequent bubbling of N₂ for 15 minutes. The coating of the nanoparticles was obtained by the addition of PEG 4000 (22.5 mM) for 1 hour under sonication. Excess PEG was removed by washing with 100% ethanol. For functionalization, 200 µg of L-Lysine (Sigma-Aldrich, 1mg/mL) was added dropwise over 5 min under sonication. Finally, 200 µL of the nanoparticle suspension was added to the cell cultures and allowed to adhere. After 24 hours, the cells were evaluated by light microscopy and suspended in medium for experimental procedures.

Magnet array: To arrange the magnets, a suspension plate was designed using a 3D modeling software (Sketchup Pro 2017, Trimble Inc.) and printed with PLA (poly-L lactic acid). Ninety-six neodymium-iron-boron (NdFeB) magnets (3 x 8.5mm, D x L) were arranged to the plate, washed with ethanol 70% and UV sterilized (30 min in sterile environment) prior to use in cell cultures. The plate was designed to align all magnets to the center of wells of ordinary 96-well cell culture plates, without touching the surface of liquid (medium).

Plate preparation: Cell culture (96-well) plates were pre-coated using sterile agarose (1% in PBS, 80µL/well) and let to polymerize under sterile conditions for 30 minutes.

Spheroid formation: LnCap or CHO cells suspensions were prepared to provide different cell numbers (600, 700, 800, 900, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 4000 or 5000) in 100 μ L of medium. Suspensions were transferred to agarose-coated plates and covered by magnet plate. Experiments were carried out for consecutive nine days. At 5th, 7th and 9th days, spheroids were imaged using a Nikon TS-100 inverted microscope at a 20X magnification (0.241 μ m/px).

Image analysis: images were analyzed using ImageJ 1.50i. Spheroid areas were measured using described μ m/px equivalence.

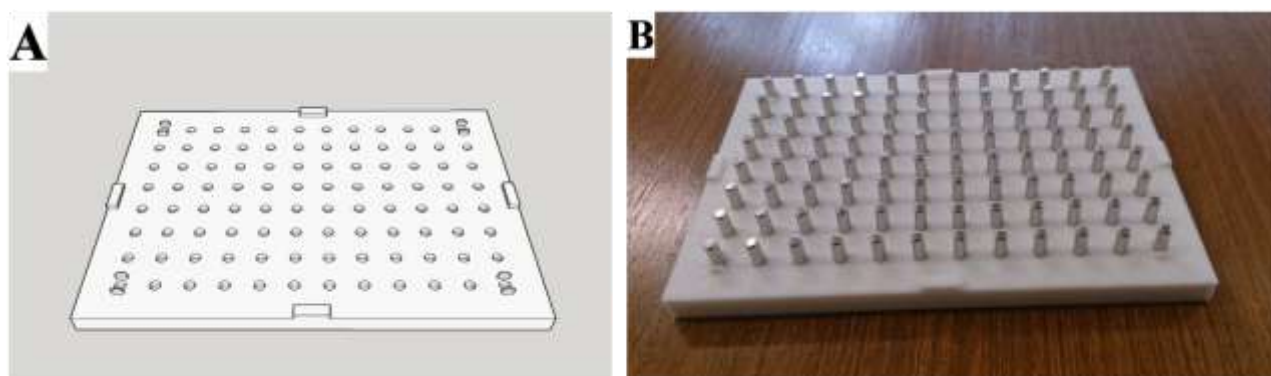
Particle characterization: The suspensions were evaluated by electron microscopy and FTIR.

Statistical analysis: Spheroid areas were compared using two-way ANOVA and Bonferroni post-testing for difference assessment from first day of measurements (5th day of experiment).

3. RESULTS AND DISCUSSION

The magnet array is shown in Figure 1. The use of a simple 3D printer with a PLA filament could produce a magnet plate with 96 magnets, with satisfactory results

FIGURE 1. 3D model of 96-magnet plate (A) and printed piece with attached magnets (B)



Electron microscopy images are shown in Figure 2. Suspensions without (A) or with (B) L-Lysine contained particles with about 20nm in diameter. It is also observed that the nanoparticles are little dispersed, because during the coprecipitation the nucleation and growth stages occur, in which the particle agglomeration may occur. L-Lysine seemed not to alter size or dispersion of particles.

The FTIR analysis is shown in Figure 3. All preparations showed a 580 cm^{-1} stretch caused by ligation of oxygen on the octahedral site of hematite (Fe-O) ligation, and 1630 and 3420 cm^{-1} stretches that were present due to vibrational effects on O-H bonds due to water molecules on surface of particles. Main differences were observed inside 695-900, 1450-1800 and 2800-3100

cm^{-1} regions, which are characteristic of amino-containing nitro compounds, carboxylic acids and primary and secondary amines, respectively.

FIGURE 2: Electron microscopy of iron oxide nanoparticles without (A) or with (B) L-Lysine

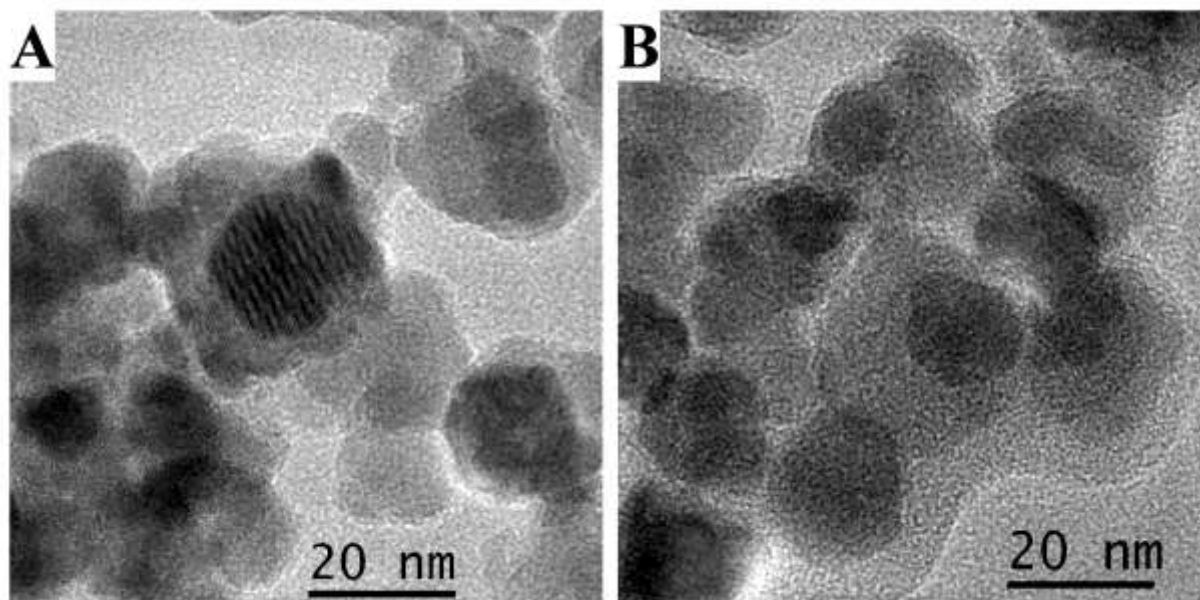
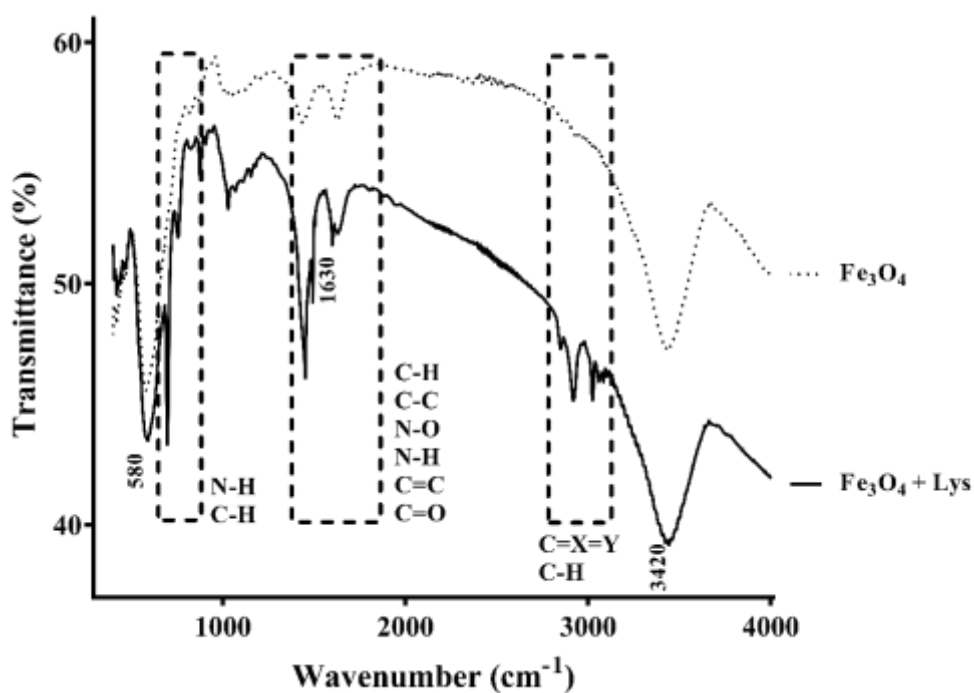


FIGURE 3. FTIR analysis of Fe_3O_4 NP with or without L-Lysine coating



Images obtained by inverted microscope and measured by software (Image J) showed the formation of the spheroids until the ninth day in culture are shown in Figure 4.

Cell spheroids were completely formed at 5th day of experiment. In this day, LnCap or CHO-KI spheroids remained integer even upon magnet removal from plates (data not shown). Measurements before this time were not possible. On the opposite hand, at 9th day the LnCap spheroids from all tested cell densities appeared as true spheroids, not as sheet-like structures, as shown in Figure 4B. At this point, the structures were considered suitable to provide the proposed measurements. Area values were shown in Figure 5.

The mean diameter of the LnCap spheroids ranged from $434.407 \pm 50.018 \mu\text{m}$ (5th day) to $264.574 \pm 13.184 \mu\text{m}$ (9th day). Cultures of CHO-KI ranged from 229.237 ± 5.278 to $236.719 \mu\text{m}$ in the same period. Area reduction was statistically significant when comparing LnCap spheroid from 5th to 9th day of experiment. At same time, changing from cell sheet to spheroid of these cultures was perceptible. LnCap tended to arrange first in a sheet-like epithelial structure, and further to a spheroid. Alternatively, CHO-KI readily arranged in spheric structures.

FIGURE 4. Spheroids of CHO (A) and LnCap (B) cells obtained using different cell densities per well and imaged at 5th, 7th and 9th days in culture

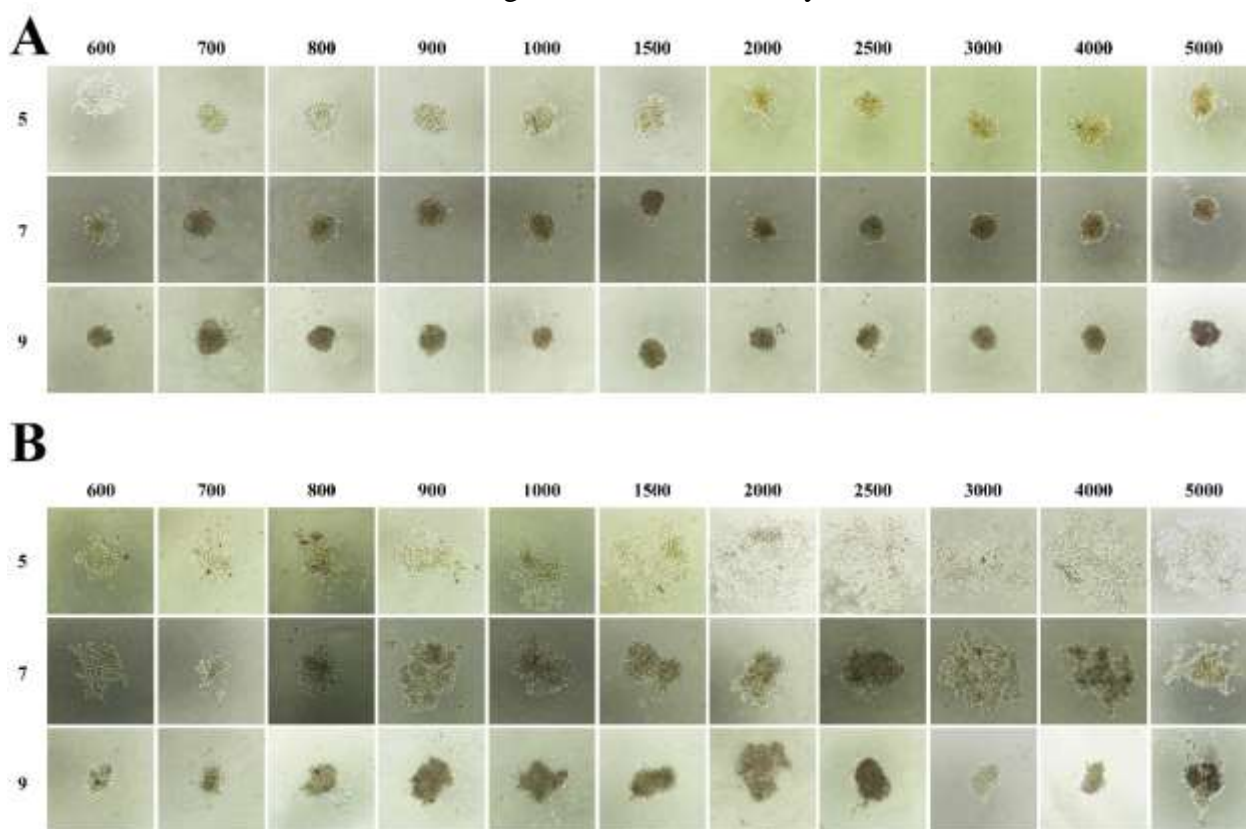
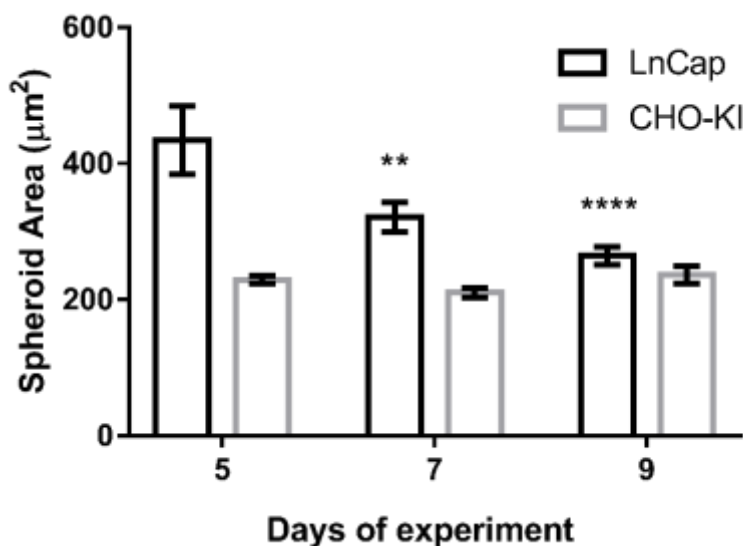


FIGURE 5. Spheroid area values (μm^2) from LnCap and CHO-KI spheroids at days 5th, 7th and 9th. Bars: SEM. (**): $p < 0.01$. (****): $p < 0.0001$



In-house projected and printed magnetic drive has proven to be an interesting alternative to commercial counterparts. Despite its relative success, further models with more complex design are required, in order to keep magnetic fields perfectly aligned with well centers. Agarose coating was a fairly efficient way to prevent cell adhesion to wells, but its presence decreases the work volume of media. Less restrictive approaches using polymers would be tested in further studies.

Iron oxide particles can show superparamagnetic responsiveness to magnetic fields. This characteristic is size-dependent, and can be retained as long particle size is approximately 10-20nm (Wahajuddin, 2012). The protocol used in this work could produce particles within this size range, as showed by electron microscopy.

Due to its positive charge on physiological pH (Schwaminger, 2015), L-Lysine has been chosen over another amino acids when adhesion to cell surfaces is required. Analysis of FTIR spectra showed stretches related to association of iron oxide with amino acids, with a further interpretation of L-Lys ligation to the particles. Spheroid formation and its responsiveness to magnetic field are consistent with this observation.

Study of toxicity of drugs on spheroids produced by magnetic levitation can be accomplished using magnet arrays commercially available (Tseng, 2016; Desai, 2017). Using these medium- to high-throughput methods, scalable *in vitro* approaches as calculations of IC_{50} or minimal toxicity can be reproduced. Although tridimensional cultures could be formed by other methods (Messner, 2013; Nath, 2016), there is sufficient evidence that magnetic levitation cultures, based on iron oxide

nanoparticles adsorption by cells can be a suitable method of tridimensional cell culture, as showed by spheroid formation in this work. As an ultimate goal, spheroids will be further used on studies of ionizing radiation in three-dimensional cell structures, as been currently reviewed in literature (Eke & Cordes, 2011; Hamdi, 2016; Acheva, 2014 et al.).

4. CONCLUSION

Spheres generated by magnetic levitation could be measured by digital means and compared throughout the experiment, and possibly could will be used as test system of the biological effects of radiation and / or radiopharmaceuticals in culture, for example.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors wish to thank Flavia R.O. Silva, Ph.D. from Microanalysis and Microscopy Lab. – Center of Material Science and Technology, IPEN/CNEN-SP for nanoparticle imaging and Caio C.S. Valeriano, M.Sc. and Leticia L.C. Rodrigues, Ph.D. for valuable help and 3D printing of magnetic plate.

REFERENCES

- ACHEVA A, GHITA M, PATEL G et al. Mechanisms of DNA damage response to targeted irradiation in organotypic 3D skin cultures. **PLoS One**, 2014 Feb 5;9(2):e86092.
- ALI A, ZAFAR H, ZIA M et al. Synthesis, characterization, applications, and challenges of iron oxide nanoparticles. **Nanotechnology, Science and Applications**, 2016, 9, 49-67.
- BABIČ M, HORÁK D, TRCHOVÁ M et al. Poly(l-lysine)-Modified Iron Oxide Nanoparticles for Stem Cell Labeling, **Bioconjugate Chemistry**, 2008, 19, 740-750.
- DESAI PK, TSENG H, SOUZA GR. Assembly of Hepatocyte Spheroids Using Magnetic 3D Cell Culture for CYP450 Inhibition/Induction. **Int J Mol Sci.**, 2017 May 18;18(5).
- EKE I, CORDES N. Radiobiology goes 3D: how ECM and cell morphology impact on cell survival after irradiation. **Radiother Oncol.**, 2011 Jun;99(3):271-8.
- EL-ASHMAWY M, COQUELIN M, LUITEL K et la. Organotypic culture in three dimensions prevents radiation-induced transformation in human lung epithelial cells. **Sci Rep.**, 2016 Aug 19;6:31669.
- GRIFFITH LG, SWARTZ MA. Capturing complex 3D tissue physiology in vitro, **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, 2006, 7, 211–24.

- HAMDI DH, CHEVALIER F, GROETZ JE et al. Comparable Senescence Induction in Three-dimensional Human Cartilage Model by Exposure to Therapeutic Doses of X-rays or C-ions. **Int J Radiat Oncol Biol Phys.**, 2016 May 1;95(1):139-46.
- HICKMAN JA, GRAESER R, DE HOOGT R et al. Three-dimensional models of cancer for pharmacology and cancer cell biology: Capturing tumor complexity in vitro/ex vivo, **Biotechnology Journal**, 2014, 9, 1115–28.
- HUTCHINSON L, KIRK R. High drug attrition rates—where are we going wrong? **Nature Publishing Group**, 2011, 8(4), 189– 90.
- KUWASHIMA Y, YAMADA T, SAIO M, TAKAMI T. Formation and growth of multicellular spheroids in media containing low concentrations of agarose. **Cancer Letters**, 1993,71(1–3):31–3.
- Laurent S, Forge D, Port M et al. Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis, Stabilization, Vectorization, Physicochemical Characterizations, and Biological Applications, **Chemical Reviews**, 2008, 108, 2064-2110.
- MESSNER S, AGARKOVA I, MORITZ W. et al. Multi-cell type human liver microtissues for hepatotoxicity testing. **Arch Toxicol.**, 2013 Jan;87(1):209-13.
- NATH S, DEVI GR. Three-dimensional culture systems in cancer research: Focus on tumor spheroid model. **Pharmacol Ther.**, 2016 Jul;163:94-108.
- PAPUSHEVA E, HEISENBERG C-P. Spatial organization of adhesion: force-dependent regulation and function in tissue morphogenesis, **The EMBO Journal**, 2010, 29(16), 2753–68.
- Schwaminger SP, García PF, Merck GK et al. Nature of Interactions of Amino Acids with Bare Magnetite Nanoparticles. **The Journal of Physical Chemistry**, 2015 119 (40), 23032-23041.
- SONG H, DAVID O, CLEJAN S et al. Spatial composition of prostate cancer spheroids in mixed and static cultures. **Tissue Eng.**, 2004 Jul-Aug;10(7-8):1266-76.
- SOUZA GR, MOLINA JR, RAPHAEL RM et al. Three-dimensional tissue culture based on magnetic cell levitation. **Nature Nanotechnology**, 2010, 5(4), 291–6.
- TSENG H, GAGE JA, HAISLER WL et al. A high-throughput in vitro ring assay for vasoactivity using magnetic 3D bioprinting. **Sci Rep.**, 2016 Aug 1;6:30640.
- WAHAJUDDIN, ARORA S. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: magnetic nanoplatfoms as drug carriers. **Int J Nanomedicine**, 2012;7:3445-71.

Expressão das Citocinas TNF, IL-17A, IL-4 e IL-10 em Células Mononucleares do Sangue Periférico Irradiadas “*in vitro*”

Ademir de Jesus Amaral¹, Lidía Lúcia Bezerra Leite¹, Ayala Gomes do Nascimento¹, Ewerton Clementino Diniz¹, Gicielne Freitas da Silva¹, Samuel César Dantas², Thiago de Salazar e Fernandes^{1,3}, Edvane Borges da Silva^{1,4}, Robson Cavalcante Veras⁵, Isac Almeida de Medeiros⁵, Mariana Brayner Cavalcanti^{1*}

¹Grupo de Estudos em Radioproteção e Radioecologia (GERAR/DEN/UFPE)

²Setor de Radioterapia do Instituto Medicina Integrada Prof. Antônio Figueira (IMIP/PE)

³Departamento de Biofísica e Radiobiologia (DBR/UFPE)

⁴Centro Acadêmico de Vitória (CAV/UFPE)

⁵Departamento de Ciências Farmacêuticas (DCF/UFPB)

*Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Energia Nuclear

Av. Prof. Luiz Freire, N. 100, Várzea, Recife, PE, Brasil, CEP: 54740-540

Email: maribrayner@yahoo.com.br

ABSTRACT

The aim of the present study was to determine and to compare the profile of cytokines produced by non-irradiated and irradiated peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) and the possible application of this analysis as a biomarker of individual radiosensitivity. For this, peripheral blood (PB) samples were collected from seven healthy volunteers, and each sample divided in two aliquots: one aliquot was irradiated with a dose of 2 Gy (from a 6MV Linear Accelerator) and while the other one was kept non irradiated. All PBMCs were cultured in RPMI 1640 supplemented with 10% Bovine Fetal Serum for 48 hours at 37°C and 5% CO₂. The cytokines TNF, IL-17A, IL-4 and IL-10 were measured by flow cytometry. Wilcoxon test was performed with the level of significance of 95%. In the irradiated samples it was observed a slight increase of the median of the level of cytokines TNF, IL-4 and IL-10 (from 1040.9 to 1196.1 pg/mL, from 127.3 to 138 pg/mL, and from 99.9 to 120.8 pg/mL, respectively) and a slight decrease in median of cytokines IL-17A (from 841.1 to 799.4 pg/mL). In addition to this evidence, there was a high inter-individual variability of cytokine concentrations in response to irradiation. It was observed that some individuals are more responsive to the expression of some inflammatory proteins after exposure to X-rays. Although further studies are necessary, the hypothesis that raises is that these biomarkers could be predictor of future individual responses to ionizing radiation exposure.

Key words: Cytokines; Inflammation; Radiosensitivity; Biomarker

RESUMO

A presente pesquisa objetivou determinar e comparar o perfil de citocinas produzidas pelas células mononucleares do sangue periférico (PBMCs) não irradiadas e irradiadas *in vitro*, bem como sua possível aplicação como biomarcador de radiosensibilidade individual. Foram coletadas amostras de sangue periférico (SP) de sete voluntários saudáveis. De cada amostra, uma alíquota de SP foi irradiada com dose de 2Gy de raios-X enquanto outra alíquota foi mantida como controle (não irradiada). As PBMCs foram cultivadas em RPMI 1640 suplementado com 10% de Soro Fetal Bovino e incubadas por 48 horas a 37 °C e 5% de CO₂. Foram quantificadas as citocinas TNF, IL-17A, IL-4 e IL-10 utilizando o citometro de fluxo. Foi utilizado o teste de Wilcoxon a um nível de significância de 95%. Observou-se, nas amostras irradiadas, um discreto aumento da mediana dos níveis das citocinas TNF, IL-4 e IL-10 (de 1040,9 para 1196,1 pg/mL; de 127,3 para 138 pg/mL e de 99,9 para 120,8 pg/mL, respectivamente) e uma discreta diminuição da mediana da citocina IL-17A (de 841,1 para 799,4 pg/mL), estas diferenças não foram estatisticamente significativas. Verificou-se uma elevada variabilidade interindividual das concentrações das citocinas em resposta à irradiação. Constatou-se que alguns indivíduos são mais responsivos quanto à expressão de algumas proteínas inflamatórias após exposição aos raios-X, indicando a possibilidade de emprego destes biomarcadores como teste preditivo da resposta individual à radiação ionizante antes de uma radioterapia, em uma abordagem de medicina de precisão.

Palavras-chaves: Citocinas; Inflamação; Radiosensibilidade; Biomarcador

1. INTRODUÇÃO

A radioterapia (RT), isoladamente ou combinada à quimioterapia, é uma das opções de tratamento mais utilizada no combate ao câncer. No entanto, em muitos casos, as reações adversas associadas à RT, em resposta à interação da radiação ionizante (RI) com os tecidos sadios circunvizinhos ao tumor, constituem um fator limitante à eficácia desse tratamento. Dentre as reações adversas decorrentes da RT, a inflamação merece destaque (Travis, 2007; Borràs-Fresneda et al., 2016).

Alguns pacientes submetidos à RT apresentam sinais típicos de um quadro inflamatório agudo decorrentes de uma cascata de transdução de sinais celulares induzida pela interação da radiação com o tecido sadio adjacente ao tumor. Essa condição provém de uma exacerbação da resposta imunológica sendo uma reação adversa limitante da radioterapia e apresentando-se de forma singular em cada indivíduo (Ryan, 2012; Burnette; Weichselbaum, 2013; Frey et al. 2015).

A variabilidade na resposta individual às RIs – ou seja, os diferentes graus de radiosensibilidade – por ser reconhecidamente um aspecto importante para a eficácia da RT, há um esforço internacional pela busca de novos testes preditivos das reações adversas exacerbadas (Beaton et al., 2013). Nesse sentido, pesquisas envolvendo metabólitos celulares vêm ganhando espaço como potenciais biomarcadores de sensibilidade às RIs, a exemplo de uma classe de proteínas denominada citocinas.

As citocinas estão intimamente associadas ao grau de lesão tecidual. Estas proteínas são expressas em quantidades ínfimas no estado fisiológico basal, no entanto, a perturbação desse estado de equilíbrio por um agente agressor estimula sua produção. A intensidade deste quadro varia em função da radiosensibilidade individual e constitui um dos fatores limitantes da RT. Portanto, a análise de citocinas pode vir a ser útil na identificação do grau de radiosensibilidade individual, visto que esta classe de proteínas está relacionada ao processo inflamatório (Di Maggio et al., 2015).

Neste contexto, o objetivo desta pesquisa foi determinar e comparar o perfil de citocinas produzidas pelas células mononucleares do sangue periférico (PBMCs) não irradiadas e irradiadas, bem como sua possível aplicação como biomarcador de radiosensibilidade individual.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta das amostras biológicas e Aspectos Éticos

Foram coletados 18 mL de sangue periférico, em tubos contendo heparina sódica, de sete indivíduos (quatro mulheres e três homens) saudáveis (identificados como: I, II, III, IV, V, VI e VII), com faixa etária entre 18 e 62 anos. Todos os indivíduos assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido antes da coleta, seguindo as recomendações do comitê de ética em seres humanos da UFPE (parecer nº 1084.387).

2.2 Procedimento de irradiação

Da amostra coletada, 9 mL foram irradiados “*in vitro*” com raios-X, recebendo a dose de 2 Gy com Acelerador Linear de 6MV (Modelo Primus, Siemens; localizado no Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira) e 9 mL do sangue foram mantidos como controle (não irradiado). Após a irradiação, as amostras foram processadas para obtenção das células mononucleares.

2.3 Obtenção de células mononucleares do sangue periférico (PBMCs)

As amostras de sangue periférico foram depositadas sobre uma solução de Ficoll (densidade de $1,077 \pm 0,001$ g.mL⁻¹) (GE Healthcare) na proporção de 1:1 e centrifugadas a 400 x g por 45 minutos. As PBMCs obtidas foram lavadas com solução de PBS na proporção de 1:2 e as amostras foram centrifugadas a 350 x g por 15 minutos. A cada botão celular obtido foi adicionado 5mL de meio de cultivo RPMI1640 (Cultilab, Brasil) suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB) (Cultilab, Brasil).

2.4 Ajuste da concentração celular

Ao volume de 50 μ L da suspensão celular final obtida no item anterior foi adicionado à 50 μ L do corante azul de tripan 0,4% v/v (Sigma-Aldrich, Brasil) ou seja, na proporção 1:1. As células foram depositadas em câmara de Neubauer e analisadas quanto a viabilidade por microscopia óptica. A concentração celular foi ajustada para 5x10⁵ células/150 μ L e 1x10⁶ células/mL de meio RPMI 1640 suplementado com 10% SBF para ensaio de citotoxicidade e de quantificação de citocinas, respectivamente.

2.5 Ensaio de citotoxicidade

O teste de citotoxicidade foi realizado *in vitro* em cultura de PBMCs e quantificado pelo método MTT (3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo). Após 48 horas em estufa a 5% de CO₂ e 37°C, foi adicionado à solução de MTT-sal de tetrazolium (Sigma-Aldrich, Brasil) a 0,5mg/mL e as placas retornaram à incubadora por mais 3 horas. Em seguida, foram adicionados 120 μ L da solução de SDS 20% para dissolução do precipitado. Após 24 horas, a absorbância foi lida em espectrofotômetro de placa no comprimento de onda de 570nm (Modelo EL808, BioTek, USA).

2.6 Cultura celular

As PBMCs isoladas foram cultivadas em meio RPMI 1640 suplementado com L-Glutamina, 10% de SFB, 10mM de HEPES (4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid) e 200U/mL de Penicilina/Estreptomicina (Cultilab, Brasil). Estas células foram cultivadas na presença e ausência doPMA (Phorbol 12-mystirate, 13-acetate) (Sigma-Aldrich, Brasil) e Ionomicina (Sigma-Aldrich, Brasil) durante 48 horas em estufa a5% de CO₂e 37°C. O PMA e a ionomicina foram utilizadas como estímulo à proliferação celular e à produção de citocinas. Após o período de incubação os sobrenadantes foram retirados, armazenados e acondicionados à -20°C até o momento da realização do CBA.

2.7 CBA (Citometric Bead Array)

Os sobrenadantes de cultura de PBMCs foram analisados em citômetro de fluxo BD FACSCanto II FlowCytometer, por CBA. As citocinas presentes foram detectadas utilizando o kit CBA Human TH1/Th2/Th17 cytokine (BD Biosciences, USA), seguindo as recomendações dos fabricantes. As citocinas TNF, IL-17A, IL-4 e IL-10 (limites de detecção de 2,8; 18,9; 4,9; 4,5 pg/mL, respectivamente) foram avaliadas considerando-se o Índice Médio de Fluorescência (IMF). Foram adquiridos 10.000 eventos por amostra em citômetro de fluxo utilizando o software FACSDiva. Para as análises das aquisições utilizou-se o software FCAP.

2.8 Análise estatística

Foi realizado teste de Wilcoxon para verificar diferenças entre os tratamentos com software BioEstat 5.0. O nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$).

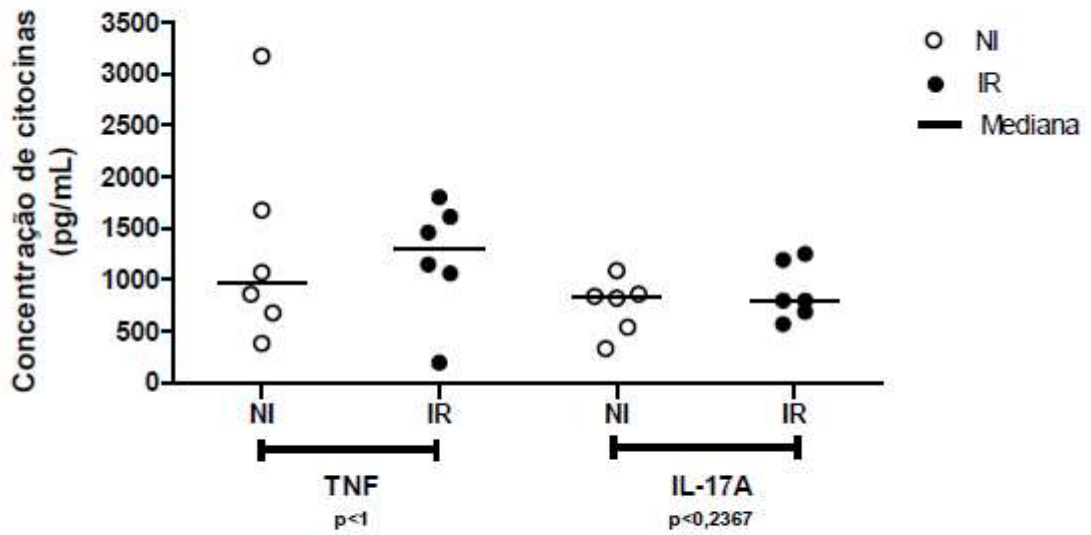
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para verificar o efeito da radiação ionizante na viabilidade celular, foi utilizado o teste do MTT. A viabilidade foi determinada após a irradiação e o cultivo celular de 48 horas. Tanto para as amostras irradiadas quanto não irradiadas, as viabilidades foram $\geq 80\%$.

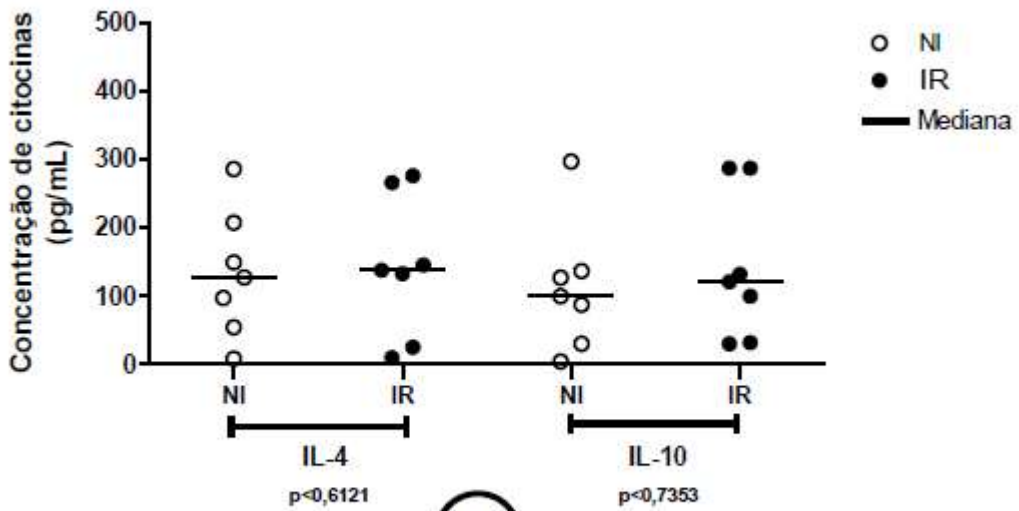
Uma vez que a dose de 2 Gy não se mostrou tóxica às PBMCs, nas condições experimentais adotadas, foram determinados os níveis de citocinas pró e anti-inflamatórias antes e após a exposição à radiação ionizante. A Figura 1 (A) e (B) apresenta as dispersões e as medianas dos perfis das citocinas (em pg/mL) TNF, IL-17A, IL-4 e IL-10 das amostras de sangue não irradiadas e irradiadas, cultivadas por 48 horas e estimuladas com PMA+IONO. Na Figura 1(A), é possível observar aumento da mediana da citocina pró-inflamatória TNF pós-irradiação (de 1040,9 para 1196,1 pg/mL, ou seja, um aumento de 15%) e diminuição da mediana da citocina IL-17A (de 841,1 para 799,4 pg/mL, ou seja, uma diminuição de 5%). Essas alterações não foram estatisticamente significativas. Na Figura 1(B), observa-se um discreto aumento das medianas das citocinas anti-inflamatórias IL-4 e IL-10 pós-irradiação (respectivamente, de 127,3 para 138 pg/mL, um aumento de 4%, e de 99,9 para 120,8 pg/mL, aumento de 21%). As diferenças nos níveis de expressão destas citocinas também não foram estatisticamente significativas. Ademais, é possível observar na Figura 1(A e B) elevada dispersão dos dados em torno da mediana das citocinas pró-inflamatórias e citocinas anti-inflamatórias, demonstrando alta variabilidade interindividual na expressão de citocinas.

Com relação à expressão de citocinas, as diferentes respostas obtidas individualmente podem ter repercussão quanto aos efeitos estimulatórios e inibitórios da resposta inflamatória, uma vez que as citocinas TNF e IL-17A são pró-inflamatória, enquanto as IL-4, IL-10 são de resposta anti-inflamatória (François et al., 2013). Com isso, a análise destes perfis se torna complexa, uma vez que um mesmo indivíduo pode apresentar um aumento de expressão de citocina pró-inflamatória (e.g., TNF) e anti-inflamatória (e.g., IL-10), que concomitantemente podem trazer um efeito nulo, benéfico ou maléfico para um indivíduo exposto em um cenário real. Há comprovações de que a IL-4, que é uma citocina anti-inflamatória, após exposição à altas e baixas doses de radiação ionizante, o que indica a indução de uma resposta anti-inflamatória radioinduzida (Manda et al., 2012; Di Maggio et al., 2015).

FIGURA 1. Dispersão dos níveis de citocinas das amostras não irradiadas (NI) e irradiadas (IR) na condição PMA-IONO



A



B

Através de registros do acidente nuclear de Chernobyl, foram evidenciadas modificações dos perfis de citocinas de trabalhadores de limpeza do reator ("*cleanup workers*") com diminuição significativa de IFN, que é pró-inflamatória. No mesmo estudo, foram avaliadas as citocinas TNF- α , IL-4 e IL-6 em plasma e em cultura de PBMCS, em que foi verificado que as concentrações de TNF- α e IL-4 permaneceram estáveis, enquanto os níveis de IL-6 (pró-inflamatória) aumentaram (Kurjāne et al., 2009). Estes dados reforçam que a análise de citocinas não é de fácil interpretação, porque citocinas pró e anti-inflamatória são hora estimuladas, hora inibidas, em um mesmo indivíduo.

Em outro estudo, verificou-se a expressão de IL-10 em função do tempo após irradiação, foi observado que a citocina permanece inalterada até o terceiro dia, a partir do qual começa a diminuir quantitativamente (Lim et al., 2016). Na presente pesquisa, somente foi avaliada a expressão da citocina após dois dias e, neste período, a expressão também permaneceu praticamente inalterada.

A análise dos níveis séricos de IL-10 e TNF- α em pacientes com carcinoma hepatocelular, antes e após radioterapia constatou aumento na expressão da IL-10, enquanto as citocinas TNF não variaram significativamente após o tratamento (Cha et al., 2017). Dosagens de citocinas durante o tratamento radioterápico mostraram não haver alterações significativas nos níveis séricos de TNF- α e IL-10 (Holliday et al., 2016).

Na atual proposta, a falta de um padrão de alterações de citocinas após irradiação pode ser atribuída ao tempo de cultura escolhido (48 h), pois parte das proteínas estudadas são precoces e com baixa meia vida plasmática, a exemplo da TNF, com meia-vida de 10 e 20 minutos (Oliveira et al., 2011). Além disso, como a secreção de citocinas não é determinada exclusivamente pela exposição às radiações ionizantes, há de se considerar que parte do perfil de expressão se deve a um possível efeito combinado da radiação e outros fatores biológicos e ambientais. Estes estudos podem contribuir na predição da radiosensibilidade individual a partir do perfil de alteração dos níveis basais de citocinas após irradiação.

4. CONCLUSÕES

Diante de resultados contraditórios da literatura (i) que apresentam aumento como diminuição ou estabilidade dos níveis de expressão de citocinas anti e pró-inflamatórias; (ii) com base nos mesmos resultados na presente pesquisa e (iii) utilizando o padrão metodológico, conclui-se que somente uma resposta 'paciente-específica' de perfil de expressão de citocinas poderá permitir um perfil próprio relacionado às possíveis reações à uma radioterapia baseada na medicina personalizada.

