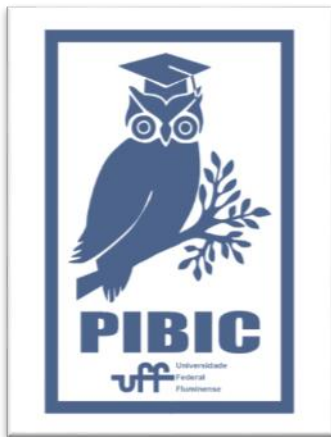




CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

REVISTA PIBIC 2019



Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas

Título do Projeto: Caracterização dos mecanismos celulares e moleculares da morte celular induzida por plantas do gênero *equisetum* e *piper* no carcinoma de células escamosas de boca (CCEB).

Autores: Gabriella Ribeiro Machado da Costa, Bruno Kaufmann Robbs

Departamento/Unidade/Laboratório: Campus Universitário de Nova Friburgo (CNF) / Instituto de Saúde de Nova Friburgo (ISNF) / Departamento de Ciências Básicas (FCB) / Laboratório Multiusuário de Pesquisa Biomédica (LMPB).

INTRODUÇÃO:

O câncer de cabeça e pescoço é o quinto câncer mais comum no mundo e a oitava causa mais frequente de morte pelo câncer. No Brasil, dados atuais do INCA (Instituto Nacional de Câncer) descrevem o câncer de boca como o 5º câncer mais comum entre os homens e o 12º entre as mulheres (Ministério da Saúde, 2014). Geralmente é diagnosticado em estágios avançados, dificultando o tratamento e reduzindo o índice de sobrevivência dos pacientes. Há necessidade de novos fármacos no mercado para um tratamento mais eficaz dessa enfermidade. Nesse estudo foram selecionadas plantas do gênero *Equisetum*, já que estudos etnobotânicos indicam que plantas deste gênero apresentam função demonstrada para tratamento do câncer. Portanto o objetivo do trabalho foi realizar caracterização fitoquímica e avaliação de atividades biológicas quimiopreventiva e terapêutica no CCEB de extratos de *Equisetum hyemale*, *in vitro*, foram testadas em linhagens de células tumorais de câncer de boca (SCC9, SCC4 e SCC25) e fibroblasto humano de uma cultura primária.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

No ensaio clonogênico, o extrato bruto apresentou uma redução significativa na quantidade de colônias, em torno de 50%, obtendo resultados próximos à carboplatina, antitumoral utilizado como controle positivo. A concentração inibitória

de 50% da viabilidade (IC_{50}) foi determinada para esses extratos utilizando o ensaio de redução do sal de MTT. Inicialmente foi usada a célula SCC9, o extrato bruto alcançou o IC_{50} de $200,6 \pm 0,09 \mu\text{g/ml}$ e a Carboplatina obteve um IC_{50} de $280 \pm 0,06 \mu\text{g/ml}$. Com o extrato bruto demonstrando uma inibição da viabilidade celular, foi realizado o fracionamento do extrato bruto nas frações químicas em hexano, diclorometano e acetato de etila. Foi repetido o ensaio com as frações, tendo como resultado de IC_{50} : hexano $278 \pm 0,16 \mu\text{g/ml}$, acetato de etila $64,5 \pm 0,072 \mu\text{g/ml}$ e a fração de diclorometano não alcançou 50% de inibição nas concentrações testadas. A partir desses resultados, a fração de Acetato de Etila foi selecionada para ensaios de viabilidade celular em diferentes linhagens de câncer de células escamosas de boca, SCC4 e SCC25, e apresentou inibição de $IC_{50} = 54,53 \pm 0,047$ em SCC25 e $IC_{50} = 64,49 \pm 0,014$ em SCC4. Posteriormente, foi realizado ensaio de microscopia, ensaio de contagem absoluta de células e marcação com iodeto de propídio, Na contagem absoluta de célula foi visto a redução de células viáveis em comparação com o controle DMSO, e apresentaram redução maior que o controle positivo confirmando o resultado visto no ensaio de viabilidade celular anteriormente. Quando marcadas com iodeto de propídio apresentou mais células marcadas, mas sem diferença estatística em comparação com controle. A seletividade dos extratos

foi calculada em ensaios de viabilidade celular utilizando fibroblastos primários de gengiva humana, onde a partição de Acetato de Etila apresentou o IC₅₀ de 133,5±0,02 µg/mL. Foi calculado o Índice de seletividade a partir da fórmula: IC₅₀ do Fibroblasto / Media de IC₅₀ das SCC4, SCC25 e SCC9. O Índice de seletividade alcançado foi de 2,199781. Para testar a possível aplicabilidade *in vivo* desses extratos foi realizado ensaio de hemólise, onde foi observado que a partição nas concentrações testadas demonstrou hemólise semelhante aos controles testados, se mantendo abaixo de 5%, valor aceitável descrito em literatura. Foi feita análise cromatográfica dos extratos (1 mg/mL etanol pa.), com um cromatógrafo acoplado a um espectrômetro de massa para analisar fitoquimicamente a partição. A interpretação dos resultados ainda está em andamento.

CONCLUSÃO:

A partir dos resultados obtidos nos experimentos realizados, observamos que o extrato da *Equisetum hyemale* apresenta efeitos citotóxicos em células de OSCC, tendo essa capacidade aumentada na fração de acetato de etila, demonstrando essa citotoxicidade em mais de uma linhagem tumoral de boca e demonstrando seletividade células normais como fibroblastos e eritrócitos, sendo assim resultados animadores. Com o prosseguimento do projeto, a análise da espectrometria de massa será finalizada e a partir desses resultados poderão ser selecionadas possíveis moléculas com ação antitumoral.

AGRADECIMENTOS:

Agradeço ao Professor Dr. Bruno Kaufmann Robbs pela oportunidade de participar desse trabalho tão significativo para a sociedade e de dividir conosco parte de seu conhecimento na área.

Agradeço também as instituições fomento PROPPi/UFF; PIBIC/UFF.

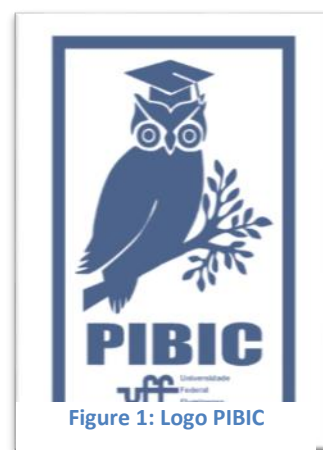


Figure 1: Logo PIBIC



Ciências Biológicas

ESTUDO DE ENDOPARASITAS E ECTOPARASITAS PRESENTES NA AVIFAUNA DA BAÍA DE GUANABARA PROVENIENTE DO AEROPORTO INTERNACIONAL TOM JOBIM – RIOgaleão

Sarah Trifilio Lira, Magda Antonello, Lucas Almeida Zangirolami, Mariana Lopes Duarte, Beatriz Brener

Departamento de Microbiologia e Parasitologia

INTRODUÇÃO:

O Brasil abriga uma das mais variadas avifaunas do mundo devido a diversos biomas presentes no país. Seus parasitos oferecem uma visão importante sobre suas interações ecológicas, podendo revelar amplas mudanças no ecossistema. As aves podem ser acometidas por grande número de artrópodes parasitos, sendo os piolhos mastigadores os mais comumente descritos. Os ectoparasitos têm conhecida importância na transmissão de microrganismos, como os gêneros *Plasmodium*, *Haemoproteus*, *Leucocytozoon*, *Hepatozoon* e *Babesia*, que exercem pressão de seleção sobre seus hospedeiros. As helmintíases também são descritas nas aves de vida livre. A variação na dieta destes animais os expõe a um diversificado conjunto de endoparasitos em todas as suas áreas geográficas. As parasitoses podem levar os programas de manejo e recuperação de animais silvestres ao insucesso, apenas devido ao desconhecimento de tais parasitos ou de formas eficazes de combatê-los. Apesar disso, as informações sobre abundância, prevalência, distribuição e impactos de parasitos de aves em seus hospedeiros ainda é limitada.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Este projeto recebe carcaças provenientes da empresa de manejo de fauna do Aeroporto Internacional Tom Jobim – RIOgaleão. Visto que o aeródromo é circundado pela Baía de Guanabara, compreendendo parcialmente o bioma da mesma, com grandes extensões de manguezais em suas margens, este se torna um grande atrativo para diversas

espécies de aves comumente encontradas na cidade. Desta forma, o aeroporto contribui com a pesquisa através da doação de carcaças.

A coleta de ectoparasitos é efetuada segundo método descrito por BRITO (2018). As carcaças recolhidas são necropsiadas, sendo coletados os ectoparasitos encontrados. Os parasitos passam por técnicas de clarificação e montagem de lâminas permanentes e observação em microscópio óptico, sendo analisados morfometricamente para identificação.

Para a coleta de helmintos, durante a necropsia do animal procura-se por estes nos sistemas digestório, respiratório, renal, cardíaco, reprodutor, assim como no fígado, tecido muscular, olhos e patas. Os helmintos são procurados macroscopicamente e com o auxílio de lupa. São fixados em AFA por 24 horas e depois conservados em álcool 70° GL.

Os nematóides serão clarificados em ácido acético e fenol e montados provisoriamente entre lâmina e lamínula. Os trematódeos e cestóides serão processados e corados em hematoxilina de Delafield, clarificados em creosoto e montados definitivamente em bálsamo do Canadá entre lâmina e lamínula. Os acantocéfalos serão diafanizados em glicerina ou corados pelo Carmalumem de Mayer, desidratados em série alcoólica crescente, diafanizados pelo óleo de cravo e montados em bálsamo do Canadá. Todos os helmintos serão medidos para determinação.

Foram necropsiadas 20 aves, dentre elas, o Quero-quero (*Vanellus chilensis*), Biguás (*Phalacrocorax brasilianus*), Garça-branca-grande (*Ardea alba*), Savacu (*Nyctcorax nyctcorax*), Coruja-orelhuda (*Asio clamator*), Fragata (*Fregata magnificens*), Urubu (*Coragyps atratus*) e Pato-irerê (*Dendrocygna viduatta*). Todas tiveram seus ectoparasitos e

endoparasitos, neste caso helmintos, coletados, que estão em processo de identificação.

É escasso o conhecimento no que diz respeito a diversidade parasitária presente nestes animais. O projeto possibilitará o relato da presença dos parasitos nas aves do Rio de Janeiro.

CONCLUSÕES:

Estão sendo observados os parasitos de diversas classes distintas presentes nas aves, o que auxiliará programas de manejo e recuperação de animais silvestres, pois ainda existe muito desconhecimento de tais parasitismos ou de formas eficazes de combatê-los. Além disso, está sendo analisado se existem parasitos com potencial zoonótico circulando entre os animais, que funcionam como reservatórios.

AGRADECIMENTOS:

Primeiramente a Deus e aos Orixás pois sem eles nada seria possível.

A Universidade Federal Fluminense por permitir o desenvolvimento do trabalho.

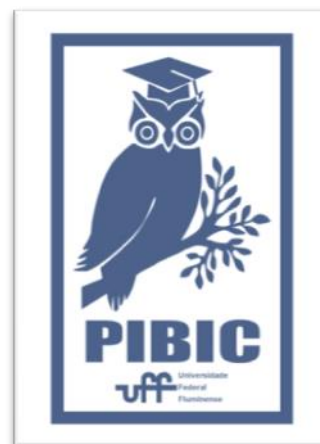
A minha orientadora Beatriz Brener pelo empenho dedicado ao projeto, além de ser um exemplo de professora, mãe e mulher.

A Magda Antonello por todo o conhecimento compartilhado e todo carinho.

Aos meus pais, Rose Lira e Claudio Lira, e meu irmão, Matheus Lira, por todo o apoio.

A toda equipe do CEPAR – Serviço de Manutenção de Animal Silvestre, Imunização e Controle de Praga Urbana Eireli e da gerência de sustentabilidade RIOGaleão pelo apoio ao projeto e pelo cuidado no momento das visitas.