O número de indivíduos empregados nesta pesquisa não permitiu estabelecer um perfil de citocinas como biomarcadores de exposição às radiações ionizantes. No entanto, verificou-se que alguns indivíduos são mais responsivos que outros à variação nos níveis dessas proteínas após irradiação, motivando o uso dessa metodologia em pesquisas envolvendo radiosensibilidade individual.

AGRADECIMENTOS

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (Facepe), pelo financiamento desta pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BEATON, L. A. et al. Investigating γ H2AX as a Biomarker of Radiosensitivity Using Flow Cytometry Methods. **Plos One**, v. 2013, p. 1–7, 2013.
- BORRÁS-FRESNEDA, M. et al. Differences in DNA Repair Capacity, Cell Death and Transcriptional Response after Irradiation between a Radiosensitive and a Radioresistant Cell Lin. **Scientific Reports**, v.6. p. 1-11, 2016
- BURNETTE, B.; WEICHSELBAUM, R. R. Radiation as an Immune Modulator. **Seminars in Radiation Oncology**, v. 23, n. 4, p. 273–280, out. 2013.
- CHA, H.; LEE, E. J.; SEONG, J. Multi-analyte analysis of cytokines that predict outcomes in patients with hepatocellular carcinoma treated with radiotherapy. **World Journal of Gastroenterology**, v. 23, n. 11, p. 2077, 2017.
- DI MAGGIO, F. et al. Portrait of inflammatory response to ionizing radiation treatment. **Journal of Inflammation**, v. 12, n. 1, p. 14, 2015.
- FRANÇOIS, A. et al. Inflammation and Immunity in Radiation Damage to the Gut Mucosa. **BioMed Research International**, v. 2013, p. 1–9, 2013.
- FREY, B. et al. Modulation of inflammation by low and high doses of ionizing radiation: Implications for benign and malign diseases. **Cancer Letters**, v. 368, n. 2, p. 230–237, nov. 2015.
- KURJĀNE, N. et al. Ageing and production of the cytokines in Chernobyl clean-up workers from Latvia. **Proceedings of the Latvian Academy of Sciences, Section B, Natural, Exact and Applied Sciences**, v. 63, n. 3, 1 jan. 2009.
- LIM, S. et al. Effect of irradiation on cytokine secretion and nitric oxide production by inflammatory macrophages. **Genes & Genomics**, v. 38, n. 8, p. 717–722, ago. 2016.

MANDA, K. et al. Effects of ionizing radiation on the immune system with special emphasis on the interaction of dendritic and T cells. **Frontiers in Oncology**, v. 2, 2012.

RYAN, J. L. Ionizing Radiation: The Good, the Bad, and the Ugly. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 132, n. 3, p. 985–993, mar. 2012.

TRAVIS, E. L. Genetic Susceptibility To Late Normal Tissue Injury. **Seminars in Radiation Oncology**, v. 17, n. 2, p. 149–155, abr. 2007.

HOLLIDAY, E. B. et al. Relationship between fatigue, sleep quality and inflammatory cytokines during external beam radiation therapy for prostate cancer: A prospective study. **Radiotherapy and Oncology**, v. 118, n. 1, p. 105–111, jan. 2016.

OLIVEIRA, C. M. B. DE et al. Citocinas e dor. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 61, n. 2, p. 255–265, 2011.

Avaliação do efeito de três metais constituintes da monazita sobre a radiosensibilidade de osteoblastos humanos

Lucas Kiyoshi da Fonseca Iwahara*, Monica Stuck de Oliveira, Marcus Alexandre Vallim de Alencar

Instituto de Radioproteção e Dosimetria (IRD/CNEN) Rio de Janeiro/RJ

*Av. Salvador Allende s/n, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, CEP 22783-127

E-mail: lucas@bolsista.ird.gov.br

ABSTRACT

Thorium has gained notoriety in recent years, as a potential source of nuclear energy, substituting uranium in power plants. Monazite is an important font of thorium, as well of uranium and rare earths elements. Professionals involved in the extraction and manipulation of this mineral are occupationally exposed to aerosols containing metals and to ionizing radiation. This paper analyzed the effects of thorium, cerium and lanthanum on cell radiosensitivity. As an osteotropic substance, thorium is mostly deposited in bone tissue and may interfere in cellular radiosensitivity. A human osteoblast cell line was used to evaluate the effects of thorium, cerium and lanthanum on cell radiosensitivity, using proliferation as indicator. Assays were performed using cell cultures exposed to metals and to ionizing radiation. As a result, metals in combination with ionizing radiation induced changes on cell proliferation, in a concentration-dependent manner, in comparison with the exposure to metals alone. That suggests the possibility of combination interfering with radiosensitivity of osteoblasts, indicating an enhancement in occupational risk for workers that manipulate monazite byproducts and are subject to radiation in the environment. Thus, the development of risk assessment models that include the evaluation of metal-radiation mixtures and their cytotoxic and radiotoxic effects on tissues and organs must be highlighted.

Key words: radiation-induced effects, cell proliferation, occupational risk

RESUMO

O tório vem ganhando notoriedade como fonte potencial de energia nuclear, em substituição ao urânio em usinas. Monazita é uma fonte importante de tório, assim como de urânio e elementos de terras raras, como o cério e o lantânio. Profissionais envolvidos na extração e manipulação desse mineral estão ocupacionalmente expostos a aerossóis contendo metais e a outros agentes, como a radiação ionizante. Sendo elementos osteotrópicos, actínídeos e lantanídeos são depositados principalmente no tecido ósseo e podem interferir na radiosensibilidade celular. Uma linhagem de osteoblastos humanos foi usada para a avaliação de efeitos do tório, cério e lantânio sobre a radiosensibilidade utilizando-se como indicador a proliferação celular. Ensaios foram realizados utilizando-se culturas celulares expostas aos metais e à radiação ionizante. Os resultados mostram que os metais, em associação com radiação ionizante,

causaram efeitos distintos sobre a proliferação celular, dependendo da concentração, em comparação com a exposição aos metais de forma isolada. Tal observação sugere a possibilidade de combinações interferirem na radiosensibilidade dos osteoblastos, manifestando o aumento do risco ocupacional para os trabalhadores envolvidos com areias monazíticas e que estão sujeitos à radiação no ambiente. Portanto, o desenvolvimento de modelos de avaliação de riscos que incluam o estudo das associações metal-radiação e seus efeitos citotóxicos e radiotóxicos sobre tecidos e órgãos relevantes devem ser enfatizados.

Palavras-chaves: efeitos radioinduzidos, proliferação celular, risco ocupacional

1. INTRODUÇÃO

Radiossensibilidade pode ser definida como a susceptibilidade relativa de células, tecidos ou órgãos à ação lesiva da radiação ionizante. A radiosensibilidade celular é diretamente proporcional à taxa de divisão celular e inversamente proporcional ao grau de diferenciação celular (Rubin e Casarett, 1968). A exposição das células humanas à radiação ionizante leva a respostas celulares complexas, que podem resultar em alterações e seu ciclo celular e dos estágios de proliferação, e em casos mais graves, na mutagênese e morte celular (UNSCEAR, 2000). Na análise da radiosensibilidade, uma das principais metodologias é a medição dos graus de resposta de uma célula à radiação, permitindo a avaliação de um grande número de fenômenos em nível celular (HPA, 2013).

A exposição humana ocupacional ou ambiental a agentes químicos raramente é limitada a uma única substância (Yang e Rauckman, 1987). Uma mistura pode produzir efeitos distintos aos esperados em casos de exposição a um único fator. Dentre essas combinações, existem as associações metal-radiação. Em nível celular, os principais efeitos da combinação de radiação ionizante e outros agentes são mutações, inativação celular ou apoptose (UNSCEAR, 2000).

O tório é um elemento radioativo natural do grupo dos actinídeos, emissor alfa e meia-vida de aproximadamente 14×10^9 anos. É encontrado em vários minerais, associado com outros actinídeos e elementos do grupo terras raras, como cério e lantânio, dentre os quais a monazita, com concentração relativa de 18% de óxido de tório (USPHS, 1990). O cério e o lantânio são elementos do grupo dos lantanídeos e, ao contrário do tório, são metais estáveis. O cério ocorre naturalmente no meio ambiente sob a forma de diversos minerais (Dahle e Arai, 2015) e o lantânio associado com o cério (Paiva et al., 2009). Ambos possuem aplicações similares, como catálise, luminescência, combustível, cosméticos e utensílios médicos (Zhou et al., 2013). Em depósitos de monazita, os trabalhadores podem estar expostos a combinações de aerossóis contendo tório, cério e lantânio e radiação ionizante. Essas misturas podem afetar a radiosensibilidade de células e intensificar os efeitos radio-induzidos, aumentando o risco ocupacional.

O tecido ósseo é um dos maiores alvos de deposição de actínídeos e lantanídeos, que são substâncias osteotrópicas (Ansoborlo et al., 2006; Taylor e Leggett, 2003) e apresentam uma retenção prolongada no esqueleto (Vidaud, Bourgeois e Meyer, 2012). O principal objetivo desse trabalho foi examinar a possibilidade de tório, cério e lantânio interferirem na radiosensibilidade celular, através de análises da proliferação celular em osteoblastos humanos submetidos a exposições de 1 Gy.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Cultura celular

A linhagem celular usada foi a MG63 (BCRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), modelo de osteoblastos humanos, derivado de osteosarcoma. Culturas de osteoblastos foram mantidas em garrafas de 25 e 75 cm² e as células foram cultivadas em meio DMEM (Cultilab, Campinas, SP, Brasil), suplementado com 5% de soro fetal bovino (Cultilab, Campinas, Brasil). As células foram mantidas em estufa a temperatura de 37°C, e atmosfera de 5% de gás carbônico.

2.2 Materiais

Foram utilizados metais na forma de nitrato: nitrato de tório (Merck, Darmstadt, Alemanha), nitrato de cério (Vetec química Fina, Rio de Janeiro, Brasil) e nitrato de lantânio (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) com concentrações 0, 0,25 mM, 0,50 mM, 0,75 mM e 1 mM. Foi usado irradiador usado Picker X-ray Corporation (EUA) e fonte radioativa de cobalto-60.

2.3 Proliferação celular

Os osteoblastos foram distribuídos em duas placas de 96 poços (40000 células por poço). Na placa 1, as células foram expostas aos metais de forma isolada e a placa 2 aos metais em combinação com radiação. Após a adesão, o meio de cultura foi descartado cuidadosamente e os osteoblastos foram irradiados. Após a irradiação, foi adicionado 200µl de solução DMEM com as concentrações metálicas pré-definidas. Controles foram preparados com a adição de 200 µL de meio DMEM puro. As placas foram, então, mantidas em estufa (37°C, 5% CO₂) por 48 horas. Para a estimativa da proliferação celular, foi utilizado o método colorimétrico de redução do sal de tetrazolium MTT (brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio) (Sigma Aldrich). Foi adicionado 5% do volume inicial de cultura de solução MTT em cada poço. As placas foram mantidas por quatro horas em estufa e protegidas da luz. Em seguida, retirou-se o meio de cada poço e para dissolução do formazan foi adicionado 100 µl DMSO por cada poço. Passado 24 horas, as placas foram lidas no espectrofotômetro (TP Reader NM, versão número 1.4) no comprimento de onda de 570 nm.

2.4 Análise estatística

Os dados experimentais foram apresentados sob a forma média±desvio padrão. Foram usadas quatro réplicas para cada grupo. Avaliação da dose-resposta de metais foi feita por meio da análise de variância (ANOVA), testes de Tukey, Games-Howell, Kruskal-Wallis e teste de Mann-Whitney. A comparação da radiosensibilidade entre grupos irradiados e não irradiados foi feita pelo teste de t-Student e pelo teste de Mann-Whitney. Foi usado o programa IBM SPSS Statistics versão 21.

3. RESULTADOS

3.1 Efeitos da radiação ionizante nos osteoblastos

Resultados preliminares indicaram que doses de 1 Gy não foram capazes de alterar significativamente a proliferação celular, indicando que a irradiação isolada não interferiu na proliferação de osteoblastos.

3.2 Metais

Os índices de proliferação de osteoblastos expostos ao tório, cério e lantânio são mostrados na Figura 1. Para o grupo não irradiado (Figura 1A), observou-se que: (i) todas as concentrações de tório aumentaram a proliferação; (ii) todas as concentrações exceto a de 0,50 mM de cério aumentaram a proliferação; (iii) somente a concentração de 0,75 mM de lantânio foi capaz de estimular a proliferação. Para as amostras irradiadas (Figura 1B): (i) a combinação tório e radiação estimulou a proliferação em todas as concentrações; (ii) apenas a concentração de 0,50 mM de lantânio causou alteração significativa na proliferação, diminuindo-a.

3.3 Análises da radiosensibilidade

Usando os dados apresentados na Figura 1, foi possível analisar se os metais foram ou não capazes de afetar a radiosensibilidade, comparando os índices de proliferação entre os grupos irradiados e não irradiados. Em amostras expostas ao tório, observou-se que a proliferação de osteoblastos irradiados foi menor, para todas as concentrações exceto 0,25 mM, em relação às células não irradiadas e expostas às mesmas respectivas concentrações de metal (Figura 2A). Em amostras irradiadas e expostas ao cério, em todas as concentrações exceto a de 0,50 mM de cério, a proliferação de células irradiadas diminuiu, incluindo observações de morte celular em 0,25 e 1 mM de cério (Figura 2B). Similarmente, em células expostas ao lantânio, foi visto morte celular em osteoblastos irradiados e tratados com todas as concentrações de lantânio (Figura 2C).

FIGURA 1. Proliferação de osteoblastos, em resposta à exposição a Th, Ce e La: amostras não irradiadas (A) e amostras irradiadas (B) (* = $P < 0.05$)

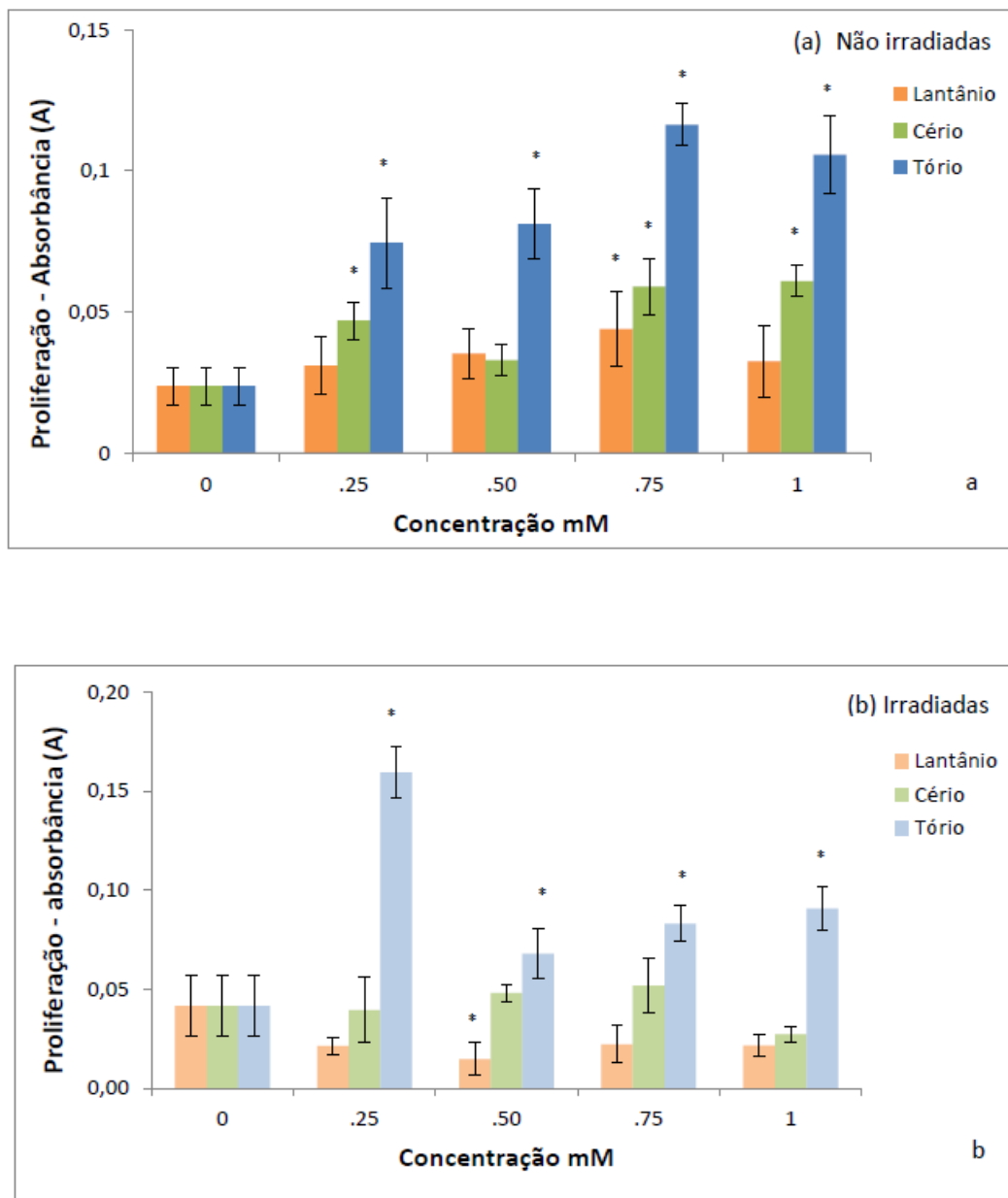
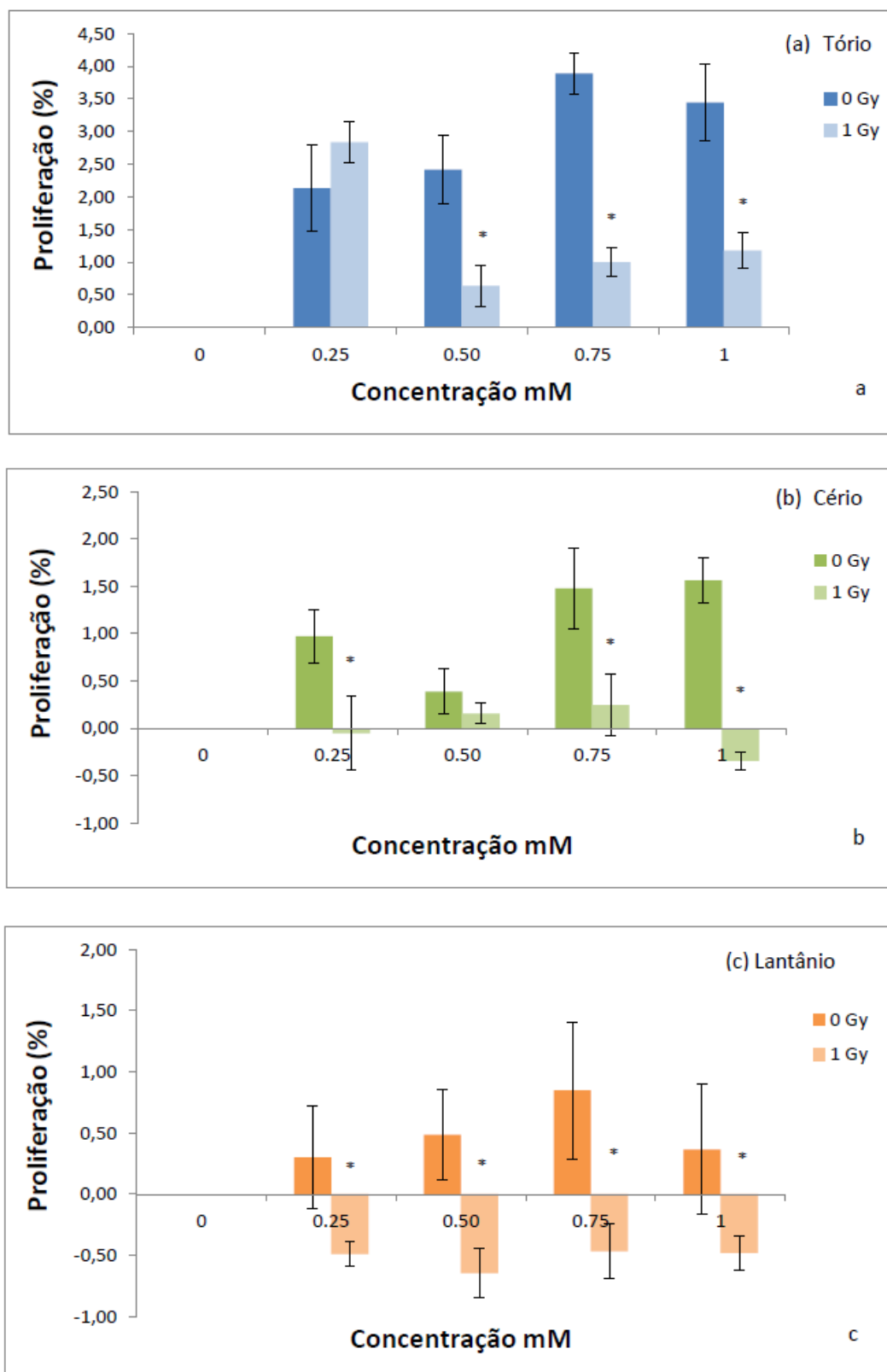


FIGURA 2. Análises da radiosensibilidade de osteoblastos expostos à dose absorvida de 1 Gy e ao Tório (A), Cério (B) e Lantânio (C) em concentrações (* = $P < 0.05$, comparativo entre grupos irradiados e não irradiados)



4. DISCUSSÃO

Elementos metálicos podem influenciar a proliferação de células osteoblásticas, bem como de outros tipos celulares. As respostas podem ser instigadas por diferentes parâmetros tais como concentração, tempo de exposição e especificidade de cada agente (Hallab et al., 2002).

Observou-se que todas as concentrações de tório foram capazes de estimular a proliferação dos osteoblastos. Da mesma forma, já foi descrito esse efeito em células hepáticas e hemólise em eritrócitos humanos (Kumar, Ali e Pandey, 2014) e nenhum efeito em macrófagos humanos (Lizon e Fritsch, 1999), quando expostos ao tório. Essas observações sugerem a influência do tipo celular e do tempo de exposição ao tório sobre a proliferação celular. Em amostras expostas aos lantanídeos, todas as concentrações, exceto a de 0,50 mM de cério, estimularam a proliferação, enquanto a concentração de 0,50 mM de lantânio incentivou o mesmo efeito. Foi registrado que ocorre estímulo da proliferação em culturas de osteoblastos primários (Zhang et al., 2010) e pré-osteoblastos de rato (Liu et al., 2012a) quando expostos ao cério. Da mesma forma, o lantânio pode estimular a proliferação a baixas doses, mas também como um agente citotóxico em doses elevadas, conforme observações em osteoblastos de ratos expostos ao lantânio (Wang et al., 2008; Liu et al., 2012b), sugerindo que concentração do cério ou do lantânio, o tempo de exposição da cultura e o tipo de linhagem celular são determinantes na proliferação celular (Feyerabend et al., 2010).

Por outro lado, a irradiação de osteoblastos, na ausência de metais, não provocou alterações na proliferação celular. Contudo, outros efeitos sobre a proliferação de osteoblastos irradiados foram vistos, sugerindo que uma variedade de fatores pode influenciá-la, tais como dose, taxa de dose, tipo celular e tempo de exposição (Dudziak et al., 2000; Dare et al., 1997).

Os resultados sugerem que tório, cério e lantânio podem influenciar a radiosensibilidade de osteoblastos humanos, de forma concentração-dependente. Foi observado que todas as concentrações de tório, exceto a de 0,25 mM quando irradiadas, produziram um efeito combinatório na proliferação celular, diminuindo-a e sugerindo a interação química entre metal e radiação. Efeitos combinados já foram notados em rato (Ballou, George e Thompson, 1962) e planta (Vanhoudt et al., 2010), quando houve exposição simultânea a actinídeos e radiação. De forma similar, os resultados revelaram interação entre radiação e metal nas concentrações de 0,25; 0,75 e 1 mM de cério e todas as concentrações de lantânio. A existência de associação entre radiação e os metais cério e lantânio foi reportada em grupos de ratos (Floersheim, 1995) e em células cancerosas do pâncreas (Wason et al., 2013).

Todas as interações metal-irradiação observadas indicam uma resposta negativa sobre a proliferação, com a redução dos índices. Foi visto sinais de morte celular em amostras irradiadas expostas aos lantanídeos, mas não ao tório. A maior similaridade entre o cério e o lantânio na influência da radiosensibilidade deve-se, provavelmente, às suas semelhanças químicas por pertencerem ao mesmo grupo. Elementos metálicos podem aumentar ou inibir os efeitos radioinduzidos em sistemas biológicos, através de modificações na radiosensibilidade de células alvos. Essa interferência na fisiologia celular pode ser explicada pelos metais agirem como um catalisador de processos que produzem radicais livres, diminuindo a energia de ativação ou aumentando a reatividade de radicais radioinduzidos (Floersheim, 1995).

No caso de incorporação interna de tório no tecido ósseo, a principal preocupação reside na sua radioatividade (emissor alfa) e longa meia-vida física. Contudo, a natureza química do tório também pode ser relevante em curto prazo (Ali, Kumar e Pandey, 2014). O uso do tório tem crescido, aumentando o risco ocupacional em minas e empresas de beneficiamento (Kumar, Ali e Pandey, 2010). Esses profissionais podem estar expostos a tório, em combinação com a radiação externa de elementos instáveis do ambiente e com a radiação interna da incorporação de tório (Hu et al., 1984; Hewson e Hartley, 1990). Essas combinações podem produzir diferentes efeitos, através da atuação dos metais sobre a radiosensibilidade celular e representar um risco potencial. A redução dos índices de proliferação observada nesse trabalho corrobora a possibilidade do aumento do risco para profissionais, indicando a necessidade do desenvolvimento de modelos de avaliação de risco que incluam o estudo das misturas metal-irradiação.

5. CONCLUSÕES

Metais podem afetar a radiosensibilidade de osteoblastos humanos, considerando as condições desse estudo (linhagem celular, dose da radiação, tempo de exposição e concentração usada). Um aumento da radiosensibilidade de células ósseas de profissionais que manipulam areias monazíticas ou que trabalham em seu processamento é esperado, indicando maior risco ocupacional. Futuros trabalhos serão realizados com misturas de tório, cério e lantânio, já que em ambientes monazíticos, a exposição a múltiplos fatores pode ocorrer de forma mais realista. Associações entre combinações de metais e radiação ionizante serão analisadas para avaliar os possíveis impactos sobre a radiosensibilidade de células ósseas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALI, M.; KUMAR, A.; PANDEY, B. N. Thorium induced cytoproliferative effect in human liver cell HepG2: role of insulin-like growth factor 1 receptor and downstream signaling. **Chem Biol Interact**, v. 211, p. 29-35, Mar 2014.
- ANSOBORLO, E.; PRAT, O.; MOISY, P.; DEN AUWER, C.; GUILBAUD, P.; CARRIERE, M.; GOUGET, B.; DUFFIELD, J.; DOLZI, D.; VERCOUNTER, T.; MOULIN, C.; MOULIN, V. Actinide speciation in relation to biological processes. **Biochimie**, v. 88, n. 11, p. 1605-18, Nov 2006.
- BALLOU, J. E.; GEORGE, L. A.; THOMPSON, R. C. The combined toxic effects of plutonium plus x-ray in rats. **Health Phys**, v. 8, p. 581-7, Dec 1962.
- DAHLE, J. T.; ARAI, Y. Environmental geochemistry of cerium: applications and toxicology of cerium oxide nanoparticles. **Int J Environ Res Public Health**, v. 12, n. 2, p. 1253-78, Feb 2015.
- DARE, A.; HACHISU, R.; YAMAGUCHI, A.; YOKOSE, S.; YOSHIKI, S.; OKANO, T. Effects of ionizing radiation on proliferation and differentiation of osteoblast-like cells. **J Dent Res**, v. 76, n. 2, p. 658-64, Feb 1997.
- DUDZIAK, M. E.; SAADEH, P. B.; MEHRARA, B. J.; STEINBRECH, D. S.; GREENWALD, J. A.; GITTES, G. K.; LONGAKER, M. T. The effects of ionizing radiation on osteoblast-like cells in vitro. **Plast Reconstr Surg**, v. 106, n. 5, p. 1049-61, Oct 2000.
- FEYERABEND, F.; FISCHER, J.; HOLTZ, J.; WITTE, F.; WILUMEIT, R.; DRÜCKER, H.; VOGT, C.; HORT, N. Evaluation of short-term effects of rare earth and other elements used in magnesium alloys on primary cells and cell lines. **Acta Biomater**, v. 6, n. 5, p. 1834-42, May 2010.
- FLOERSHEIM, G. L., Modification of radiation sensitivity by salts of the metals beryllium and indium and the rare earths cerium, lanthanum and scandium. **Radiat Res**, v. 141, n. 3, p. 318-23, 1995.
- HALLAB, N. J.; VERMES, C.; MESSINA, C.; ROEBUCK, K. A.; GLANT, T. T.; JACOBS, J. J. Concentration- and composition-dependent effects of metal ions on human MG-63 osteoblasts. **J Biomed Mater Res**, v. 60, n. 3, p. 420-33, Jun 2002.
- HEWSON, G. S.; HARTLEY, B. M., Radiation research priorities in the mineral sands industry. **J. Radiol. Prot.** v. 10, n. 3, p. 221-229, 1990.
- HPA. Human Radiosensitivity, Report of the Independent Advisory Group on Ionising Radiation. United Kingdom. Documents of the Health Protection Agency – Radiation, Chemical and Environmental Hazards. March 2013.

- HU, S. J.; KOO, W. K.; TAN, K. L. Radioactivity associated with amang upgrading plants. **Health Phys**, v. 46, n. 2, p. 452-5, Feb 1984.
- KUMAR, A.; ALI, M.; PANDEY, B. N.; HASSAN, P. A.; MISHRA, K. P. Role of membrane sialic acid and glycoprotein in thorium induced aggregation and hemolysis of human erythrocytes. **Biochimie**, v. 92, n. 7, p. 869-79, Jul 2010.
- LIU, D.; ZHANG, J.; LI, Y.; WANG, S.; YANG, M. The effects of Ce on the proliferation, osteogenic differentiation and mineralization function of MC3T3-E1 cells in vitro. **Biol Trace Elem Res**, v. 149, n. 2, p. 291-7, Nov 2012a.
- LIU, D.; ZHANG, J.; WANG, G.; LIU, X.; WANG, S.; YANG, M., The dual-effects of LaCl₃ on the proliferation, osteogenic differentiation, and mineralization of MC3T3-E1 cells. **Biol Trace Elem Res**, v. 150, n. 1-3, p. 433-40, 2012b.
- LIZON, C.; FRITSCH, P. Chemical toxicity of some actinides and lanthanides towards alveolar macrophages: an in vitro study. **Int J Radiat Biol**, v. 75, n. 11, p. 1459-71, Nov1999.
- PAIVA, A. V.; OLIVEIRA, M. S.; YUNES, S.N.; OLIVEIRA, L. G.; CABRAL-NETO, J. B.; ALMEIDA, C. E. Effects of lanthanum on human lymphocytes viability and DNA strand break. **Bull Environ Contam Toxicol**, v. 82, n. 4, p. 423-7, Apr 2009.
- RUBIN, P.; CASARETT, G. W., Clinical radiation pathology as applied to curative radiotherapy. **Cancer**, v. 22, n. 4, p. 767-78, 1968.
- TAYLOR, D. M.; LEGGETT, R. W. A generic biokinetic model for predicting the behaviour of the lanthanide elements in the human body. **Radiat Prot Dosimetry**, v. 105, n. 1-4, p. 193-8, 2003.
- UNSCEAR. Report to the General Assembly with Scientific Annexes, Volume II: Effects, Annex H: Combined effects of radiation and other agents, United Nations Publication, New York, USA, 2000.
- USPHS. Toxicological Profile for Thorium. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, U.S. Public Health Service, October 1990.
- VANHOUDT, N.; VANDENHOVE, H.; HOREMANS, N.; WANNIJIN, J.; VAN HESS, M.; VANGRONVELD, J.; CUYPERS, A. The combined effect of uranium and gamma radiation on biological responses and oxidative stress induced in Arabidopsis thaliana. **J Environ Radioact**, v. 101, n. 11, p. 923-30, Nov 2010.
- VIDAUD, C.; BOURGEOIS, D.; MEYER, D. Bone as target organ for metals: the case of f-elements. **Chem Res Toxicol**, v. 25, n. 6, p. 1161-75, Jun 2012.

WANG, X.; YUAN, L.; HUANG, J.; ZHANG, T. L.; WANG, K. Lanthanum enhances in vitro osteoblast differentiation via pertussis toxin-sensitive gi protein and ERK signaling pathway. **J Cell Biochem**, v. 105, n. 5, p. 1307-15, Dec 2008.

WASON, M. S.; COLON, J.; DAS, S., SEAL, S.; TURKSON, J.; ZHAO, J.; BAKER, C. H. Sensitization of pancreatic cancer cells to radiation by cerium oxide nanoparticle-induced ROS production. **Nanomedicine**, v. 9, n. 4, p. 558-69, May 2013.

YANG, R. S.; RAUCKMAN, E. J. Toxicological studies of chemical mixtures of environmental concern at the National Toxicology Program: health effects of groundwater contaminants. **Toxicology**, v. 47, n. 1-2, p. 15-34, Dec 1987.

ZHANG, J.; LIU, C.; LI, Y.; SUN, J.; WANG, P.; DI, K.; ZHAO, Y. Effect of cerium ion on the proliferation, differentiation and mineralization function of primary mouse osteoblasts in vitro. **Journal of Rare Earths**, v. 28, n. 1, p. 138-142, 2010.

ZHOU, G.; GU, Q.; LI, Y.; ZHANG, Q.; WANG, W.; WANG, S.; ZHANG, J. Effects of cerium oxide nanoparticles on the proliferation, differentiation, and mineralization function of primary osteoblasts in vitro. **Biol Trace Elem Res**, v. 153, n. 1-3, p. 411-8, Jun 2013.

Avaliação de Doses Equivalentes em PET/CT com ^{18}F Utilizando o Método Monte Carlo com Código MCNPX

Walmir Belinato^{1*}, William Souza Santos², Ana Paula Perini², Lucio Pereira Neves², Linda V. E. Caldas³, L.V.E. Divanizia N. Souza⁴

^{1*}Coordenação de Núcleo Comum, IFBA-Campus de Vitória da Conquista, Bahia

²Instituto de Física, Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia, MG

³Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN-CNEN/SP), São Paulo, SP

⁴Departamento de Física, Universidade Federal de Sergipe (UFS), São Cristóvão, SE

RESUMO

A técnica diagnóstica PET/CT (Positron Emission Tomography/Computer Tomography) une recursos diagnósticos da Medicina Nuclear e da Radiologia. A técnica PET produz imagens metabólicas por meio de radiofármacos emissores de pósitrons. O presente trabalho usou o método Monte Carlo (MMC), especificamente o código de Monte Carlo N-Particle – MCNPX, para simular a interação da radiação envolvendo fótons e partículas, tais como pósitrons e elétrons, com simuladores antropomórficos adultos virtuais em exames de PET/CT e determinar doses absorvidas e equivalentes em exames de pacientes adultos masculino e feminino. Para os cálculos, considerou-se os parâmetros dos feixes de tomografia computadorizada (colimação e filtração) de dois equipamentos distintos e as atividades de ^{18}F -FDG comumente empregadas em exames de rotina. Foram estimados novos valores para fatores de conversão de dose absorvida por atividade administrada (valores-S) para doses internas em órgãos de pacientes com características similares aos simuladores de voxels escolhidos. Comparando-se com as doses absorvidas em órgãos devido ao ^{18}F (doses internas), as doses absorvidas médias externas - devido ao feixe de raios X de CT - equivalem a 14,2% (equipamento GE) e 26,3% (equipamento Siemens). Essa diferença entre equipamentos pode ser relacionada principalmente com a quantidade de cortes de CT necessários para o exame de corpo inteiro (40 mm/rotação para o GE e 20 mm/rotação para o Siemens), com uso do filtro gravata borboleta (filtro *bowtie*). Considerando-se as doses absorvidas internas, os novos coeficientes por atividade administrada calculados apresentaram um acréscimo próximo de 30% em relação aos valores da ICRP 106 e podem ser associados com representação morfológica mais realista dos órgãos dos simuladores utilizados e à introdução de fatores de espalhamento para fótons, porque os simuladores foram dispostos sobre uma mesa de exames, o que não é levado em consideração na ICRP 106.

Palavras-chaves: Dosimetria interna, PET/CT, Método Monte Carlo

1. INTRODUÇÃO

O exame de Tomografia Computadorizada (do inglês *Computer Tomography-CT*) associado ao de Tomografia por Emissão de Pósitron (do inglês *Pósitron Emission Tomography-PET*) -

PET/CT - tem o objetivo de fornecer informações sobre regiões internas com neoplasias e/ou alterações metabólicas. As imagens são adquiridas a partir de dois processos distintos: feixe de raios X, externo ao paciente, que ao interagir com um conjunto de detectores possibilita o registro das imagens anatômicas e a partir da detecção dos fótons anticolineares com energia de 0,511 MeV, resultantes da aniquilação dos pósitrons, o que possibilita o mapeamento da distribuição do ^{18}F em uma determinada região do corpo (Robilotta, 2006).

A distribuição do radionuclídeo nos órgãos internos depende da biocinética de cada paciente. O padrão da distribuição pode ser modificado pela existência de neoplasias, uma vez que nas regiões neoplásicas a captação de radiofármaco é modificada (Huang *et al.*, 2015).

Este estudo faz uso do Método Monte Carlo (MMC), especificamente o código *Monte Carlo N-Particle eXtended* (MCNPX), para simular a interação de feixes de fótons e partículas, tais como pósitrons e elétrons, com simuladores antropomórficos virtuais adultos em exames de PET/CT e determinar valores de dose absorvida e equivalente devido a esse tipo de exame. Para tal, utilizou-se simuladores antropomórficos computacionais com representação dos órgãos e estruturas internas realistas de pacientes adultos. As metodologias empregadas foram idênticas às utilizadas por Stabin e Siegel (2003) e Gu *et al.* (2009).

O MMC pode ser descrito como um método estatístico que utiliza uma sequência de números aleatórios para a realização de uma simulação. O código MCNPX é uma extensão do código de Monte Carlo MCNP, utilizado para simulação de processos nucleares em simuladores antropomórficos computacionais. A versão 2.7.0 considera o transporte e a interação de radiação composta de fótons e partículas como nêutrons, elétrons e prótons, bem como uma diversidade de nucleons e íons (Pelowitz, 2011).

As doses absorvidas em um simulador computacional adulto masculino, recomendado pela Comissão Internacional de Proteção Radiológica (ICRP) para cálculo de dose equivalente efetiva, podem ser determinadas empregando-se uma metodologia de validação do filtro em tomografia de cabeça usando simulações de Monte Carlo (Ferreira *et al.*, 2011a). As características geométricas do filtro gravata borboleta dos tomógrafos não são informadas pelo fabricante, sendo possível simulá-lo ajustando-se as suas dimensões com auxílio de medições da grandeza *índice de dose em tomografia computadorizada* - CTDI (Ay *et al.*, 2009; Gu *et al.*, 2009; Ferreira *et al.*, 2011a). Isso possibilita comparar os valores de dose determinados para um simulador antropomórfico computacional com as doses obtidas em dosímetros MOSFET, por exemplo, inseridos num simulador antropomórfico físico (Demarco *et al.*, 2005).

O termo *objeto simulador* também tem sido utilizado para denominar um modelo computacional "anatômico" definido, que não apresente alguns aspectos fisiológicos, tais como a respiração ou fluxo sanguíneo. As técnicas de manipulação de imagens atuais possibilitam a aquisição de informações das estruturas internas dos simuladores humanos através de um elemento de volume cúbico (voxel), contendo informações da composição e da densidade do material em questão. Um conjunto consecutivo de imagens segmentadas de CT da cabeça aos pés representa uma matriz tridimensional de voxel, que pode ser introduzida em códigos de transporte da radiação para cálculo da dose absorvida em órgãos e tecidos.

O Método Monte Carlo (MMC) pode ser descrito como um método estatístico, onde se utiliza uma sequência de números aleatórios para a realização de uma simulação. O código MCNPX é uma extensão do código de Monte Carlo MCNP, para simulação de processos nucleares em simuladores antropomórficos computacionais. A versão 2.7.0 considera o transporte e a interação de radiação composta de fótons e partículas como nêutrons, elétrons e prótons, bem como uma diversidade de nucleons e íons (Pelowitz, 2011).

Os simuladores antropomórficos computacionais FASH (Feminino Adulto MESH) e MASH (Masculino Adulto meSH), utilizando superfícies MESH por meio de métodos de modelagem 3D e atlas anatômico, foram desenvolvidos pelo grupo de dosimetria numérica do DEN/UFPE (Kramer *et al.*, 2010). Cassola *et al.* (2010a) realizaram ajustes nesses simuladores para adequar as suas estruturas de acordo com o posicionamento do indivíduo, em pé ou deitado, devido ao efeito da gravidade. Este aspecto produz variações nos cálculos dosimétricos para os órgãos e tecidos internos (Cassola *et al.*, 2010b). Com o auxílio do código de MMC pode-se determinar doses efetiva e equivalente em um equipamento de tomografia utilizando tais simuladores (Ferreira *et al.*, 2011b).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Os dois equipamentos de PET/CT investigados neste estudo foram: GE Discovery VCT, que possui detectores de cristais de BGO, e Siemens Biograph True Point 16, com cristais de LSO. A principal implicação desta característica para o equipamento Siemens é a aquisição mais rápida das imagens de PET.

Para as simulações, empregou-se os simuladores MASH e FASH desenvolvidos por Cassola *et al.*, 2010a, representando um indivíduo de referência para os gêneros masculino e feminino, respectivamente. Esses simuladores podem ser representados tanto na postura em pé quanto na

deitada (Cassola *et al.*, 2010b). Para a determinação das doses devido ao feixe de CT, apenas a postura deitada, com os membros superiores excluídos, foi utilizada nas simulações deste trabalho, uma vez que o paciente permanece nessa postura durante o exame.

O processo de retirada dos braços foi realizado utilizando o software *FANTOMAS* (Vieira e Lima, 2009). Em seguida, realizou-se a recontagem do número de voxels dos órgãos internos, uma vez que regiões como pele, músculo e ossos, são alteradas, como também a massa do simulador.

Os simuladores estudados possuem mais de 100 órgãos e tecidos segmentados com significância para a dosimetria. Suas matrizes foram redimensionadas, de modo que as características fisiológicas e anatômicas fossem preservadas, evitando problemas de locação de memória pelo código MCNPX.

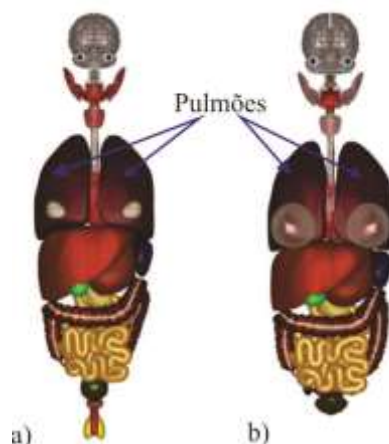
A tabela I apresenta as principais características físicas dos simuladores MASH e FASH, e essas reforçam que as estruturas internas de ambos são diferentes entre si. A distribuição dos órgãos internos deles é mostrada na figura 1. Os pulmões dos simuladores, por exemplo, possuem volumes e, conseqüentemente, massas diferentes. No MASH o pulmão tem 1300 g, enquanto que no FASH 950 g.

TABELA I. Características dos simuladores antropomórficos empregados neste estudo.

Simuladores	Massa (kg)	Altura (cm)	Matriz Coluna x linha x cortes	IMC (kg/m²)
Adulto deitado-masculino (MASH_D)	72,70	175,60	263 x 118 x 731	23,58
Adulto deitado-feminino (FASH_P)	60,04	162,50	260 x 104 x 677	22,74

Para a modelagem do feixe do tomógrafo empregou-se uma metodologia experimental, utilizando o medidor de filtração total AGMS-D da Radcal, descrito na literatura (Belinato *et al.*, 2015). Como o parâmetro de filtração total de feixe de CT é relevante para a determinação da dose absorvida em órgãos internos dos simuladores antropomórficos, para determinação desse parâmetro, foi utilizado o kit Accu Gold Radcal, calibrado de fábrica, com exposição do sensor AGMS-D no feixe dos tomógrafos de cada equipamento PET/CT, estando os respectivos tubos de raios X na posição 12 h.

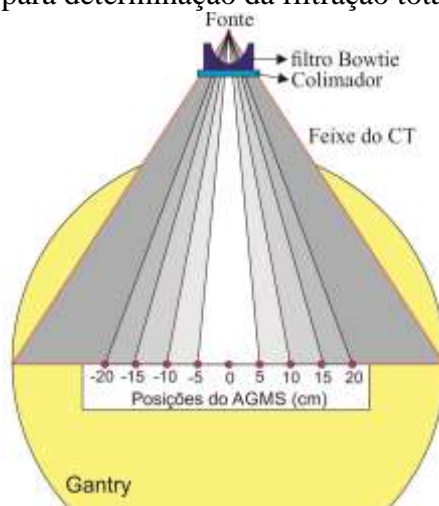
FIGURA 1: Órgãos internos dos simuladores (A) MASH e (B) FASH com pulmões indicados pelas setas (adaptado de CASSOLA *et al*, 2010a)



A figura 2 mostra nove pontos de posicionamento do sensor AGMS-D para a determinação de filtração total, a uma distância radial de 40 cm do isocentro do *gantry*. Os valores da filtração total em cada posicionamento foram determinados com o equipamento de PET/CT no modo serviço, com o tubo parado, efetuando um único disparo. Depois de processar as medições, as curvas de filtração foram traçadas levando em conta a distância radial ao isocentro do *gantry* do aparelho. Com o auxílio de um programa gráfico, considerando-se as dimensões do equipamento, foi determinada a geometria do filtro gravata borboleta para o código MCPNX.

Os espectros de energia utilizados nas simulações dos tomógrafos foram gerados pelo programa *Report 78 Spectrum Processor (SRS) 78* (Cranley *et al.*, 1997), sem adição de filtração, uma vez que a filtração total para cada equipamento de PET/CT estudado foi determinada experimentalmente.

FIGURA 2. Esquema de posicionamento do sensor AGMS-D, Radcal em relação ao *gantry* para determinação da filtração total



Para validação das simulações do feixe de CT, uma câmara de ionização foi modelada no código MCNPX como um conjunto de quatro cilindros concêntricos, com comprimentos de 10 cm, de forma a representar características geométricas idênticas ao modelo 10x6-3CT-Radcal.

As simulações dos tomógrafos de raios X no MCNPX fornecem resultados por meio do *tally* F6 (MeV/g/partícula). Os parâmetros para a determinação das doses absorvidas nas células de interesse no cenário de simulação consideram as características do feixe de raios X de cada equipamento, incluindo: espectro de energia, filtração total, forma do feixe, ângulo anódico e colimação.

Para determinar a dose absorvida em cada procedimento de CT, os valores do *tally* F6 (MeV/g/partícula) foram convertidos para dose absorvida em unidades de mGy/100 mAs por um fator de conversão (CF), proposto por GU et al. (2009), conforme a equação 1:

$$(CF)_{E,NT} = \frac{CTDI_{(100,air,medido\ por\ 100\ mAs)}_{E,NT}}{CTDI_{(100,air,simulado\ por\ partícula)}_{E,NT}} \quad (1)$$

As doses absorvidas nas regiões de interesse foram determinadas a partir da equação 2, em unidades de mGy/100 mAs, considerando-se ΣN como a soma das energias depositadas em MeV/g/partícula por todas as rotações durante o exame de PET/CT simulado.

$$D_{absoluta} = D_{simulada} \cdot CF \Sigma N \quad (2)$$

A fonte do feixe de tomografia foi construída com características idênticas à confeccionada por Gu *et al* (2009). A partir das especificações dos equipamentos simulados, considerou-se *gantry* com abertura de 70 cm, distância do ponto focal ao isocentro de 54 cm, distância do ponto focal aos detectores de 95 cm e abertura de feixe de 56° para ambos os equipamentos; a espessura de corte foi de 40 mm para o GE e 20 mm para o Siemens.

A metodologia utilizada na simulação das doses absorvidas pelo emissor de pósitrons ^{18}F foi idêntica à utilizada por Stabin e Siegel (2003) empregando os simuladores MIRD-5 (Adam e Eve). A taxa de dose absorvida por atividade nos órgãos alvo (r_T) devido aos órgãos fontes (r_s) é calculada por meio da equação 3:

$$\dot{D}(r_T, t) = \sum_{r_s} A_{(r_s, t)} S_{(r_T \leftarrow r_s, t)} \quad (3)$$

Nessa equação, $A_{(r_s, t)}$ representa a atividade do radionuclídeo em um órgão fonte e $S_{(r_T \leftarrow r_s, t)}$ os coeficientes de deposição de dose (Valor S), que são descritos por meio da equação 4.

$$S_{(r_T \leftarrow r_s, t)} = \sum_i \frac{\Delta_i \phi(r_T \leftarrow r_s, E_i, t)}{M_{(r_T, t)}} \quad (4)$$

Em que Δ_i e $\Phi(r_T \leftarrow r_S, E_i, t)$ são as energias depositadas pelo radionuclídeo e as frações da energia absorvida pelos órgãos alvo, respectivamente.

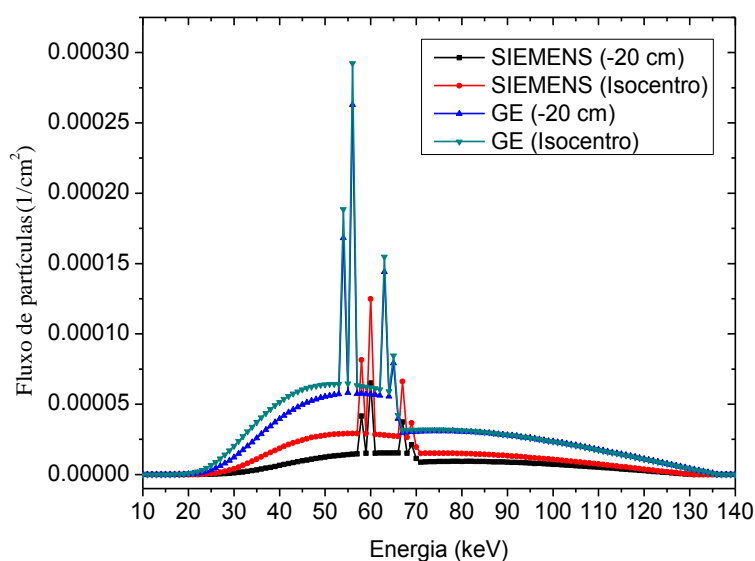
Os radionuclídeos foram distribuídos em 22 órgãos e no corpo inteiro de cada simulador. O *tally* *F8 foi utilizado para determinação da energia depositada nos órgãos internos por unidade de massa, uma vez que esse *tally* considera que a deposição de energia pode ocorrer fora do volume do voxel quando fótons e elétrons de energia maiores que 200 keV interagem com os tecidos.

Nos anexos A1 a A5, são apresentados dados que foram empregados neste estudo, incluindo coeficientes de conversão de dose, valores S nos órgãos-fonte nos simuladores adultos para o ^{18}F , doses equivalentes por atividade administrada nos simuladores adultos para ^{18}F -FDG, considerando-se os dois equipamentos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A figura 3 apresenta os espectros dos feixes de raios X gerados para os tomógrafos no MCNPX, considerando o filtro *bowtie* de cada um dos equipamentos de PET/CT e quilovoltagens pico de 130 kVp (Siemens) e 140 kVp (GE), uma vez que essas são as normalmente empregadas em protocolos de PET/CT de corpo inteiro. De acordo com a figura 3, a geometria construída para o filtro *bowtie* do equipamento da Siemens aumenta a energia do efetiva do feixe.

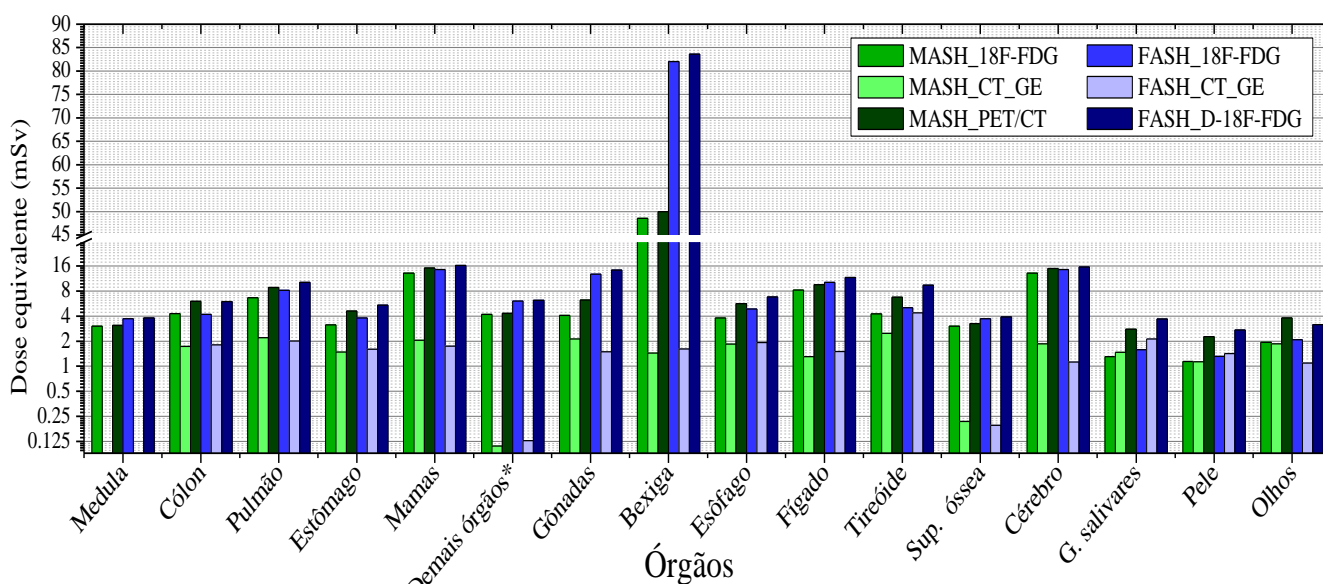
FIGURA 3. Espectros dos feixes de raios X simulados em MCNPX por equipamentos PET/CT (GE e Siemens)



O crescimento da energia efetiva do feixe contribui para o aumento da dose absorvida pelo paciente, embora no equipamento da Siemens a energia de pico do feixe seja reduzida em 10 keV (Belinato *et al.*, 2015). Este resultado está de acordo com estudos publicados por Ay *et al* (2009) e Gu *et al* (2009).

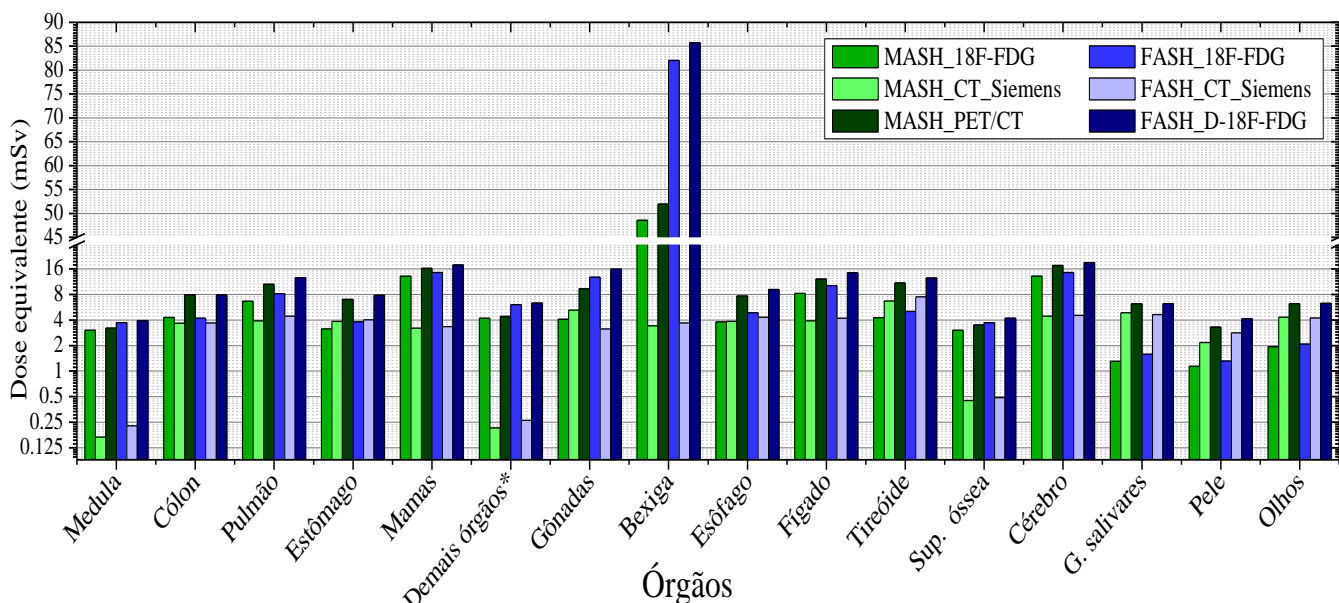
Para exame de PET/CT cardíaco em pacientes adultos, recomenda-se atividades entre 185 MBq (5 mCi) e 370 MBq (10 mCi). Considerando-se a maior atividade (370 MBq) e os parâmetros 140 kVp-140 mAs para o tomógrafo GE e 130 kVp-120 mAs para o Siemens, foram determinadas as doses equivalentes para o MASH e o FASH na postura deitada (Figuras 4 e 5). Essas doses variaram com a atividade de ^{18}F (^{18}F -FDG) injetada no paciente e os parâmetros utilizados na tomografia.

FIGURA 4. Doses equivalentes para exame PET/CT com tomógrafo GE (140 mAs) e atividade 370 MBq



* Adrenais, Região Extratorácica(ET), Vesícula biliar,Coração, Rins, Nodulos linfáticos, Músculos, Mucosa oral, Pâncreas, Ovários, Intestino delgado, Baço, Timus, Útero.

FIGURA 5. Doses equivalentes para exame PET/CT com tomógrafo Siemens (120 mAs) e atividade de 370 MBq



* Adrenais, Região Extratorácica(ET), Vesícula biliar, Coração, Rins, Nodulos Infáticos, Músculos, Mucosa oral, Pâncreas, Ovários, Intestino delgado, Baço, Timus, Útero.

Para exames PET/CT de corpo inteiro em simuladores de adultos masculino e feminino, os feixes de tomografia da GE apresentaram 16,2% e 12,2% (média de 14,2%), respectivamente, comparados com 29,4% e 23,1% (média de 26,3%) para equipamentos Siemens. As doses equivalentes totais, somando-se doses internas devido às emissões do ^{18}F e doses externas com raios X, foram 8,73 mSv e 11,69 mSv (GE) e 10,37 e 13,34 mSv (Siemens) para os simuladores masculino e feminino, respectivamente.

O produto corrente-tempo utilizado nos protocolos de PET/CT de corpo inteiro em adultos é de 140 mAs no equipamento GE e 120 mAs para o Siemens. Levando-se em conta esse aspecto, seriam esperadas menores doses absorvidas pelos órgãos para exames com o GE. O fabricante desse equipamento afirma que o emprego do sistema CARE Dose 4D, que faz o ajuste do mAs de acordo com a região do corpo a ser irradiada durante a tomografia, reduz as doses em até 66% (Siemens, 2007). Nossos resultados apontam para a necessidade de ativação do sistema CARE Dose 4D no equipamento da Siemens com intuito de minimizar a exposição do paciente durante o exame.

A ICRP n°106 (2008) apresenta coeficientes de dose por atividade administrada para radiofármacos utilizados em PET/CT. As doses devido à tomografia computadorizada são normalmente menosprezadas, mas podem ter valores consideráveis em pacientes pediátricos, conforme Yang *et al.* (2014), principalmente se protocolos de CT para baixas doses não forem

utilizados. Considerando os resultados apresentados aqui, tem-se que essa contribuição pode chegar até quase 30% em adultos.

Outro aspecto importante que diferencia os dois equipamentos de PET/CT é o material do conjunto de detectores em PET. A Siemens utiliza o LSO e a GE o BGO. Essa característica do equipamento Siemens faz com que o exame seja realizado com tempo de aquisição 50% menor, embora Freedenberg *et al.* (2014) relatem que a aquisição de imagens em regiões de baixa atividade por LSO tenha menor qualidade.

4. CONCLUSÕES

É de suma importância a correta simulação da filtração do feixe de raios X para determinação das doses em CT, como foi feito aqui empregando-se o código MCNPX.

As doses estimadas em adultos devido ao feixe de raios X são responsáveis por 14,2% e 26,3% da dose total em exames realizados nos equipamentos PET/CT GE e Siemens, respectivamente. Considerando as doses devido ao ^{18}F -FDG, os coeficientes de dose absorvida por atividade administrada apresentaram um acréscimo de 30% em relação aos valores da ICRP (2008). As variações encontradas nas doses devido ao ^{18}F -FDG estão associadas a uma melhor representação morfológica dos órgãos internos dos simuladores utilizados neste estudo e ao espalhamento de fótons devido os simuladores estarem dispostos sobre uma mesa de exames, o que não é levado em consideração no cálculo dos coeficientes obtidos pela ICRP (2008).

Considerando que pacientes podem ter massas corporais muito distintas das dos simuladores empregados aqui, estudos semelhantes podem ser realizados para casos particulares em simuladores com variações nessas massas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos órgãos de fomento CNPq e CAPES pelo apoio financeiro e aos serviços de medicina nuclear da CLIMEDI (Aracaju, SE) e do Hospital São Rafael (Salvador, BA) pela disponibilidade no uso dos equipamentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AY, M. R. et al. The influence of x-ray spectra filtration on image quality and patient dose in the GE VCT 64-Slice cardiac CT scanner. **IEEE: Bioinf. and Biom. Eng.**, 2009. ICBBE 2009. Readings of the 3rd International Conference on, p. 1-4, 2009.

- BELINATO, W. et al. Monte Carlo simulations in multi-detector CT (MDCT) for two PET/CT scanner models using MASH and FASH adult phantoms. **Nucl. Instrum. Meth. in Phys. Res. A**, v. 784, p. 524–530, 2015.
- CRANLEY, K. et al. Catalog of diagnostic x-ray spectra and other data. **The Institute of Physics and Engineering in Medicine**, Report No. 78, 1997.
- CASSOLA, V. F. et al. FASH and MASH: female and male adult human phantoms based on polygon meSH surfaces: part I. Development of the anatomy. **Physics in Medicine and Biology**, v. 55, p. 133–162, 2010a.
- CASSOLA, V. F. et al. Posture-specific phantoms representing female and male adults in Monte Carlo-based simulations for radiological protection. **Physics in Medicine and Biology**, v. 55, p. 4399–4430, 2010b.
- DEMARCO, J. J. et al. A Monte Carlo based method to estimate radiation dose from multidetector CT (MDCT): cylindrical and anthropomorphic phantoms. **Physics in Medicine and Biology**, v. 50, p. 3989–4004, 2005.
- FERREIRA, C. C. et al. A way forward for the development of an exposure computational model to computed tomography dosimetry. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B**, v. 269, p. 778-785, 2011a.
- FERREIRA, C. C. et al. Effective and equivalent doses for CT head examinations calculated using the voxelized phantoms MASH and FASH. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B**, v. 269, p. 1867–1870, 2011b.
- FREEDENBERG, M. I. et al. Performance and limitations of positron emission tomography (PET) scanners for imaging very low activity sources. **Medical Physics**, v. 30, p. 104-110, 2014.
- GU, J. et al. The development, validation and application of a multi-detector CT (MDCT) scanner model for assessing organ doses to the pregnant patient and the fetus using Monte Carlo simulations. **Physics in Medicine and Biology**, v. 54, p. 2699–2717, 2009.
- HUANG, B. et al. Patient-specific dosimetry using pretherapy [124I]m-iodobenzylguanidine ([124I]mIBG) dynamic PET/CT imaging before [131I]mIBG targeted radionuclide therapy for neuroblastoma. **Molecular Imaging and Biology**, v. 17, p. 284-294, 2015.
- KRAMER, R. et al. MAX06 and FAX06: update of two adult human phantoms for radiation protection dosimetry. **Physics in Medicine and Biology**, v. 51, p. 3331-3346, 2006.
- ICRP - INTERNATIONAL COMMISSION ON RADIOLOGICAL PROTECTION. Radiation Dose to Patients from Radiopharmaceuticals. **ICRP publication 106**. Addendum 3 to ICRP Publication 53. Ann. ICRP 38, n. 38, 2008.

- PELOWITZ, D. B. MCNPX user's manual version 2.7.0. **Los Alamos, LANL**, 2011.
- ROBILOTTA, C. C. A tomografia por emissão de pósitrons: uma nova modalidade na medicina nuclear brasileira. **Revista Panamericana de Salud Publica**, v. 20, p. 134-142, 2006.
- SIEMENS. Biograph™ TruePoint PET•CT System Specifications. Knoxville: **Siemens**, 2007.
- STABIN, M. G.; SIEGEL, J. A. Physical models and dose factors for use in internal dose assessment. **Health Phys**, v. 85, n. 3, p. 294-310, 2003.
- VIEIRA, J. W.; LIMA, F. R. A. Software to digital image processing to be used in the voxel phantom development. **Cellular and Molecular Biology**, v. 55, p. 16-22, 2009.

ANEXOS

TABELA A1. Coeficientes de conversão de dose em CT para os simuladores antropomórficos FASH e MASH (mGy/100 mAs)

Órgãos	GE				Siemnes			
	FASH-140 kVp		MASH-140 kVp		FASH-130 kVp		MASH-130 kVp	
	Dose	Incert.	Dose	Incert.	Dose	Incert.	Dose	Incert.
Medula vermelha	0,060	0,006	0,046	0,001	0,188	0,023	0,139	0,016
Cólon	1,292	0,214	1,237	0,031	3,089	0,369	3,049	0,328
Pulmão	1,439	0,212	1,575	0,045	3,708	0,423	3,248	0,370
Estômago	1,147	0,234	1,058	0,039	3,363	0,374	3,210	0,379
Mamas	1,248	0,180	1,464	0,022	2,783	0,314	2,678	0,285
Demais órgãos*	0,091	0,003	0,078	0,001	0,218	0,006	0,178	0,004
Gônadas	1,067	0,186	1,523	0,035	2,619	0,290	4,360	0,353
Bexiga	1,149	0,128	1,029	0,033	3,075	0,323	2,841	0,255
Esôfago	1,374	0,181	1,322	0,043	3,587	0,418	3,209	0,326
Fígado	1,072	0,172	0,933	0,032	3,488	0,446	3,262	0,401
Tireóide	3,129	0,422	1,769	0,041	6,241	0,716	5,577	0,622
Superfície óssea	0,139	0,002	0,155	0,002	0,405	0,007	0,374	0,006
Cérebro	0,805	0,100	1,327	0,034	3,771	0,377	3,697	0,339
Glândulas salivares	1,521	0,256	1,049	0,015	3,874	0,389	4,067	0,410
Pele	1,013	0,030	0,807	0,007	2,356	0,027	1,811	0,020
Olhos	0,779	0,149	1,330	0,031	3,525	0,300	3,609	0,299
Dose equivalente	1,022	0,057	1,012	0,009	2,571	0,101	2,544	0,093

TABELA A2. Valores S para ^{18}F (mGy/MBq.s) para órgãos-fonte de simuladores adultos

Órgãos	Fash_D	Mash_D
Supra-Renais	3,25E-03	2,96E-03
Cérebro	5,04E-05	4,57E-05
Mamas	1,53E-04	2,69E-03
Intestino grosso	1,21E-04	1,18E-04
Vesícula biliar	8,28E-04	6,70E-04
Intestino delgado	8,15E-05	7,45E-05
Estômago	3,65E-05	3,40E-05
Coração	1,93E-04	1,64E-04
Rins	1,86E-04	1,68E-04
Fígado	4,62E-05	3,73E-05
Pulmões	4,90E-05	3,96E-05
Músculos	3,67E-06	2,40E-06
Ovários/Testículos	3,84E-03	1,30E-03
Pâncreas	4,12E-04	3,58E-04
Medula*	1,40E-05	8,78E-06
Superfícies ósseas	1,37E-05	1,04E-05
Pele	1,59E-05	1,14E-05
Baço	3,93E-04	3,46E-04
Timo	2,11E-03	1,70E-03
Tireóide	2,50E-03	2,14E-03
Bexiga**	1,49E-04	7,37E-05
Útero/Próstata	6,08E-04	2,63E-03
Corpo inteiro	1,64E-06	1,44E-06

* Valores determinados em frações dos ossos esponjosos do esqueleto-RBM

** Conteúdo da bexiga como órgão fonte

 TABELA A3. Dose absorvida (Gy/MBq) por órgãos para ^{18}F -FDG em simuladores adultos

Órgãos	MASH	FASH	Média
Medula	1,25E-02	1,87E-02	1,56E-02
Cólon	1,16E-02	1,13E-02	1,15E-02
Pulmão	1,79E-02	2,20E-02	2,00E-02
Estômago	8,48E-03	1,03E-02	9,38E-03
Mamas	3,54E-02	3,92E-02	3,73E-02
Demais órgãos*	1,14E-02	1,64E-02	1,39E-02
Gônadas	1,11E-02	3,46E-02	2,28E-02
Bexiga	1,31E-01	2,22E-01	1,76E-01
Esôfago	1,03E-02	1,32E-02	1,17E-02
Fígado	2,23E-02	2,75E-02	2,49E-02
Tireóide	1,15E-02	1,37E-02	1,26E-02
Superfície óssea	8,19E-03	1,01E-02	9,12E-03
Cérebro	3,54E-02	3,92E-02	3,73E-02
Glândulas salivares	3,53E-03	4,25E-03	3,89E-03
Pele	3,07E-03	3,55E-03	3,31E-03
Olhos	5,22E-03	5,61E-03	5,41E-03
Dose equivalente	1,98E-02	2,77E-02	2,37E-02

* Adrenais, região extratorácica, vesícula biliar, coração, rins, nódulos linfáticos, músculos, mucosa oral, pâncreas, ovários, intestino delgado, baço, timo, útero

TABELA A4. Dose absorvida (mGy) para exame PET/CT em simulador adulto com equipamento *GE-Discovery VCT* (140 mAs e 370 MBq $^{18}\text{F-FDG}$)

Órgãos	MASH $^{18}\text{F-FDG}$	MASH CT	MASH PET/CT	FASH $^{18}\text{F-FDG}$	FASH CT	FASH PET/CT
Medula	3,03	0,06	3,10	3,72	0,08	3,80
Cólon	4,30	1,73	6,03	4,19	1,81	5,99
Pulmão	6,64	2,20	8,84	8,16	2,01	10,17
Estômago	3,14	1,48	4,62	3,81	1,61	5,41
Mamas	13,11	2,05	15,15	14,51	1,75	16,26
Demais órgãos*	4,21	0,11	4,32	6,07	0,13	6,20
Gônadas	4,09	2,13	6,22	12,80	1,49	14,29
Bexiga	48,56	1,44	50,00	82,02	1,61	83,63
Esôfago	3,80	1,85	5,65	4,87	1,92	6,79
Fígado	8,26	1,31	9,56	10,18	1,50	11,69
Tireóide	4,26	2,48	6,73	5,06	4,38	9,44
Superfície óssea	3,03	0,22	3,25	3,72	0,19	3,91
Cérebro	13,11	1,86	14,96	14,51	1,13	15,64
Glândulas salivares	1,31	1,47	2,78	1,57	2,13	3,70
Pele	1,14	1,13	2,27	1,31	1,42	2,73
Olhos	1,93	1,86	3,79	2,07	1,09	3,17
Dose equivalente	7,32	1,42	8,73	10,26	1,43	11,69

* Adrenais, região extratorácica, vesícula biliar, coração, rins, nódulos linfáticos, músculos, mucosa oral, pâncreas, ovários, intestino delgado, baço, timo, útero

 TABELA A5. Dose absorvida (mGy) para exame PET/CT em adulto com equipamento SIEMENS Biograph 16 (120mAs e 370 MBq $^{18}\text{F-FDG}$)

Órgãos	MASH $^{18}\text{F-FDG}$	MASH CT	MASH PET/CT	FASH $^{18}\text{F-FDG}$	FASH CT	FASH PET/CT
Medula	3,03	0,17	3,20	3,72	0,23	3,94
Cólon	4,30	3,66	7,96	4,19	3,71	7,89
Pulmão	6,64	3,90	10,54	8,16	4,45	12,61
Estômago	3,14	3,85	6,99	3,81	4,04	7,84
Mamas	13,11	3,21	16,32	14,51	3,34	17,85
Demais órgãos*	4,21	0,21	4,43	6,07	0,26	6,34
Gônadas	4,09	5,23	9,32	12,80	3,14	15,94
Bexiga	48,56	3,41	51,97	82,02	3,69	85,71
Esôfago	3,80	3,85	7,65	4,87	4,30	9,17
Fígado	8,26	3,91	12,17	10,18	4,19	14,37
Tireóide	4,26	6,69	10,95	5,06	7,49	12,55
Superfície óssea	3,03	0,45	3,48	3,72	0,49	4,20
Cérebro	13,11	4,44	17,54	14,51	4,53	19,04
Glândulas salivares	1,31	4,88	6,19	1,57	4,65	6,22
Pele	1,14	2,17	3,31	1,31	2,83	4,14
Olhos	1,93	4,33	6,26	2,07	4,23	6,30
Dose equivalente (mSv)	7,32	3,05	10,37	10,26	3,09	13,34

* Adrenais, região extratorácica, vesícula biliar, coração, rins, nódulos linfáticos, músculos, mucosa oral, pâncreas, ovários, intestino delgado, baço, timo, útero

Avaliação dos Efeitos das Radiações Ionizantes em Farinhas – Artigo de revisão

Ana Paula Nunes de Sá¹*, Anna Lucia Casanas Haasis Villavicencio

Laboratório de Análise de Alimentos Irradiados - Centro de Tecnologia das Radiações -

Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN/SP, São Paulo, SP.

* Av. Prof. Lineu Prestes, 2242- 05508-000 Cidade Universitária- SP

E-mail: ana.sa@ipen.br

RESUMO

A radiação é uma alternativa eficiente, de grande valor tecnológico no emprego de doses até 10 kGy para alimentos secos, desidratados e com baixo teor de gorduras. O objetivo desta pesquisa é realizar através de levantamento bibliográfico sobre os trabalhos existentes com finalidade tecnológica em farinhas e disponíveis na literatura para médias e altas doses de radiação. O estudo foi baseado nos dados de bases brasileiras e internacionais, tais como: "Google Scholar", "ScienceDirect", "Pubmed", "SciELO", "Web of Science". Foram coletados resultados do período compreendido entre os anos de 1980 e 2017, em farinhas provenientes de milho, mandioca, trigo, feijão, arroz, castanha, fubá e banana. Foram utilizadas palavras-chave tanto em Português como em Inglês: irradiação de alimentos; farinhas irradiadas e aspectos tecnológicos de farinhas irradiadas; food irradiation, technology aspects of irradiated flour. Os resultados da pesquisa/busca mostram que as doses variam desde a aplicação para fitossanitário até doses mais altas relacionadas às características tecnológicas. Foram encontrados 10 trabalhos com finalidade fitossanitária (0,1 a 1,0 kGy) e 20 com as características tecnológicas (doses acima de 1 kGy até 10 kGy). Nos trabalhos foram observados estudos relacionados com redução de carga microbiológica, composição nutricional, modificações organolépticas e relação do aumento do índice de acidez presente em fubá/castanha e também uma tendência de melhora como meio de aperfeiçoamento na produção de panificação em alguns artigos. Desta forma, com base na literatura avaliada, Concluímos que as tecnologias de irradiação de alimentos com doses médias apresentam vantagens e melhoram as características na produção de pães.

Palavras- chaves: Tecnologia de irradiação; Farinhas irradiadas; Aspectos tecnológicos

ABSTRACT

The radiation is an efficient alternative, of great technological value in employment of 10 kGy doses up to dry, dehydrated foods and low in fat. The objective of this research is accomplishing through bibliographical survey on existing work with purpose flours and technology available in the literature for medium and high doses of radiation. The study was based on data from Brazilian and international bases, such as: "Google Scholar", "ScienceDirect", "Pubmed", "SciELO", "Web of Science". Results were collected from the period since 1980, in flour from maize, cassava, wheat, beans, rice, nuts, cornmeal and banana. Fpreach used keywords in both Portuguese and English: food irradiation;

irradiated meal and technological aspects of irradiated meal; food, irradiation technology aspects of irradiated flour. Search results/search showed that doses vary from plant application to higher doses related to technological features. 10 works were found about phytosanitary purposes (0.1 to 1.0 kGy) and 20 with the technological features (doses up to 1 kGy to 10 kGy). In this work related studies have been observed with microbiological load reduction, nutritional composition, organoleptic changes and increased ratio of acid value present in cornmeal/Brown and also a tendency of improvement as a means of improving the production of baking in some articles. In this way, based on the literature, we concluded that food irradiation technologies with medium doses present advantages and improve the features in production of breads.

Keywords: Irradiation technology; Irradiated flours; Technological Aspects

1. INTRODUÇÃO

O processo de irradiação de alimentos é um método que consiste em uma exposição controlada do alimento a uma fonte de radiação ionizante (EHLERMANN, 2016; RASHID 2017). Atualmente a radiação ionizante é vista como uma alternativa eficiente, de grande valor tecnológico no emprego das doses de até 10 kGy para alimentos secos, desidratados e com baixo teor de gorduras (EHLERMANN,2016).

Vários estudos utilizam o processo da irradiação ionizante como uma ferramenta de possível controle na redução da carga microbiana e entomológica para garantir ao consumidor um produto como um prazo de validade maior (Hilsenrath, 2005; Marather et. al. 2002). Além disso, o processo desencadeia algumas alterações nas suas características físico-químicas da farinha que podem ser utilizadas incrementando a sua aplicação tecnológica, aprimorando a utilização da farinha irradiada no emprego da panificação, melhorando assim o seu desempenho na elaboração de pães (Singes, 2006, Teixeira 2011).

Com a perspectiva de agregar valor no tema de irradiação de alimentos, estudos mostram a utilização de diferentes doses de radiação com a finalidade de melhorar a qualidade das propriedades em farinhas bem como sua aplicação na indústria. A literatura descreve que doses relativamente baixas (até 2,0 kGy) podem afetar positivamente seu desempenho na confecção de pães (Agúndez-Arvizu, 2006).

O objetivo foi realizar um levantamento bibliográfico sobre os artigos existentes com médias e altas doses de radiação com finalidade tecnológica em farinhas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia aplicada neste levantamento bibliográfico tomou por base dados eletrônicos no período que abrange o ano de 1980 até o ano de 2017. Foram verificados dados em farinhas

irradiadas provenientes de milho, mandioca, trigo, feijão, arroz, castanha, fubá e banana e está em andamento desde janeiro de 2017. Os estudos foram realizados com o auxílio da biblioteca do IPEN, o tema proposto é de grande interesse industrial. Apresenta no seu corpo de análises 22 trabalhos (Artigos, Teses e Dissertações), assim selecionados, com foco em utilização das diferentes doses de radiação nas diferentes farinhas e o período das pesquisas. Esta pesquisa é baseada nos dados de bases brasileiras e internacionais, tais como: “Google Scholar”, “ScienceDirect”, “Pubmed”, “SciELO”, “Web of Science”. Na realização da busca foram utilizadas palavras-chave tanto em Português como em Inglês: irradiação de alimentos; farinhas irradiadas e aspectos tecnológicos de farinhas irradiadas; food irradiation, technology aspects of irradiated flour.

3. RESULTADO E DISCUSSÃO

Foram encontrados 10 trabalhos com finalidade fitossanitária (0,1 a 1,0 kGy) e 20 dentre os 22 pesquisados com a característica tecnológica (doses acima de 1kGy e até 10 kGy) observados na tabela 1.

Na década de 80, se iniciavam os estudos sobre os efeitos da radiação ionizante como método de conservação de alimentos, aprovado nos Estados Unidos pelo “Food and Drug Administration” (FDA). Surgia espaço para estudos relacionados ao controle de insetos em frutas, verduras, grãos e farinha de trigo (Singer, 2006). Bernardes e Dias-Filho (1982), em levantamento bibliográfico, no emprego da tecnologia da irradiação com finalidade em controle da infestação de insetos em grãos de trigo e farinha de trigo durante o armazenamento constatou naquela época que doses fitossanitárias (de 0,05; 0,1; 0,5 kGy) não alteravam os parâmetros de cinza, glicídios totais, açúcar redutores e não redutores, acidez, lipídios e proteínas em 2 meses de armazenamento.

Marathe, *et. al.* (2002), também concluíram que doses baixas de até 0,25 kGy foram suficientes para prolongar a vida útil da farinha em até 6 meses, sem alterações significativas nos seus atributos nutricionais.

Com o intuito de apresentar uma característica tecnológica benéfica para a panificação, alguns estudos de Agundez- Arvizu (2006) que utilizou a irradiação com dose de 1 kGy em fonte de ^{60}Co na farinha de trigo para a função da fabricação do típico pão mexicano “taco”, concluíram que o efeito da dose baixa empregada (fitossanitária) apresentou pequenas alterações na composição química e na propriedade reológica da farinha de trigo.

Singes (2006) analisou o desempenho na produção de pão francês com farinha de trigo irradiada em 0,5; 1,0; 10,0; 20,0 kGy e observou que o volume específico dos pães aumentaram

significativamente com o aumento das doses, destacando que não apresentou diferença significativa na análise sensorial. Desta forma pudemos observar que na literatura se inicia uma nova linha relacionada à utilização de diferentes doses de radiação como inovação tecnológica em produtos alimentícios.