Figure 1: Logo PIBIC





Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas

Título do Projeto: Estudo de associação entre um polimorfismo no gene *ACE* e o desenvolvimento de silicose simples e complicada ou tuberculose em trabalhadores expostos à sílica no Estado do Rio de Janeiro

Autores: Lucas de Carvalho Costa, Kaio Cezar Rodrigues Salum, Júlia Fernandes Barbosa dos Santos, Marcos Cesar Santos Castro, Ângela

Ferreira Nani, Fabiana Barzotto Kohlrausch

Departamento/Unidade/Laboratório: Biologia Geral/Instituto de Biologia/Laboratório de Genética Humana

INTRODUÇÃO:

A silicose é uma doença pulmonar causada pela inalação e deposição de cristais de sílica (SiO_2) nos alvéolos, gerando resposta inflamatória e fibrose nodular. As diferentes manifestações radiológicas são classificadas pela Organização Nacional do Trabalho (ILO) em silicose simples e complicada. A tuberculose é a principal comorbidade da silicose, sendo que pacientes silicóticos possuem uma taxa de risco 40 vezes maior à tuberculose do que os não-silicóticos, e expostos à sílica 3,7 vezes maior do que não-expostos. O grau de exposição à sílica é o principal fator de risco para a silicose. Entretanto, indivíduos com graus de exposição similares podem apresentar gravidades distintas de silicose. Em função do caráter multifatorial da doença, é possível que fatores extrínsecos, como tempo de exposição e carga tabágica, e intrínsecos, como polimorfismos em genes relacionados às vias da silicose, podem ter um efeito na sua susceptibilidade e severidade. A ECA é a enzima responsável por converter o angiotensina-I em angiotensina-II, substância vasopressora, que também atua em vias fibrogênicas e fibrolíticas. Foi observado que concentrações mais altas de ECA estavam presentes em doenças pulmonares. O gene que codifica a enzima (*ACE*) possui um polimorfismo funcional do tipo polimorfismo INDEL, caracterizado pela presença/ausência de um segmento de 287 pares de base (pb) no íntron 16 do gene. Os genótipos Del/Del e Ins/Del foram associados à níveis plasmáticos e atividade tecidual mais elevados de ECA do que o genótipo Ins/Ins. Adicionalmente, observou-se que os genótipos Del/Del e Ins/Del podem exercer influência na susceptibilidade à silicose,

enquanto o genótipo Ins/Ins exerceria função protetora. Assim, o objetivo deste estudo é avaliar a magnitude de associação entre o polimorfismo INDEL no gene *ACE* e a gravidade clínica da silicose (simples ou complicada), assim como a ocorrência de tuberculose em pacientes expostos à sílica.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram coletadas amostras células bucais provenientes de saliva de 121 trabalhadores, sendo 43 com silicose simples e 78 com silicose complicada. Após a extração do DNA, as amostras foram submetidas à amplificação por Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) seguida de eletroforese horizontal para visualização direta dos genótipos. Os produtos da PCR consistiram em um fragmento de 190 pb para o alelo Del (deleção) e 490 pb para o alelo Ins (inserção). Foram analisadas algumas variáveis clínicas e demográficas, como anos de exposição à sílica, com média de 21,73 anos; horas semanais de trabalho, com média de 47,44 horas; anos de afastamento do trabalho, com média de 14,19 anos; carga tabágica, com média de 35,71 maços/ano. Entretanto, a análise destas variáveis não mostrou diferenças estatisticamente significativas entre pacientes com silicose simples e complicada, com $P=0,116$ para anos de exposição; $P=0,774$ para horas semanais de trabalho; $P=0,131$ para anos de afastamento e $P=0,623$ para carga tabágica (maços/ano). Da mesma forma, esta análise não mostrou diferenças estatisticamente significativas para pacientes com ou sem

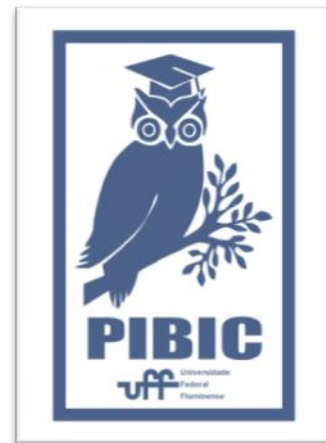
tuberculose, com $P=0,690$ para anos de exposição; $P=0,390$ para horas semanais de trabalho; $P=0,402$ para anos de afastamento e $P=0,879$ para carga tabágica (maços/ano). A distribuição dos genótipos encontra-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg na amostra de estudo. Não foi observada uma associação do polimorfismo INDEL no gene *ACE* com a gravidade clínica da silicose (simples ou complicada), com $P=0,168$ para as distribuições dos genótipos e $P=0,093$ dos alelos. Da mesma forma, não foi observada associação deste polimorfismo com a ocorrência de tuberculose em indivíduos silicóticos, com $P=0,944$ para os genótipos e $P=0,823$ para os alelos.

CONCLUSÕES:

O polimorfismo INDEL no gene *ACE* não demonstrou associação com a ocorrência de silicose simples ou complicada nem com a susceptibilidade à tuberculose na população de estudo. Em função da possibilidade de viés devido ao número amostral reduzido, são necessários novos estudos com novas amostras para confirmar os resultados.

Agradecimentos:

CNPq, CAPES, FAPERJ, PIBIC/UFF, Proppi/PDI/UFF





Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas

Título do Projeto: Ausência de associação entre o polimorfismo rs419598 no gene *IL1RN* e a gravidade clínica da silicose ou manifestação de tuberculose em trabalhadores expostos à sílica no Estado do Rio de Janeiro

Autores: Júlia Fernandes Barbosa dos Santos, Lucas de Carvalho Costa, Kaio Cezar Rodrigues Salum, Marcos Cesar Santos Castro, Ângela Ferreira Nani, Fabiana Barzotto Kohlrausch

Departamento/Unidade/Laboratório: Biologia Geral/Instituto de Biologia/Laboratório de Genética Humana

INTRODUÇÃO:

A silicose é uma pneumoconiose causada pela inalação de poeira contendo partículas de sílica cristalina (SiO_2), provocando uma reação fibrogênica pulmonar. O risco de desenvolvimento de tuberculose é aumentado em pacientes silicóticos (40 vezes) e aqueles expostos à sílica saudáveis (3,7 vezes) quando comparados a indivíduos não expostos saudáveis. As manifestações radiológicas da doença podem ser classificadas em silicose simples ou complicada e depende de diversos fatores ambientais e genéticos. As Interleucinas estão relacionadas às respostas inflamatórias e ao aumento no nível de colágeno na silicose. Um membro da família das interleucinas 1 é o receptor antagonista Interleucina-1 (*IL-1RN*). Esta proteína inibe as atividades da interleucina 1 alfa (*IL-1A*) e interleucina 1 beta (*IL-1B*) e modula uma variedade de respostas imunes e inflamatórias relacionadas à interleucina 1. O gene *IL1RN* localiza-se em 2q14.1 e possui um polimorfismo de troca de nucleotídeo (T>C) na posição 2018 (rs419598). Sendo assim, o objetivo do presente projeto é analisar a influência do polimorfismo rs419598 no gene *IL1RN* na gravidade clínica da silicose (simples ou complicada), bem como na ocorrência de tuberculose, em trabalhadores expostos à sílica.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

A amostra consiste em 128 trabalhadores com história de exposição à sílica no estado do Rio

de Janeiro, os quais apresentam silicose simples (48 indivíduos) e silicose complicada (80 indivíduos). As amostras de DNA dos pacientes foram submetidas à amplificação do fragmento do gene *IL1RN* contendo o polimorfismo rs419598 por Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) seguida de eletroforese horizontal para checagem da amplificação de um fragmento de 387 pb. Os produtos da PCR foram então submetidos à digestão com a enzima de restrição *MspI*, gerando os seguintes fragmentos: 387 pb (alelo T), 189 e 198 pb (alelo C). Nossa amostra total mostrou as seguintes médias para características clínico-demográficas: tempo de exposição à sílica 21,88 ($\pm 8,82$) anos, horas semanais de trabalho 47,42 ($\pm 9,70$) horas, anos de afastamento do trabalho 13,79 ($\pm 9,59$) anos e carga tabágica 36,08 ($\pm 31,56$) maços/ano. Para estas variáveis clínicas e populacionais analisadas não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as duas formas clínicas da silicose (simples e complicada), com $P=0,126$ para tempo de exposição à sílica; $P=0,833$ para horas semanais de trabalho; $P=0,105$ para anos de afastamento e $P=0,942$ para carga tabágica (maços/ano), o que indica que estas variáveis não tiveram influência na gravidade da silicose em nossa amostra. Também não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos com e sem tuberculose, com $P=0,984$ para tempo de exposição à sílica; $P=0,414$ para horas semanais de trabalho; $P=0,477$ para anos de afastamento e $P=0,798$ para carga tabágica (maços/ano). Já em relação aos dados genéticos, até o momento foram analisadas 53 das 128 amostras de pacientes, e a distribuição dos genótipos encontra-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre o

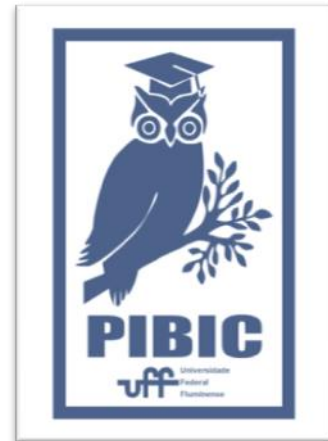
polimorfismo rs419598 no gene *IL1RN* com as formas clínicas da silicose (simples ou complicada), na distribuição dos genótipos ($P=0,287$) e dos alelos ($P=0,309$). Da mesma forma, a associação deste polimorfismo com a tuberculose também não pode ser observada (genótipos $P=0,307$, alelos $P=0,331$).

CONCLUSÕES:

O desenvolvimento da silicose e a ocorrência de tuberculose não foram associadas com o polimorfismo rs419598 no gene *IL1RN* em nossa amostra preliminar. No entanto, essa ausência de associação pode ser um reflexo de nosso pequeno número amostral. Posto isso, será necessário dar continuidade as análises das amostras restantes, assim como a inclusão de novas amostras, para confirmar estes resultados.

Agradecimentos:

CNPq, CAPES, Faperj, PIBIC/UFF, Propi/PDI/UFF





Ciências Biológicas

Epidemiologia molecular da infecção pelo HPV em mulheres portadoras de HIV em Campos dos Goytacazes/RJ e potencial impacto da vacinação nesta população.

Gabriela Rapozo Guimarães, Paulo Ricardo Telles, Charbell Haddad Kury, Silvia Maria Baeta Cavalcanti.

Laboratório de Diagnóstico Viroológico, Departamento de Microbiologia e Parasitologia/ Instituto Biomédico da UFF

INTRODUÇÃO:

O HPV ocasiona a infecção sexualmente transmissível de origem viral mais comum que afeta o trato reprodutor (WHO, 2018), estimando-se que aproximadamente 75% dos indivíduos que iniciam a vida sexual serão infectados em algum momento da vida por um ou mais tipos de HPV em algum momento de suas vidas (Tota J. et al., 2011). Ele é capaz de infectar pele e mucosas e sua transmissão é através do contato direto com pele ou mucosa infectada. Atualmente existem mais de 200 genótipos de HPV identificados, sendo que cerca de 40 demonstram capacidade de infectar o trato genital e anal (DOORBAR et al., 2012). As infecções persistentes causadas por genótipos oncogênicos estão associadas ao aparecimento de câncer no colo do útero, além de carcinomas da vagina, vulva, ânus pênis, orofaringe e boca. No Brasil, o câncer cervical é o terceiro tipo de câncer mais comum que afeta mulheres e mulheres entre 15 e 44 anos. (IARC, 2019).

Fatores genéticos, comportamentais e imunológicos estão relacionados com maior ou menor propensão para adquirir o HPV e desenvolver câncer. Nesse sentido, quando o sistema imune está comprometido, é mais comum que haja infecção por diferentes genótipos e que esta infecção seja persistente, comprometendo a resposta aos tratamentos (STANLEY, 2006). Sendo assim, mulheres vivendo com HIV têm maior prevalência de infecção por HPV e têm maior risco de progressão para neoplasias intraepiteliais genitais e câncer cervical, em comparação com mulheres sem infecção por HIV (CLIFFORD et al., 2006; FERLAY et al 2015). Os objetivos específicos deste projeto foram determinar a prevalência da infecção pelo HPV através da identificação dos tipos de HPV pelos métodos de Reação de Cadeia de Polimerase

(PCR) e Hibridização em Microarranjo; analisar a eficácia da vacina quadrivalente contra o HPV no grupo de mulheres vivendo com HIV e vacinadas em comparação com as mulheres vivendo com HIV e não vacinadas em um protocolo clínico de seguimento em uma linha de tempo e analisar a segurança e tolerabilidade das vacinas nas pacientes que fizeram parte desse estudo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Acompanhamos 3 grupos nesse período: Mulheres vivendo com HIV e vacinadas (n=10); Mulheres vivendo com HIV e não vacinadas (n=20); e Mulheres soronegativas para HIV e vacinadas (n=60). Avaliamos a presença de HPV através da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase utilizando primers genéricos MY09/11(PCR) e realizamos a tipagem das amostras positivas através da técnica de Microarranjo.