Por sua vez, Teixeira (2011) em sua dissertação analisou as alterações causadas pela radiação ionizante com dose de (1; 3 e 9 kGy) em diferentes tipos e quantidade de produtos ricos em amido (farinha de trigo, centeio, polpa de banana verde e milho) na confecção de pão para a substituição de 30% da farinha de trigo por diferentes farinhas irradiadas, e pode concluir que com o aumento da dose, houve mudanças das propriedades físicas e texturas dos pães produzidos pelas farinhas irradiadas, apresentando uma diminuição da perda de umidade e aumento na altura dos pães, classificando um ótimo parâmetro para a produção de pão de forma.

É conhecido na literatura que o processamento de alimentos por radiação, em flores e frutas, produz um aumento nos açúcares redutores, o mesmo foi observado em relação às farinhas, um aumento na quantidade de açúcar redutor foi mencionado por alguns autores Marathe, *et. al.* (2002), Paredes-López; Covarrubias-Alvarez (1984), Modenese, (2011) à medida que o aumento das doses eram utilizadas (medias e altas) devido às quebras de ligações.

Relacionado aos aspectos reológicos, um importante parâmetro observado em todos os trabalhos estudados na revisão, foi a perda da viscosidade como o aumento da dose, assim observado no estudo de Uehara (2011) com a degradação dos carboidratos tais como a celulose, pectina e amido, visto que com 3 kGy houve uma mudança na quebra do carboidrato em farinha de banana verde.

A relação da estabilidade oxidativa e o índice de acidez foram constatados em três trabalhos (Silva, 2003; Bicudo & Akanbi, 2013; Ocloo *et.al.* 2014), respectivamente em farinha de fubá, farinha de feijão e farinha de castanha. Os autores constataram que no decorrer do tempo de armazenamento houve ação das doses altas de irradiação e da ação da estabilidade oxidativa que alteraram as suas características. É conhecido na literatura que a oxidação lipídica sofre alterações relacionadas ao processo de irradiação conforme o aumento das doses de radiação, quando comparados aos respectivos controles.

Relacionado ao tema de microbiologia, o processo de irradiação é utilizado com eficácia há muitos anos. Em farinhas também foi observada que a radiação interferiu na redução da carga microbiológica presente na farinha Hilsenrath, (2005); Inamura *et.al.* (2012).

Bashir *et. al.* (2017) concluíram em seu trabalho que a irradiação pode ser utilizada como um método eficiente e rápido para a modificação das propriedades da farinha e de amido, tornando se um diferencial dos outros tratamentos como enzimáticos e químicos que consomem tempo.

TABELA 1. Trabalhos com características fitossanitárias e tecnológicas

Autor / Ano	Alimento	Intervalo de dose (kGy)	Finalidade
BERNARDES FILHO, 1982	Farinha de trigo	0,75- 0,3 a 0,5	Fitossanitária
Paredes-López; C.A., 1984	Farinha de trigo	1,0 a 10,0	Tecnológica
CATTANI, M.M., 1995	Farinha de trigo	0,2-3,0	Fitossanitária/Tecnológica
ZAIED et. al., 1996	Farinha de trigo	2,0; 4,0; 8,0	Tecnológica
MARATHE, et. al., 2002	Farinha de trigo integral	0,25- 1,00	Fitossanitária
SILVA, R. C, 2003	Farinha de trigo e fubá	3,0; 4,5; 6,0	Tecnológica
ABU et. al., 2005	Farinhas de feijãocaupi	2,0 10,0 e 5,0	Tecnológica
BAO et. al., 2005	Farinha de arroz	0,5,;1,0; 3,0; 5,0; 7,0; 9,0	Fitossanitária/Tecnológica
HILSENRATH, F. C., 2005	Farinha de trigo	0,0; 0,5; 1,0; 2,0	Fitossanitária/Tecnológica
KANEMARU, et. al., 2005	Farinha de trigo	0,0; 0,5; 1,0; 2,0	Fitossanitária/Tecnológica
Agúndez-Arvizu, 2006	Farinha de trigo	1	Tecnológica
SINGES, C. S, 2006	Farinha de trigo	0; 0,5; 1,0; 10; 20	Fitossanitária/Tecnológica
MOHAMED et. al., 2010	Farinha de milho	2	Tecnológica
UEHARA, V. B, 2011	Farinha de banana verde	0; 1; 3; 5; 10	Tecnológica
MODENESE. D, 2011	Farinha de banana verde	1; 2; 5; 10	Tecnológica
TEIXEIRA, C. A. H , 2011	Farinhas de trigo, trigo integral, centeio e sêmola de milho	1; 3; 9 Farinha de banana verde 0, 5; 10	Tecnológica
DARFOUR et. al., 2012	Farinha de feijão	0,25; 0,5; 0,75; 1,0; 1,5	Fitossanitária/Tecnológica
INAMURA et. Al., 2012	Farinha Mandioca	3	Tecnológica
BICUDO; AKANBI, 2013	Farinha Guandu (feijão)	5; 10; 15; 20	Tecnológica
OCLOO et. al. 2014	Farinha de castanha (Tipo Tigre)	2,5; 5,0; 10,0	Fitossanitária/Tecnológica
BHAT et. al., 2016	Farinha de trigo	2,5 e 5	Tecnológica
BASHIR et. al., 2017	Farinha de trigo integral	0,5; 1,0; 2,5; 5; 10,0	Fitossanitária/Tecnológica

4. CONCLUSÃO

Baseados nos trabalhos revisados, pudemos concluirmos que a tecnologia de irradiação de alimentos em doses baixa média e alta, apresenta vantagens inovadoras e melhoram as características na produção de pães.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos o apoio financeiro do IPEN/CNEN, CNPq e a contribuição da Biblioteca do IPEN.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABU J. O., MULLER K., DUODU K. G., MINNAAR, A. Functional properties of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) flours and pastes as affected by c-irradiation. **Food Chemistry**, v.93, p. 103–111, 2005.

AGÚNDEZ-ARVIZU, Z; FERNANDEZ-RAMIREZ, M. V; ARCE- CORRALES, M. E; CRUZ-ZARAGOZA, E; MELÉNDREZ, R; CHERNOV, V; BARBOZA- FLORES, M. Gamma radiation effects on commercial Mexican Bread made with wheat flour. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research**, v. B 245, n.4, p.455-458, 2006.

BAO, J. S.; AO Z. H.; JANE, J. L. Characterization of physical properties of flour and starch obtained from gamma-irradiated white rice. **Starch**, v. 57, p. 480-487, 2005.

BASHIR, K., SWER, T. L., PRAKASH, K. S., AGGARWAL, M .Physico-chemical and functional properties of gamma irradiated whole wheat flour and starch. **Food Science and Technology**, v. 76, p.131-139, 2017.

BERNARDES B.; DIAS FILHO. M. Levantamento bibliográfico de trabalhos realizados sobre arroz, batata, café, cebola, feijão, milho, morango, trigo e farinha de trigo irradiado. Departamento de instalações e materiais nucleares. Rio de Janeiro. CNEN, 1982. 56p.

BHAT, N. A., WANI, I. A., HAMDANI, A. M.,GANI,A.,MASOODI,F.A. Physicochemical properties of whole wheat flour as affected by gamma irradiation.LWT - **Food Science and Technology**, v. 7, p. 175-183. 2016.

BICUDO M.R. P.; AKANBI C. T. Efeito da irradiação gama na Propriedades físico-químicas da farinha armazenado Guandu (*Cajanus cajan*). **Alimento Sci Nutr**, v.1, n.5, p.377-383, 2013.

CATTANI M. M. Estudo por Ressonância paramagnética eletrônica (RPE) em grãos e farináceos irradiados com 60CO. São Paulo, 1995. 103f Dissertação de mestrado Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares Tecnologia Nuclear – aplicações, IPEN-CNEN.

- DARFOUR, B., WILSON, D. D., OFOSU, D. O., OCLOO, F. C. K. Physical, proximate, functional and pasting properties of flour produced from gamma irradiated cowpea (*Vigna unguiculata*, L. Walp). **Radiation Physics and Chemistry**, v. 81, p.450–457, 2012.
- EHLERMANN, D. A. E. Wholesomeness of irradiated food. **Radiat. Phys. Chem.** v.129, p. 53-57, 2016.
- EHLERMANN, D. A. E. The early history of food irradiation. **Rad. Phys. Chem.** v.129, p.24–29, 2016.
- HILSENATH, F. C. Estudo do impacto da irradiação sobre a qualidade do trigo e da farinha de trigo. São Paulo. 2005. 61f. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo. Escola Politécnica.
- INAMURA, P. Y.; UEHARA, V. B.; TEIXEIRA, C. A. H. M. del MASTRO, N. L. Mediate gamma radiation effects on some packaged food items. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 81 p.1144–1146, 2012.
- KANEMARU, J.; TAVARES, D. T., SINGER, C. S., HILSENATH, F. C., SABATO, S. F., TADINI, C. C. Influence of gamma radiation on rheological properties of wheat flour. In: EURO THERM SEMINAR 77- HEAT AND MASS TRANSFER IN FOOD PROCESSING, **Eurotherm Seminar v.77**, p.89-93, 2005.
- MARATHE, S. A.; MACHAIAH, J. P.; PEDNEKAR, B. Y. K. M. D.; SUDHA, V. RAO, Extension of shelf-life of whole -wheat flour by gamma radiation. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 37, p. 163-168, 2002.
- MODENESE, D. Efeito da radiação gama e tratamentos hidrotérmicos sobre as características físico-químicas, funcionais e nutricionais da farinha e do amido de banana verde (*Musa acuminata* cv. Nanica). Piracicaba, 2011 111 f. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.
- MOHAMED, E. A., AHMED, I. A. M., YAGOUB, A. E. A., BABIKER, E. E. Effects of radiation process on total protein and amino acids composition of raw and processed pearl millet flour during storage. **International Journal of Food Science and Technology**, v.45, p.906–912, 2010.
- MOURA, A. F. P. de. Ocorrência de produtos da oxidação do colesterol em hambúrgueres irradiados estocados sob congelamento. São Paulo. 2004. f Tese (Doutorado), Faculdade de Ciências Farmacêuticas.
- OCLOO, F. C. K., OKYERE, A. A., ASARE, I. K. Physicochemical, functional and pasting properties of flour produced from gamma irradiated tiger nut (*Cyperus esculentus* L.). **Radiation Physics and Chemistry**, v.103. p. 9–15, 2014.

PAREDES-LÓPEZ, O.; COVARRUBIAS-ALVAREZ, M.M. Influence of gamma radiation on the rheological and functional properties of bread wheat. **Journal of Food Technology**, v.19, p. 225-331, 1984.

RASHID, I. A. Current activities in food irradiation as a sanitary and phytosanitary treatment in the Asia and the Pacific Region and a comparison with advanced countries. **Food Control**, v.72, p.345-359, 2017.

SILVA, R. C. Qualidade tecnológica e estabilidade oxidativa de farinha de trigo e fubá irradiados. Piracicaba. 2003. 89p. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Universidade de São Paulo.

SINGER, C. S. Propriedade físico-química, reológica, entálpicas e de panificação da farinha obtida de trigo irradiado. São Paulo, 2006. 120 f. Dissertação (Mestrado na Área de engenharia química). Escola Politécnica, Universidade de São Paulo.

TEXEIRA, C. A. H. M. Efeito da radiação ionizante em diferentes tipos de farinhas utilizadas em tecnologia de panificação. São Paulo. 2011. 159f. Dissertação de mestrado Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares Tecnologia Nuclear – aplicações, IPEN-CNEN.

UEHARA, V. B. Efeito da irradiação gama em propriedades da farinha de banana verde. São Paulo, 2011. 89f. Dissertação de mestrado Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares Tecnologia Nuclear – aplicações, IPEN-CNEN.

ZAIED, S. E. A F., ABDEL-HAMID, A. A., ATTIA, EL-SAIED A. Technological and chemical characters of bread prepared from irradiated wheat flour. **Nahrung**, v.40, n.1, p. 28-31, 1996.

RESUMOS
EIXO TEMÁTICO: BIOFOTÔNICA

[781] LASER INFRAVERMELHO DE BAIXA POTÊNCIA EM MODO DE EMISSÃO PULSADO ALTERA OS NÍVEIS DE RNA MENSAGEIRO DE GENES DE REPARO MUSCULAR DEPENDENTE DA POTÊNCIA EM RATOS WISTAR

LARISSA A. S. N. TRAJANO*1; EDUARDO T. L. TRAJANO2; ANDREZZA M. C. THOMÉ1; LUÍZ P. DA S. SERGIO1; ANDRÉ MENCALHA1; ANA C. STUMBO1; ADENILSON DE SOUZA DA FONSECA1

1.UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO; 2.UNIVERSIDADE SEVERINO SOMBRA, VASSOURAS, RJ

Introdução: Células satélites estão presentes no músculo esquelético e tem um papel fundamental no reparo e na regeneração do músculo esquelético. A ativação de células satélites depende da expressão de fatores miogênicos Myf5, MyoD, MRF4 e MyoG e os fatores de transcrição Pax 3 e Pax 7. A irradiação com laser de baixa intensidade acelera o reparo de lesões musculares.

Objetivo: Avaliar os efeitos do laser infravermelho de baixa intensidade em diferentes potências e em modo de emissão pulsado na expressão de fatores regulatórios miogênicos e de Pax3 e Pax7 na lesão muscular esquelética em ratos Wistar.

Métodos: Projeto aprovado pelo comitê de ética em pesquisa (UERJ/CEUA/024/2014). Ratos Wistar machos (peso corporal 250–300g e 3–4 meses de idade) foram divididos aleatoriamente em três grupos: grupo lesão (N=5), grupo lesionado e irradiado com 25mW (N=5) e grupo lesionado e irradiado com 75mW (N=5). A irradiação com laser infravermelho de baixa intensidade foi realizada utilizando 904nm de comprimento de onda, fluência de 3J/cm² e fluência total de 12J/cm², 5KHz, com 25 ou 75mW de potência, quando foi aplicada a potência de 25mW o tempo de irradiação foi de 38 segundos por ponto e a densidade de potência de 0,36 W/cm², quando foi aplicada a potência de 75mW o tempo de irradiação foi de 13 segundos por ponto e a densidade de potência de 1,10 W/cm², a área do feixe foi de 6,9mm² e a energia por ponto foi de 0,5J totalizando 2,0J de energia entregue. A criolesão consistiu na imersão de um metal em nitrogênio líquido e em seguida ocorreu a aplicação diretamente no músculo tibial anterior por 10 segundos, após 30 segundos de intervalo, o procedimento foi repetido e a pele foi suturada. Os animais sofreram eutanásia 5 dias após a lesão, foram realizadas um total de quatro irradiações. Após a eutanásia, as amostras de músculo foram retiradas e a síntese de RNA total e de DNA complementar foi extraída (Promega, EUA) para avaliação da expressão de RNA mensageiro de MyoD, MyoG, MRF4, Myf5, Pax3 and Pax7 por reação em cadeia de polimerase em tempo real (Applied Biosystems 7500 RT-qPCR, EUA). Estatística: teste de análise de variância (ANOVA); teste de Tukey; teste de Kolmogorov-Smirnov. p <0,05 foi considerado significativo.

Resultados: A expressão de Pax7 não se alterou, entretanto, a expressão de Pax3 aumentou no grupo lesionado e irradiado com 25mW (10,89±9,80) comparado com o grupo lesionado não irradiado (1,01±0,72) e ao grupo lesionado e irradiado com 75mW (3,07±2,29). Os níveis de RNA mensageiro aumentaram nos animais lesionados e irradiados com 25mw e 75mW para MyoD (143,1±111,4 e 46,52±68,23, respectivamente), MyoG (6,28±5,75 e 5,17±3,02, respectivamente) and Myf5 (2,44±2,70 e 15,67±14,04, respectivamente) quando comparados aos seus respectivos grupos lesionados e não irradiados (1,05±0,38-MyoD; 1,23±0,88-MyoG e 1,22±0,78-Myf5). Os níveis de MRF4 reduziram no grupo lesionado e irradiado com 75mW (0,28±0,17) comparado ao grupo lesionado e não irradiado (1,09±0,87).

Conclusão: A exposição ao laser infravermelho de baixa intensidade no modo de emissão pulsado, com efeito potência dependente, pode acelerar o processo de reparo muscular alterando os níveis de RNA mensageiro de fatores regulatórios miogênicos e fatores de transcrição Pax3 e Pax7.

Apoio Financeiro: FAPERJ e CNPq. **Palavras-chave:** Laser; lesão muscular; fatores miogênicos

[782] **LASER INFRAVERMELHO DE BAIXA POTÊNCIA EM DIFERENTES POTÊNCIAS PROTEGE LESÃO MUSCULAR CONTRA DANO DE DNA**

LARISSA A. DA SILVA NETO TRAJANO*1; EDUARDO T. TRAJANO2; LUÍZ P. DA SILVA SERGIO1; ADILSON F. TEIXEIRA1; ANDRÉ MENCALHA1; ANA C. STUMBO1; ADENILSON DE SOUZA DA FONSECA1

1.UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, RIO DE JANEIRO, RJ;
2.UNIVERSIDADE SEVERINO SOMBRA, VASSOURAS, RJ, BRASIL

Introdução: Nos USA, estima-se 20 milhões de lesões no sistema músculo-esquelético com custo de 150 bilhões de dólares para o sistema de saúde. Essas lesões são a causa mais comum de deficiência física e de dor crônica. A terapia com laser de baixa intensidade é uma técnica barata e segura para o tratamento de lesões musculares. Entretanto, os efeitos do laser infravermelho no DNA e nos telômeros tem sido pouco estudados visando o tratamento de lesões musculares.

Objetivo: Avaliar os efeitos do laser infravermelho de baixa intensidade (LIBI) na expressão de genes relacionados à estabilização genômica e telomérica em lesão muscular.

Métodos: Projeto aprovado pelo comitê de ética em pesquisa (UERJ/CEUA/024/2014). Ratos Wistar machos (peso corporal 250–300g e 3-4 meses de idade) foram divididos aleatoriamente em seis grupos: grupo controle (N=5), grupo laser 25mW (N=5), grupo laser 75mW (N=5), grupo lesão (N=5), grupo lesionado e irradiado com 25mW (N=5) e grupo lesionado e irradiado com 75mW(N=5). Parâmetros para irradiação com laser: 904nm de comprimento de onda; fluência de 3J/cm² por ponto e fluência total 12J/cm², potência de 25mW ou 75mW; para a potência de 25mW o tempo de irradiação 38 segundos por ponto; para a potência de 75mW o tempo de irradiação foi de 13 segundos por ponto; área do feixe foi de 6,9mm². A energia total por ponto foi 0,5J totalizando 2,0J de energia entregue sendo para a potência de 25mW densidade de potência 0,36 W/cm² e para a potência de 75mW 1,10 W/cm². Para fazer a criolesão um metal foi imerso no nitrogênio líquido e em seguida foi colocado em contato direto no músculo tibial anterior por 10 segundos, após 30 segundos de intervalo, o procedimento foi repetido e a pele foi suturada. Os animais sofreram eutanásia 5 dias após a lesão. Foram realizadas 4 irradiações no total. Após a eutanásia, as amostras do músculo foram retiradas e a síntese de RNA total e de DNA complementar foi extraída (Promega, EUA) para avaliação da expressão de RNA mensageiro a partir da expressão de genes de estabilização telomérica (TRF e TRF2) e genômica (ATM e p53) por reação em cadeia de polimerase em tempo real (Applied Biosystems 7500 RT-qPCR, EUA). Estatística: resultados apresentados como média e desvio padrão; teste de análise de variância (ANOVA), pós-teste de Tukey e teste de Kolmogorov-Smirnov para verificar a distribuição de normalidade dos dados. P <0,05 foi considerado significativo.

Resultados: O laser infravermelho de baixa intensidade reduz a expressão de ATM nas potências de 25mW (0.28±0.26) e 75mW (0.19±0.340) comparado ao grupo lesionado não irradiado (6.64±3.84). Também, o laser reduz a expressão de p53 nas potências de 25mW (0.15±0.11) e 75mW(1.03±0.70) comparado ao grupo lesionado não irradiado (3.99±2.71). O laser infravermelho de baixa intensidade reduz a expressão de TRF1 nas potências de 25mW (0.26±0,08) e 75mW(0.33±0.20) comparado ao grupo lesionado não irradiado (1.97±0.38). Os níveis de expressão de TRF2 reduziu nas potências de 25mW (0.16±0.04) e 75mW (0.43±0.34) comparado ao grupo lesionado não irradiado (2.46±1.55).

Conclusão: O laser infravermelho de baixa intensidade modula e expressão de RNA mensageiro de genes relacionados à estabilização genômica e de telômeros bem como protege a lesão do músculo esquelético contra danos de DNA.

Apoio Financeiro: FAPERJ e CNPq.

Palavras-chave: Laser; estabilização de telômeros; estabilização genômica

[785] LASER INFRAVERMELHO DE BAIXA POTÊNCIA ALTERA OS NÍVEIS RELATIVOS DE RNA MENSAGEIRO DE GENES DE REPARO DE DNA EM LESÃO PULMONAR AGUDA INDUZIDA POR SEPSE EM RATOS WISTAR

LUÍZ P. S. SERGIO*1; ANDREZZA M. C. THOMÉ1; LARISSA A. S. N. TRAJANO1; SOLANGE C. VICENTINI2; ADILSON F. TEIXEIRA1; ANDRÉ MENCALHA1; FLAVIA DE PAOLI3; ADENILSON DE SOUZA DA FONSECA1

1.UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO; 2.UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO; 3.UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA, JUÍZ DE FORA, MG, BRASIL

Introdução: A lesão pulmonar aguda (LPA) gera insuficiência respiratória com quadro de hipoxemia grave, a partir da sepse, por resposta hiperinflamatória. O tratamento com lasers monocromáticos, colimados, de baixa potência pode gerar efeitos bioestimulatórios com parâmetros como comprimento de onda, fluência, potência e modo de emissão. A avaliação dos níveis relativos de RNAm de genes de reparo do DNA ao dano oxidativo após exposição ao laser infravermelho de baixa potência pode prover informações sobre a modulação de genes como tratamento para o tecido pulmonar lesionado.

Objetivo: Avaliar os níveis de RNAm dos genes OGG1 (8-oxoguanine DNA glycosylase), APEX1 (apurinic/aprimidinic endonuclease 1), ERCC2 e ERCC1 (excision repair cross-complementing group 2/1) no tecido pulmonar de ratos Wistar afetados pela LPA em resposta à sepse e após exposição a diferentes fluências do laser infravermelho de baixa potência em modo contínuo de emissão.

Métodos: Projeto aprovado no comitê de ética (CEUA/012/2016 UFJF). Utilizado Photon Lase III da D.M.C. infravermelho, AsGaAl, 808nm, potência de 100mW, densidade de potência de 3,571W/cm², 0,028cm² “spot size”, 4 pontos por pulmão em contato na pele entre as costelas, sendo realizada 1 sessão. Ratos Wistar machos adultos distribuídos em 6 grupos (n=5): controle, 10J/cm² (1J e 2 segundos por ponto), 20J/cm² (4J e 5 segundos por ponto), LPA, LPA+10J/cm² e LPA+20J/cm². A LPA foi induzida por injeção intraperitoneal de lipopolissacarídeo de E. Coli (10mg/kg). Amostras retiradas para extração do RNA total por fenol tamponado, síntese de cDNA por transcriptase reversa e avaliação do nível relativos de RNAm por RT-qPCR. Os valores da expressão relativa foram inferidos pelo método delta-delta Ct, usando GAPDH (glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase) como referência. Estatística: normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov, dados paramétricos como média e desvio padrão e não paramétricos mediana (intervalo interquartil); Teste t de Student não pareado e teste de Mann Whitney comparando grupos LPA e controle. One-way ANOVA e teste de Bonferroni para comparar dados paramétricos e não paramétricos, Kruskal-Wallis e teste Dunn. Foi considerado p<0,05 como nível menos significativo.

Resultados: Comparação, respectivamente de Grupos Controle e LPA para OGG1:1,00±0,07 e 0,39±0,10; APEX1:1,04±0,29 e 0,88±0,27; ERCC2: 1,03±0,25 e 0,67±0,24; ERCC1:1,01±0,16 e 0,60±0,19. Comparação dos demais grupos para OGG1:1,00±0,07(controle), 0,86±0,25(10J/cm²), 0,80±0,20(20J/cm²), 1,03±0,26 (LPA), 0,49±0,16(LPA+10J/cm²) e 0,71±0,23(LPA+20J/cm²); APEX1: 1,04±0,29(controle), 1,43±0,35(10J/cm²), 1,32±0,30(20J/cm²), 0,82±1,28(LPA), 0,52±0,84(LPA+10J/cm²) e 0,47±0,70 (LPA+20J/cm²); ERCC2: 1,03±0,25 (controle), 1,39±0,25(10J/cm²), 1,61±0,44(20J/cm²), 1,08±0,39 (LPA),1,89±0,79(LPA+10J/cm²) e 1,34±0,15(LPA+20J/cm²);ERCC1:1,01±0,16(controle), 1,53±0,35(10J/cm²);1,49±0,37(20J/cm²);1,06±0,34(LPA);1,11±0,40(LPA+10J/cm²);0,60±0,27(LPA+20J/cm²).

Conclusão: A LPA induzida por sepse altera os níveis relativos de RNAm de genes relacionados ao reparo por excisão de bases e nucleotídeos, sugerindo que o reparo do DNA é parte da resposta celular à sepse e que a exposição a laser infravermelho de baixa potência poderia modular os níveis de RNAm desses genes no tecido pulmonar.

Apoio Financeiro: CNPq, FAPERJ e FAPEMIG.

Palavras-chave: laser; lesão pulmonar aguda; reparo do DNA

[786] LASER INFRAVERMELHO DE BAIXA POTÊNCIA MODIFICA O PARÊNQUIMA PULMONAR APÓS INDUÇÃO DE LESÃO PULMONAR AGUDA EM RESPOSTA A ADMINISTRAÇÃO DE LPS

LUÍZ P. DA SILVA SERGIO*1; LARISSA A. S. NETO TRAJANO1; ANDREZZA M. C. THOMÉ1; SOLANGE C. VICENTINI2; ANDRÉ MENCALHA1; FLAVIA DE PAOLI3; ADENILSON DE S. FONSECA1

1.UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO; 2.UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO; 3.UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUÍZ DE FORA, JUÍZ DE FORA, MG, BRASIL.

Introdução: A lesão pulmonar aguda (LPA) é potencialmente fatal e caracteriza-se pela resposta hiperinflamatória, apresentando hipoxemia grave. A lesão no epitélio alveolar e do endotélio capilar aumenta a permeabilidade da barreira alveolar, causando edema e inflamação no espaço aéreo, podendo ocorrer em resposta a sepse. Devido ao padrão único de lesão, não há um tratamento específico. Lasers infravermelhos têm sido utilizados na resolução do processo inflamatório, e seus efeitos terapêuticos dependem do comprimento de onda, frequência, potência, fluência e modo de emissão. A avaliação morfológica do tecido pulmonar após exposição ao laser infravermelho de baixa potência pode fornecer informações acerca do processo de reparo tecidual causado por LPA induzida por sepse.

Objetivo: Avaliar a morfologia dos alvéolos e septos interalveolares após exposição ao laser infravermelho de baixa potência em modo contínuo de emissão.

Método: Projeto aprovado pelo comitê de ética (CEUA/012/2016 UFJF). Foi utilizado Photon Lase III da D.M.C. infravermelho, AsGaAl - 808nm, potência de 100mW, densidade de potência de 3,571W/cm², 0,028cm² spot size, 4 pontos por pulmão em contato na pele entre as costelas, sendo realizada 1 sessão. Ratos Wistar machos adultos foram distribuídos em 6 grupos (n=5): controle, 10J/cm² (1J e 2 segundos por ponto), 20J/cm² (4J e 5 segundos por ponto), LPA, LPA+10J/cm² e LPA+20J/cm². A LPA foi induzida por injeção intraperitoneal de lipopolissacarídeo de E. coli (10mg/kg). Os pulmões foram fixados em formaldeído 4% e processados. Os cortes sagitais com espessuras de 4 micrometros foram corados com hematoxilina-eosina. 21 imagens por corte foram realizadas utilizando um Carl Zeiss Axio Lab A1, equipado com câmera AxioCam ERc5S Rev.2, software Zen 2 para obter amostras uniformes, em que 7 campos não-sobrepostos em três seções (superior, médio e base do pulmão) foram capturadas em objetiva 20x. Os parâmetros estereológicos, determinaram a densidade numérica e superficial das células alveolares além da interceptação do revestimento dos cortes. Estimativa por contagem pontual usando o sistema de teste de arcos cíclicos 32 pontos em Stepanizer 1.6. A normalidade dos dados pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Dados não-paramétricos foram expressos como mediana (intervalo interquartil). Kruskal-Wallis seguido pelos testes de comparação múltipla de Dunn. Foi considerado p<0,05 como nível menos significativo.

Resultados: Para quantificação morfológica do pulmão, para densidade de volume do septo: 54.86±17.80 (controle), 56.33±13.69 (10J/cm²), 60.04±17.23 (20J/cm²), 87.60±9.45 (LPA), 59.15±14.30 (LPA+10J/cm²) e 63.15±15.50 (LPA+20J/cm²); densidade de volume alveolar: 45.22±17.82 (controle), 43.82±13.67 (10J/cm²), 40.11±17.23 (20J/cm²), 12.49±9.50 (LPA), 40.96±14.35 (LPA+10J/cm²) e 36.76±15.41 (LPA+20J/cm²); densidade de superfície alveolar: 0.01±0.00 (controle), 0.01±0.00 (10J/cm²), 0.01±0.00 (20J/cm²), 0.01±0.00 (LPA), 0.01±0.00 (LPA+10J/cm²) e 0.01±0.00 (LPA+20J/cm²); média linear de intercepções nos espaços aéreos: 99.78±48.09 (controle), 84.98±17.14 (10J/cm²), 96.17±31.93 (20J/cm²), 84.10±9.72 (LPA), 92.67±21.88 (LPA+10J/cm²) e 91.33±25.16 (LPA+20J/cm²).

Conclusão: A exposição ao laser infravermelho de baixa potência melhora o tecido pulmonar de ratos Wistar afetados pela LPA, aumentando o espaço aéreo e reduzindo a parede do septo interalveolar, o que poderia contribuir para a função respiratória e ser uma abordagem alternativa para tratamento da LPA. Apoio Financeiro: CNPq, FAPERJ e FAPEMIG.

Palavras-chave: Laser infravermelho de baixa potência; lesão pulmonar aguda; estereologia

[789] EFEITOS DE LASERS DE BAIXA POTÊNCIA NA EXPRESSÃO DE GENES PRÓ-ONCOGÊNICOS EM CULTURAS DE CÉLULAS DE CÂNCER DE MAMA

KEILA DA SILVA CANUTO*; ADILSON FONSECA TEIXEIRA; JULIANA RODRIGUES ALVES; ANDRÉ MENCALHA; ADENILSON DE SOUZA DA FONSECA
UERJ, RIO DE JANEIRO, RJ, BRASIL

Introdução: Lasers de baixa potência são frequentemente utilizados em protocolos terapêuticos por diversos profissionais da área da saúde. Contudo, frequentemente há divergências por meio destes quanto a utilização dos lasers de baixa potência em pacientes com histórico oncológico. Recentemente estudos mostram a eficácia de lasers de baixa potência na terapia fotodinâmica (PDT), e no tratamento de efeitos colaterais da radioterapia, porém o conhecimento sobre os efeitos da radiação na célula tumoral ainda é empírico.

Objetivos: Avaliar os efeitos de lasers vermelho (660nm) e infravermelho (808nm) de baixa potência em culturas de células MDA-MB-231 nos níveis relativos de mRNA dos genes pro-oncogênicos NRAS, KRAS e NPM1.

Métodos: Culturas de células MDA-MB-231 foram tripsinizadas e expostas aos lasers vermelho (660nm) e infravermelho (808nm) de baixa potência que apresenta spotsize de 0,028cm² nas fluências de: 25J/cm² (tempo de irradiação de 07 segundos, e energia total empregada de 07J) e 50 J/cm² (tempo de irradiação de 14 segundos e energia total empregada de 1.4J), no modo contínuo de aplicação, na potência de 100mW. Em seguida foi feita a extração de RNA, utilizando o método de extração fenol tamponado. A síntese de cDNA foi feita logo após a extração, utilizando a transcriptase reversa. Os níveis relativos de mRNA dos genes NRAS, KRAS e NPM1 foram quantificados e então foi realizada a reação em cadeia da polimerase em tempo real (qRT-PCR). A normalização dos níveis relativos foi feita com o método $\Delta\Delta CT$, utilizando para normalizar a média aritmética do mRNA dos genes GUSB, ACTB e TRFC. As culturas não irradiadas foram utilizadas como controle. Para análise estatística foi utilizado o teste Kruskal-Wallis, seguido de pós-teste de Dunn com $p < 0.05$ como menor nível de significância.

Resultados: os resultados para os níveis relativos de mRNA do gene NRAS para o laser vermelho foram (média±desvio padrão): 1,04±0,29 (controle), 0,79±0,17 (25 J/cm²), 0,17±0,06 (50 J/cm²); para o laser infravermelho 1,04±0,29 (controle), 0,13±0,09 (25 J/cm²), 0,32±0,08 (50 J/cm²). Para os níveis relativos de mRNA do gene KRAS para o laser vermelho: 1,19±0,78 (controle), 1,65±0,50 (25 J/cm²), 0,64±0,53 (50J/cm²); para o laser infravermelho: 1,19±0,78 (controle), 0,45±0,38 (25 J/cm²), 1,35±0,83 (50 J/cm²). Para os níveis relativos de mRNA do gene NPM1 para laser vermelho: 1,27±1,34 (controle), 1,74±0,84 (25 J/cm²), 1,03±0,98 (50 J/cm²); para o laser infravermelho 1,27±1,34 (controle), 0,29±0,06 (25 J/cm²), 1,55±0,56 (50 J/cm²). O gene NRAS apresentou diferença significativa quando comparado culturas irradiadas com o controle.

Conclusão: A partir dos resultados conclui-se que houve uma redução no mRNA do gene pro-oncogênico NRAS na fluência de 25J/cm² para o laser infravermelho e 50J/cm² para o laser vermelho.

Palavras-chave: Cancer de mama; laser; pro-oncogenes

[798] **DICHROMATIC AND MONOCHROMATIC LASER RADIATION EFFECTS ON RESISTANCE ANTIBIOTIC, BIOFILM FORMATION AND DIVISION RATE OF PANTOEA AGGLOMERANS**

ANDREZZA M. CÔRTEZ THOMÉ^{*1}; BIANCA P. DE SOUZA²; JOÃO P. M. MENDES²; ADRIANO F. RIBEIRO²; LIDIANE C. SOARES²; EDUARDO T. L. TRAJANO²; ADENILSON DE SOUZA DA FONSECA¹

1.UERJ, RIO DE JANEIRO, RJ 2.UNIVERSIDADE SEVERINO SOMBRA, VASSOURAS, RJ

Introduction: One primary function of a normal and intact skin is to control microbial populations that live on the skin surface and to prevent underlying tissue from becoming colonized and invaded by potential pathogens. Once skin is injured, microorganisms that are normally sequestered at the skin surface obtain access to the underlying tissues. Bacteria compete for available oxygen and nutrients and produce enzymes, which destroy the tissue and stimulate excessive production of matrix metalloproteases, causing delay of healing. Therapies based on low-level lasers (LLLT) are used for treatment as well as in wound healing. Despite the beneficial effects of low-level lasers on wound healing, their application for treatment of infected injuries is controversial because low-level lasers could stimulate bacterial growth exacerbating the infectious process. Since bacterial infections are common causes of delayed skin wound, healing and traditional therapies are not always successful, studies are necessary to understand the effects of LLLT on skin bacteria.

Objective: To evaluate the effects of low-level lasers on resistance antibiotic, division rate and biofilm formation of *Pantoea agglomerans*.

Methods: A therapeutic low-level laser (Laser Therapy XT), with emission in red (660 nm) and infrared (808 nm), was purchased from DMC Equipments Ltda (Brazil), with spot size of 0.028 cm², at different fluences (35, 70, and 140 J/cm²), at continuous wave (power output of 100mW, power density of 3.571 mW/cm²). *P. agglomerans* samples were isolated from human pressure injuries and cultures were exposed to low-level monochromatic and simultaneous dichromatic laser radiation to study the antimicrobial susceptibility to ampicillin and piperacillin + tazobactam, quantification of areas of bacterial colonies and biofilm formation by bacterial cells. Laser device was positioned such that the laser beam covered almost all the surface of the bacterial aliquot suspension and only one punctual application was used (energy dose/total energy was 1, 2 and 4J). The laser device as a function of the fluence automatically adjusted exposure time of the cells (10, 20 and 40 seconds, respectively for 1, 2 and 4 J).

Results: Data from antimicrobial susceptibility to ampicillin were 2.58±0.25 (control), 2.57±0.33 (1J red), 2.36±0.58 (1J infrared), 2.53±0.28 (4J red), 3.00±0.15 (4J infrared) and 2.75±0.25 (4J red+infrared). In antimicrobial susceptibility to piperacillin+tazobactam: 3.19±0.21 (control), 3.02±0.25 (1J red), 3.16±0.25 (1J infrared), 3.13±0.30 (4J red), 3.08±0.22 (4J infrared) and 3.07±0.24 (4J red+infrared). For quantification of areas of bacterial colonies were 1.94±0.51 (control), 1.89±0.37 (1J red), 1.89±0.46 (1J infrared), 2.05±0.49 (4J, red), 1.94±0.37 (4J infrared) and 1.88±0.45 (4J red+infrared). In biofilm formation: 0.28±0.06 (control), 0.82±0.20 (1J red), 0.21±0.08(1J infrared), 0.33±0.07 (4J red), 0.40±0.09 (4J infrared) and 0.16±0.02 (4J red+infrared).

Conclusion: Data show no changes in areas of colonies, but dichromatic laser radiation decreased biofilm formation, while monochromatic red laser at low dose increased biofilm formation and infrared at high dose decreased resistance antibiotic to ampicillin. LLLT modulates resistance antibiotic and biofilm formation of *Pantoea agglomerans*, but these depend on laser irradiation parameters, since dichromatic laser radiation induces biological effects that differ from those induced by monochromatic laser radiation. Thus, simultaneous dichromatic low-level red and infrared lasers could be a new option for treatment of infected wounds, reducing biofilm formation, no altering antibiotic resistance and division rate in *Pantoea agglomerans* cultures.

Key words: Low-level laser; dichromatic radiation; *pantoea agglomerans*

[799] IMPLEMENTAÇÃO DA TERAPIA DE LASER BAIXA POTÊNCIA NO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE

ANDREZZA MARIA CÔRTEZ THOMÉ*1; TAINÁ LIMA MIRANDA2; JÉSSICA GONÇALVES DE SOUZA2; SIMONE CHRISTINA DOMINGOS BRANDÃO2; CARLA MONTEIRO DE SOUZA2; GIOVANI ALVES DE FREITAS2; ADENILSON DE SOUZA DA FONSECA1

1.UERJ, RIO DE JANEIRO, RJ, BRASIL; 2.PREFEITURA MUNICIPAL DE QUATIS, QUATIS, RJ, BRASIL

Introdução: Feridas crônicas como lesão por pressão são um problema de saúde pública. A incidência mundial é de 8,5 milhões, enquanto que úlcera venosa 12,5 milhões e úlcera diabética, 13,5 milhões. Os custos anuais com tratamento são estimados em US\$ 50 bilhões nos Estados Unidos e US\$ 2,85 bilhões na Austrália. Esse problema acarreta, também, transtornos psicológicos e impedem ou dificultam a participação do paciente em programas de reabilitação. Dependendo do nível de profundidade da lesão tecidual, podem ocorrer complicações como osteomielite, septicemia ou óbito. No Brasil, os pacientes procuram a Atenção Primária para acesso ao Sistema Único de Saúde (SUS). Em 2008, foram criados Núcleos de Apoio à Saúde da Família (NASF) com o objetivo de apoiar a Atenção Básica e resolutividade, abrangência e alvo das ações. Para acelerar a cicatrização, a fisioterapia usa o laser terapêutico de baixa potência (LBP), em associação ao tratamento convencional com efeitos analgésicos, anti-inflamatórios e cicatrizantes no processo de reparo tecidual. Encontramos registros de ensaios experimentais que comprovam a eficácia da terapia para acelerar o processo de cicatrização, porém não o impacto da terapia no SUS.

Objetivo: Descrever a implantação da Terapia Laser de Baixa Potência (TLBP) através das ações do NASF no município de Quatis – RJ para resolução de feridas crônicas. Métodos: O trabalho do NASF foi orientado pelo referencial teórico-metodológico de apoio matricial aplicado à Atenção Básica, o trabalho integrado e colaborativo entre a equipe NASF e eSF pôde acontecer por meio de consulta de matriciamento e, posteriormente, atendimento individual compartilhado, pactuado previamente com a equipe de Atenção Básica como parte do projeto terapêutico singular (PTS).

Material e método: Pacientes portadores de ferida ingressaram em consulta de matriciamento e, posteriormente, foi sugerida a TLBP como estratégia do PTS sob responsabilidade da fisioterapeuta da equipe NASF. O aparelho de Laserterapia de Baixa Potência foi adquirido da DMC Equipamentos Ltda (São Paulo, Brasil) com “spot size” de 0,028 cm², sendo utilizado o modo contínuo, dicromático simultâneo (660nm e 808nm), potência de 100mW, densidade de potência 3,571 mW/cm², fluência 140 J/cm², dose de energia 4J e tempo de irradiação por aplicação de 20s. A aplicação é realizada pontual sem contato (distância aproximada de 1 mm) no bordo e varredura no leito da ferida, a energia total varia de acordo com a área da ferida.