O grupo controle do nosso estudo foi composto por 30 mulheres sem HIV. Constatou-se que 10 das voluntárias (33%) apresentaram infecção pelo HPV, sendo que 6 (20%) apresentaram apenas um genótipo de HPV, enquanto 4 (13%) apresentaram mais de um genótipo do vírus. Além disso, também foi observado que 5 mulheres (16%) apresentaram algum dos genótipos protegidos pela vacina (HPV 6, 11, 16 ou 18). Neste caso, 4 apresentaram o HPV 11 (13%) e 1 apresentou o HPV 16 (3%). Mulheres vivendo com HIV e não vacinadas também foram avaliadas em um grupo composto por 20 mulheres, e observou-se que 17 foram positivas para o HPV, correspondendo a 85%, prevalência extremamente alta. Dessas 17 mulheres, 5 (25%) apresentaram um único tipo viral e 12 (60%) apresentaram mais de um tipo viral. Nota-se que as pacientes imunodeprimidas pelo HIV, que não foram vacinadas tiveram uma maior prevalência da

infecção pelo HPV, quando comparadas com as pacientes saudáveis do grupo controle, com diferença estatisticamente significativa ($p=0.0003$). Foi possível observar que não há diversidade de genótipos entre os dois grupos (15 genótipos distintos no grupo das pacientes HIV positivas e 14 genótipos distintos no grupo das pacientes HIV negativas) ($p= 1.0$), em contraste com o descrito na literatura. Os resultados obtidos no grupo das pacientes vivendo com HIV e vacinadas ($n=10$) mostraram que apenas uma paciente, correspondente a 10%, foi positiva para a infecção viral, apresentando o HPV 6, contido na vacina, apresentando-se significativamente diferente do grupo de mulheres vivendo com HIV mas não vacinadas. Nesse grupo que recebeu a vacina, nenhuma paciente possuía $CD4 < 200$ células/ mm^3 e também não possuía carga viral > 10.000 cópias/mL. Dentre os genótipos encontrados nas mulheres vivendo com HIV, 35% foram positivos para o HPV 6, 25% para o HPV 11, 15% para o HPV 16, 40% para o HPV 18 e 15% para os tipos oncogênicos menos comuns (HPV 45, 52 e 58), enquanto no grupo controle (HIV negativas) a prevalência do HPV foi de 33,3%, sendo 13,3% HPV 11, 3,3% HPV 16 e 20% tipos oncogênicos menos comuns (HPV 35, 39, 52 e 56). Vale ressaltar que 70% das pacientes não vacinadas têm algum tipo viral que a vacina confere proteção, além de apenas 10% de pacientes vacinadas terem algum tipo de HPV. Entretanto, nota-se que esta paciente infectada, apresentava o genótipo 6, presente na vacina, sugerindo que esta não teve efeito protetor.

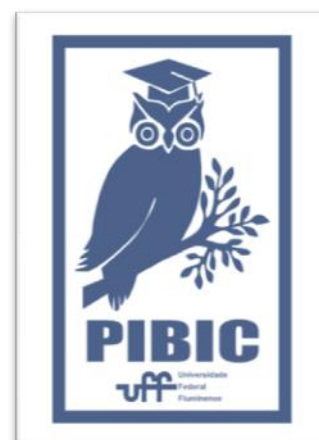
CONCLUSÕES:

No Brasil, os dados sobre a prevalência de HPV em mulheres com citologia normal variam devido à diferença regional e casos de subnotificação, geralmente estando na faixa entre 10% e 54% (AYRES, 2010; BRUNI et al, 2010). Nesse sentido, a prevalência encontrada nesse estudo para mulheres vivendo ou não com HIV estava na faixa esperada. Em comparação com os grupos, a prevalência de HPV foi mais elevada no grupo de pacientes vivendo com HIV e não vacinadas (85%), sendo este estatisticamente diferente do grupo controle (HIV soronegativas). Os resultados obtidos neste trabalho demonstram que, no grupo controle (mulheres HIV negativas), cerca de 33% foram positivas para o HPV. Isso significa que as pacientes imunodeprimidas pelo HIV que não foram vacinadas tiveram uma maior

prevalência da infecção pelo HPV, quando comparadas tanto com as pacientes saudáveis do grupo controle como com as pacientes HIV(+) vacinadas. Esses resultados se assemelham aos estudos realizados nos quais a prevalência do HPV em pessoas imunodeprimidas pelo HIV também foi elevada (73%) (KOJIC et al, 2016). Destaca-se a alta prevalência do HPV 18 (40%), genótipo oncogênico associado ao desenvolvimento de cânceres mais agressivos e de pior desfecho, apesar de estudos recentes demonstrarem que sua prevalência teve uma diminuição em escala mundial, incluindo o Brasil, de 18% a 6% no Brasil e de 12% a 10% em todo mundo, podendo estar relacionada à vacinação (AFONSO et al, 2011). Isso significa que se uma campanha de vacinação voltada para a população que vive com o HIV fosse aplicada de forma eficiente, haveria a perspectiva de diminuir 70% os casos de HPV e em 45% os casos de infecção pelos genótipos oncogênicos, diminuindo, conseqüentemente, a incidência do câncer de colo de útero nessa mesma proporção, sem gerar efeitos colaterais graves. Diversos casos foram notificados a respeito de efeitos adversos como tonturas, síncope e queixas neurológicas relacionadas à vacina quadrivalente utilizada neste estudo, porém não foi observado nenhum efeito adverso grave, apenas dor no local da aplicação. A técnica do Microarranjo foi de grande importância nesse estudo, uma vez que ao invés de serem realizados 32 testes de PCR para os genótipos mais prevalentes de HPV, foi possível detectar, através de sondas específicas, até 32 genomas virais simultaneamente. O acompanhamento das pacientes vivendo com HIV vacinadas torna-se imprescindível, a fim de analisar se o efeito protetor se manteve.

Agradecimentos:

A todos do Lab Diagnóstico Viroológico, ao CNPq e a todos que lutam incansavelmente contra os cortes na ciência brasileira.





Ciências Biológicas

EFEITOS DO ÁCIDO ASCÓRBICO SOBRE AS RESPOSTAS HEMOSTÁTICAS AO ESTRESSE MENTAL EM INDIVÍDUOS COM SOBREPESO E OBESIDADE

Juliana Mentzinger Silva; Gabriel M. S. Batista; Helena N. M. Rocha; Amanda S. Storch; Gabriel F. Teixeira; Monique O. Campos; Erika A. C. Gomes; Antonio C. L. Nóbrega; Natalia G. Rocha.

Laboratório de Ciências do Exercício e Laboratório Integrativo de Cardiometabologia, Departamento de Fisiologia e Farmacologia.

INTRODUÇÃO:

O estresse mental (EM) está relacionado com um quadro de disfunção endotelial em homens com sobrepeso/obesidade grau I. Acredita-se que o perfil pró-oxidante associado a um desequilíbrio no processo hemostático contribuem para os efeitos deletérios do EM na função endotelial. Entretanto, não se sabe se a administração de ácido ascórbico (AA), um potente antioxidante, pode restaurar o balanço oxidativo e hemostático durante o EM nesses indivíduos. Diante disso, o objetivo do presente estudo foi determinar os efeitos da infusão de AA sobre as respostas oxidativas, hemostáticas e de remodelamento vascular ao EM em homens com sobrepeso/obesidade grau I.

Foram recrutados quatorze homens com sobrepeso /obesidade grau I (27 ± 7 anos; $29,6 \pm 2,6$ kg.m²), que foram submetidos ao *Stroop color word test* por cinco minutos para induzir o EM após as infusões de AA (3g) ou placebo (PL, 0,9% NaCl). Amostras de sangue venoso foram coletadas no basal e no último minuto do EM para dosagem de óxido nítrico (NO), por quimioluminescência; substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), oxidação protéica (proteína carboniladas, PC) e atividade da catalase (CAT) por ensaio colorimétrico e atividade da metaloproteinase-9 (MMP-9) por zimografia. As micropartículas plaquetárias (CD41a+ MPP) foram mensuradas por citometria de fluxo, enquanto os níveis de fibrinogênio, tempo de protrombina (PT) e tempo de tromboplastina parcial ativada (aPTT) foram medidos por coagulômetro. Os dados foram expressos como média \pm desvio padrão. O teste ANOVA two-way foi utilizado para comparar medidas hemodinâmicas, oxidativas e hemostáticas ao EM entre as sessões de PL e AA. Quando encontrado diferenças significativas

para grupo, momento e/ou interação, o teste de Fisher foi utilizado como procedimento post-hoc. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do HUAP/UFF (76594217.0.0000.5243).

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Em condições basais, não foram observadas diferenças nas variáveis hemodinâmicas, TBARS, PC, CAT e aPTT entre ambas as sessões. Entretanto, as análises de fibrinogênio (PL: $258,31 \pm 16,53$ vs AA: $224,57 \pm 15,67$ ng/mL; $p < 0,01$), PT (PL: $1,27 \pm 0,03$ vs AA: $1,19 \pm 0,02$ RNI; $p < 0,02$) e MMP-9 (PL: $1,35 \pm 0,22$ vs AA: $0,80 \pm 0,06$ a.u. $p < 0,01$) já demonstravam menores valores na sessão AA. As pressões arteriais sistólica (PL: basal 123 ± 9 vs EM 136 ± 11 mmHg; AA: basal 124 ± 8 vs EM 139 ± 7 mmHg; $p < 0,01$), diastólica (PL: basal 76 ± 9 vs EM 88 ± 10 mmHg; AA: basal 79 ± 8 vs EM 91 ± 6 mmHg; $p < 0,01$) e média (PL: basal 92 ± 8 vs EM 104 ± 10 mmHg; AA: basal 94 ± 8 vs EM 107 ± 6 mmHg; $p < 0,01$) e a frequência cardíaca (PL: basal 62 ± 9 vs EM 76 ± 11 bpm; AA: basal 65 ± 11 vs EM 76 ± 11 bpm; $p < 0,01$) aumentaram de forma semelhante durante o EM em ambas as sessões. O EM aumentou os níveis de PC (basal: $2,43 \pm 0,35$ vs EM: $3,65 \pm 0,7$ nmol/mg; $p < 0,01$) e a atividade da CAT apenas na sessão PL (basal: $60,7 \pm 9,34$ vs EM: $97,64 \pm 15,64$ nmol/min/mL; $p < 0,01$). A relação MMP-9/proMMP-9 aumentou durante o EM (basal: $2,36 \pm 0,58$ vs EM: $3,17 \pm 0,82$ a.u.; $p < 0,05$) na sessão PL e diminuiu significativamente nos momentos basal (PL: $2,36 \pm 0,58$ vs AA: $0,97 \pm 0,16$ a.u.; $p < 0,01$) e EM (PL: $3,17 \pm 0,82$ vs AA: $1,15 \pm 0,23$ a.u.; $p < 0,01$) na sessão AA. Ainda durante o EM, foi observada uma menor concentração de fibrinogênio (PL: $268,47 \pm 19,16$ vs AA: $209,68 \pm 13,29$ ng/mL; $p < 0,01$) e de MPP (basal: $675,18$

$\pm 106,99$ vs EM: $533,63 \pm 84,01$ MP/ μ L de plasma; $p < 0,01$). Além disso, não foram observadas diferenças significativas na mensuração de nitrito entre as sessões PL e AA e entre os momentos basal e EM.

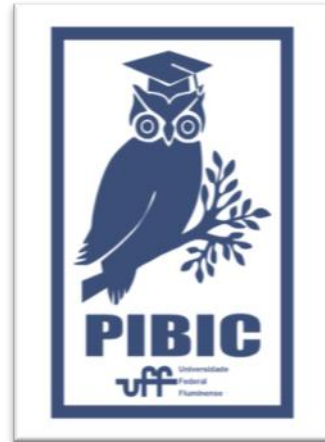
CONCLUSÕES:

Os resultados sugerem que o estresse mental induz um perfil pró-oxidante e favorece o remodelamento vascular em jovens com sobrepeso/obesidade grau I. Entretanto, não parece exercer grandes influências sobre a hemostasia.