Resultados: Quatis possui população estimada em 13.415 habitantes e 5 equipes de saúde da família, destas 4 são contempladas com o apoio do NASF. Até 2017 o município não contava com estratégias para manejo de feridas pela equipe de fisioterapia na Atenção Básica. De Janeiro à Abril de 2017 foram solicitadas 5 consultas de matriciamento para pacientes portadores de feridas crônicas, somando-se 6 feridas, destas 4 úlceras venosas, 1 úlcera diabética e 1 lesão por pressão, a partir disto a TLBP foi utilizada como estratégia fisioterapêutica do PTS de 4 pacientes, que encontram-se em processo de cicatrização final.

Conclusão: O NASF pôde atuar tanto para apoiar as equipes na análise dos problemas, quanto na elaboração conjunta de propostas de intervenção. O NASF é uma ferramenta importante para auxiliar no manejo e tratamento em casos de feridas crônicas na Atenção Básica através da implementação da TLBP.

Palavras-chave: Terapia laser de baixa potência (TLBP); ferida; NASF

[802] FOTOATIVAÇÃO DA DOXORRUBICINA POR LED AZUL REDUZ A VIABILIDADE DE CÉLULAS MDA-MB-231 DE CÂNCER DE MAMA E INDUZ AUMENTO DO ESTRESSE OXIDATIVO

ADILSON FONSECA TEIXEIRA*; JULIANA RODRIGUES ALVES; ADENILSON DE SOUZA DA FONSECA; ANDRÉ MENCALHA

UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, RIO DE JANEIRO, BRASIL

Introdução: A terapia fotodinâmica (TFD) usa a irradiação de fontes não ionizantes de baixa potência de células com cromóforos exógenos, produzindo radicais livres e morte celular. O efeito do método restringe o dano a tecidos irradiados após captação do fotoceptor. Em câncer, a TFD é promissora em pacientes que não apresentam alvos moleculares para terapias-alvo, como no câncer de mama triplo-negativo. Além disso, o uso de quimioterápicos que atuem como fotoceptores poderia reduzir a dose necessária para o combate ao tumor, reduzindo efeitos adversos.

Objetivos: Investigar o uso do quimioterápico doxorubicina como fotoceptor para irradiação por LED azul na redução da viabilidade de células MDA-MB-231 de câncer de mama humano e indução de espécies reativas de oxigênio (EROs).

Métodos: Foram utilizadas células da linhagem tumoral de mama MDA-MB-231 mantidas em meio de cultura RPMI, 10% soro fetal bovino. 1×10^5 células foram transferidas para microtubos e incubadas com doxorubicina (25, 50 e 100 nM) por duas horas. Retirado o meio de cultura, as células foram irradiadas com LED azul. O aparelho utilizado é composto por três LED dispostos segundo os vértices de um triângulo equilátero. Cada LED azul (470 nm \pm 10 nm) apresenta uma área de emissão (spot size) aproximada de 0,28 cm² e potência igual 1500 mW. Os microtubos (1,5 mL) contendo as amostras a serem irradiadas foram posicionados, com suas tampas abertas, imediatamente abaixo do ponto central do emissor. Cada amostra foi submetida a 120 segundos de irradiação, totalizando uma fluência aproximada de 640 J/cm². Em seguida, os precipitados de células foram reconstituídos em meio de cultura, semeados em placas de 96 poços (15x10³ células/poço) e mantidos por 24 horas. Como controles para avaliação da TFD foram utilizadas células não irradiadas e não incubadas com doxorubicina, células apenas irradiadas ou apenas incubadas com doxorubicina. Foram adicionados 5 μ L do reagente WST-1 e a viabilidade celular avaliada em leitor de ELISA. Para análise dos níveis de EROs imediatamente após o tratamento, 1×10^5 células foram mantidas em PBS e incubadas com 10 μ L DCFH-DA por 30 minutos, sendo a fluorescência quantificada por citometria de fluxo. Os resultados representam três experimentos independentes.

Resultados: A viabilidade de células irradiadas com LED azul não sofreu alterações em relação ao controle ($1 \pm 0,07$). Células incubadas com doxorubicina apresentaram redução de viabilidade quando submetidas às concentrações de 50 nM ($0,65 \pm 0,13$; $p < 0,05$) e 100 nM ($0,54 \pm 0,09$; $p < 0,001$). O tratamento combinado entre doxorubicina (50 nM ou 100 nM) e LED azul não demonstrou modificação quando comparado às células apenas incubadas com o quimioterápico nestas concentrações. Entretanto, a viabilidade celular foi reduzida em culturas submetidas ao tratamento combinado com doxorubicina (25 nM) e LED azul ($0,61 \pm 0,08$) quando comparada às culturas apenas incubadas com o quimioterápico ($0,77 \pm 0,02$; $p < 0,05$). Nestas mesmas condições, a produção de EROs foi aumentada mediante tratamento combinado ($1,16 \pm 0,10$) em relação às células apenas incubadas com doxorubicina ($0,96 \pm 0,16$; $p < 0,05$).

Conclusão: A irradiação com LED azul reduz a viabilidade celular e aumenta os níveis de radicais livres em culturas de células de câncer de mama humana incubadas com doxorubicina (25 nM).

Apoio Financeiro: CNPq e FAPERJ

Palavras-chave: Doxorubicina; terapia fotodinâmica; câncer de mama

[808] **EXPRESSÃO GÊNICA DE MARCADORES INFLAMATÓRIOS NO TRATAMENTO DA PERIODONTITE CRÔNICA EM MODELO ANIMAL**

RENATO ARAUJO PRATES^{*1}; BIANCA APARECIDA GODOY-MIRANDA¹; PATRÍCIA ALMEIDA¹; ESTÉFANI REGINA BELINELLO-SOUZA¹; PAMELA CARRIBEIRO¹; LETICIA HEINECK ALVARENGA¹; ADJACI UCHOA FERNANDES²; RODRIGO LABAT MARCO¹; CINTIA RAQUEL LIMA-LEAL¹; CAMILA LEMO¹

1.UNINOVE, SÃO PAULO, SP; 2.UNIVERSIDADE ANHEMBI MORUMBI, SÃO JOSÉ DOS CAMPOS, SP, BRASIL

Introdução: A doença periodontal é uma resposta inflamatória direcionada a micro-organismos residentes nos tecidos em torno dos dentes. Esta doença leva a reabsorção do processo ósseo alveolar resultando em perda dental, e pode gerar alterações inflamatórias sistêmicas. O tratamento periodontal mecânico não remove completamente os patógenos periodontais, sendo algumas vezes necessário o emprego de antimicrobianos. Visando reduzir o uso dos antibióticos, a terapia fotodinâmica (PDT) antimicrobiana pode ser utilizada como coadjuvante ao tratamento periodontal. A terapia fotodinâmica combina o uso de um fotossensibilizador (FS) com uma fonte de luz para gerar espécies reativas de oxigênio e destruir células. A Protoporfirina IX NetNI (PpNetNI) é um derivado de protoporfirina IX que tem sítios de afinidade para ligação às células microbianas.

Objetivo: O objetivo deste estudo foi investigar os efeitos da PDT como adjuvante ao tratamento da doença periodontal.

Métodos: Trinta ratos saudáveis Wistar foram utilizados neste estudo (CEPA UNINOVE AN0029 / 2015). A periodontite foi induzida pela colocação de uma ligadura de algodão ao redor do primeiro molar mandibular. Após 7 dias, a ligadura foi removida e todos os animais receberam os tratamentos: 1) RAR e irrigação com PpNetNI, 10 µM; e 2) RAR, PpNetNI 10 µM seguido por irradiação. A irradiação foi realizada com um LED (630 nm) com potência 400 mW (irradiância 200 mW/cm², exposição radiante 18 J/cm²). Os ratos foram eutanasiados 24 h, 48 h e 7 dias após o tratamento. O tecido gengival foi removido cirurgicamente e congelado em nitrogênio. Os espécimes foram analisados para expressão gênica de IL-1β, IL-6 E IL-10, quantificadas por reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR).

Resultados: Vinte e quatro horas após o tratamento, existe um aumento dos níveis de IL-1β, e esta diferença aumenta drasticamente após 48h. O valor médio e desvio padrão foram de 2,82±0,59 pg/mL no grupo FS 24h para 4,83±0,71 pg/mL no grupo PDT 24h. Por outro lado, não existe diferença no nível de IL-1β 7 dias após o tratamento. A IL-10 apresenta um comportamento diferente dos demais marcadores, 24 h após o tratamento, um aumento expressivo de IL-10 pode ser visto no grupo FS (7,26±0,32 pg/mL) e grupo PDT 24h apresneta (1,55±0,46 pg/mL), porém, 7 dias depois o grupo PDT está com níveis altos que colaboram com o padrão de resolução do processo inflamatório do tecido periodontal que levou ao aumento da reparação tecidual.

Conclusão: A PDT acelerou o tempo de resposta inflamatório por acelerar a fase aguda da inflamação, o que adiantou a fase de reparo e remodelamento.

Apoio Financeiro: FAPESP 2016/10269-5

Palavras-chave: Marcadores inflamatórios; peridontite; antimicrobial photodynamic therapy

[809] EFEITOS DA TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIMICROBIANA ASSOCIADA A NANOPARTÍCULAS DOADORAS DE ÓXIDO NÍTRICO EM LEISHMANIOSE CUTÂNEA

FERNANDA VIANA CABRAL*1; MILENA T. PELLEGRINO2; AMEDEA B. SEABRA2; MARTHA SIMÕES RIBEIRO1

1.IPEN, SAO PAULO, SP, BRASIL; 2.UFABC, SANTO ANDRÉ, SP, BRASIL

Introdução: A leishmaniose cutânea (LC) é uma doença crônica desenvolvida por parasitas do gênero *Leishmania* que promove lesões destrutivas e ulceradas. Os tratamentos disponíveis são limitados devido a efeitos colaterais, resistência e toxicidade. A inativação fotodinâmica (PDI) envolve a geração de estresse oxidativo e tem sido explorada como tratamento alternativo para LC. Além disso, estudos indicam que a administração de doadores de NO exógenos representa uma estratégia interessante contra LC.

Objetivos: O propósito deste trabalho foi explorar os efeitos da PDI mediada por azul de metileno (AM) em associação com doadores de NO encapsulados em nanopartículas de quitosana (CSNP) em LC induzida em modelo murino utilizando bioluminescência em tempo real.

Métodos: Projeto aprovado pela CEUA/IPEN 189/17. Utilizamos promastigotas de linhagem transgênica de *Leishmania* (L.) amazonensis expressando luciferase. Dezesesseis camundongos BALB/c foram infectados na pata esquerda com 1.10^6 promastigotas. Após 4 semanas, os animais foram distribuídos aleatoriamente em 4 grupos experimentais (n=4): Controle (não tratado), PDI, PDI+CSNP e CSNP. A PDI foi administrada em duas sessões espaçadas de 24 horas e as CSNPs (80 μ M) foram aplicadas imediatamente após a segunda sessão de PDI. A PDI foi realizada utilizando-se um LED vermelho ($\lambda=660\pm 22$ nm), AM (100 μ M), irradiância de 100 mW/cm² e exposição radiante de 150 J/cm². A carga parasitária foi analisada através da detecção da luciferase por bioimageamento nas primeiras 96 horas após o tratamento e nas 4 semanas subsequentes. Estatística: análise de variância com teste Tukey como pós-teste e diferenças entre grupos foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0,05$.

Resultados: O grupo teste apresentou redução significativa na carga parasitária em relação ao controle durante o experimento. 24 h após os tratamentos, a carga parasitária no grupo PDI+CSNP ($1,1.10^6 \pm 9,6.10^5$) reduziu em relação ao controle ($1,3.10^7 \pm 1,1.10^7$) e continuou significativamente menor em 48 horas ($1,8.10^6 \pm 1,4.10^6$, PDI+CSNP e $2,7.10^7 \pm 1,4.10^7$, controle), mas não foram observadas diferenças estatisticamente significantes quando comparada aos outros grupos teste. Após 72 h, todos os grupos tratados foram semelhantes com redução significativa em relação ao controle (controle $2,6.10^7 \pm 1,4.10^7$, PDI+CSNP $4,6.10^6 \pm 3,4.10^6$ e CSNP $1,9.10^7 \pm 4,8.10^7$). A carga parasitária nos grupos teste permaneceu aproximadamente menor que o controle após 1, 2, 3 e 4 semanas pós-tratamento.

Conclusão: Sob as condições utilizadas neste estudo, concluímos que as CSNPs não foram capazes de aumentar a eficiência da PDI mediada por azul de metileno em CL induzida por L. (L.) amazonensis em camundongos.

Apoio financeiro: CNPq e IPEN.

Palavras-chave: Modelo murino; photoinativação de parasitas; leishmania amazonensis

[810] **TERAPIA COM LASER EM BAIXA INTENSIDADE NA PROLIFERAÇÃO DE CÉLULAS DE CÂNCER DE MAMA**

CAMILA RAMOS SILVA^{*1}; ARTHUR CÁSSIO LIMA LUNA²; DURVANEI AUGUSTO MARIA²; MARTHA SIMÕES RIBEIRO¹

1.IPEN, SAO PAULO, SP, BRASIL; 2.INSTITUTO BUTANTAN, SÃO PAULO, SP, BRASIL

Introdução: A terapia com laser em baixa intensidade (TLBI) tem ganhado grande destaque nas áreas da Saúde devido à busca por formas menos invasivas de tratamento. Entretanto, o seu uso em pacientes oncológicos é contraindicado já que a literatura reporta efeitos controversos em células tumorais.

Objetivos: Este estudo tem como objetivo verificar os efeitos da TLBI na proliferação de células de tumor de mama.

Métodos: Cem mil células de tumor de mama (MDA-MB-231) foram semeadas em placas de 96 poços em meio de cultura DMEM com 10 % de soro fetal bovino, e 24h depois, foram expostas à TLBI com laser de emissão em $\lambda = 660\text{nm}$ e potência de 40 mW (MMOptics, São Carlos, SP, Brasil). O laser foi posicionado em contato direto com o fundo da placa, mantendo uma taxa de fluência uniforme de 1 W/cm² por 60s e 120s, correspondendo as fluências de 60 J/cm² e 120 J/cm² (grupos TLBI60 e TLBI120, respectivamente). Os grupos controle não foram irradiados. Após 24 h, 48 h e 72 h, verificou-se a viabilidade celular em hemocitômetro através do teste de exclusão com azul de tripan, e a expressão do antígeno nuclear de proliferação celular (PCNA) e da proteína p53 por citometria de fluxo. As amostras preparadas separadamente para cada marcador (PCNA/p53) tiveram como canal de leitura FL1-H. Os experimentos foram realizados em triplicata em três momentos distintos (n=9). Os resultados foram submetidos à análise de variância dois fatores e Tukey como pós-teste, sendo considerados significativos quando $p < 0,05$.

Resultados: Vinte e quatro-h e 48 h depois da TLBI, a viabilidade celular foi similar para os grupos TLBI e controle. Após 72 h, ambas as fluências promoveram redução significativa de aproximadamente 30 % no número de células viáveis em relação ao controle não irradiado. A expressão de PCNA depois de 24 h foi similar para todos os grupos. Após 48 h, ela foi cerca de 80 % e 70 % menor para os grupos TLBI60 e TLBI120, respectivamente. Em 72 h, nenhuma diferença estatisticamente significativa foi detectada entre os grupos controle e TLBI60, mas para o grupo TLBI120 uma expressão significativamente mais baixa ($\square 50\%$) foi ainda observada. Com relação à expressão de p53, observou-se um aumento de cerca 56 % e 65 % para TLBI60 e TLBI120, respectivamente, após 24 h. Após 48 h, somente o grupo TLBI60 manteve essa expressão aumentada. Em 72 h, a expressão de p53 não diferiu entre os grupos.

Conclusões: Considerando os parâmetros utilizados, nossos dados indicam que o uso da TLBI em células de tumor de mama pode reduzir a viabilidade celular, diminuir a proliferação celular e aumentar a expressão da proteína p53 indicando uma possível indução a apoptose dependendo da fluência e do tempo após tratamento.

Apoio Financeiro: CNEN, FAPESP e CNPq.

Palavras-chave: Câncer de mama; terapia com laser em baixa intensidade; apoptose

[812] AVALIAÇÃO DA REGENERAÇÃO NERVOSA UTILIZANDO TERAPIA LASER DE BAIXA INTENSIDADE APÓS TÉCNICA DE TUBULIZAÇÃO COM PREENCHIMENTO DE TECIDO ADIPOSEO

GABRIELE CANDIDO BERNARDO*1; THAIS C. PEREIRA SANTOS1; JOÃO V. TADASHI COSIN SHINDO1; DANIEL VENTURA DIAS2; ROGÉRIO LEONE BUCHAIM3; CARLOS H. FACHIN BORTOLUCI1; GERALDO MARCO ROSA JUNIOR1

1.UNIVERSIDADE DO SAGRADO CORAÇÃO, BAURU, SP; 2.UNIVERSIDADE FEDERAL DOS PAMPAS, URUGUAIANA, RS; 3.UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, BAURU, SP

Introdução: Lesões nervosas periféricas são comuns e podem desencadear ao paciente grande perda sensitiva e funcional. Para minimizar essa perda, tratamentos cirúrgicos e pós-cirúrgicos são estudados (Arq Neuropsiquiatr. 71:811, 2013; British Medical Bulletin, 100: 73, 2011.). e várias técnicas de tubulização e estão sendo testados materiais biológicos (vasos, nervos, veia, etc) ou não biológicos (tubos de polietileno, silicone, etc) com ou sem preenchimento (tecido adiposo, células-tronco, etc). Como recurso terapêutico complementar, a Terapia Laser de Baixa Intensidade destaca-se por ser um tratamento não invasivo com resultados positivos na regeneração e recuperação funcional (Acta Ortopédica Brasil. 21: 266, 2013; Injury, Int. J. Care Injured. 42: 803, 2011).

Objetivos: Avaliar o efeito da Terapia Laser de Baixa Intensidade no reparo de lesão nervosa periférica após a técnica de tubulização preenchida com tecido adiposo.

Métodos: Todos os procedimentos adotados foram aprovados pelo 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 Terapia Laser de Baixa Intensidade após a cirurgia de tubulização. O tratamento foi realizado com Laser AsGaInP (Therapy XT), 808 nm, 100 mW, 0,04 cm² de diâmetro do feixe, na energia de 2 J (50 J/cm²), com tempo de irradiação de 20 segundos, durante 3x/semana por 150 dias. Foi realizada a morfometria de nervos de 220 fibras por animal de cada grupo, além de testes eletrofisiológicos e funcionais (IFC). Quando comparados os grupos, foi utilizado o teste de análise de variância (ANOVA), seguido pelo teste de TUKEY, quando detectada diferença significativa. Em todas as análises o nível de significância foi $p < 0,05$.

Resultados: 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: A Terapia Laser de Baixa Intensidade atuou de maneira favorável para potencializar a regeneração nervosa, propiciando uma melhora morfológica e funcional.

Palavras-chave: Terapia laser de baixa intensidade; regeneração nervosa; nervos periféricos

[813] **RESPOSTA DA REGENERAÇÃO MUSCULAR APÓS TÉCNICA DE TUBULIZAÇÃO COM PREENCHIMENTO DE TECIDO ADIPOSEO E TERAPIA LASER DE BAIXA INTENSIDADE**

TAMIRIS C. LOURENÇO*1; JOÃO V. TADASHI COSIN SHINDO1; GABRIELE C. BERNARDO1; ANDRÉ L. ALMEIDA SCHEFFELMEIER1; LETICIA ROSSI DARÉ2; RODRIGO LEAL DE PAIVA CARVALHO1; GERALDO MARCO ROSA JUNIOR1

1.UNIVERSIDADE DO SAGRADO CORAÇÃO, BAURU, SP; 2.UNIVERSIDADE FEDERAL DOS PAMPAS, URUGUAIANA, RS, BRASIL

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) ou não biológicos (tubos de polietileno, silicone) com ou sem preenchimento (tecido adiposo, células-tronco) estão sendo testados (British Medical Bulletin, 100: 73, 2011.). Entretanto, mesmo com todo refinamento técnico obtido com a microcirurgia, ainda não se obtém total recuperação motora. Em âmbito clínico, alguns recursos fisioterapêuticos têm sido sugeridos na tentativa de minimizar as perdas decorrentes do quadro de desnervação, destacando-se a Terapia Laser de Baixa Intensidade (Acta Ortopédica Brasileira. 21: 266, 2013).

Objetivo: Avaliar o efeito da Terapia Laser de Baixa Intensidade na recuperação muscular após a técnica de tubulização preenchida com tecido adiposo.

Métodos: Todos os procedimentos adotados foram aprovados pelo 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 a denominação laser receberam tratamento de Terapia Laser de Baixa Intensidade após a cirurgia de tubulização. O tratamento foi realizado com Laser AsGaInP (Therapy XT), 808 nm, 100 mW, 0,04 cm² de diâmetro do feixe, na energia de 2 J (50 J/cm²), com tempo de irradiação de 20 segundos, durante 3x/semana por 150 dias. Foi realizada a morfometria de 220 fibras musculares por animal de cada grupo, além de testes eletrofisiológicos e funcionais (IFC). Quando comparados os grupos, foi utilizado o teste de análise de variância (ANOVA), seguido pelo teste de TUKEY, quando detectada diferença significativa. Em todas as análises o nível de significância foi $p < 0,05$.

Resultados: Na análise morfométrica os grupos apresentaram respectivamente para os músculos EDL, Sóleo e TC os seguintes resultados: 2998 um², 2872 um² e 4351 um² para o GC, 2722 um², 2323 um² e 3852 um² para o GTGL, 2377 um², 2086 um² 3184 um² para o GTG, 2123 um², 1911 um² e 3051 um² para o GTL, 1619 um², 1428 um² e 1582 um² para o GT 154 um², 123 um² e 172 um² para o GD. No teste de força o grupo GTGL obteve o melhor índice quando comparado com o GC, atingindo para o músculo TC o valor de 0,97 contra 1,21 do GC, para o músculo EDL 0,71 contra 0,87 do GC e para o Sóleo 0,68 contra 0,86 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.

Conclusão: A Terapia Laser de Baixa Intensidade apresentou-se como um protocolo positivo para a recuperação funcional de indivíduos com lesão nervosa periférica.

Palavras-chave: Terapia laser de baixa intensidade; regeneração nervosa; cirurgia experimental

[814] **EFFECTS OF PHOTOBIO-MODULATION THERAPY AND DICLOFENAC ON MUSCLE STRENGTH IN AN EXPERIMENTAL MODEL OF SKELETAL MUSCLE TRAUMA IN DIABETIC RATS**

RODRIGO L. DE PAIVA CARVALHO*1; NATHÁLIA A. MIGUEL1; LIGIANE S. SANTOS1; ANA A. TEIXEIRA NAPOLITANO1; GERALDO MARCO ROSA JUNIOR1; RODRIGO LABAT MARCO2; MARINA GAIATO1

1.UNIVERSIDADE DO SAGRADO CORAÇÃO, BAURU, SP; 2.UNINOVE, SÃO PAULO, SP

Background: Diabetes mellitus (DM) is associated with delay in tissue repair and decreased muscle strength. Exercise has been prescribed for patients with DM due to the improvement in glucose control and reduction in other risk factors. However, traumatic muscle injuries are directly related to exercise. Photobiomodulation therapy (PBMT) acts in delaying muscle fatigue, increase strength and improve muscle recovery. Both pharmacological and non-pharmacological approaches have been used in the treatment of musculoskeletal injuries, such as anti-inflammatory drugs PBMT, however effect of PBMT on improvement muscle strength in a diabetic organism remains unknown.

Objective: The aim of this work was to investigate the effects of PBMT on muscle strength, 14 and 28 days after trauma induction in diabetic Wistar rats, comparing PBMT, diclofenac, and both treatments applied together.

Methods: This study was approved by the Ethics Committee of Sagrado Coração University (protocol number 3294021216). Male Wistar rats were randomized into 6 groups (n=7): Control, Diabetics, Injured no treated, Injured Diclofenac, Injured Laser and Injured Laser+Diclofenac. Diabetes was induced by administration of streptozotocin (50 mg/kg). Trauma was performed using a 200g block weight that dropped from 20cm onto the right posterior limb. One hour after the injury protocol, groups received treatment of topical diclofenac (11.6 mg/g-1), PBMT irradiation (3J, 810nm, 100mW, 30s) Thera Lase DMC, or both treatments applied together. The electrical stimulation was performed through an isometric transducer to induce a tetanic contraction on injured muscle. Analyzes were performed 14 and 28 days after the injury protocol.

Results: Fourteen days after injury protocol was observed an increase in the contraction force (Newtons) on laser group (0.75 ± 0.03), demonstrating statistical differences when compared to diclofenac group (0.48 ± 0.03), $p < 0.01$, laser+diclofenac group (0.62 ± 0.02) $p < 0,05$ and untreated groups. The same behavior was observed 28 days after injury protocol laser group (0.85 ± 0.03), demonstrating statistical differences when compared to diclofenac group (0.55 ± 0.03), $p < 0.001$, laser+diclofenac group (0.72 ± 0.02) $p < 0,05$.

Conclusion: PBMT significantly improved muscle strength in a diabetic rats 14 and 28 days after a muscle injury protocol.

Financial Support: FAPESP 2016/20058-1 e 2014/23613-0

Key words: Muscle injury; pbmt; diabetes

[816] USO DE TERAPIA COM LUZ DE BAIXA POTÊNCIA PARA ACELERAÇÃO DA CICATRIZAÇÃO DE QUEIMADURAS NAS FASES SUBAGUDA E CRÔNICA EM RATOS WISTAR COM DIABETES

DIEGO E. DE OLIVEIRA MENDONÇA*1; MARCELO S. FANTINATI²; ADRIANA M. MONTEIRO FANTINATI²; BRUNO F. SANTOS²; JULIANA C. OLIVEIRA REIS²; DEYSE A. BARBOSA²; LORRANE C. ARAUJO²; RUY S. LINO JÚNIOR³; MARTHA SIMÕES RIBEIRO¹

1.CENTRO DE LASERS E APLICAÇÕES, IPEN, SP; 2.ESCOLA SUPERIOR DE EDUCAÇÃO FÍSICA E FISIOTERAPIA, UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS, GOIANIA; 3.INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA, UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS, GOIANIA, GO

Introdução: Pacientes com Diabetes Mellitus têm dificuldades na cicatrização de feridas, por defeito na deposição de colágeno ou diminuição na síntese de fatores de crescimento. Devido a grande dificuldade de cicatrização, vários tipos de procedimentos são utilizados no tratamento desses pacientes, como o uso de alginatos de cálcio, solução fisiológica 0,9% e sulfadiazina de prata. A Terapia com Luz de Baixa Potência (TLBP) tem mostrado bons resultados para aceleração de reparo cutâneo, no entanto, poucos estudos exploram seus efeitos biológicos.

Objetivos: Avaliar a utilização da TLBP na aceleração da cicatrização de queimaduras nas fases subaguda e crônica em ratos Wistar com diabetes por análise histomorfométrica.

Métodos: Projeto aprovado pela CEUA-UFG (007/2012.100). Os animais, uma vez induzidos a diabetes com estreptozotocina e após anestesia com quetamina 10% e xilazina 2% intraperitoneal, foram submetidos à queimadura por escaldamento com água quente acima de 96°C por 14 s para indução de queimaduras de 3º grau. 30 animais foram aleatoriamente distribuídos em 2 grupos, grupo controle sem irradiação e grupo tratado. O grupo tratado foi irradiado com um laser de baixa potência (LASERMED 4098®, Carci, São Paulo, SP) com emissor GaAlAs $\lambda=650$ nm, potência 12 mW, área do spot 0,1 cm², irradiância 0,3 J e tempo 50 s. Para o tratamento, a área da queimadura era dividida em quatro quadrantes irradiados no modo pontual fluência de 6 J/cm², resultando em 24 J/cm² por sessão, totalizando 3 sessões/semana em dias alternados. Os animais receberam trocas com curativos oclusivos embebidos com sulfadiazina de prata e tiveram acompanhamento quanto aos aspectos histológicos ao longo de 14, 21 e 30 dias, na análise histológica dos processos patológicos utilizou-se a coloração por hematoxilina e eosina, já para a quantificação de colágeno foi realizada a coloração por picro-sírius. Os processos patológicos gerais descritos foram: necrose, infiltrado inflamatório de polimorfonucleares, infiltrado inflamatório de mononucleares, hiperemia, hemorragia, neoangiogênese, fibrina, fibroblastos, colágeno e reepitelização. Estes foram classificadas de forma semi-quantitativa, seguindo os seguintes critérios: ausente, discreta (com comprometimento de até 25% da área), moderada (26 a 50%) e acentuada (acima de 50%). Para a análise estatística utilizou-se o “teste t” paramétrico e resultados significativos quando $p < 0,05$.

Resultados: Os resultados obtidos para a neoangiogênese nos grupos controle e tratamento foram moderado ($2,0 \pm 0,0$) e acentuado ($3,0 \pm 0$), respectivamente o que foi estatisticamente significativo no grupo tratado em relação ao controle ao 14º dia ($p < 0,05$). A presença de fibroblastos no 14º dia no grupo controle era moderado ($2,6 \pm 0,5$) na maioria das vezes e no grupo tratado era acentuado ($3,0 \pm 0$), no 21º dia era ausente no grupo controle e no tratado acentuada ($3,0 \pm 0$), assim o número de fibroblasto foram estatisticamente significantes no grupo tratado em relação ao controle ($p < 0,05$). No grupo controle a quantificação de colágeno foi de 10,2(9,18–12,50) no 14º dia; 10,11(9,06–12,50) no 21º dia e 10,2 (9,57–14,00) no 30º dia. No grupo tratado a quantificação de colágeno foi de 12,5 (11,33–13,61) no 14º dia; 13,5 (11,53–16,40) no 21º dia e 14,2 (13,45–15,31) no 30º dia,

assim houve maior deposição de colágenos ao longo do 14º, 21º e 30º dia no grupo irradiado comparados ao controle ($p < 0,01$).

Conclusão: O tratamento reduziu a ferida ao longo do tempo, estimulando a neoangiogênese, aumento de fibroblastos e maior deposição de colágenos.

Apoio financeiro: CAPES e FAPEG.

Palavras-chave: Queimaduras; diabetes mellitus; laser de baixa potencia

[818] EFEITO DO AZUL DE METILENO FOTOATIVADO NA PROLIFERAÇÃO E VIABILIDADE EM CULTURA DE CÉLULAS DE TUMOR DE BEXIGA T24

RODRIGO LABAT MARCO*1; PATRÍCIA ALMEIDA1; MARIA CARLA PETRELLIS1; CÁSSIO REBECCHI1; GUILHERME PAIVA DA SILVA1; RENATO ARAUJO PRATES1; HUMBERTO DELLE1; RODRIGO ALVARO BRANDAO LOPES-MARTINS2

1.UNINOVE, SAO PAULO, SP, BRASIL; 2.UMC, MOGI DAS CRUZES, SP, BRASIL

Introdução: A TFD é considerada como uma nova modalidade terapêutica minimamente invasiva destinada ao tratamento localizado e destruição seletiva de diversos tipos de cânceres e desordens malignas. Esta terapia está baseada na captação e retenção seletiva do agente fotossensibilizante em sítios alvos que por sua vez sofre ativação através da irradiação de uma fonte externa de luz levando à geração de efeitos citotóxicos induzindo a morte das células tumorais. O azul de metileno é um corante fenotiazínicos que desperta grande interesse devido às suas propriedades eletrocatalíticas. Devido às suas características fotodinâmicas e fototóxicas e por demonstrar alta afinidade com a membrana mitocondrial celular, o azul de metileno têm-se destacado como um efetivo fotossensibilizante de grande potencial para à aplicação médica como agente terapêutico na TFD.

Objetivo: Estudar o efeito do azul de metileno fotoativado em células de tumor de bexiga “T24”, avaliando aspectos relacionados a proliferação e viabilidade celular.

Material e Métodos: O experimento foi realizado em duas etapas. Na primeira etapa foram cultivadas células de tumor de bexiga “T24” em meio RPMI-10%SFB. Foram plaqueadas 3000 células em placas de 96 poços, divididas nos seguintes grupos: CTL-Células tumorais sem tratamento e células tumorais tratadas com azul de metileno em 4 concentrações, divididas em 4 sub-grupos: MB0,3%; MB0,1%; MB0,03%; MB0,01%. Na segunda etapa, as células foram novamente distribuídas com 3000 em cada poço em placa de 96 poços e distribuídas nos seguintes grupos: CTL, MB0,01%, LIV+MB (780nm-1J/40mW + azul de metileno 0,01%); LV (660nm-1J/40mW+azul de metileno 0,01%) e LED (440nm-10seg + azul de metileno 0,01%). Após 1 e 3 horas da irradiação, foram realizados testes de proliferação e viabilidade celular, a partir da técnica de Cristal violeta e MTT.

Resultados e Discussão: Na primeira etapa, houve respectivamente redução da viabilidade e proliferação celular após 3 horas, nos grupos MB0,3% ($0,19975 \pm 0,02$ e $0,07488 \pm 0,006$); MB0,1% ($0,2108 \pm 0,039$ e $0,07888 \pm 0,013$) e MB0,03% ($0,18987 \pm 0,015$ e $0,0888 \pm 0,02$) comparado ao grupo CTL ($0,2985 \pm 0,027$ e $0,1168 \pm 0,016$). Já o grupo MB0,01% não apresentou alteração na viabilidade ($0,3145 \pm 0,059$ e $0,1142 \pm 0,03$), comparado ao grupo CTL. Na segunda fase, houve redução respectivamente da viabilidade e proliferação celular, 3 horas após a irradiação, no grupo LV ($0,147 \pm 0,024$ e $0,061 \pm 0,003$) comparado ao grupo CTL ($0,172 \pm 0,0231$ e $0,111 \pm 0,03$).

Conclusão: O azul de metileno, na concentração de 0,01% não alterou a taxa de proliferação bem como a viabilidade das células de tumor de bexiga “T24”. O laser de baixa intensidade no comprimento de onda vermelho reduziu a proliferação e a viabilidade celular quando irradiado em conjunto com o azul de metileno da concentração de 0,01%.

Apoio Financeiro: CNPq; Uninove

Palavras-chave: Terapia fotodinâmica; tumor de bexiga; azul de metileno

[819] EFEITO DA LASERTERAPIA NA MODULAÇÃO DA DOR EM MODELO DE TENDINITE INDUZIDA POR COLAGENASE-ASPECTOS MOLECULARES E FUNCIONAIS

RODRIGO LABAT MARCO*1; SORAYA PICCIRILLO1; PATRÍCIA ALMEIDA1; AGNES AYUMI DENO1; ROMILDO TORRES DA SILVA2; RODRIGO ALVARO BRANDAO LOPES-MARTINS2; RODRIGO LEAL DE PAIVA CARVALHO3; RODNEY CAPP PALLOTTA1
1.UNINOVE, SAO PAULO, SP; 2.UMC, MOGI DAS CRUZES, SP; 3.USC, BAURU, SP

Introdução: As tendinopatias são alterações na saúde do tendão, onde o tratamento 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.

Objetivo: Etudar o efeito do laser de baixa intensidade na expressão gênica de COX-2, neurocinina 1 e na melhora de parâmetros funcionais.

Material e métodos: Foram utilizados ratos Wistar machos pesando entre 150 e 200g, provenientes do Biotério da UNINOVE (Comitê de ética AN0037). Os animais foram separados em 4 grupos: Controle, com tendão saudável (CTL), Tendinite não tratado (NT), Tendinite e tratado com Diclofenaco de sódio (DIC) e Tendinite tratado com Laser de baixa potência (L3J) nos seguintes parâmetros de irradiação: (Laser CW - contínuo; 830nm; 107,14J/cm²; 3J; 100mW e diâmetro do feixe = 0,028cm. Para indução da tendinite os animais dos grupos NT, DIC, L3J foram anestesiados e receberam injeção transcutânea de colagenase (100µg/animal) na região posterior da pata direita, no tendão calcâneo. Os tratamentos iniciaram imediatamente após a indução da tendinite e continuaram diariamente até o 7º dia. Foi realizado diariamente o teste de compressão na pata dos animais (Randall & Selitto) até o 7º dia e então os animais foram eutanasiados e o tendão foi removido para análises.

Resultados e Discussão: Os animais do grupo NT apresentaram aumento na expressão de COX-2 e NK1 (223,260100±10.692710 UA) comparados ao grupo CTL (100±4,0251 UA). Ambos os grupos DIC e L3J apresentaram respectivamente redução na expressão de COX-2 e NK1 (88,656130 ±11,444890UA e 56,871650±32,277470UA) comparadas ao grupo NT. O grupo L3J apresentou melhora nos parâmetros funcionais de compressão da pata (1,56667±6,908208g), com valores similares ao grupo controle (-0,8±3,051119g) quando comparados ao grupo NT (-24,04±12,89178g).

Conclusão: A terapia com laser de baixa potência modulou a expressão da enzima inflamatória COX-2, controlando o processo doloroso a partir da diminuição na expressão de neurocinina e melhora de determinados parâmetros funcionais.

Apoio Financeiro: CNPq processo: 426903/2016-1.

Palavras-chave: Fotobiomodulação; tendinite; dor

[824] NANOPARTÍCULAS DE OURO COMO AGENTE FOTOSSENSIBILIZADOR PARA ATEROSCLEROSE

KARINA OLIVEIRA GONÇALVES*; DANIEL PEREZ PEREZ VIEIRA; LILIA CORONATO COURROL

UNIFESP, DIADEMA, SP, BRASIL.

Introdução: A aterosclerose é uma doença multifatorial, lenta e progressiva, que surge no interior das artérias, decorrente da formação de placas de ateroma. Estudos demonstraram que a protoporfirina IX (PpIX) induzida por administração endógena de ácido aminilevulínico (5-ALA) pode ser detectada por fluorescência e reflete o conteúdo de macrófagos na placa.

Objetivos: Nosso objetivo é sintetizar nanopartículas de ouro biocompatíveis e aplicá-las como veículo para entregar o metilaminolevulinato (MAL:AuNps) como , fotossensibilizador seletivo na terapia fotodinâmica.

Métodos: Para a síntese das MAL:AuNps foram utilizados o tetracloroaurato de hidrogênio (HAuCl₄) e o MAL, que foram diluídos em água deionizada. A solução foi irradiada por uma lâmpada de Xenônio de 300 Watts para a foto redução do ouro. As MAL:AuNps foram caracterizadas com absorção óptica UV/Vis, microscopia eletrônica de transmissão e Potencial Zeta. Foram realizados testes de citotoxicidade em placas de 96 poços com células humanas THP-1, que foram diferenciadas em macrófagos, utilizando o Phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA). Após a diferenciação, as células receberam doses de MAL:AuNps (10 µL) e foram incubadas em estufa por 4 horas. Para a PDT foi utilizado um LED Âmbar com 590 nm (~100mW) por 2 minutos. Após a PDT, as células foram incubadas por 24 horas e depois foi realizado o ensaio de viabilidade celular (MTS).

Resultados: Os resultados demonstraram que é possível a síntese de nanopartículas de ouro com o MAL, e os ensaios citotóxicos para as células de THP-1 mostraram que, na concentração utilizada sem a realização da terapia, não ocorre morte celular, contudo quando a terapia fotodinâmica é feita, há um aumento de morte celular de 62,98%.

Conclusão: Foi possível a síntese de nanopartículas de ouro conjugadas com o metilaminolevulinato. Em baixas concentrações a solução de MAL:AuNps não apresenta alto grau de citotoxicidade para as células de THP-1, contudo quando a PDT é realizada, ela potencializa a ação das nanopartículas, levando à morte celular.

Palavras-chave: Nanotecnologia; aterosclerose; pdt

[834] **AVALIAÇÃO IN VITRO DE TERAPIA FOTODINÂMICA COM NANOPARTÍCULAS REDOX-RESPONSIVAS DE PPIX**

ILAIÁLI SOUZA LEITE*1; JUAN LUIS VIVERO-ESCOTO2; VANDERLEI SALVADOR BAGNATO1; NATALIA MAYUMI INADA1

1.IFSC-USP, SAO CARLOS, SP; 2.CHEMISTRY DEPARTMENT-UNC CHARLOTTE, CHARLOTTE, USA

Introdução: A investigação da interação da luz com substâncias fotoativas para promover morte celular foi introduzida por Oscar Raab (1800). Desde então, a Terapia Fotodinâmica (TFD) foi proposta para tratar diversas doenças. O câncer está entre as principais causas de mortalidade no mundo e tem sido avaliado em pesquisas e ensaios clínicos utilizando TFD nos últimos 35 anos (The Lancet Oncology, 5, 497, 2004). Embora possa ser prescrita para tratamento de lesões pré-cancerosas e alguns tipos de câncer, sua eficácia é limitada pelo pouco acúmulo do fotossensibilizador no local do tratamento. A nanotecnologia tem abordado o problema de entrega de fármacos através do desenvolvimento de plataformas nanoestruturadas capazes de aumentar diversas propriedades farmacológicas de moléculas, como solubilidade e meia-vida circulante (Nano Letters, 10, 3223, 2010). A associação do potencial da nanotecnologia para melhorar a entrega do fotossensibilizador para tecidos-alvo com o dano oxidativo da TFD para induzir a morte celular tem despontado como perspectiva promissora de otimização do tratamento do câncer.