A infusão de ácido ascórbico altera as respostas oxidativas e de remodelamento vascular ao estresse mental, através da diminuição dos níveis de peroxidação lípica, oxidação protéica e atividade de metaloproteinases em indivíduos com sobrepeso e obesidade grau I.

AGRADECIMENTOS:

CAPES, CNPq, FAPERJ e FINEP





Ciências biológicas

REGULAÇÃO DA ATIVIDADE DE CREB DURANTE O DESENVOLVIMENTO DA RETINA

Gomes-da-Silva, N.¹ ; Paes-de-Carvalho, R.^{1,2}

¹Departamento de Neurobiologia Celular, Instituto de Biologia – Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil

²Programa de Pós-Graduação em Neurociências, Instituto de Biologia – Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil

INTRODUÇÃO:

CREB (proteína de ligação a elemento resposta a nucleotídeo cíclico) é um fator de transcrição nuclear que é fosforilado em seu resíduo serina 133 pela PKA (Proteína dependente de AMPc) ou outras cinases como as CAMK's e é regulado por receptores de ionotrópicos de glutamato do tipo NMDA e AMPA. A CREB ativa certas sequências gênicas, levando a um aumento na transcrição de proteínas anti-apoptóticas, como Bcl-2, e fatores de crescimento, como o BDNF (fator neurotrófico derivado do cérebro). As funções do CREB estão relacionadas à neurogênese (proliferação, diferenciação e sobrevivência celular), bem como à potenciação sináptica a longo prazo e à plasticidade neural. Na retina, já foi demonstrada uma estimulação da fosforilação de CREB por receptores acoplados à adenilil ciclase, como dopamina ou adenosina, assim como por receptores glutamato AMPA ou NMDA.

Portanto objetivo deste trabalho é avaliar a ativação do CREB por diferentes sistemas de neurotransmissores durante o desenvolvimento da retina do embrião de galinha e estudar as vias de sinalização envolvidas. Para isso foi usado o modelo de retina intacta (*ex vivo*) de embriões de pinto da raça White Leghorn com 10 e 16 dias de idade, as retinas foram dissecadas em CMF e submetidas foram pré-incubados por 10 minutos a 37 ° C em Hanks com 500µM RO-201724 (inibidor da fosfodiesterase) e 0,5U / ml de adenosina deaminase (para eliminar a adenosina endógena) e a próxima incubação com forskolina (50µM, ativador direto da adenilil ciclase), CGS21680 (50nM, agonista do receptor da adenosina A2a), glutamato (1mM) ou dopamina (50µM) por 10 minutos. As amostras foram então processadas para transferência em PVDF. Para analisar a

atividade do CREB, usamos anticorpos anti-fosfo ser-133 e anti-Creb total. Esses experimentos foram realizados com a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Federal Fluminense (número 00146/09).

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

No E10, um estágio que antecede as primeiras sinapses, houve um aumento na CREB, mas não na CSK induzida por Forskolina, D1 e A2a agonistas e glutamato, sugerindo que neste período a PKA modula o CREB, mas não a Csk.

No E16, um estágio pós-sináptico, a forskolina não teve efeito sobre a fosforilação da CREB ou Csk. Contudo, Agonistas D1 ou A2a, bem como glutamato, estimulam a Csk, e glutamato ou dopamina são capazes de estimular ligeiramente a CREB sugerindo que essas enzimas podem ser ativadas somente em estágios pós-sinápticos por um mecanismo independente de AMPc.

CONCLUSÕES:

Ideias diferentes resultantes de nossos resultados atuais. Como a forskolina ativa a adenilil ciclase e promove o acúmulo de cAMP em E10 e E16, parece que o acoplamento entre a ativação da fosforilação de PKA e CREB não está mais presente nos estágios de desenvolvimento mais tardios, como E16, sugerindo que essa via é importante para o desenvolvimento inicial da retina funções. Curiosamente, a dopamina, que promove o acúmulo de cAMP no E10, não é capaz de ativar o CREB nesse período de desenvolvimento. A ativação dos receptores de glutamato promove a ativação do CREB nos

dois estágios de desenvolvimento sugerindo outras vias capazes de modular a sua atividade.

AGRADECIMENTOS:

CNPq, FAPERJ, UFF.

Ao meu orientador Roberto Paes de Carvalho,
aos meus familiares e melhores amigos.





Ciências Biológicas

***Trypanosoma cruzi*: estudo de enzimas diferencialmente expressas por cepas pertencentes a grupos filogenéticos distintos.**

Mazzaro, G.F.¹, Costa, A.M.S.¹, Oliveira, S.S.², Branquinha, M.H.², Santos, A.L.S.², Sodré, C.L.¹

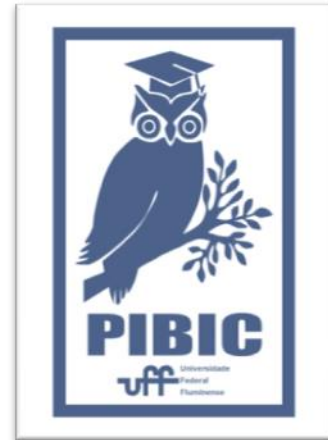
¹Dep. de Biologia Celular e Molecular, Instituto de Biologia, UFF, Niterói, RJ; ²Dep. Microbiologia Geral, Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, UFRJ, RJ.

INTRODU O: Segundo a Organiza o Mundial da Saúde, estima-se que mais de 10.000 pessoas morrem anualmente de manifesta es clínicas da doença de Chagas, e mais de 25 milhões de pessoas correm o risco de adquirir a doença. A doença de Chagas, também conhecida como Tripanossomíase Americana, se caracteriza como um dos maiores problemas de saúde pública das Américas, além de ser uma doença silenciosa e silenciada, pois tem um curso clínico de progressão lenta e afeta, principalmente, popula es simples de baixa renda da área rural. Esta condi o socioecon mica e geográfica favorece o contato do hospedeiro humano com triatomíneos, insetos vetores do *Trypanosoma cruzi*, que são determinantes na manuten o da transmissão em vários locais da América Latina. A diversidade da expressão clínica da doença de Chagas em humanos tem sido atribuída à varia o da resposta imune do hospedeiro e a heterogeneidade gen mica do parasito. As varia es geográficas também são fatores relevantes na prevalência de formas clínicas e morbidade da doença de Chagas. No Brasil, a forma assintomática ou indeterminada é a mais comum (60-70%),