Objetivos: Verificar e comparar a eficiência da TFD usando nanopartículas redox-responsivas à base de sílica contendo protoporfirina IX (PpIX) em ensaios “in vitro” com células tumorais e células saudáveis.

Métodos: Foram estudadas quatro nanopartículas polisilsesquioxano-PpIX: uma composta de sílica e PpIX (denominada Ctrl-PpIX-SiNps); uma nanopartícula similar ao sistema anterior que contém um ligação redox-responsiva entre o fotossensibilizador e a sílica (nomeada de RR-PpIX-SiNps); o sistema RR-PpIX-SiNps funcionalizado com polietilenoglicol (PEG, chamado de PEG-RR-PpIX-SiNps) e as nanopartículas PEG-RR-PpIX funcionalizadas com ácido fólico (FA-PEG-RR-PpIX-SiNps). A citotoxicidade das nanopartículas foi avaliada em células saudáveis (fibroblastos humanos-células HDFn e queratinócitos-HaCaT) e células tumorais (MCF-7 - carcinoma mamário humano e melanoma de pele murina B16-F10): a curva de dose-resposta das plataformas Ctrl-PpIX-SiNps, RR-PpIX-SiNps e PEG-RR-PpIX-SiNps foram determinadas em culturas em monocamada de B16-F10 e HDFn quando expostas por 24 horas a concentrações variando de 50 a 300 µg/mL. Após esse período, as amostras foram irradiadas usando um dispositivo caseiro composto por LEDs de 630 nm (desenvolvido pelo Laboratório de Suporte Técnico do Instituto de Física de São Carlos) com 50 J/cm². A viabilidade celular foi determinada pelo ensaio MTT (5 mg/mL, Sigma, EUA), absorção por espectrofotômetro de microplacas MultiskanTM Go (ThermoFisher Scientific, EUA). Também foi estudada a comparação da eficácia da TFD entre a PpIX nanoestruturada e a PpIX livre (Sigma, EUA) em culturas de MCF-7 e HaCaT: solução de PpIX livre e soluções das quatro nanopartículas foram preparadas para concentração final de PpIX equivalente a 15 µg/mL, e os mesmos parâmetros de incubação, irradiação e ensaio de viabilidade descritos no experimento de dose-reposta foram utilizados.

Resultados: Os experimentos de dose-resposta revelaram maior susceptibilidade da linhagem celular B16-F10 à TFD com as nanopartículas do que as células HDFn: quando incubadas com 50 µg/mL de RR-PpIX-SiNps, a viabilidade das células B16-F10 foi reduzida para aproximadamente 20%, enquanto resultados semelhantes foram obtidos em culturas HDFn quando soluções com concentrações superiores a 150 µg/mL foram utilizadas. A comparação entre PpIX livre e nanoestruturada mostrou que as células MCF-7 foram mais propensas a efeitos citotóxicos da TFD (apresentando 70% de morte celular) do que a linhagem celular HaCaT (menos de 30% da morte

celular). A PpIX livre, no entanto, apresentou alta fototoxicidade tanto para as células MCF-7 quanto para HaCaT, induzindo mais de 90% da morte celular em ambas as linhagens celulares.

Conclusões: As nanopartículas polisilsesquioxano-PpIX estudadas apresentaram maior fototoxicidade para ambas as células tumorais avaliadas, preservando a viabilidade das células na ausência de luz. A PpIX livre apresentou elevadas porcentagens de morte celular para células tumorais e saudáveis, com redução de viabilidade similar para ambas as linhagens. Os resultados indicam que a PpIX nanoestruturada tem potencial de causar maior impacto sobre a viabilidade celular de células tumorais do que na de células saudáveis quando os mesmos parâmetros são utilizados. Esse efeito não foi verificado quando as células foram expostas à PpIX livre, indicando que o uso das nanopartículas redox-responsivas pode produzir morte de células tumorais e reduzir o dano aos tecidos saudáveis.

Apoio Financeiro: CNPq (Proc. N. 158869/2015-0); FAPESP (CEPID/CEPOF Proc. N. 13/07276-1 e SPRINT processo 2015/50471-5); UNCC-FRG e o prêmio UNCC-FAPESP SPRINT

Palavras-chave: Terapia fotodinâmica; ppix; nanotecnologia

RESUMOS

EIXO TEMÁTICO: EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL

[803] **PEPTIDE LYETX I MNΔK: A POTENTIAL ANTIMICROBIAL AGENT**
LEONARDO LIMA FUSCALDI*; JOAQUIM T. DE AVELAR JÚNIOR; DAIANE BOFFI;
DANIEL M. DOS SANTOS; VÍVIAN L. S. DE OLIVEIRA; LAYS M. DA MATA; SARA M.
LOPES CONTARINI; SUED E. MENDES MIRANDA; FLÁVIO ALMEIDA AMARAL;
SIMONE O. F. DINIZ; MARIA ELENA DE LIMA; VALBERT N. CARDOSO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS, BELO HORIZONTE, MG, BRASIL

Introduction: The emergence of resistance to current antibiotics and the incidence of opportunistic bacterial infections have stimulated the search for new antibiotic agents. In this sense, antimicrobial peptides are promising molecules due to their different mechanisms of action compared to classic antibiotics. Peptides LyeTx I (*Lycosa erythrognatha* venom) and LyeTx I mnΔK (truncated and modified derivative) present in vitro antimicrobial activity.

Aim: To evaluate in vivo antimicrobial activity of LyeTx I mnΔK in an experimental model of septic arthritis.

Methods: CEUA/UFMG: protocol nº 236/2014. At day 0, male C57/BL6 mice (~7 weeks; ~25 g) were inoculated with 10 µL of a *S. aureus* (ATCC® 6538) suspension (8×10^7 CFU/mL) or of sterile PBS (negative control group) by intraarticular injection (i.a.) in the right posterior articulation. At days 2, 4 and 6, mice were treated, by i.a., with clindamycin, LyeTx I or LyeTx I mnΔK (7.35, 0.08, 0.08 nmol/i.a., respectively). The positive control group received saline as treatment. At day 2 (before the first dose) and at day 7, an aliquot containing 7.4 MBq of technetium-99m-Ceftizoxime (99mTc-CFT) was injected into the tail vein of mice. At 2 h post-radiopharmaceutical injection, animals were anesthetized and placed under a gamma camera (Nuclide™ TH 22). Images were acquired during 5 min and quantitative analyzed to determine 99mTc-CFT uptake by infectious focus, by means of target to non-target ratio (t/n-t) determination. Beyond scintigraphic images, animals were conducted to some other investigations post-treatment (at day 7). First, bacterial recovery assay was performed in order to assess pathogen reduction in the infected joint. Then, inflammatory process reduction was evaluated by the determination of immune cells recruitment. Finally, the removal threshold hypernociception was measured aiming to estimate pain. Quantitative data were expressed as 'mean±error' (n=4-6) and analyzed by ANOVA, followed by Tukey test (p-values < 0.05).

Results: At day 2, image analysis revealed higher 99mTc-CFT uptake by infectious focus (t/n-t=1.28±0.01; n=20) compared to the corresponding area of negative control group (t/n-t=0.97±0.03; n=5). At day 7, images showed higher 99mTc-CFT uptake by infectious focus of positive control group (t/n-t=1.81±0.04; n=5) compared to those groups treated with clindamycin, LyeTx I and LyeTx I mnΔK (t/n-t=1.04±0.06, 1.12±0.08, 1.14±0.05, respectively; n=5; no statistical difference among them). Bacterial recovery assay was in agreement with image analysis, showing that the amount of bacterial recovery of positive control group (1445±223 CFU/joint; n=6) was higher than those obtained for the groups treated with clindamycin, LyeTx I and LyeTx I mnΔK (225±86, 519±159, 234±84 CFU/joint, respectively; n=5). In addition, immune cells recruitment assay revealed inflammation reduction of treated mice (n=5), followed by increments in the removal threshold hypernociception (n=4), suggesting pain reduction. Although there was no statistical difference between treatments, peptides were employed at a dose about 92-times lower than that of clindamycin and the proposed truncation and modification in the amino acid residues sequence optimized peptide synthesis without compromising the in vivo antimicrobial activity.

Conclusion: LyeTx I mnΔK was effective as antimicrobial agent in this experimental model of septic arthritis induced by *S. aureus*.

Financial Support: CAPES; CNPq; FAPEMIG.

Key words: Peptide lyetx i mnΔ k; antimicrobial agent

[805] AVALIAÇÃO DA IMAGEM PET E BIODISTRIBUIÇÃO EX VIVO DO RADIOFÁRMACO 18F-FLUORESTRADIOL EM ANIMAIS SADIOS

ANA C. DE ARAUJO BISPO^{*1}; MARINA BICALHO SILVEIRA¹; RODRIGO M. GADELHA GONTIJO¹; MARINA R. DE ARAUJO CAMPOS¹; CARLOS MALAMUT¹; JULIANA BATISTA SILVA¹; MARCELO MAMEDE²

1.CDTN/CNEN, BELO HORIZONTE; 2.UFMG, BELO HORIZONTE, MG, BRASIL

Introdução: O 18F-Fluoroestradiol (18F-FES), análogo do estradiol, é um radiofármaco que pode ser utilizado para diagnóstico precoce e não-invasivo do câncer de mama através da Tomografia por Emissão de Pósitrons (PET). A técnica permite avaliar a captação do radiofármaco pelas células tumorais, contribuindo na determinação da terapia a ser utilizada, estadiamento da doença, prognóstico e resposta terapêutica. O estudo de biodistribuição ex vivo e a imagem PET utilizando camundongos possibilitam investigar a segurança e a eficácia de um radiofármaco durante a fase de ensaios não-clínicos.

Objetivos: Avaliar a captação fisiológica do 18F-FES em camundongos sadios por meio de estudos de biodistribuição ex vivo e de imagem PET.

Metodologia: Projeto aprovado pelo CONCEA CDTN/CNEN (002/16). No estudo de biodistribuição, o 18F-FES foi administrado em 25 camundongos Swiss fêmeas, por via endovenosa. Os animais foram divididos em 5 grupos e sacrificados, por deslocamento cervical, 5, 30, 60, 120 e 180 minutos, após a administração. Foram coletadas amostras de: baço, bexiga, cérebro, coração, fígado, intestinos delgado e grosso, músculo, osso, ovários, pâncreas, pulmões, rins, útero e alíquotas de sangue para medida da radioatividade, utilizando contador gama (Wizard2, Perkin Elmer). Os dados foram tratados e expressos como porcentagem de dose injetada por grama de tecido (%DI/g) ou por volume de sangue (%DI/ μ L). Os dados finais foram analisados pelo teste ANOVA two-way e teste de Bonferroni ($p < 0,05$). Para obtenção das imagens, o 18F-FES foi administrado em 3 camundongos Swiss fêmeas, por via endovenosa. As imagens foram realizadas em MicroPET (LabPET 4, GE), 60 min após a administração e sob anestesia com isoflurano 2% em oxigênio. Foram adquiridas imagens estáticas em 5 posições de cama com 3 minutos cada. Após o ensaio, os animais foram eutanasiados por deslocamento cervical. As imagens foram reconstruídas com o software PMOD, FOV de 60 mm, método MLEM-3D com 20 iterações.

Resultados: A biodistribuição demonstrou captação elevada de 18F-FES nos tempos de 5 e 30 minutos pós-injeção, nos órgãos em geral, quando comparados aos tempos de 60 a 180 minutos. Para o intestino foram encontrados valores iguais a $11,9 \pm 3,6$ %DI/g, $10,2 \pm 8,5$ %DI/g, $2,5 \pm 1,6$ %DI/g, $1,0 \pm 0,6$ %DI/g e $0,4 \pm 0,2$ %DI/g, nos tempos de 5, 30, 60, 120 e 180 minutos, respectivamente. Não foi observada diferença estatística na captação dos órgãos a partir do tempo de 60 minutos. Em todos os tempos analisados, os órgãos que apresentaram maior captação foram fígado, intestino delgado e útero, que acumularam, no tempo de 60 minutos após injeção, $2,2 \pm 0,6$ %DI/g; $2,5 \pm 1,6$ %DI/g e $2,9 \pm 1,2$ %DI/g, respectivamente. Na imagem PET, pôde-se observar que o radiofármaco proporciona uma imagem com pouca ou nenhuma captação de fundo, com captação fisiológica especialmente na vesícula biliar, intestino delgado e parte do intestino grosso. Apesar da alta captação obtida no fígado, na biodistribuição, sugere-se ser proveniente da vesícula biliar, uma vez que esses órgãos foram retirados em conjunto. O útero não fora observado devido à sua sobreposição pelo intestino.

Conclusão: O radiofármaco 18F-FES apresentou um perfil de biodistribuição correspondente ao metabolismo do estradiol e à sua interação em órgãos com receptores de estrógenos, encorajando, assim, a investigação deste radiofármaco para estudos de neoplasias de mama.

Apoio Financeiro: CAPES, CDTN/CNEN.

Palavras-chave: 18f-fluorestradiol; PET; pré-clínico

[830] COMPARATIVE STUDY OF TRICARBONILIC COMPLEXES OF ^{99m}Tc IN THE DIAGNOSIS OF FUNGAL INFECTIONS

LETICIA GABRIELA FERNÁNDEZ*¹; ANA LAURA REYES²; MARIELLA ADRIANA TERAN¹

1.FACULTAD DE QUIMICA, MONTEVIDEO; 2.CUDIM, MONTEVIDEO, URUGUAI

Introduction: Clinical-epidemiological studies show that the incidence of fungal infections has experienced a substantial increase in the last years. Our working group focused on the radioactive labelling of commercially available antifungal agents and their evaluation as potential specific tracer agents for fungal infections (Curr Radiopharm, 2014, 7(2), 144-150).

Objective: Optimization of various antifungal agents labelling using ^{99m}Tc tricarbonyl complexes and their subsequent evaluation in vitro and in vivo as radiotracers in the detection, through scintigraphic images, of fungal infections.

Methodology: Complexes were obtained by substitution of the precursor triaquotricarboniltechnetium (I) with the antifungals: Caspofungin, amphotericin b, Voriconazole and Fluconazole[2]. The physicochemical evaluation of the complexes was performed by the analysis of the stability in milieu, stability in plasma, lipophilicity, plasma protein binding and binding to yeasts. The biological evaluation of the complexes was carried out according to the protocol 070510 approved by the Commission of Animal Experimentation (University of the Republic, Uruguay). The model used consisted of CD1 mice (n=4 per group), females of 8-10 weeks with a weight of 22 ± 2 g. The groups studied were: G0=healthy animals, G1=sterile inflammation, G2=infection by C.albicans and G3=infection by A.niger. The lesions were induced by inoculation of 100 μL of the agents in the left hind thigh. Once the lesions were developed, the complexes were administered iv (37MBq, 1mCi in 0.1mL) and biodistribution studies were performed at various post-injection times. In addition, images were acquired in a preclinical image system for animals for 60 min, 40 mm ROR, 5-pinhole collimator, 80x80 pixel array.

Results: All the complexes were obtained with a radiochemical purity higher to 90,0% and were stable more than 4 hours post substitution.

Plasma stability, Log P, Protein binding and C.Albicans Binding, respectively: [99m-Caspofungin] 95 ± 1.3 ; 0.64 ± 0.05 ; 79.2 ± 0.8 and 22.9 ± 1.5 ; [99mTc-Amphotericin] 93 ± 1.7 ; -0.69 ± 0.03 ; 46.1 ± 2.4 and 42.2 ± 2.8 ; [99mTc-Voriconazole] 64 ± 2.6 ; -0.02 ± 0.001 ; 65.5 ± 0.5 and 12.0 ± 1.3 and [99mTc-Fluconazole] 50 ± 0.9 ; -0.31 ± 0.02 ; 76.8 ± 2.0 and 13.9 ± 1.3 . Results are presented for the optimum biodistribution times (BD) found for each complex Target/ non Target ratio ($\bar{x} \pm \text{sd}$), respectively, BD time (hs), G1, G2 and G3: [^{99m}Tc - Caspofungin] 12; 1.3 ± 0.3 ; 5.4 ± 0.3 and 3.7 ± 0.3 ; [99mTc-Amphotericin] 6; 2.4 ± 0.2 ; 4.7 ± 0.6 and 2.3 ± 0.5 ; [99mTc- Voriconazole] 3; 1.7 ± 0.1 ; 2.6 ± 0.2 and 1.2 ± 0.1 ; [99mTc- Fluconazole] 3; 2.5 ± 0.3 ; 1.4 ± 0.1 and 2.3 ± 0.4 . The biological behavior of the complexes was characterized by low activity in blood and muscle; except for [$^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3$ -Amphotericin] that presented high renal elimination, clearance of the remaining complexes was mainly via the hepatobiliary route. The scintillation images confirmed the behavior seen in the biodistributions.

Conclusions: Both fluconazole and voriconazole were easily labelled, but their in vivo behavior did not meet the requirements of sensitivity and specificity, therefore these complexes are discarded as agents for diagnosis by scintigraphy. The Amphotericin and Caspofungin complexes showed better profiles in vitro and in vivo, the latter providing better scintigraphic images.

J Mic Meth.,2001, 47(2), 151-157.

Key words: Infection; antifungals; tricarbonyl

[831] IMAGING HER2 IN RESPONSE TO T-DM1 THERAPY IN BREAST CANCER XENOGRAFTS

ADRIANA VIDAL MASSICANO^{*1}; TOLULOPE AWEDA¹; BERNADETTE MARQUEZ-NOSTRA; REETA EL SAYED; REBECCA BEACHAM; SUZANNE LAPI
UNIVERSITY OF ALABAMA AT BIRMINGHAM, BIRMINGHAM, ESTADOS UNIDOS

Introduction: Monoclonal antibodies (mAbs) have become broadly used for the treatment of cancer because they can be engineered to bind specifically to the target and therefore typically have less toxicity compared to broad spectrum chemotherapies (Jauw YWS, Menke-van der Houven van Oordt CW, Hoekstra OS, et al. *Front Pharmacol* 2016, 7:1-15). Ado-trastuzumab emtansine (T-DM1) is a newly approved HER2 targeted therapy which consists of a cytotoxic agent (DM1) linked to trastuzumab and has shown promising results in patients with HER2 positive metastatic breast cancer (Barok MT, Köninki M, Isola K et al. *Breast Cancer Res* 2011, 13:1465-5411). Although ¹⁸F-FDG is considered the gold standard in the diagnosis and staging of various types of cancer, it is a relatively non-specific marker (Janjigian YY, Viola-Villegas N, Holland JP, Divilov V, Carlin SD et al. *J Nucl Med* 2013;54:936-43). Alternatively, ⁸⁹Zr-Pertuzumab which binds to a different epitope than trastuzumab on the HER2 receptor has shown high selectivity in imaging variations in HER2 expression in breast cancer xenograft models (Marquez BV, Ikotun OF, Zheleznyak A, Wright B et al. *Mol Pharm* 2014;11:3988-95). Therefore, in this work, we investigated the specificity of ⁸⁹Zr-Pertuzumab compared to ¹⁸F-FDG to identify early response to ado-trastuzumab emtansine (T-DM1) in a breast cancer xenograft model.

Methods: Pertuzumab was conjugated top-NCS-Bz-DFO at varying molar ratios and labeled with ⁸⁹Zr in different conditions. The optimal conditions were used in further in vitro and in vivo studies. In vivo PET imaging was conducted in nude female mice implanted with 17 β -estradiol pellets and inoculated with 1x10⁷ BT-474 HER2 positive breast cancer cells. In order to acquire baseline images, mice were injected via tail-vein with 200 μ Ci of ¹⁸F-FDG and imaged after 1 hour. The following day, they were injected with 100 μ Ci of ⁸⁹Zr-Pertuzumab (20 μ Ci/ μ g) imaged 5 days post injection. After baseline imaging, mice received saline (control group) or 15 mg/kg T-DM1 (study group) via tail-vein and the imaging schedule was repeated two weeks post T-DM1 injection. The tumor sizes were measured with calipers weekly.

Results: Pertuzumab was conjugated to p-NCS-Bz-DFO at a molar ratio of 1:16 and successfully radiolabeled with ⁸⁹Zr (20 μ Ci/ μ g) with radiochemical yield higher than 95%. ⁸⁹Zr-Pertuzumab has shown good stability in NaCl 0.9% at room temperature and at 4 °C as well in human serum and PBS at 37 °C.

Two weeks post T-DM1 therapy, the tumor volume in control group increased in 219% whereas, in the study group, the tumors decreased 48% in volume. The ¹⁸F-FDG images showed non-specific uptake in heart and brown fat with relatively little tumor uptake. In contrast, ⁸⁹Zr-Pertuzumab images showed more specificity in vivo with good tumor delineation which lead to a clear visualization of changes in tumors size after T-DM1 therapy.

Conclusions: ⁸⁹Zr-Pertuzumab may provide a novel imaging probe for monitoring the response of breast cancer patients to T-DM1 therapy.

Acknowledgment and Funding: Lapi Lab and the UAB Cyclotron Facility for the production of ⁸⁹Zr; UAB Department of Radiology.

Key words: ⁸⁹Zr-pertuzumab; immuno-pet; HER2

RESUMOS

EIXO TEMÁTICO: RADIOBIOLOGIA E BIODOSIMETRIA

[787] AVALIAÇÃO DO EFEITO DE TRÊS METAIS CONSTITUINTES DA MONAZITA SOBRE A RADIOSENSIBILIDADE DE OSTEOBLASTOS HUMANOS

LUCAS KIYOSHI DA FONSECA IWAHARA*; MONICA STUCK OLIVEIRA; MARCUS ALEXANDRE VALLIM ALENCAR

INSTITUTO DE RADIOPROTEÇÃO E DOSIMETRIA, RIO DE JANEIRO, RJ, BRASIL

Introdução: Tório (Th), cério (Ce) e lantânio (La) são metais presentes na monazita, em associação com outros elementos do grupo das terras raras. Os profissionais que trabalham nos processos de separação e purificação da monazita estão sujeitos à incorporação de aerossóis contendo os três metais, à radiação externa proveniente de elementos instáveis no local e à radiação interna decorrente da incorporação de Th. Agentes metálicos podem aumentar ou inibir os efeitos radioinduzidos em tecidos vivos, através de modificações na radiosensibilidade de células alvos. Tais ocorrências podem contribuir para o risco ocupacional desses trabalhadores, com a intensificação de efeitos radioinduzidos.

Objetivos: O objetivo do trabalho é avaliar a radiosensibilidade de osteoblastos humanos em meios contendo Th, Ce e La, submetidos ou não, à radiação ionizante.

Métodos: A linhagem celular utilizada nesse trabalho foi a MG63, modelo de osteoblastos humanos, derivada de osteosarcoma. As concentrações escolhidas para os metais foram as seguintes: 0, 0,25 mM, 0,50 mM, 0,75 mM e 1 mM. Os osteoblastos foram distribuídos em duas placas de 96 poços, a uma densidade de 40.000 células por poço. Na primeira placa, os osteoblastos foram expostos aos três metais e na segunda placa, as células foram expostas aos três metais e irradiadas com 1 Gy de uma fonte selada de ^{60}Co , da empresa Picker X-ray Corporation (USA). Após 48h, os sobrenadantes de cada poço foram descartados e foi feita a estimativa da proliferação celular, usando o método colorimétrico de redução do sal de tetrazolium MTT. Após 24h, as placas foram lidas em um espectrofotômetro no comprimento de onda de 570 nm. Para a comparação da radiosensibilidade entre grupos não irradiados e irradiados, utilizou-se o teste de t-student e o teste de Man-Whitney, para duas amostras. O programa utilizado para as análises estatísticas foi o IBM SPSS Statistics, versão 21.

Resultados: Compararam-se os índices de proliferação, em valores percentuais relativos ao controle, entre amostras não irradiadas e amostras irradiadas, para avaliar os efeitos dos metais sobre a radiosensibilidade dos osteoblastos. Em osteoblastos expostos ao Th, observou-se decréscimo ($p < 0,05$) na proliferação de células irradiadas nas concentrações de 0,50 mM ($2,41 \pm 0,52$ para amostras não irradiadas e $0,64 \pm 0,31$ para amostras irradiadas), 0,75 mM ($3,89 \pm 0,32$ e $1,0 \pm 0,22$) e 1 mM ($3,44 \pm 0,58$ e $1,18 \pm 0,27$). Em osteoblastos expostos ao Ce, observou-se decréscimo ($p < 0,05$) na proliferação de células irradiadas nas concentrações de 0,25 mM ($0,97 \pm 0,28$ para amostras não irradiadas e $-0,05 \pm 0,39$ para amostras irradiadas), 0,75 mM ($1,48 \pm 0,42$ e $0,24 \pm 0,32$) e 1 mM ($1,56 \pm 0,23$ e $-0,34 \pm 0,10$). Em osteoblastos expostos ao La, observou-se decréscimo ($p < 0,05$) na proliferação de células irradiadas nas concentrações de 0,25 mM ($0,30 \pm 0,42$ para amostras não irradiadas e $-0,49 \pm 0,10$ para amostras irradiadas), 0,50 mM ($0,48 \pm 0,36$ e $-0,65 \pm 0,20$), 0,75 mM ($0,85 \pm 0,56$ e $-0,46 \pm 0,23$) e 1 mM ($0,37 \pm 0,52$ e $-0,48 \pm 0,14$).

Conclusões: Os três metais podem influenciar a radiosensibilidade de osteoblastos humanos, indicando um maior risco ocupacional e a necessidade do desenvolvimento de modelos de avaliação de risco para profissionais expostos. Futuros trabalhos serão realizados com misturas químicas contendo tório, cério e lantânio, para avaliar as possíveis interações entre os metais das misturas e os impactos sobre a radiosensibilidade de células ósseas.

Apoio financeiro: CAPES

Palavras-chave: Efeitos radioinduzidos; proliferação celular; risco ocupacional

[788] **DOWNREGULATION OF NF-KB1 ENHANCES THE RADIOSENSITIVITY OF RENAL CELL CARCINOMA**

AMANDA IKEGAMI*; LUIZ FELIPE TEIXEIRA DA SILVA; MARIA HELENA BELLINI IPEN, SAO PAULO, SP

Introduction: Clear cell renal cell carcinoma (ccRCC) accounts for ~80% of all renal cell carcinomas (RCC) and has the Von Hippel–Lindau (VHL) tumor suppressor gene mutated. The lack of VHL protein leads to a constitutionally active Hypoxia Inducible Factor (HIF) pathway that confers both chemoresistance and radioresistance for renal tumor. HIF pathway is known to interact with the transcription factor nuclear factor kappa B (NF-κB). Increased NF-κB activity is associated with the development and progression of RCC (IKEGAMI A, TEIXEIRA LF, BRAGA MS et al. The American Society for Cell Biology 2016; 26: 3948-3955).

Objective: Evaluate the synergistic effect of NF-κB1 knockdown and ionizing radiation in murine renal adenocarcinoma cell line.

Methods: The murine renal adenocarcinoma cell line (Renca cells) (ATCC, USA) was cultured in RPMI 1640 supplemented with 10% FBS and penicillin/streptomycin. Lentiviral shRNA vector was used to knockdown of NF-κB1 gene in Renca cells, as described previously (1). In the clonogenic cell survival assay, the cells were irradiated by ⁶⁰Co source in the range from 0 to 10 Gy, using the GammaCell 220 – Irradiation Unit of Canadian-Atomic Energy Commission Ltd. (CTR-IPEN). After 10-14 days of culture, cell colonies were fixed and stained with formaldehyde 4% and rhodamine B 2% and counted. To assess cell viability, tetrazolium [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-MTS] was performed within 24 hours after irradiation at a dose of 10Gy. The survival variables α e β were fitted according to the linear quadratic equation ($SF = \exp[-\alpha D - \beta D^2]$); SF=survival fraction, D=dose of irradiation and P value was determined by F test. Multiple comparisons were assessed by One-way ANOVA followed by Bonferroni's tests with GraphPad Prism version 6.0 software. $P < 0.05$ was considered statistically significant. Data are shown as the mean \pm SD.

Results: The Renca-shRNA-NF-κB1 cells were found to be significantly more radiosensitive than controls - Renca-WT and Renca-Mock, ($P < 0.001$ vs Renca-Mock). The ratio α/β was increased in Renca-shRNA-NF-κB1: -0.177 ± 0.677 compared with 7.368 ± 1.833 and 11.960 ± 5.240 of the Renca-WT and Renca-Mock, respectively. There was no significant difference in the survival fraction between Renca-WT and Renca-Mock groups. The lethal dose 50% (LD50) of Renca-WT was 3.33 Gy and Renca-Mock was 3.288 Gy whereas for the Renca-shRNA-NF-κB1 group it was 2.08 Gy. Corroborating these data, the Renca-shRNA-NF-κB1 showed reduction of $16.75 \pm 0.06\%$ in the viability when compared to the Renca-Mock ($P < 0.001$).

Conclusion: The knockdown of NF-κB1 gene mediated by shRNA on Renca cells led to a decrease in the radioresistance. Therefore, this gene can be a therapeutic target for CCR treatment.

Financial Support: FAPESP and CNEN.

Key words: Radioresistance; nf-κb1; renal adenocarcinoma

[794] **UPREGULATION OF PEROXIDEROXIN-6 IN HUMAN RENAL ADENOCARCINOMA CELLS 786-0, AFTER IONIZING RADIATION**

EVELIN CAROLINE DA SILVA*; MARIA HELENA BELLINI

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES - IPEN, SÃO PAULO, SP

Introduction: Renal cell carcinoma (RCC) accounts for 3% of human malignancies and approximately 90% of renal malignancies and among urological tumors. RCC is quite resistant to conventional radiotherapy. This technique allows the dose of radiation, in a single fraction, to be precisely applied to the tumor and the tissues adjacent to it, most of the time, are spared. Proteomics has allowed large-scale studies of protein expression in different tissues and body fluids, under different conditions and / or times. Mass spectrometry allows the identification and quantification of thousands of proteins and peptides in a biological fluid or lysed cells, and is analyzed on a platform to identify differences in the expression of proteins associated with cancer cell proliferation and to establish potential biomarkers predictive of the response therapy. The peroxidoxin- 6 (PRDX 6) protein encoded by this gene is a member of the antioxidant protein family. The PRDX family contains six members that function in detoxifying ROS and providing cytoprotection from internal and It may play a role in the regulation of phospholipid turnover as well as in protection against oxidative injury.

Aim: To analyze the expression of PRDX6 in 786-0 cells, after radiation.

Methods: A cell culture of the 786-0 cells was performed and to evaluate the mitotic potential, the clonogenic assay was performed with doses of 2 to 10 Gy irradiated in GammaCell (CTR, IPEN) and incubated for 10 days in normoxia conditions. After 10 days, the colonies of the respective doses were stained with methanol 20% and crystal violet 0,5% and counted, and the multiple comparisons was analyzed by One-way ANOVA followed by Bonferroni's test and at the defined dose the cells were irradiated and the cytoplasmic proteins were extracted by the PE kit Subcellular proteome extraction (Merck, USA), dosed by the Lowry method and stored at -20°. For the qualitative analysis of proteins, SDS-PAGE was performed with 50ug of protein and the protein band obtained was digested and analyzed by nanoUPLC tandem nanoESI-MSE mass spectrometry in the LNBio laboratory in Campinas-SP. The generated result was analyzed by MASCOT server for peptides searches and quantitatively analyzed by scaffoldTM 4.6 software.

Results: After the clonogenic assay was performed, 8 Gy was defined as the dose for cell irradiation, an average protein yield of 786-0 non-irradiated $2,59 \pm 0,07$ mg/mL and 786-0 irradiated with $3,13 \pm 0,67$ mg/mL was obtained. Mass spectrometry revealed the presence of the PRDX6 protein with a 95% coverage and a fold-change of 3.1 compared to the non-irradiated group.

Conclusion: The overexpression of PRDX6 after radiation, suggests a potential role for PRDX6 in protection against oxidative stress and a radioresistance to renal cells,

Financial suport: CNEN and FAPESP

Palavras-chave: Prdx6; ionizing radiation; 786-0

[795] RADIOSENSITIZATION OF HUMAN PROSTATE CELL LINE LNCAP BY [6]-GINGEROL

JOSIAS PAULINO LEAL SILVA*; MARIA HELENA BELLINI

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES, SAO PAULO, SP

Introduction: Prostate cancer is the second most prevalent malignancy and second leading cause of cancer-related deaths among men in the world. Several different diagnostic and therapeutic approaches have been developed in order to decrease the death rates. A number of experimental and clinical studies have showed antiproliferative, pro-apoptotic, anti-metastatic and anti-angiogenic effects of several phytochemicals. [6]-Gingerol (1-[4'-hydroxy-3'-methoxyphenyl]-5-hydroxy-3'-decanone), the major pungent principle of ginger, has anti-oxidant, anti-inflammation and anti-tumor promoting activities.

Aim: The purpose of this study was to evaluate the radiosensitizing activity of [6]-Gingerol in the human prostate cancer cells.

Methods: The viability was assessed (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) tetrazolium (MTS) assay. The prostate human cells (LNCAP) ($2,5 \times 10^3$ cells/well) were seeded into 96-well plates, after 24 hr they were treated with 150 and 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ of [6]-Gingerol or vehicle alone (0.1% DMSO) in serum containing media. After incubation, MTS solution was added to the plate at a final concentration of 0.5 mg/mL. The cells were incubated for 2 hr in dark at 37. The resulting MTS-products were determined by measuring the absorbance at 490 nm with ELISA reader. In the clonogenic cell survival assay, the cells were divided into two groups: A) control, B) treated with [6]-Gingerol, C) irradiated control and D) treated with [6]-Gingerol and irradiated. The cells were irradiated by ^{60}Co source in the range from 0 to 15 Gy, using the GammaCell 220 – Irradiation Unit of Canadian-Atomic Energy Commission Ltd. (CTR-IPEN). After 10-14 days of culture in normoxia conditions, cell colonies were fixed and stained with methanol 20% and crystal violet 0.5% and counted. Multiple comparisons were assessed by One-way ANOVA followed by Bonferroni's tests with GraphPad Prism version 6.0 software. $p < 0.05$ was considered statistically significant.

Results: Our results demonstrated that [6]-Gingerol treatment induced a dose-dependent decrease in the cell viability. Compared with the vehicle control, the cell viabilities were $75.99 \pm 3.56\%$ and $43.06 \pm 7.82\%$ when the cells were exposed to 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ of [6]-Gingerol, respectively. Therefore, we observed a significant difference between the treatment groups; ($P < 0.01$). Then, the effect of [6]-Gingerol (300 $\mu\text{g}/\text{mL}$) on cell radiosensitivity was evaluated. The clonogenic cell survival assay showed a significant difference between dose-survival curves of group (A) and (B), ($P < 0.05$) and between the group (C) and (D), ($P < 0.05$). Therefore, [6]-Gingerol treatment increased the radiosensitivity of LNCaP cells.

Conclusions: The results demonstrated that, besides inducing a dose-dependent apoptosis in LNCaP human prostate cancer cells, [6]-Gingerol showed a radiosensitizing activity. These findings suggests its potential as candidate phytochemical agent for combined therapy for prostate cancer.

Financial support: CNEN, and FAPESP

Palavras-chave: Ionizing radiation; [6]-gingerol; radiosensitization

[801] EVALUATION OF LOW DOSES OF GAMMA IRRADIATION IN THE FORMATION OF MINERALIZATION NODULES IN OSTEOBLASTS CULTURE

BÁRBARA TARGINO; THAIS LAZARINE PINTO; EVILY FERNANDES SILVA; E. S.R. SOMESSARI, MARIA HELENA BELLINI, REGINA AFFONSO*

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES- IPEN, SAO PAULO, SP

Introduction: Osteoblasts are specialized fibroblasts that secrete and mineralize the bone matrix. The mineralized extracellular matrix is mainly composed of type I collagen, osteocalcin, and the inorganic mineral hydroxylapatite¹. The use of radiation as therapy in some cancers causes great bone loss. However, low dose radiation may have the opposite effect. Low dose X-irradiation on osteoblastic culture had effects on proliferation and differentiation with increase of mineralization nodules². However, there is little information on the potential therapeutic efficacy of low-dose gamma-irradiation in the formation of mineralization nodules.

Objective: To evaluate the effects of irradiation with ⁶⁰Co γ -rays in low doses in the formation of mineralization nodules in culture of osteoblasts.

Methods: MC3T3-E1 cells were bought by the Banco de Células do Rio de Janeiro, Brazil (MC3T3-E1 Subclone 14). The cells were cultured in α -MEM medium consisting of 10% FBS and without β -glycerophosphate and L-ascorbic acid (GIBCO, Custom Product, Catalog No. A1049001) (Zhao Y, Guan H, Liu S et al. Biol. Pharm. Bull. 2005, 28(8):1371-1376).

Plating efficiency assays: cells were plated at a density of 100 cell/plate into 60 mm Petri dishes. After 14 days the places were stained with violet crystal and the colonies were counted.

Mineralization assays: cells were cultured in the same medium with 10 mM β -glycerophosphate and 50 mg/ml ascorbic acid, and analyzed on days 7, 14 and 21. Osteoblast culture irradiation assay: cells were plated at a density of 1×10^5 cells/plate on 60 mm dishes and the next day were irradiated by ⁶⁰Co source with 0 (as the control), 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 Gy using the GammaCell 220 – Irradiation Unit of Canadian-Atomic Energy Commission Ltd. (CTR-IPEN). On day 21 of culture, undifferentiated (without ascorbic acid and β -glycerophosphate), differentiating cells (0 Gy) and irradiated cells at different doses, the medium was removed, cells were washed with phosphate buffer saline, fixed with 70% ethyl alcohol and stained with Alizarin red S (Sigma). All in three biological replicates (a total of 54 samples) and multiple comparisons were assessed by One-way ANOVA followed by Bonferroni's tests with GraphPad Prism version 6.0 software. $P < 0.05$ was considered statistically significant.

Results: Plating efficiency (PF) analysis is generally considered to be the gold standard of assays for testing the sensitivity of cell lines to ionizing radiation or other cytotoxic agents in vitro. The results obtained were a PF of 30% for non-irradiated culture, however, the irradiated culture obtained 40% in relation to the no-irradiated one, already with 0.5 Gy, and this percentage was maintained in the other larger doses. Regarding the evaluation of the formation of mineralization nodules, significant difference in 0.5 Gy group was observed compared with the control group (0 Gy), 64.7 ± 1.8 and 53.0 ± 0.9 , respectively. The groups of 1.0, 1.5 and 2.0 Gy obtained a decrease in the mineralization nodules. The data obtained with increasing irradiation produced an increase of mineralization nodules up to 0.5 Gy and in the higher doses had a decrease. Applying the data in a non-linear function it is observed that the line has a decreasing tendency with the negative angular coefficient. This analysis is in agreement with the hormesis model, in which low doses induce a stimulatory effect while high doses cause inhibition⁴.

Conclusions: This study is one among the first that investigating the biophysics of low-dose gamma-irradiation on MC3T3-E1 culture, focusing on the potential applications in bone replacement therapy.

Financial Support: IPEN.

Keywords: osteoblast, gamma irradiation, mineralization

[806] COMPARISON OF RADIOLABELING EFFICIENCY OF PEPTIDES CONTAINING THE RGD DOMAIN USING THE TC-99M AND I-131 RADIOISOTOPES

DANIELLE V. SOBRAL*¹; ANA C. RANUCCI DURANTE²; ANA C. CAMARGO MIRANDA²; FRANCISCO ROMERO CABRAL¹; MARYCEL R. F.FIGOLS DE BARBOSA²; LUCIANA MALAVOLTA¹

1.FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS DA SANTA CASA DE SÃO PAULO, SP;
2.INSTITUTO ISRAELITA DE ENSINO E PESQUISA ALBERT EINSTEIN, SAO PAULO, SP

Introduction: Radiolabeled peptides have become very important in nuclear medicine and oncology in recent years mainly because they represent the molecular basis for in vivo imaging and radiopharmaceutical therapy with high specificity and affinity for overexpressed receptors in tumors (Thno 2(5):481-501, 2012 / Drug Discov. Today. 7:1224-1232, 2012). In this context, peptides containing the RGD domain which possess high affinity for the $\alpha v\beta 3$ integrin receptor have become an important tool in a wide variety tumor, including glioblastoma (Exp. Opin. Drug Deliv. 8:1041-1056, 2011).

Objective: The goal of this work was to compare the radiolabeling efficiency of the GRGDYV and GRGDHV peptides when radiolabeled with the I-131 and Tc-99m radioisotopes, respectively, as well as, to evaluate the features of synthesized complexes.

Methods: The GRGDYV and GRGDHV fragments were manually synthesized by peptide synthesis in solid phase accordingly to the Fmoc protocol and purified by preparative HPLC. The GRGDYV and GRGDHV peptides were radiolabeled with the I-131 and Tc-99m radioisotopes respectively, through of the direct method of radiolabeling. The radioiodination was evaluated and optimized using the methodology of Chloramine-T and for the peptide containing the histidine aminoacid the tricarbonyl method was used. Radiochemical yield analyses of [131I]-GRGDYV and [99mTc]-GRGDHV peptides were performed by thin layer chromatography on silica gel TLC-SG (Al) in ACN 95%. The radiolabeled peptides were purified by using solid phase extraction (Sep-Pak C18 filter). The stability studies were realized at 2, 24, 48 and 72 hours in room temperature and refrigerate (4°C) for [131I]-GRGDYV and up to 6 hours for the fragment [99mTc]-GRGDHV. Partition coefficient was determinate for both radiopeptides.

Results: The peptides [131I]-GRGDYV and [99mTc]-GRGDHV were efficiently synthesized, radiolabeled and showed radiochemical yield of $91.02\% \pm 1.68$ (n=5) and $90.48\% \pm 2.01$ (n=5) respectively, when the labeling conditions were performed at pH 7.0, 30MBq of Na I-131 and 25 μ g/mL of [131I]-GRGDYV. For the [99mTc]-GRGDHV peptide a quantity of 250 μ g/mL and an activity of Tc-99m of 300MBq were used. The stability studies showed that both peptides were stable. For the [131I]-GRGDYV a good stability was achieved up to 72 hours when stored in the refrigerator and over 24 hours in room temperature, showing an average of radiochemical purity of $89.87\% \pm 0.69$ (n=3). Already the [99mTc]-GRGDHV fragment showed radiochemical purity values of $87.03\% \pm 2.75$ (n=3) up to 6 hours in room temperature. Furthermore, both peptides showed hydrophilic features demonstrated by negative values of the partition coefficient.

Conclusion: The peptides were efficiently synthesized and the tested radiolabeling strategies showed successful results. Both peptide fragments presented hydrophilic characteristics and a considerable stability. We believe that these technologies might be useful for a broad range of in vitro and in vivo experiments using these peptides however, more studies will be performed.

Financial Support: FAPESP, CAPES and FCMSCSP (FAP).

Palavras-chave: Peptides; rgd; radiolabeling

[817] **AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DE P53 EM CÉLULAS DE CÂNCER DE MAMA (MCF-7) TRATADAS COM RESVERATROL E RADIAÇÃO IONIZANTE**
LILIANE DE FREITAS BAUERMANN^{*1}; ISABEL C. DA COSTA ARALDI¹; VERÔNICA F. AZZOLIN¹; FERNANDA BARBISAN¹; FRANCINE C. CARDONÁ¹; IVANA B. M. DA CRUZ¹
1.UFSM, SANTA MARIA, RS, BRASIL

Introdução: O câncer de mama (CM) é a principal causa de morte por câncer entre mulheres. A radioterapia tem sido usada para destruir as células tumorais. Porém, a incidência da radiação ionizante em células saudáveis, adjacentes ao tumor é relacionada a efeitos secundários, que afetam a qualidade de pacientes. Dentre os compostos que potencializam o efeito da radiação, tem sido estudado o resveratrol, um metabólito secundário vegetal com possível efeito radiosensibilizador de células tumorais.

Objetivos: Investigar a expressão do gene supressor tumoral p53 em células humanas de CM (MCF-7) expostas ao resveratrol e à radiação ionizante.

Métodos: Projeto aprovado pela Gerência de Ensino e Pesquisa do Hospital Universitário de Santa Maria, sob número 033/2015. A linhagem celular MCF-7 foi obtida da ATCC® e cultivada em meio padrão (DMEM), suplementado com 10 % de soro fetal bovino e 1% de penicilina/estreptomicina e anfotericina B, até atingir a confluência de 70% para a realização dos testes. Em seguida as células foram incubadas com 10µM de resveratrol por 24 horas e expostas à radiação X (3 Grays), de acordo com os grupos: C) controle não irradiado (DMSO), R) resveratrol não irradiado, G) controle irradiado e RG) resveratrol irradiado. A avaliação da expressão gênica foi realizada 24 horas após a irradiação por meio da extração de ácido nucleico e transcrição reversa de qRT-PCR. O gene da beta-actina foi utilizado como housekeeping. Os dados foram analisados com ANOVA de duas vias seguida do teste post hoc de Tukey. Foram consideradas diferenças estatisticamente significativas quando $p < 0.05$.

Resultados: A expressão gênica de p53(*expressão relativa de mRNA) nos grupos foi: (C) 1, (R) 1,37*, (G) 0,8067* e RG) 1,2467*, ou seja, as células que receberam apenas o resveratrol mostraram maior expressão de p53, seguida das tratadas com resveratrol e irradiadas.

Conclusão: Através da análise destes dados é possível sugerir que o resveratrol tem um potencial radiosensibilizador em células MCF-7 expostas à radiação ionizante, uma vez que as células que receberam o tratamento combinado mostraram um alto nível de expressão de p53. Logo, como p53 está relacionado tanto a indução da apoptose como na indução de necrose/senescência, mais estudos devem ser realizados a fim de elucidar os mecanismos subjacentes a esse fenômeno.

Apoio financeiro: CAPES.

Palavras-chave: MCF-7; resveratrol; p53

[823] DESENVOLVIMENTO DE CULTIVO CELULAR TRIDIMENSIONAL PARA TESTES DE EFEITOS BIOLÓGICOS DAS RADIAÇÕES EM MODELOS TUMORAIS E NÃO-TUMORAIS

LETICIA BONFIM*1; KARINA OLIVEIRA GONÇALVES2; DANIEL PEREZ VIEIRA1
1.IPEN/CNEN - SP, SAO PAULO, SP, BRASIL; 2.UNIFESP, DIADEMA, SP, BRASIL.

Introdução: Atualmente, os testes realizados para analisar fármacos com atividade antitumoral são realizados em modelos experimentais baseados em cultura celular em monocamadas ou 2 dimensões (2D) e, apesar da utilização em larga escala desta forma de cultivo, há evidências científicas de que a disposição celular em monocamadas não simula adequadamente a fisiologia tecidual, pois impede que as células expressem suas características de forma análoga à encontrada no organismo. O método de cultura celular em 3 dimensões (3D) vem recebendo atenção como uma maneira de simular o ambiente tumoral, pois permite a reorganização celular de forma a promover a interação célula-célula e com proteínas da matriz extracelular. O trabalho utiliza a levitação magnética, através da adição de nanopartículas de ferro às culturas e com o auxílio de ímãs. Células formam corpos tridimensionais suspensos na interface ar-líquido. O método pode produzir esferóides com alguns milímetros de diâmetro e com capacidade de serem mantidos viáveis por semanas em cultivo. A intenção é futuramente testar os efeitos das radiações ionizantes em culturas em 3D ao invés das tradicionais avaliações de viabilidade celular, proliferação de colônias e genotoxicidade realizadas em culturas em 2D.

Objetivos: 1) Padronizar a produção de nanopartículas de óxido de ferro (Fe_3O_4) aderentes às membranas celulares; 2) produzir corpos tridimensionais de células para obter um modelo tumoral (SK-MEL-37, melanoma humano) e um não-tumoral (CHO-KI, ovário de hamster). Metodologia: Linhagens Celulares: As células foram mantidas aderidas em garrafas de 25cm² de área de cultivo (Corning) em incubadoras específicas (37° C, 5% CO₂). Síntese de nanopartículas de óxido de ferro: As partículas foram produzidas por coprecipitação de Fe²⁺ e Fe³⁺ na proporção 1:2 em meio alcalino (pH: 13, NaOH) na presença de N₂. Após produção, as partículas foram sucessivamente atraídas por campo magnético e lavadas com água. Polietilenoglicol (PEG 4000) e lisina foram adsorvidos para criar as estruturas de adesão às células. Numa cultura com 5mL de meio de cultura foram adicionados 500µL de suspensão de partículas. Caracterização das partículas: As suspensões foram avaliadas por microscopia eletrônica e por FTIR. Cultura: Poços de placas de 96 poços receberam 70µL de agarose para inibição da adesão celular. Suspensões de SK-MEL-37 e de CHO-KI foram diluídas de forma a criar suspensões de 500 a 5000 células/poço. Após a semeadura, as placas foram cobertas com um arranjo de ímãs e mantidas em cultura por vários dias. Ao 5°, 7° e 9° dias os corpos nos poços foram fotografados em microscópio invertido e as áreas dos elementos medidas via software (ImageJ).

Resultados: A microscopia eletrônica mostrou partículas com cerca de 20nm de diâmetro. A análise por FTIR mostrou estiramentos compatíveis com as ligações do ferro com o aminoácido (Lisina). As imagens mostram a formação de corpos esféricos até o nono dia. Diâmetro dos esferóides de LnCap variou de (média±erro) 434,407±50,018 µm (5° dia) a 264,574±13,184 µm (9° dia). Culturas de CHO variaram de 229,237±5,278 a 236,719 µm no mesmo período.

Conclusão: Esferóides gerados por levitação magnética puderam ser medidos por meios digitais e comparados ao longo do experimento. A ferramenta poderá ser utilizada para testes de efeitos biológicos das radiações e/ou radiofármacos em cultura.

Palavras-chave: Nanotecnologia; esferóides; radiação

[826] INFLUÊNCIA DA TAXA DE DOSE DE RADIAÇÃO GAMA NA SOBREVIVÊNCIA DE LINFÓCITOS HUMANOS

EDVANE BORGES SILVA*; GICILENE FREITAS DA SILVA; LÍDIA L. BEZERRA LEITE; AYALLA GOMES DO NASCIMENTO; EWERTON C. DINIZ; LUCAS G. SOUSA SANTOS; MOACYR J. BARRETO DE MELO REGO; THIAGO DE SALAZAR E FERNANDES; MARIANA BRAYNER CAVALCANTI

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO, RECIFE, PE, BRASIL

Introdução: Para as exposições às radiações gama, a taxa de dose é um dos fatores que pode influenciar danos radioinduzidos. Quando a taxa de dose é baixa, ou seja, o tempo de exposição é longo, o dano biológico é menor porque a célula tem maior tempo disponível para o reparo. Portanto, o efeito da taxa de dose está relacionado com a reparação do dano subletal que ocorre durante uma longa exposição à radiação, sendo um fator físico importante que deve ser considerado em exposições às radiações ionizantes.

Objetivos: Avaliar a influência da taxa de dose de radiação gama na sobrevivência de linfócitos humanos.

Métodos: A pesquisa aprovada pelo Comitê de Ética em Seres Humano da UFPE, (parecer nº 1084.387). Foram coletados 27 mL de sangue periférico (SP) de 05 indivíduos saudáveis (4 mulheres e 1 homem, com idades entre 24 e 38 anos). 9 mL de SP de cada indivíduo foram mantidos como controle (não irradiada); 9 mL foram irradiados com uma dose de 2,5 Gy em uma fonte de cobalto-60 com baixa taxa de dose (BT) (de 1,727 Gy/h); e 9 mL foram irradiados com 2,5 Gy em outra fonte de cobalto-60 com uma alta taxa de dose (AT) (de 2,279 KGy/h). As células mononucleares foram obtidas e ajustadas para $5 \times 10^5 / 150 \mu\text{L}$ de RPMI 1640 suplementado com 10% de Soro Fetal Bovino. As células foram incubadas por 24 e 72 horas a 37 °C e 5% de CO₂. Após 21 e 69 horas de cultivo, adicionou-se 20 μL do MTT e as células permaneceram em cultura por mais 3 horas até a adição do detergente SDS. A leitura da placa foi feita em espectrofotômetro no comprimento de onda de 570 nm. Foi utilizado o Teste de Kruskal-Wallis seguido de Dunn, com nível de significância de 5%.

Resultados: A sobrevivência celular das amostras irradiadas com AT e com BT, cultivadas por 24 h, foi de 73,45% ($\pm 17,52$) e 69,56% ($\pm 18,21$), respectivamente. Para tempo de cultivo de 72 h, as médias para as amostras irradiadas com AT e BT foram de 76,19% ($\pm 24,07$) e 69,79% ($\pm 20,27$), respectivamente. Não houve diferença estatística significativa ($p=0,2918$ e $p=0,4647$) entre as médias de sobrevivência celular para as amostras irradiadas com AT e BT entre os dois tempos de cultivo. Porém, ao comparar as viabilidades das células, irradiadas com AT e BT, ambas mostraram redução estatisticamente significativa com relação à amostra controle (não irradiada) ($p < 0,05$).

Conclusão: Este estudo permitiu constatar a morte celular radioinduzida com relação ao grupo controle. No entanto, não foi observada a influência da taxa de dose na sobrevivência celular, nem do tempo de cultivo.

Apoio Financeiro: Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco

Palavras-chave: Danos radioinduzidos; linfócitos; células mononucleares

[827] AVALIAÇÃO DA FREQUÊNCIA DE MICRONÚCLEOS EM AMOSTRAS DE SANGUE PERIFÉRICO, IRRADIADAS IN VITRO, DE PORTADORAS DE CÂNCER DE COLO UTERINO

EDVANE BORGES SILVA*; CÁTIA SIMONE FERREIRA SILVA; ADEMIR DE JESUS AMARAL; THIAGO DE SALAZAR E FERNANDES; MARIANA BRAYNER CAVALCANTI
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO, PE, BRASIL

Introdução: A radioterapia (RT) é uma das mais importantes modalidades não cirúrgicas no tratamento do câncer do colo de útero. No entanto, a eficácia do tratamento é limitada devido aos efeitos adversos exacerbados que surgem nos tecidos normais, circunvizinhos ao tumor, e que estão relacionados à radiosensibilidade individual. Estudos de novos biomarcadores de resposta individual exacerbada às RIs se fazem necessários. Um biomarcador bastante utilizado para identificação de genotoxicidade é o micronúcleo (MN), o qual pode surgir devido à ação aneugênica ou clastogênica, quando há quebra de cromossomos.

Objetivos: Avaliar, in vitro, a frequência de micronúcleos em amostras irradiadas e não irradiadas, de sangue periférico de pacientes com câncer de colo de útero com indicação à radioterapia.

Métodos: O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, sob parecer de número 1.737.624. Todas as pacientes foram oriundas do Sistema Único de Saúde (SUS) atendidas no serviço especializado no Centro de Radioterapia de Pernambuco – CERAPE, do Hospital do Câncer de Pernambuco. Foram coletados 9 mL de sangue periférico de 10 pacientes, com idades que variaram entre 23 a 78 anos. A coleta da amostra foi realizada no momento da consulta da paciente, antes do início da radioterapia. Uma parte da amostra coletada foi mantida como controle (não irradiada) e a outra foi irradiada, in vitro, em acelerador linear (6 MV) (Siemens/ Modelo Primus), na dose de 2 Gy. O cultivo celular para micronúcleos seguiu o método descrito por Fenech (1985; 2007) (Mutat. Res., Amsterdam, v.147, n.1-2 p.29-36, 1985; Nature protocols, v. 2, n. 5, p. 1084-1104, 2007.) As células foram analisadas com auxílio de um microscópio óptico. As variáveis qualitativas foram expressas por frequências absolutas e relativas, enquanto as variáveis quantitativas foram expressas por médias e desvio padrão. Para a comparação entre os grupos avaliados, foi utilizado o teste t-student, com nível de significância de 5%.

Resultados: As frequências de micronúcleos variaram de 0,0009 a 0,0071 (média e desvio padrão de $0,0038 \pm 0,0016$), para as amostras não irradiadas e de 0,0055 a 0,0132 ($0,0078 \pm 0,0022$), para as amostras irradiadas. A análise estatística mostrou diferença entre os grupos. Foi observada grande variabilidade de frequências de MN entre as pacientes, a qual pode estar relacionada com as características intrínsecas (radiosensibilidade) de cada indivíduo (CAVALCANTI et al., 2016, An Acad Bras Cienc., v. 87, n. 3, p. 1783-90, 2015), além de outros fatores tais como hábitos de vida, ocupação, uso de drogas, dentre outros.

Conclusão: Nas amostras irradiadas, houve um aumento da frequência de micronúcleos em células binucleadas provenientes de todas as pacientes. No entanto, algumas apresentaram uma frequência maior, inclusive uma distribuição de micronúcleos por células também aumentada. Este dado conduz à novas investigações sobre a sua possível correlação com o surgimento de efeitos adversos manifestados por algumas pacientes após tratamentos radioterápicos.

Apoio Financeiro: CAPES

Palavras-chave: Radiosensibilidade individual; genotoxicidade; acelerador linear

[829] **EXPRESSÃO DAS CITOCINAS TNF, IL-17A, IL-4 E IL-10 EM CÉLULAS MONONUCLEARES DO SANGUE PERIFÉRICO IRRADIADAS IN VITRO**
ADEMIR DE JESUS AMARAL*; LÍDIA L. BEZERRA LEITE; AYALLA GOMES DO NASCIMENTO; EWERTON C. DINIZ; GICILENE FREITAS DA SILVA; MOACYR J. B. DE MELO REGO; SAMUEL C. DANTAS; THIAGO DE SALAZAR E FERNANDES; EDVANE BORGES SILVA; ROBSON CAVALCANTE VERAS; MARIANA BRAYNER CAVALCANTI
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO, RECIFE, PE, BRASIL

Introdução: Pacientes submetidos à radioterapia (RT) podem apresentar quadro inflamatório agudo decorrente da interação da radiação ionizante com o tecido sadio adjacente ao tumor. A intensidade deste quadro varia em função da radiosensibilidade individual e constitui um dos fatores limitantes da RT. Portanto, a análise de citocinas pode vir a ser útil na identificação do grau de radiosensibilidade individual visto que esta classe de proteínas está relacionada ao processo inflamatório.

Objetivos: Determinar e comparar o perfil de citocinas produzidas pelas células mononucleares do sangue periférico (PBMCs) não irradiadas e irradiadas, bem como sua possível aplicação como biomarcador de radiosensibilidade individual.

Métodos: A pesquisa aprovada pelo Comitê de Ética em Seres Humanos da UFPE (parecer nº 1084.387). Foram coletadas amostras de sangue periférico (SP) de 7 voluntários saudáveis (4 mulheres e 3 homens, com idades variando entre 24 e 62 anos). De cada indivíduo, uma alíquota de 18 mL de SP foi irradiada com dose de 2 Gy (Raio-X, LINAC, 6 MV) e alíquota de 18 mL foi mantida como controle (não irradiada). As PBMCs foram cultivadas na ausência ou presença dos estímulos PMA e ionomicina em meio RPMI 1640 suplementado com 10% de Soro Fetal Bovino. As células foram incubadas por 48 h a 37 °C e 5% de CO₂. Foram dosadas citocinas TNF, IL-17A, IL-4 e IL-10 (kit CBA Human TH1/Th2/Th17 cytokine) utilizando FACSCanto II. Para análises estatísticas utilizou-se testes Shapiro-Wilk e Wilcoxon com nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

Resultados: Observou-se, nas amostras irradiadas, um discreto aumento da mediana dos níveis das citocinas TNF, IL-4 e IL-10 (de 1040,9 pg/mL para 1196,1 pg/mL; de 127,3 pg/mL para 138 pg/mL e de 99,9 pg/mL para 120,8 pg/mL, respectivamente) e uma discreta diminuição da mediana da citocina IL-17A (de 841,1 pg/mL para 799,4pg/mL). Por outro lado, estas diferenças não foram estatisticamente significativas. Ademais, verificou-se uma elevada variabilidade interindividual das concentrações das citocinas em resposta à irradiação.

Conclusão: Não foi possível estabelecer um perfil de citocinas como biomarcadores de exposição às radiações ionizantes. No entanto, verificou-se que alguns indivíduos são mais responsivos que outros à variação nos níveis dessas proteínas após irradiação.

Apoio Financeiro: Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Palavras-chave: Citocinas; radiosensibilidade individual; radioterapia

RESUMOS

EIXO TEMÁTICO: IMAGENS MOLECULARES E RADIOTERAPIA

[774] **RADIOMARCAÇÃO DE INIBIDOR DE PSMA COM ^{177}Lu E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DO POTENCIAL PARA APLICAÇÃO NO TRATAMENTO DO CÂNCER DE PRÓSTATA**

JEFFERSON DE JESUS SILVA*; ADRIANA VIDAL MASSICANO; RAQUEL BENEDETTO; CRISTIAN ANTONIO WIECZOREK VILLAS BOAS; LUIS ALBERTO PEREIRA DIAS; JAIR MENATTI; ELAINE BORTOLETI DE ARAÚJO; LAÍS FERNANDA ALCARDE
IPEN, SAO PAULO, SP, BRASIL.

Introdução: Em razão do antígeno de membrana prostático específico (PSMA) ser superexpresso em praticamente todas as neoplasias da próstata, de seus possíveis papéis na malignidade destas, assim como na angiogênese de tumores sólidos e sua expressão em tecidos extra prostáticos ser altamente restrita, este representa um ótimo alvo para novos métodos de diagnóstico por imagem e terapia antineoplásica.

Objetivo: Estudar de forma inédita a marcação e estabilidade radioquímica do Glu-NH-CO-NH-Lys(Ahx)-DOTA com ^{177}Lu e avaliar seu potencial para a terapia do câncer de próstata.

Métodos: A partir da condição padrão de marcação (90°C ; $10\mu\text{g}$ de peptídeo e 30 minutos de reação) avaliou-se o efeito da atividade crescente de $^{177}\text{LuCl}_3$ sobre a pureza radioquímica (PR). Após armazenar a -20°C e a 37°C em soro humano, a estabilidade do radiofármaco foi avaliada. Foram conduzidos ensaios com células tumorais para determinar a % de ligação específica. Por fim, foram conduzidos estudos de biodistribuição e farmacocinética em camundongos sadios Balb/c machos e biodistribuição em camundongos scids machos com tumor LNCaP (idade 7-12 semanas e peso 13-30g) - Protocolo nº115/2015 do CEUA/IPEN.

Resultados: O radiofármaco foi obtido com pureza radioquímica elevada (PR >95%) em todas as condições estudadas e a estabilidade do radiofármaco (-20°C) permaneceu inalterada até 48 horas, mesmo em alta atividade específica ($74\text{ MBq}/\mu\text{g}$). O produto manteve-se estável quando incubado em soro humano. O ensaio de ligação específica do PSMA-DOTA- ^{177}Lu mostrou que a fração do peptídeo que se ligou às células foi de $1,79\pm 0,21\%$, $2,47\pm 0,03\%$, $3,07\pm 0,01\%$ e $4,13\pm 0,27\%$, para as concentrações de $0,15\times 10^6$, $0,3\times 10^6$, $0,5\times 10^6$ e 1×10^6 de células LNCaP, respectivamente (n=3). O ensaio de internalização do PSMA-DOTA- ^{177}Lu sugere que o maior percentual da ligação específica do radiofármaco às células LNCaP corresponde à fração da ligação de superfície ($99,03\pm 0,84\%$) (n= 8). Os parâmetros farmacocinéticos foram determinados no estudo *in vivo*: $t_{1/2\alpha}$ 2.92min, $t_{1/2\beta}$ 20.04min, CL $0.21\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ e Vd $1.07\text{ L}\cdot\text{Kg}^{-1}$ (n=5), compatíveis com o rápido clareamento sanguíneo e excreção renal (n=5). Nos estudos em animais com tumor, o PSMA-DOTA- ^{177}Lu apresentou captação tumoral após 4 horas da administração endovenosa do radiofármaco de $2,76\pm 1,0\% \text{ AI/g}$ de (n=3).

Conclusão: O estudo de variação da atividade possibilitou estabelecer a atividade específica ideal ($\text{MBq}/\mu\text{g}$), que será extrapolada para um piloto de produção do radiofármaco. O radiofármaco apresentou rápido clareamento sanguíneo e apreciável captação tumoral *in vivo* após 4 horas de administração. Os resultados favoráveis encorajam para perspectiva de ensaio clínico controlado de um novo radiofármaco, avaliando seu potencial para aplicação no tratamento do câncer de próstata.

Apoio Financeiro: CNEN/MCTIC

Palavras-chave: Câncer de próstata; antígeno de membrana prostático específico (PSMA); Lutécio ^{177}Lu

[822] **BACTERIAL INFECTION IDENTIFICATION BY AN ANTI-PEPTIDOGLYCAN APTAMER LABELED WITH TECHNETIUM-99M**

ANTERO SILVA RIBEIRO ANDRADE*1; IÊDA MENDES FERREIRA1; ANDRÉ LUIS BRANCO DE BARROS2; VALBERT NASCIMENTO CARDOSO2

1.CENTRO DE DESENVOLVIMENTO A TECNOLOGIA NUCLEAR, BELO HORIZONTE, MG; 2. UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS, BELO HORIZONTE, MG, BRASIL

Introdução: A variety of radiopharmaceuticals is used to detect infection, but long-term clinical use has shown that the majority of them cannot distinguish between inflammation and infection. Nuclear medicine clinics are still awaiting the optimal scintigraphic imaging agents capable of discriminating between infection and inflammation, and between fungal and bacterial infections. Aptamers are oligonucleotides that display high affinity and specificity for their molecular targets and are emerging as promising molecules for radiopharmaceuticals development.

Material and Methods: An aptamer for the peptidoglycan (main constituent of bacterial cell walls) termed Antibac1 was selected in a previous work. In the present study, this aptamer were labeled with ^{99m}Tc and evaluated for bacterial infections identification by scintigraphy. All protocols were approved by the local Ethics Committee for Animal Experimentation of the Federal University of Minas Gerais (CETEA / UFMG), Protocol n° 108/2014. Labeling with ^{99m}Tc was performed by the direct method and the complex stability was evaluated in saline, plasma and presence of cysteine. The biodistribution and scintigraphic imaging studies with the ^{99m}Tc -Antibac1 were carried out in two distinct experimental infection models: Swiss mice infected in the right thigh with *Staphylococcus aureus* or *Candida albicans*. ^{99m}Tc radiolabeled library, consisting of oligonucleotides with random sequences, was used as a control in both experimental models. The direct radiolabeling allowed radiolabel yields above 90%.

Results: A high complex stability was obtained in saline solution and plasma, but 51% of transchelation was verified after 24 h in the presence of cysteine. Scintigraphic images of *S. aureus* infected mice that received the ^{99m}Tc -Antibac1 showed target to non-target ratios of 4.7 ± 0.90 and 4.6 ± 0.10 at 1.5 and 3.0 h, respectively. These values were statistically higher than found for the ^{99m}Tc -library: 1.55 ± 0.36 and 1.67 ± 0.43 , at the same times. For the *C. albicans* infected animals was not verified significant difference concerning the ^{99m}Tc -Antibac1 and ^{99m}Tc -library uptake in the infectious foci. The target to non-target ratios for the ^{99m}Tc -Antibac1 were 2.0 ± 0.30 and 2.0 ± 0.60 at 1.5 and 3.0 h, in that order. For the ^{99m}Tc -library these ratios were 2.09 ± 0.29 and 1.88 ± 0.62 , at the same times.

Conclusion: The results indicated that the ^{99m}Tc -Antibac1 was effective to identify a bacterial infection focus and to distinguish it from a fungal one.

Finantial support: FAPEMIG and CDTN

Key words: Aptamer; technetium-99m; staphylococcus aureus

[825] **ALTERAÇÕES NA QUALIDADE DE VIDA PROVOCADAS PELOS EFEITOS IMEDIATOS DA IODOTERAPIA**

PRISCILA BRUNELI PUJATTI*; JAYDA EIRAS RAMIM; MARCELLA ARAUGIO SOARES; TIAGO T. GUIMARAES; MARIA L. GOMES; ANKE BERGMANN; ROSSANA CORBO
INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER, RIO DE JANEIRO, RJ, BRASIL

Introdução: A terapia radionuclídica emprega moléculas radiomarcadas que conduzem seletivamente um nível citotóxico de radiação ao sítio tumoral promovendo morte celular. No Brasil, a iodoterapia com Na^{131}I é utilizada para tratamento de tumores diferenciados de tireóide. Apesar da eficácia comprovada dessa terapia, poucos estudos relatam os efeitos imediatos na qualidade de vida do paciente (J Clinical Oncology;33(26),2015:2885-2892).

Objetivo: Avaliar as alterações na qualidade de vida após a iodoterapia com Na^{131}I em pacientes com câncer diferenciado de tireóide.

Metodologia: Estudo de coorte prospectivo conduzido no Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA), de março/2015 a maio/2017. Foram incluídos pacientes maiores de 18 anos, encaminhados para iodoterapia e que concordaram em assinar o “Termo de Consentimento Livre e Esclarecido”. Os pacientes foram admitidos para tratamento em único ciclo, com atividade administrada entre 30 a 250 mCi do radiofármaco. O questionário geral para avaliação da qualidade de vida da European Organisation for Research and Treatment of Cancer (EORTC) QLQ-C30 (J Natl Cancer Inst;85,1993:365-376) foi aplicado em dois momentos: pré-terapia e no momento do rastreamento pós-dose terapêutica (RPDT) realizado 9 dias após a terapia (pós-terapia imediato). Os dados foram transcritos para planilha digital e foi realizada análise descritiva dos dados de perfil do paciente. Para a avaliação das alterações da qualidade de vida foi calculada a diferença absoluta das médias dos scores pré e pós terapia. Foi aplicado o teste t de Student para amostras pareadas e considerou-se significativo $p < 0,05$. O projeto foi aprovado pelo CEP com parecer número 1.026.183.

Resultados: Foram incluídos 118 pacientes, sendo 79,7% do sexo feminino e a média de idade foi $48,8 \pm 15,4$ anos (59,3% na faixa etária ≥ 45 anos). A maioria dos pacientes apresentavam estadiamento I (44,9%), e a histologia mais frequente foi o carcinoma papilífero (80,5%). Com relação à atividade administrada, 18,6% dos pacientes receberam 30mCi, 31,4% entre 50-100 mCi, 40,7% receberam 150 mCi e 9,3% entre 200-250 mCi. Após a iodoterapia, os pacientes apresentaram melhora na Saúde Funcional significativa nos domínios funcional geral ($p 0,038$), funcional cognitivo ($p 0,021$) e funcional emocional ($p < 0,001$). Os sintomas com piora significativa foram: náusea e vômito ($p < 0,001$), alterações nos sentidos ($p < 0,001$), boca seca ($p 0,002$), saliva pegajosa ($p < 0,001$) e problemas de contato social ($p < 0,001$), enquanto para insônia houve melhora de 5,93 pontos ($p 0,040$). Os pacientes apresentaram melhora, porém não significativa, no domínio saúde global após a iodoterapia.

Conclusão: Os resultados sugerem que a iodoterapia melhora a saúde funcional dos pacientes já na primeira semana após o tratamento, porém a qualidade de vida é prejudicada pela piora dos sintomas relacionados aos efeitos da radiação, tais como náuseas, vômitos e alterações na saliva e paladar. A inclusão de outros pacientes no estudo e a avaliação da qualidade de vida dos pacientes três meses pós-terapia estão em andamento.

Palavras-chave: Iodoterapia; qualidade de vida; câncer de tireoide

RESUMOS

EIXO TEMÁTICO: INSTRUMENTAÇÃO, SEGURANÇA, DOSIMETRIA E QUALIDADE EM IRRADIAÇÕES

[784] **ESTUDO DOS PARÂMETROS DE RECONSTRUÇÃO EM IMAGENS MICROPET**
RODRIGO MODESTO GADELHA GONTIJO*; ANDRÉA VIDAL FERREIRA; JULIANA BATISTA SILVA; MARCELO MAMEDE
CENTRO DE DESENVOLVIMENTO DE TECNOLOGIA NUCLEAR, BELO HORIZONTE, MG, BRASIL.

Introdução: A tomografia por emissão de pósitrons (PET) para pequenos animais é amplamente utilizada em estudos pré-clínicos, gerando imagens estáticas e/ou dinâmicas aplicadas ao estudo bioquímico, metabólico e funcional de órgãos e tecidos. Uma avaliação abrangente dos métodos de reconstrução e seus parâmetros é necessária para otimizar as imagens obtidas, proporcionando melhor avaliação das análises qualitativas e quantitativas.

Objetivos: Analisar os métodos e parâmetros de reconstrução (FBP, MLEM e OSEM) disponíveis no equipamento (LabPET 4 GE, healthcare Technologies, Waukesha, WI) do CDTN/CNEN e suas influências no teste de qualidade da imagem (NEMA NU4-2008).

Métodos: Foram adquiridas imagens PET a partir de um simulador específico para qualidade da imagem conforme norma NEMA NU 4-2008. Esse simulador consiste em 3 regiões distintas e foi preenchido com ^{18}F de forma a representar um estudo real de corpo inteiro. As imagens foram obtidas e reconstruídas pelo equipamento LabPET 4 da GE e tratadas nos softwares AMIDE (Activity and Internal Dose Estimate) e PMOD (Technologies), utilizando os 3 métodos de reconstrução (FBP; MLEM e OSEM) com e sem alta resolução, quando aplicável. Um estudo comparativo entre os diferentes métodos e quantidade de iterações (i) ($10i$ a $100i$ – em intervalos de 10 unidades –; $120i$ e $150i$) foi realizado para obter o parâmetro de reconstrução com a melhor imagem para análise de qualidade da imagem no equipamento em estudo.

Resultados: O método de reconstrução analítico apresentou maior desvio percentual (FBP: 14,4 %STD) para a região uniforme quando comparado aos métodos iterativos (MLEM e OSEM: 6,7 %STD;). Os valores (SOR) das razões entre câmaras frias (Água e Ar) e região quente (uniforme) permanecem praticamente estáveis após 20 iterações (0,12 para a água e 0,26 para o ar), mas em contrapartida o desvio padrão percentual aumenta constantemente. Os coeficientes de recuperação para diâmetros de 1 a 5 mm variam de 0,17 a 0,86 pelo método FBP; 0,07 a 0,83 e 0,09 a 0,84 pelo método MLEM sem e com alta resolução, respectivamente, com 10 iterações; 0,30 a 0,98 e 0,36 a 0,99 pelo método MLEM sem e com alta resolução, respectivamente, com 150 iterações; 0,08 a 0,85 e 0,08 a 0,86 pelo método OSEM sem e com alta resolução, respectivamente, com 10 iterações; 0,30 a 0,94 e 0,34 a 0,97 pelo método OSEM sem e com alta resolução, respectivamente, com 150 iterações. Observou-se também que não há diferenças significativas entre as imagens resultantes dos diferentes métodos iterativos MLEM e OSEM e nem entre os programas de análise utilizados. O desempenho do sistema será demonstrado por imagens do fantoma de qualidade da imagem.

Conclusões: As imagens obtidas com os métodos de reconstrução iterativos MLEM e OSEM apresentam menor ruído quando comparadas às imagens reconstruídas pelo método FBP, para qualquer número de iterações. Os resultados demonstram também que uma maior quantidade de iterações pode ser útil para recuperar atividade de estruturas pequenas, mas ao custo de maiores incertezas. Este estudo foi capaz de reconhecer os parâmetros de reconstrução e suas influências na qualidade da imagem para auxiliar os usuários na escolha do método mais adequado para a rotina do serviço.

Apoio Financeiro: FAPEMIG, CDTN/CNEN.

Palavras-chave: Qualidade da imagem; NEMA NU4-2008; microPET

[804] AVALIAÇÃO DAS DOSES EM PET/CT UTILIZANDO O MÉTODO DE MONTE CARLO

WALMIR BELINATO^{*1}; WILLIAM DE SOUZA SANTOS²; DIVANIZIA DO NASCIMENTO SOUZA³

1.INSTITUTO FEDERAL BAHIA, VITÓRIA DA CONQUISTA, BA, BRASIL;

2.UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA, UBERLÂNDIA, MG, BRASIL;

3.UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE, ARACAJU, SE, BRASIL.

Introdução: A técnica diagnóstica PET/CT (Positron Emission Tomography/Computer Tomography) une recursos diagnósticos da Medicina Nuclear e da Radiologia. A técnica PET produz imagens metabólicas por meio de radiofármacos emissores de pósitrons.

Material e Método: Este estudo faz uso do método Monte Carlo (MMC), especificamente o código de Monte Carlo N-Particle – MCNPX, para simular a interação da radiação envolvendo fótons e partículas, tais como pósitrons e elétrons, com simuladores antropomórficos adultos virtuais em exames de PET/CT e determinar valores de dose absorvidas devido a esse tipo de exame. Para a estimativa das doses absorvidas em exames de pacientes adultos masculino e feminino, realizados em dois equipamentos, um da GE outro da Siemens, levou-se em consideração os parâmetros dos feixes de tomografia computadorizada de cada um dos equipamentos (colimação e filtração) e ainda as atividades de 18F-FDG comumente empregadas, considerando-se valores S simulados nos órgãos internos dos simuladores.

Resultados: As doses absorvidas devido ao feixe de raios X de CT equivalem a 14,2% quando se emprega o equipamento GE e 26,3% quando o exame é realizado em um da Siemens. Essa diferença está relacionada principalmente com a quantidade de cortes necessários para o exame de PET/CT de corpo inteiro (40 mm/rotação para ao GE e 20mm/rotação para o Siemens), com pitch=1(0,983 e 0,96), como também o uso do filtro gravata borboleta (filtro bowtie). Considerando-se as doses absorvidas devido ao 18F-FDG, os coeficientes por atividade administrada apresentaram um acréscimo de 30% em relação aos valores previstos na ICRP 106.

Conclusão: As variações encontradas nas doses devido ao 18F-FDG estão associadas a melhor representação morfológica dos órgãos internos dos simuladores utilizados neste estudo e ao espalhamento de fótons devido os simuladores estarem dispostos sobre uma mesa de exames, o que não é levado em consideração no cálculo dos coeficientes obtidos pela ICRP 106 (International Commission on Radiological Protection. Radiation. Dose to patients from radiopharmaceuticals. Publication 106 Addendum to Publication 53, 2008).

Palavras-chave: Dosimetria; código Monte Carlo; PET/CT

[807] NOVA METODOLOGIA PARA FIXAR IODO-125 EM FONTES RADIOATIVAS RM RESINA EPÓXI

BRUNA TEIGA TEIGA RODRIGUES*; MARIA ELISA CHUERY MARTINS ROSTELATO; CARLA DARUICH DE SOUZA; CINTIA ALEXANDRA TOZETTI; BEATRIZ RIBEIRO NOGUEIRA; DAIANE CRISTINI SOUZA; CARLOS ALBERTO ZEITUNI; JOSE RONALDO DE OLIVEIRA MARQUES; JOSE TIAGO DA SILVA
IPEN/USP, SAO PAULO, SP, BRASIL.

Introdução: O câncer de próstata é o mais comum entre os homens, aproximadamente 28,6%. A escolha do tipo de tratamento para o câncer da próstata deve considerar vários fatores como: tamanho e extensão do tumor, agressividade aparente (características patológicas), idade, saúde. A braquiterapia vem sendo utilizada em estágios iniciais e intermediários da doença porque é um tratamento seguro e efetivo para câncer prostático localizado. As sementes radioativas são colocadas em contato com ou dentro do órgão a ser tratado, permitindo que a dose de radiação seja liberada apenas no tumor alvo que proteja os tecidos circundantes saudáveis. As fontes podem ter diferentes formas e tamanhos, e a utilizada para câncer de próstata geralmente tem 4,5 mm de comprimento e 0,8 mm de diâmetro. Cerca de 80 a 120 sementes podem ser usadas por paciente. O Iodo-125 é o radioisótopo mais utilizado na braquiterapia da próstata, emite raios-X de 35,49 keV em 100% dos decaimentos, com energia média de 29 keV.

Objetivos: Este trabalho propõe uma alternativa às sementes que já foram desenvolvidas, a fim de reduzir o custo. Desenvolvendo uma configuração de núcleo alternativa com o objetivo de aumentar o rendimento de iodo-125 fixado na matriz epoxídica, reduzindo assim o custo total.

Resultados: Após produzidas as fontes, foi realizado teste de estanqueidade, com a fonte imersa em água destilada à temperatura ambiente. O resultado não excedeu o limite permitido pela norma ISO 9978 que é de 5 nCi (185 Bq) e o teste de esfregaço não indicou atividade no papel filtro.

Conclusão: A fonte foi considerada estanque, após testes padrões, sem qualquer vazamento do material radiativo, viabilizando a matriz epóxi para confecção dos núcleos. Resultando em um método seguro e eficiente. Todos os resultados obtidos apresentaram um alto percentual de eficácia e melhor distribuição de atividade quando comparada às metodologias clássicas de núcleo de prata. As diferenças de eficiência entre núcleos foram causadas por flutuações estáticas do sistema de detecção e balança. A eficiência média dos núcleos foi $82,1 \pm 3,2\%$

Apoio Financeiro: CAPES

Palavras-chave: Braquiterapia; resina epóxi; sementes de iodo-125

[833] **REVISÃO: AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DAS RADIAÇÕES IONIZANTES EM FARINHAS.**

ANA PAULA NUNES DE SÀ*; ANNA LUCIA CASANAS HAASIS VILLAVICENCIO
IPEN-CNEN/SP, SAO PAULO, SP, BRASIL

Introdução: O processo de irradiação de alimentos é um método que consiste em uma exposição controlada do alimento a uma fonte de radiação ionizante (Radiat. Phys. Chem. 129, 53-57, 2016; Food Control 72, 345-359, 2017). Atualmente, a radiação ionizante é uma alternativa eficiente, de grande valor tecnológico no emprego de doses até 10 kGy para alimentos secos, desidratados e com baixo teor de gorduras (Rad. Phys. Chem. 129, 24–29, 2016).

Objetivo: Levantamento bibliográfico de artigos indicando uso de médias e altas doses de radiação com finalidade tecnológica para melhoramento e qualidade das propriedades tecnológicas em farinhas.

Método: Levantamento bibliográfico em base de dados (brasileiras e internacionais, como: Google Scholar, ScienceDirect, Pubmed, SciELO, Web of Science) com auxílio da biblioteca do IPEN. O tema proposto é de interesse industrial, tendo sido usado o período 1980-2017 e busca por farinhas provenientes de milho, mandioca, trigo, feijão, arroz, castanho, fubá e banana. Até o momento, o estudo apresenta 22 trabalhos (Artigos, Teses e Dissertações), selecionados com foco em utilização de doses de radiação e tipo de farinhas. Foram utilizadas palavras-chave em Português e Inglês (irradiação de alimentos; farinhas irradiadas e aspectos tecnológicos de farinhas irradiadas; food irradiation and Technological aspects of irradiated flour).

Resultados: Nos resultados preliminares da pesquisa/busca as doses variam desde a aplicação para fitossanitário até doses mais altas relacionadas a características tecnológicas. Foram encontrados 10 trabalhos com finalidade fitossanitária (0,1 a 1,0 kGy) e 20 dentre os 22 pesquisados inicialmente, com características tecnológicas (doses acima de 1 kGy até 10 kGy). Foram observados estudos relacionados com redução de carga microbiológica, composição nutricional, modificações organolépticas e relação do índice de acidez presente em fubá e castanha devido aumento das doses no decorrer do tempo de armazenamento devido à presença de lipídeos (ESALQ, Dissertação. 2003; Radiat. Phys. Chem. 81, 450–457, 2012 Radiat. Phys. Chem. 103, 9–15, 2014).

Conclusão: Observamos uma tendência de melhora como meio de aperfeiçoamento na produção de panificação em alguns artigos, pois ocorre a quebra de carboidratos, diminuição de atividade enzimática e degradação parcial do amido e das proteínas, obtendo um ótimo parâmetro de qualidade para a produção de pão e massas em geral, observada na diminuição das viscosidades apresentadas nas farinhas de banana e trigo (IPEN, Dissertação, 2011; Escola Politécnica/USP, Dissertação, 2006). Preliminarmente, concluímos que a tecnologia de irradiação de alimentos em doses médias, apresentam vantagens e melhoram as características na produção de pães.

Apoio Financeiro: IPEN/CNEN e CNPq.

Palavras-chave: Tecnologia de irradiação; farinhas irradiadas; aspectos tecnológicos

RESUMOS

EIXO TEMÁTICO: PRODUÇÃO DE RADIOISÓTOPOS

[777] OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE MARCAÇÃO DO PSMA-617-DOTA COM LUTÉCIO-177

CRISTIAN ANTONIO WIECZOREK VILLAS BOAS*; JEFFERSON DE JESUS SILVA; RAQUEL BENEDETTO; LUIS ALBERTO PEREIRA DIAS; JAIR MENGATTI; ELAINE BORTOLETI DE ARAÚJO

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS NUCLEARES, SÃO PAULO, SP

Introdução: O câncer de próstata é a segunda neoplasia mais frequente e a quinta que mais mata pacientes do sexo masculino (Int. J. Cancer 136:359, 2015). Levantamento do Instituto Nacional do Câncer (INCA) indicou que em 2016 devem ter surgidos mais de 61 mil novos casos desta neoplasia no Brasil. Novos radiofármacos para o tratamento do câncer de próstata foram concebidos com base no grupo farmacofórico Glutamato-Ureia-Lisina, que se liga especificamente ao PSMA (Prostate Specific Membrane Antigen), superexpresso em células de tumor de próstata. O PSMA-617-DOTA marcado com lutécio-177 tem sido bastante estudado e empregado clinicamente na Alemanha na terapia do câncer de próstata.

Objetivo: Avaliar as condições de marcação do PSMA-617-DOTA com Lutécio-177 bem como definir os métodos de controle de qualidade de pureza radioquímica.

Metodologia: A condição de marcação de PSMA-617-DOTA (ABX, Alemanha) com lutécio-177 (IDB, Holanda) foi estudada considerando diferentes temperaturas (85 °C, 90 °C e 95 °C) e tempos (15 minutos, 30 minutos e 45 minutos). Em cada marcação foram utilizados 10 µg de peptídeo, e 555 MBq (15mCi) de lutécio-177, utilizando-se tampão ascorbato de sódio pH 4,75 0,52 M. Todas as marcações foram realizadas em triplicata e os controles de pureza radioquímica (PR) foram feitos imediatamente após a marcação por cromatografia em camada delgada (tampão citrato de sódio 0,1M, pH 5,0) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (0-2min 17%B; 2-5,99min 30%B; 6-20min 17%B, (fluxo 0,4mL/min, A = H₂O/0,1 %TFA, B = ACN/0,1 %TFA, coluna RP18 5µm 4,6x150mm).

Resultados e Discussão: O estudo possibilitou analisar a marcação do PSMA-617-DOTA sob diferentes condições de tempo e temperatura, visando avaliar a robustez do método. Realizando a marcação à 85°C pode-se observar que houve um incremento da pureza radioquímica com o aumento no tempo de marcação, obtendo-se purezas radioquímicas de $95,7 \pm 4,2$ (15 minutos), $97,9 \pm 0,3$ (30 minutos) e $98,4 \pm 1,0$ (45 minutos). Com a temperatura de 90°C na marcação, as purezas radioquímicas foram de $98,0 \pm 0,1$ com 15 minutos, $99,9 \pm 0,1$ com 30 minutos e $99,2 \pm 0,2$ com 45 minutos de marcação. Realizando a mesma marcação com 95°C obteve-se purezas radioquímicas de $98,4 \pm 0,1$ (15 minutos), $99,6 \pm 0,2$ (30 minutos) e $99,1 \pm 0,1$ (45 minutos). Corrida de CLAE foi realizada com a marcação obtida à 90°C e 30 minutos e obteve-se pico único de 100% com 10,7 minutos de corrida.

Conclusões: Por meio do presente trabalho foi possível concluir que a melhor condição de marcação do PSMA-617-DOTA com lutécio foi 90 °C por 30 minutos ($p=0,008$). A marcação realizada à 90 °C por 45 também apresentou excelente resultado ($p=0,02$), contudo demanda tempo maior de marcação. Os métodos cromatográficos selecionados possibilitaram avaliar a %PR das marcações com resolução adequada das espécies. Encoraja-se também a realização de estudos para determinação da atividade específica, realizar marcações em escala de produção, estudos de estabilidade do radiofármaco e bem como avaliar as propriedades do PSMA-617-DOTA-177Lu em modelos in vitro e in vivo.

Palavras-chave: PSMA-617-DOTA; Lutécio-177; otimização

[783] ESTUDO DE PURIFICAÇÃO DE MO-99 POR SUBLIMAÇÃO EM FORNO TUBULAR

MARCOS OLIVEIRA DAMASCENO*; VINICIUS S LIMA; TATIANA S BALOGH; CHRISTINA ALG DE OLIVEIRA FORBICINI

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES, SAO PAULO, SP

Introdução: O ^{99}Mo é um radioisótopo importante devido ao seu produto de decaimento - $^{99\text{m}}\text{Tc}$, que atua como marcador molecular em cerca de 80% dos exames diagnósticos (Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imag. 36;795,2009). Em muitos países, são empregadas técnicas cromatográficas para a obtenção do ^{99}Mo de fissão de alta pureza, podendo ainda incluir etapas de complexação, precipitação ou sublimação dependendo do processo adotado. O projeto do reator multipróposito brasileiro (RMB) prevê a produção de radioisótopos, como ^{99}Mo via fissão do ^{235}U (Sci. Am. 98;82,2010). O nosso laboratório vem realizando estudos de possíveis etapas de purificação de ^{99}Mo , visando o desenvolvimento de novas rotas de produção.

Objetivo: Apresentar resultados preliminares de testes nas principais variáveis da etapa de sublimação do ^{99}Mo como parte do processo de purificação. Os testes incluíram temperatura e tempo de sublimação, taxa de aquecimento e fluxo de gás de arraste, visando redução do tempo de processo e a máxima eficiência de recuperação de ^{99}Mo .

Métodos: Os experimentos partiram de uma solução de NH_4MoO_4 20 g.L⁻¹ contendo uma pequena quantidade de ^{99}Mo como radiotraçador, simulando uma solução em uma dada etapa do processo de purificação. Uma alíquota de 1 mL foi reservada para referência, enquanto outra alíquota de 1 mL foi levada à secura em um cadinho de platina sobre uma placa aquecida. O cadinho foi introduzido em um tubo de quartzo de um forno horizontal e aquecido. Um fluxo de ar para arraste dos vapores foi estabelecido. Após o resfriamento o tubo foi lavado internamente com 10 mL de solução de NaOH 1 M, uma alíquota de 1 mL foi retida desta solução, para contagem da atividade e cálculo de rendimento. As amostras foram analisadas em detector gama Ge hiperpuro em 739 KeV.

Resultados: Foram observados depósitos de MoO_3 no interior do tubo nas regiões próximas à saída do forno. Os testes com temperaturas já partir de 750°C mostraram excelentes rendimentos de recuperação ($98\% \pm 0,7$). Devido à reduzida massa de óxido presente nas amostras, nos testes com temperatura de 800°C o tempo de sublimação de 5 min foi suficiente para obter a saída de praticamente todo o material do cadinho. As curvas de aquecimento do forno são determinantes para a celeridade do processo, deste modo taxas de aquecimento de até $30^\circ\text{C}.\text{min}^{-1}$ foram aplicadas sem prejuízos de recuperação de ^{99}Mo , valores maiores não foram testados por limitações do equipamento. Fluxos de arraste aplicados entre 3 e 9 mL.h⁻¹ possibilitaram a formação de anéis bem definidos de MoO_3 depositados a aproximadamente 10 cm do cadinho, facilmente visível dentro do tubo de quartzo, enquanto que sob fluxos acima de 15 mL.h⁻¹ os depósitos apresentam-se mais difusos e com aumento de perdas por arraste.

Conclusão: A técnica de sublimação em forno tubular permite a obtenção do ^{99}Mo com elevada pureza e reduzidas perdas. A análise dos resultados permitirá melhor configuração dos parâmetros do forno, contribuindo para a maximização do rendimento de recuperação com redução do tempo total de processo. Os próximos testes incluirão amostras com $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ou $(\text{NH}_4)\text{HCO}_3$, simulando outras soluções de extração do molibdênio em um estágio prévio a sublimação.

Apoio financeiro: CNPq.

Palavras-chave: Molibdênio-99; sublimação; radiofármaco

[796] **DESENVOLVIMENTO DO RADIOIMUNOCONJUGADO, CETUXIMABE-DTPA-111In, PARA ESTRATIFICAÇÃO DE PACIENTES À TERAPIA DIRIGIDA AO EGFR**
RAQUEL BENEDETTO*1; ADRIANA V. MASSICANO2; RUI M. REIS3; RENATO OLIVEIRA3; JEFFERSON J. SILVA1; CRISTIAN A. W. VILLAS BOAS1; WALTER TURANO1; JAIR MENGATTI1; ELAINE BORTOLETI DE ARAÚJO1
1.IPEN, SAO PAULO, SP; 2.UNIVERSITY OF ALABAMA AT BIRMINGHAM- WALLACE TUMOR INSTITUTE, BIRMINGHAM, USA; 3.HOSPITAL DO CÂNCER DE BARRETOS, SP

Introdução: Anticorpos (AcM) radiomarcados permitem a entrega seletiva da radiação ao alvo de interesse. O receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR), superexpresso em malignidades epiteliais como câncer de cabeça e pescoço (HNSCC), desempenha papel central na proliferação celular. Apesar dos ganhos clínicos decorrentes do uso de cetuximabe (cetux), AcM que se liga ao EGFR, alguns mecanismos de resistência foram caracterizados. A metodologia Radioimunodiagnóstico com cetux radiomarcado (1) pode avaliar a resistência ao tratamento; (2) estratificar pacientes que possam beneficiar-se da Imunoterapia; (3) monitorar a progressão da terapia para um tratamento efetivo e direcionado, com a abordagem da medicina personalizada.

Objetivos: Desenvolver radiofármaco, Cetux-DTPA-111In para diagnóstico de HNSCC e câncer colorretal e, através da avaliação dos mecanismos de resistência, selecionar pacientes para terapia.

Métodos: O AcM foi conjugado ao quelante DTPA na razão molar 1:20. A pureza radioquímica e estabilidade do radiofármaco foram avaliadas por cromatografia -CLAE. A concentração proteica do imunoconjugado foi determinada pelo método BCA e o número de quelantes acoplado ao AcM foi definido por espectrometria de massas (MALDI/TOF). O ensaio de ligação específica in vitro foi realizado com as células FaDu-P (Parental) e FaDu-C10 (resistente). Os estudos de biodistribuição foram conduzidos em camundongos machos Balb/c sadios (4-8 semanas; 13-21g), e Scid, modelo tumoral desenvolvido por injeção subcutânea de FaDu-P (flanco esquerdo) e FaDu-C10 (flanco direito), nos intervalos de tempo de 3,24,72 horas, 5 e 7 dias, e imagens realizadas em MicroSPECT/CT, Albira -Protocolo nº122/13 CEUA/IPEN. Os camundongos foram injetados com 55 MBq do radioimunoconjugado e eutanasiados após 24,72 horas, 5, 7 dias para estudo de atividade captada/grama de tecido (% AI/g).

Resultados: O imunoconjugado, cetux-DTPA, apresentou estabilidade (-20°C, > 6 meses). A concentração de proteínas foi $4,54 \pm 0,22$ mg/mL, com recuperação proteica acima de 83% (N=15). De 6 a 7 quelantes DTPA foram introduzidos no AcM. O percentual de ligação específica às células FaDu-P do Cetux-DTPA-111In foi expressivo e proporcional ao aumento do número de células. A fração imunorreativa foi 93,1%. No ensaio de internalização às células FaDu-P, observou-se fração da ligação de superfície de $86,09 \pm 0,72$ % e percentual de internalização de $14 \pm 0,75$ %. O estudo de ligação às células FaDu-C10 demonstrou inexpressivo % de ligação, comprovando o modelo de resistência conferido a esta linhagem. No estudo de biodistribuição, o fígado e pulmões resultaram em captações de $21,5 \pm 1,3$ e $19,3 \pm 0,8$, respectivamente, para 24 horas. A captação óssea foi baixa atestando a estabilidade in vivo do radiofármaco. O melhor intervalo para avaliação clínica é de 5 dias pós-injeção do radiofármaco. A imagem metabólica demonstrou captação do radiofármaco apenas no tumor desenvolvido pela FaDu-P, comprovando sensibilidade e especificidade do radiofármaco para imunodiagnóstico.

Conclusão: A obtenção do radiofármaco para radioimunodiagnóstico Cetux-DTPA-111In é viável, com potencial para aplicação no diagnóstico HNSCC e câncer colorretal, além da seleção de pacientes para terapia com cetux, encorajando a continuidade de estudos clínicos.

Apoio financeiro: CNEN/MCTIC.

Palavras-chave: Cetuximabe-DTPA-In111; SPECT/CT; radioimunodiagnóstico

[815] **ASSESSMENT OF INTESTINAL PERMEABILITY AND BACTERIAL TRANSLOCATION EMPLOYING NUCLEAR METHODS IN MURINE MUCOSITIS** RAFAELA M. PESSOA^{*}; ISABELLA K. T. M. TAKENAKA; PATRICIA A. V. DE BARROS; LIVIA P. MOURA; SARA M. L. CONTARINI; JULIANA M. AMORIM; RAQUEL O. CASTILHO; CAMILA M. A. LEITE; VALBERT N. CARDOSO; SIMONE ODÍLIA F. DINIZ UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS, BELO HORIZONTE, MG, BRASIL.

Introduction: Mucositis affects approximately 80% of patients who receive chemotherapy combinations. The lesions are painful, restrict food intake and make patients more susceptible to systemic infections. Some agents and strategies are being studied for controlling mucositis, none of them is used in clinical practice. In Minas Gerais, many studies have addressed the popular use of the plant *Arrabidaea chica* in the form of tea, to treat intestinal cramps and diarrhea, the main symptoms of mucositis.

Objective: To evaluate the potential of *Arrabidaea chica* extract in the management of the integrity of the intestinal mucosa, using the experimental model of gut mucositis induced by 5-Fluorouracil (5-FU).

Methods: The UFMG Ethics Committee for Animal Experimentation (CETEA/UFMG) approved this study (n° 411/2015). Male BALB/c mice between 6-8 weeks of age were randomly divided into four groups (n=9) as follows: 1. Control (CTL) – oral administration of saline solution (10 days); 2. *A. chica* (AC) – oral administration of *A. chica* extract (10 days); 3. Mucositis (MUC) - underwent mucositis (5-FU) (10 days); 4. Mucositis + *A. chica* (MUC+ AC) - underwent mucositis and received oral administration of *A. chica* extract (10 days). At the 7th day, mice in the MUC and MUC + AC groups received an intraperitoneal (IP) injection containing 300 mg/kg 5-FU, whereas the animals of the CTL and AC groups received a saline IP injection. After 72 hours (10th experimental day), intestinal permeability was determined by measuring the radioactivity diffusion in the blood after oral administration of diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA) labelled with technetium-99m (99mTc) and bacterial translocation was determined by measuring the radioactivity diffusion in the blood after oral administration of *E. coli* labelled with technetium-99m (99mTc). After 4 hours, the mice were euthanized and assessed for intestinal permeability, bacterial translocation and intestinal histology. The individual amount of food ingested was evaluated every three days and the weight of the mice was measured with a semi analytical balance also every three days.

Results: Mice from the MUC group had higher weight loss compared with the control group and reduced food consumption ($p < 0.05$). However, mice that received oral administration of *A. chica* extract and underwent mucositis (MUC + AC) had reduced weight loss and higher food consumption ($p < 0.05$). Intestinal permeability and bacterial translocation were higher in the MUC group compared to the CTL group ($p < 0.05$), whereas, the animals that received *A. chica* extract and underwent mucositis, had decreased intestinal permeability and bacterial translocation compared to the MUC group mice ($p < 0.05$). Histology analyses were used to assess alterations in the ileum mucosa. Mice from the MUC group showed lesions in the small intestine with cell infiltration in the lamina propria, as well as inflammation in the submucosa and muscular layers. Mice that received *A. chica* extracts and underwent mucositis showed more preserved ileum mucosa than the MUC group mice and showed a similar histology compared to the mice from the control group.

Conclusion: *A. chica* extract treatment reduced the weight loss, the intestinal permeability, bacterial translocation and the inflammation, indicating that the extract can be effective in the management of the inflammatory process in the intestinal mucosal after the chemotherapy treatment.

Financial support: CAPES, FAPEMIG, CNPq.

Key words: Mucositis; 5-fluorouracil; translocação bacteriana

[820] **DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO BASEADO EM CROMATOGRAFIA GASOSA PARA QUANTIFICAÇÃO DO ISOPROPANOL EM PREPARAÇÕES RADIOFARMACÊUTICAS**

MÉRCIA LIANE DE OLIVEIRA*

CRCN/NE, RECIFE, PE, BRASIL

Introdução: Em preparações de 18F-FDG, o etanol e a acetonitrila são comumente utilizados no processo de síntese para garantir solubilidade e/ou estabilidade do produto. Por serem potencialmente tóxicos, exige-se a determinação dos seus níveis para a liberação do radiofármaco. Contudo, outros solventes orgânicos, tal como o isopropanol, usualmente são empregados em processos de limpeza e podem ser detectados também na formulação final. Apesar de estar inserido no grupo dos solventes classe 3 (baixo potencial de toxicidade), a quantidade de isopropanol deve ser limitada e, por isso, esse analito deve ser avaliado em teste de controle de qualidade (Guidance for Industry Q3C(R5), ICH, 2011).

Objetivos: Desenvolver e validar método para a quantificação dos solventes etanol, acetonitrila e isopropanol para utilização na rotina do controle de qualidade do 18F-FDG.

Métodos: Foi utilizado o cromatógrafo à gás (modelo 6850) com injetor automático (Agilent), equipado com um detector de ionização de chama (FID) e uma coluna de sílica (0,25 µm com 30m x 0,53mm). O fluxo do gás hélio foi de 2,0 mL/min, split de 60, volume de injeção de 1,0 µL e temperatura inicial de 30oC (por 0,5 min), elavada até 60oC, permanecendo assim até 6,5 min. A porta de injeção e o detector foram mantidos a uma temperatura de 250 e 260oC, respectivamente.

Resultados: O método demonstrou ser eficiente, separando os analitos de maneira específica com os seguintes tempos de retenção em minutos: etanol, 5,0; isopropanol, 5,36; e acetonitrila, 5,5. Os ensaios de validação mostraram que o método é preciso (CV% < 5%), exato (entre 95% e 105%) e robusto quando submetido a pequenas variações no fluxo da fase móvel, temperatura e split. Além disso, o método foi considerado linear em um amplo intervalo (500-10.000 µg/mL para o etanol e isopropanol e de 40-800 µg/mL para a acetonitrila), com R² > 0,999. Os limites de detecção e quantificação (em µg/mL) foram estabelecidos, sendo respectivamente, 51,6 e 172,1 para o etanol, 28,8 e 95,9 para o isopropanol e 5,6 e 18,5 para a acetonitrila.

Conclusão: O método desenvolvido demonstrou ser apropriado para sua finalidade, apresentou resultados de validação de acordo com as especificações exigidas pela ANVISA e, portanto, pode ser utilizado na rotina dos centros de medicina nuclear.

Apoio financeiro: CNEN e CNPq.

Palavras-chave: Cromatografia gasosa; controle de qualidade; 18f-FDG

EIXO TEMÁTICO - NANOBIOTECNOLOGIA

[797] ESTUDO DA VIABILIDADE DO USO DO APTÂMERO ANTI-MUC1 COMO VETOR ALVO DIRECIONADOR DE 1,10 FENANTROLINA PARA RADIOSENSIBILIZAÇÃO DE CÉLULAS DE CÂNCER DE MAMA

LAÍS NASCIMENTO ALVES^{*1}; CARLOS EDUARDO BONACOSSA DE ALMEIDA¹; CLAUDIA DE ALENCAR SANTOS LAGE²; SOTIRIS MISSAILIDIS³

1. INSTITUTO DE RADIOPROTEÇÃO E DOSIMETRIA, RIO DE JANEIRO, RJ;

2. UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO, RIO DE JANEIRO, RJ;

3. FIOCRUZ, RIO DE JANEIRO, RJ

Introdução: Com o crescimento da incidência de câncer na população brasileira, existe uma necessidade alarmante para estudo de novas terapias anti-tumorais alvo direcionadas e, portanto, menos tóxicas para o paciente. O desenvolvimento de agentes terapêuticos direcionados e mais eficazes, baseia-se na expressão de proteínas específicas de tecidos malignos, ou seja, marcadores tumorais. Seguindo esta premissa, a glicoproteína MUC1 foi selecionada como alvo para experimentação de um ligante de MUC1 como vetor de distribuição de um radiosensibilizador (1,10 fenantrolina) para células de câncer de mama.

Objetivo: Avaliação do potencial do aptâmero anti-MUC1 (aptA) como vetor de distribuição do complexo 1,10 fenantrolina (phen) conjugada com ferro (Fe), in vitro utilizando células de adenocarcinoma de mama.

Metodologia: 1) Determinação do grau de afinidade da associação do complexo phen+Fe ao DNA através da análise de dicroísmo circular. 2) Marcação e determinação da cinética de ligação do complexo Phen_Fe+apta_rho em alvos celulares usando a linhagem MCF-7 (MUC1 positivas), através de citometria de fluxo. 3) Avaliação da localização do complexo phen_Fe+apta_rho em alvos celulares usando a linhagem MCF-7 (MUC1 positivas), através de microscopia de fluorescência.

Resultados: Nos espectros dicroicos foi avaliado aptA livre e misturado com as soluções de titulação com diferentes concentrações de phen+Fe. Na ausência de Fe, a phen não se liga ao DNA, porém na presença, liga-se em uma proporção de 1 molécula de Fe para cada 3 de phen. A conformação do aptA foi preservada, pois a especificidade ao alvo se manteve, o que foi confirmado através do ensaio com FACS.

Conclusão: Nossos resultados indicam que o aptA pode ser usado como vetor de carreamento de moléculas radiosensibilizadoras como a phen, por intercalação. O próximo passo será testar este complexo quanto ao seu potencial de radiosensibilização in vitro sob diversas formas de uso, antes durante e depois da irradiação.

Apoio financeiro: CAPES

Palavras-chave: Drug delivery; radiosensibilizador; quimiorradioterapia

EIXO TEMÁTICO: RESSONÂNCIA MAGNÉTICA

[828] AVALIAÇÃO DA MISTURA DE GEL CLÍNICO COM SULFATO DE COBRE COMO MODIFICADOR DOS TEMPOS DE RELAXAÇÃO DO GEL EM RESSONÂNCIA MAGNÉTICA

GABRIELA PONTES CARDOSO*; RODRIGO MODESTO GADELHA GONTIJO; SIDNEY SENA SOARES; ADRIANA DE SOUZA MEDEIROS BATISTA

1. UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS, BELO HORIZONTE, MG, BRASIL.

Introdução: O preparo de misturas como simulador de tecido em Ressonância Magnética (RM) pode ser utilizado tanto para finalidades didáticas quanto para pesquisa no campo das aplicações biomédicas. Géis clínicos com mesma densidade da água é uma alternativa para simular tecidos em RM, por ser uma técnica específica para visualização de tecidos moles. Por outro lado, é importante que haja diferença nos tempos de relaxação do gel de modo a simular pequenas diferenças entre os distintos tecidos presentes no corpo. Neste sentido, uma estratégia é usar material paramagnético, como o CuSO_4 , para garantir alinhamento ao campo magnético e modificar a disponibilidade de hidrogênio para obtenção das imagens.

Objetivos: Avaliar a homogeneidade da mistura de gel clínico com sulfato de cobre como modificador dos tempos de relaxamento em Ressonância Magnética.

Métodos: 20 amostras foram preparadas com diferentes proporções de CuSO_4 em RMC® Gel Clínico incolor do fabricante Unigel. Em cada amostra, foram utilizados de 25 a 250 mg de CuSO_4 para cada 100 ml do gel. Duas formas para misturar os componentes foram testadas: manual (30 segundos) e profissional (15 minutos), com auxílio de agitador magnético (Corning, PC 420 D). A homogeneidade da mistura foi verificada pela técnica de Espectroscopia no Ultravioleta Visível (UV-Vis) (Shimadzu, UV-2401 PC), para a qual foi necessária a separação de 3 ml de cada mistura em duplicata para esta análise. O pico de absorção analisado foi centrado em 800 nm, correspondente ao grupo sulfato. Avaliação macroscópica foi realizada pelo período de quinze dias, através da avaliação visual da manutenção da mistura, de modo a identificar possível formação visível de agregados.

Resultados: 14 amostras mantiveram sua consistência em gel quando adicionado CuSO_4 em até 175 mg, perdendo esta consistência nas outras 6 amostras em proporções maiores. A dispersão realizada com agitador magnético não se mostrou adequada, produzindo concentrados de CuSO_4 . Foi verificada estabilidade das 7 misturas manuais durante o período dos quinze dias de observação visual. Espectros de UV-Vis confirmaram boa dispersão das amostras misturadas manualmente, evidenciada pelo aumento da absorção do pico centrado em 800 nm com o aumento da concentração de CuSO_4 , além de reprodutibilidade em duplicata da altura do pico.

Conclusão: Os resultados encorajam a continuar a avaliação da mistura como modificador dos tempos de relaxamento do gel, para simular tecidos, quando submetidos à RM.

Apoio Financeiro: Pró-Reitoria em Pesquisa da UFMG.

Palavras-chave: Espectroscopia no ultravioleta visível; sulfato de cobre; ressonância magnética

ÍNDICE DE AUTORES

AUTOR	FORMATO DE APRESENTAÇÃO/CÓDIGO
AFFONSO, R.	PAINEL 801
ALCARDE, L.F.	COMUNICAÇÃO ORAL 774
ALENCAR, M.A.V.	PAINEL 787
ALMEIDA, P.	COMUNICAÇÃO ORAL 819, PAINEL 818, PAINEL 808
ALVARENGA, L.H.	PAINEL 808
ALVES, L.N.	PAINEL 797
ALVES, J.R.	COMUNICAÇÃO ORAL 789, PAINEL 802
AMARAL, F.A.	COMUNICAÇÃO ORAL 803,
AMARAL, A.J.	PAINEL 827, PAINEL 829
AMORIM, J.M.	PAINEL 815
ANDRADE, A.S.R.	PAINEL 822
ARAUJO, L.C.	PAINEL 816
AWEDA, T.	COMUNICAÇÃO ORAL 831
AZZOLIN, V.F.	PAINEL 817
BAGNATO, V.S.	COMUNICAÇÃO ORAL 834,
BALOGH, T.S.	PAINEL 783
BARBISAN, F.	PAINEL 817
BARBOSA, D.A.	PAINEL 816
BARBOSA, M.R.F.F.	PAINEL 806
BATISTA, A.S.M.	PAINEL 828
BAUERMAN, L.F.	PAINEL 817
BEACHAM, R.	COMUNICAÇÃO ORAL 831
BELINATO, W.	PAINEL 804
BELINELLO-SOUZA, E.R.	PAINEL 808
BELLINI, M.H.	PAINEL 788, PAINEL 801, PAINEL 795, PAINEL 794
BENEDETTO, R.	COMUNICAÇÃO ORAL 774, PAINEL 796, PAINEL 777
BERGMANN, A.	PAINEL 825
BERNARDO, G.C.	PAINEL 812, PAINEL 813
BISPO, A.C.A.	COMUNICAÇÃO ORAL 805
BOFF, D.	COMUNICAÇÃO ORAL 803,
BONFIM, L.	COMUNICAÇÃO ORAL 823
BORTOLUCI, C.H.F.	PAINEL 812
BRANDÃO, S.C.D.	PAINEL 799
BUCHAIM, R.L.	PAINEL 812
CABRAL, F.R.	PAINEL 806

CABRAL, F.V.	COMUNICAÇÃO ORAL 809,
CAMPOS, M.R.A.	COMUNICAÇÃO ORAL 805
CANUTO, K.S.	COMUNICAÇÃO ORAL 789
CARDONÁ, F.C.	PAINEL 817
CARDOSO, V.N.	COMUNICAÇÃO ORAL 803, PAINEL 822, PAINEL 815
CARDOSO, G.P.	PAINEL 828
CARRIBEIRO, P.	PAINEL 808
CARVALHO, R.L.P.	COMUNICAÇÃO ORAL 814, COMUNICAÇÃO ORAL 819, COMUNICAÇÃO ORAL 814, PAINEL 813
CASTILHO, R.O.	PAINEL 815
CAVALCANTI, M.B.	PAINEL 827, PAINEL 829, PAINEL 826
CHUERY MARTINS ROSTELATO, M.E.	PAINEL 807
CONTARINI, S.M.L.	COMUNICAÇÃO ORAL 803, PAINEL 815
CORBO, R.	PAINEL 825
COURROL, L.C.	PAINEL 824
DA COSTA ARALDI, I.C.	PAINEL 817
DA FONSECA, A.S.	COMUNICAÇÃO ORAL 786, COMUNICAÇÃO ORAL 789, PAINEL 798, PAINEL 802, PAINEL 799, PAINEL 785, PAINEL 782, PAINEL 781
DA MATA, L.M.	COMUNICAÇÃO ORAL 803
DA SILVA, G.F.	PAINEL 829, PAINEL 826
DA SILVA, G.P.	PAINEL 818
DA SILVA, J.T.	PAINEL 807
DA SILVA, R.T.	COMUNICAÇÃO ORAL 819
DAMASCENO, M.O.	PAINEL 783
DANTAS, S.C.	PAINEL 829
DARUICH DE SOUZA, C.	PAINEL 807
DARÉ, L.R.	PAINEL 813
DE ALMEIDA, C.E.B.	PAINEL 797
DE ALMEIDA LEITE, C.M.	PAINEL 815
DE ARAÚJO, E.B.	COMUNICAÇÃO ORAL 774, PAINEL 796, PAINEL 777
DE BARROS, P.A.V.	PAINEL 815
DE BARROS, A.L.B.	PAINEL 822
DE FREITAS, G.A.	PAINEL 799
DE LIMA, M.E.	COMUNICAÇÃO ORAL 803,
DE OLIVEIRA, M.L.	PAINEL 820
DE OLIVEIRA, V.L.S.	COMUNICAÇÃO ORAL 803
DE OLIVEIRA MARQUES,	PAINEL 807

J.R.	
DE OLIVEIRA MENDONÇA, D.E.	PAINEL 816
DE PAOLI, F.	PAINEL 785, COMUNICAÇÃO ORAL 786
DE SOUZA, J.G.	PAINEL 799
DE SOUZA, C.M.	PAINEL 799
DE SOUZA, B.P.	PAINEL 798
DELLE, H.	PAINEL 818
DENO, A.A.	COMUNICAÇÃO ORAL 819
DIAS, D.V.	PAINEL 812
DINIZ, E.C.	PAINEL 829, PAINEL 826
DINIZ, S.O.F.	COMUNICAÇÃO ORAL 803, PAINEL 815
DO NASCIMENTO, A.G.	PAINEL 829, PAINEL 826
DOS SANTOS, D.M.	COMUNICAÇÃO ORAL 803
DURANTE, A.C.R.	PAINEL 806
EL SAYED, R.	COMUNICAÇÃO ORAL 831
FANTINATI, M.S.	PAINEL 816
FERNANDES, T.S.E.	PAINEL 827, PAINEL 829, PAINEL 826
FERNANDES, A.U.	PAINEL 808
FERNÁNDEZ, L.G.	COMUNICAÇÃO ORAL 830
FERREIRA, I.M.	PAINEL 822
FERREIRA, A.V.	PAINEL 784
FORBICINI, C.A.O.	PAINEL 783
FUSCALDI, L.L.	COMUNICAÇÃO ORAL 803
GADELHA GONTIJO, R.M.	COMUNICAÇÃO ORAL 805, PAINEL 784, PAINEL 828
GAIATO, M.	COMUNICAÇÃO ORAL 814
GODOY-MIRANDA, B.A.	PAINEL 808
GOMES, M.L.	PAINEL 825
GONÇALVES, K.O.	COMUNICAÇÃO ORAL 823, PAINEL 824
GUIMARAES, T.T.	PAINEL 825
IKEGAMI, A.	PAINEL 788
INADA, N.M.	COMUNICAÇÃO ORAL 834
IWAHARA, L.K.F.	PAINEL 787
JÚNIOR, J.T.A.	COMUNICAÇÃO ORAL 803
LAGE, C.A.S.	PAINEL 797
LAPI, S.	COMUNICAÇÃO ORAL 831
LEAL SILVA, J.P.	PAINEL 795
LEITE, L.L.B.	PAINEL 829, PAINEL 826

LEITE, I.S.	COMUNICAÇÃO ORAL 834
LEMO, C.	PAINEL 808
LIMA, V.S.	PAINEL 783
LIMA-LEAL, C.R.	PAINEL 808
LINO JÚNIOR, R.S.	PAINEL 816
LOPES-MARTINS, R.A.B.	COMUNICAÇÃO ORAL 819, PAINEL 818
LOURENÇO, T.C.	PAINEL 813
LUNA, A.C.L.	PAINEL 810
MALAMUT, C.	COMUNICAÇÃO ORAL 805
MALAVOLTA, L.	PAINEL 806
MAMEDE, M.	COMUNICAÇÃO ORAL 805, PAINEL 784
MARCO, R.L.	COMUNICAÇÃO ORAL 814, COMUNICAÇÃO ORAL 819, PAINEL 818, PAINEL 808
MARIA, D.A.	PAINEL 810
MARQUEZ-NOSTRA, B.	COMUNICAÇÃO ORAL 831
MASSICANO, A.V.	COMUNICAÇÃO ORAL 831, COMUNICAÇÃO ORAL 774, PAINEL 796
MENCALHA, A.	COMUNICAÇÃO ORAL 786, COMUNICAÇÃO ORAL 789, PAINEL 802, PAINEL 785, PAINEL 782, PAINEL 781
MENDES, J.P.M.	PAINEL 798
MENGATTI, J.	COMUNICAÇÃO ORAL 774, PAINEL 796, PAINEL 777
MIGUEL, N.A.	COMUNICAÇÃO ORAL 814
MIRANDA, A.C.C.	PAINEL 806
MIRANDA, S.E.M.	COMUNICAÇÃO ORAL 803
MIRANDA, T.L.	PAINEL 799
MONTEIRO FANTINATI, A.M.	PAINEL 816
MOURA, L.P.	PAINEL 815
MÂNICA DA CRUZ, I.B.	PAINEL 817
NAPOLITANO, A.A.T.	COMUNICAÇÃO ORAL 814
OLIVEIRA, R.	PAINEL 796
OLIVEIRA, M.S.	PAINEL 787
OLIVEIRA REIS, J.C.	PAINEL 816
PALLOTTA, R.C.	COMUNICAÇÃO ORAL 819
PELLEGRINO, M.T.	COMUNICAÇÃO ORAL 809
PEREIRA DIAS, L.A.	COMUNICAÇÃO ORAL 774, PAINEL 777
PEREZ VIEIRA, D.P.	COMUNICAÇÃO ORAL 823, PAINEL 824
PESSOA, R.M.	PAINEL 815

PETRELLIS, M.C.	PAINEL 818
PICCIRILLO, S.	COMUNICAÇÃO ORAL 819
PINTO, T.L.	PAINEL 801
PRATES, R.A.	PAINEL 818, PAINEL 808
PUJATTI, P.B.	PAINEL 825
RAMIM, J.E.	PAINEL 825
REBECCHI, C.	PAINEL 818
REGO, M.J.B.M.	PAINEL 829, PAINEL 826
REIS, R.M.	PAINEL 796
REYES, A.L.	COMUNICAÇÃO ORAL 830
RIBEIRO, A.F.	PAINEL 798
RIBEIRO, M.S.	COMUNICAÇÃO ORAL 809, PAINEL 810, PAINEL 816
RIBEIRO NOGUEIRA, B.	PAINEL 807
ROSA JUNIOR, G.M.	COMUNICAÇÃO ORAL 814, PAINEL 812, PAINEL 813
SANTOS, T.C.P.	PAINEL 812
SANTOS, W.S.	PAINEL 804
SANTOS, B.F.	PAINEL 816
SANTOS, L.G.S.	PAINEL 826
SANTOS, L.S.	COMUNICAÇÃO ORAL 814
SCHEFFELMEIER, A.L.A.	PAINEL 813
SEABRA, A.B.	COMUNICAÇÃO ORAL 809
SERGIO, L.P.S.	COMUNICAÇÃO ORAL 786, PAINEL 785, PAINEL 782, PAINEL 781
SHINDO, J.V.T.C.	PAINEL 812, PAINEL 813
SILVA, J.B.	COMUNICAÇÃO ORAL 805, PAINEL 784
SILVA, E.B.	PAINEL 827, PAINEL 829, PAINEL 826
SILVA, E.C.	PAINEL 794
SILVA, J.J.	COMUNICAÇÃO ORAL 774, PAINEL 796, PAINEL 777
SILVA, E.F.	PAINEL 801
SILVA, C.R.	PAINEL 810
SILVA, C.S.F.	PAINEL 827
SILVEIRA, M.B.	COMUNICAÇÃO ORAL 805
SOARES, M.A.	PAINEL 825
SOARES, L.C.	PAINEL 798
SOARES, S.S.	PAINEL 828
SOBRAL, D.V.	PAINEL 806
SOUZA, D.C.	PAINEL 807
SOUZA, D.D.N.	PAINEL 804

STUMBO, A.C.	PAINEL 782, PAINEL 781
SÀ, A.P.N.	PAINEL 833
TAKENAKA, I.K.T.M.	PAINEL 815
TARGINO, B.	PAINEL 801
TEIGA RODRIGUES, B.T.	PAINEL 807
TEIXEIRA, A.F.	COMUNICAÇÃO ORAL 789, PAINEL 802, PAINEL 785, PAINEL 782
TEIXEIRA DA SILVA, L.F.	PAINEL 788
TERAN, M.A.	COMUNICAÇÃO ORAL 830
THOMÉ, A.M.C.	COMUNICAÇÃO ORAL 786, PAINEL 798, PAINEL 799, PAINEL 785, PAINEL 781,
TOZETTI, C.A.	PAINEL 807
TRAJANO, L.A.S.N.	COMUNICAÇÃO ORAL 786, PAINEL 785, PAINEL 782, PAINEL 781
TRAJANO, E.T.L.	PAINEL 798, PAINEL 782, PAINEL 781
TURANO, W.	PAINEL 796
VERAS, R.C.	PAINEL 829
VICENTINI, S.C.	COMUNICAÇÃO ORAL 786, PAINEL 785
VILLAVICENCIO, A.L.C.H.	PAINEL 833
VIVERO-ESCOTO, J.L.	COMUNICAÇÃO ORAL 834
WIECZOREK VILLAS BOAS, C.A.	COMUNICAÇÃO ORAL 774, PAINEL 796, PAINEL 777
ZEITUNI, C.A.	PAINEL 807

Organização



SBBN

Sociedade Brasileira de Biociências Nucleares

Apoio



Patrocinadores



CAPES
Coordenação de Aperfeiçoamento
de Pessoal de Nível Superior



CNPq
Conselho Nacional de Desenvolvimento
Científico e Tecnológico



FAPESP

Divulgação e Design



Comunicação e Marketing