seguida das formas cardíacas (20-30%) e digestiva (8-10%). Entretanto, no Brasil Central a forma digestiva da doença predomina. Apesar de diversos estudos objetivarem a determina o de fatores que desencadeiam as diferentes formas clínicas da doença, isto ainda não está claro. Com isso, a caracteriza o de proteínas do *T. cruzi* que possivelmente estejam envolvidas na virulência e na rela o hospedeiro humano-*T. cruzi*, bem como o estudo de enzimas potenciais para o desenvolvimento de novos medicamentos, podem contribuir para elucidar a patogenicidade das diferentes cepas do parasito. Através de dados obtidos com técnicas proteômicas, nosso grupo mostrou que diferentes cepas de *T. cruzi* apresentam expressões diferenciadas de proteínas, não são entre as pertencentes a grupos filogenéticos distintos, mas entre cepas do mesmo grupo. Dentre as proteínas diferencialmente expressas, estão a arginase, a arginina quinase, glutathiona peroxidase, dentre outras. Baseado nestes dados, iniciamos a caracteriza o bioquímica das enzimas supracitadas. **RESULTADOS E DISCUSSÕES:** A análise da expressão das arginases Tipo I e II (citoplasmática e mitocondrial, respectivamente) através da

técnica de citometria de fluxo em formas epimastigotas de *T. cruzi* mostrou a presença significativa das enzimas Tipo I e II, tanto na cepa Dm28c quanto na CL Brener. Interessantemente, os dados apontam uma marcação maior para a arginase Tipo II. Estes resultados preliminares podem indicar que há uma maior expressão da arginase mitocondrial no tempo/fase metabólica estudada. Em contrapartida, tanto a arginase Tipo I quanto à Tipo II parecem ser mais expressas na cepa DM28c. Este dado foi corroborado utilizando a técnica de microscopia de fluorescência. Os dados relacionados a atividade da arginina quinase em diferentes cepas de *T. cruzi*, em função da variação do pH, mostraram que a enzima apresenta atividade máxima na mesma faixa de pH. Entretanto, esta atividade, quando medida em função do tempo de reação, apresentou uma diferença considerável entre as cepas analisadas. A cepa 3663 apresentou uma atividade muito baixa em relação às outras, inclusive da cepa 4167, pertencente ao mesmo grupo filogenético. Interessantemente, as cepas DM28c e 4167 foram as que apresentaram maior atividade glutatona peroxidase *like*. **CONCLUSÕES:** Os dados obtidos confirmam que as enzimas identificadas, através das técnicas proteômicas, em cepas de *T. cruzi* pertencentes a grupos filogenéticos distintos, apresentam níveis de atividade catalítica também diferentes. Vale ressaltar que algumas das cepas estudadas, curiosamente, também apresentam grau de virulência diferenciados.

AGRADECIMENTOS: PIBIC-UFF;
CNPq; UFRJ





Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas

Pesquisa parasitológica de *Babesia* sp. em amostras de sangue de cães domésticos (*Canis familiaris*) encaminhadas para laboratório de análises clínicas em Niterói, RJ

Lucas Fernandes Lobão, Fernanda Barbosa dos Santos, João Pedro Palmer, Laís Verdán Dib, Claudia Maria Antunes Uchôa, Otilio Machado Pereira Bastos, Alynne da Silva Barbosa

Departamento de Microbiologia e Parasitologia/Instituto Biomédico/Laboratórios de Parasitologia

INTRODUÇÃO: A piroplasmose canina é uma infecção causada por protozoários intraeritrocitários, como *Babesia* sp. e *Rangelia* sp., que são transmitidos para os cães domésticos (*Canis familiaris*) por carrapatos ixodídeos. As manifestações clínicas dessas infecções incluem febre, icterícia, anemia, que podem determinar no animal quadros de letargia e prostração. A escassez de informações sobre os piroplasmídeos que infectam cães de área urbana motivou este estudo, que teve por objetivo analisar a frequência de *Babesia* sp. e de outros piroplasmídeos em amostras de sangue de cães, comparar a eficiência das técnicas parasitológicas microscópicas e os fatores de risco associados as infecções. Ao todo, foram analisadas 407 amostras de sangue de cães encaminhadas por diferentes clínicas médicas veterinárias da região metropolitana do Rio de Janeiro, para o laboratório de análises clínicas localizado em Niterói, RJ entre 2018 e 2019. As amostras de sangue dos cães foram submetidas as técnicas de coloração de distensão delgada e espessa, coradas por solução de Giemsa e pelo *kit* de coloração rápido do tipo Panótico. Todas as lâminas de microscopia foram submetidas a leitura em microscópio óptico com objetiva de imersão. Os protozoários com morfologia similar a piroplasmídeos foram mensurados com ocular micrométrica e a morfologia das formas evolutivas foi classificada. Ao final os resultados foram analisados por frequência descritiva e estatística univariada.

RESULTADOS E DISCUSSÕES: Das 407 amostras de sangue de cães analisadas, em 32 (7,9%) foram detectadas formas evolutivas de piroplasmídeos compatíveis com *Babesia* sp., dado à associação das técnicas de diagnóstico microscópico. Pode-se observar que a maioria dos cães positivos eram machos, e dentre os 210 incluídos no estudo, em 10% foram diagnosticados parasitos em lâmina de distensão. A maior parte dos animais incluídos também tinham mais de um ano de idade. No

entanto, pode-se verificar que proporcionalmente aos grupos amostrais incluídos por idade, a maior frequência de detecção de piroplasmídeos ocorreu nas amostras de sangue de cães que tinham menos de um ano 9/81 (11%). Os animais com raça definida corresponderam a grande parte das amostras de sangue positivas. A maioria das amostras de sangue positivas eram provenientes de cães atendidos em clínicas localizadas em São Gonçalo 15/159 (9,4%). Entretanto, nesse estudo, as variáveis sexo, idade, raça e município de localização da clínica médica veterinária não foram estatisticamente significativas a infecção. A positividade um pouco mais elevada observada dentre a literatura consultada, pode estar atrelada ao fato de que o laboratório de Análises Clínicas, associado a esse estudo, atende a diversas clínicas médicas veterinárias da região metropolitana do estado do Rio de Janeiro. Cabe ressaltar que a região metropolitana fluminense, de acordo com a classificação de Köppen-Geiger é considerada do tipo tropical úmido, fator que favorece a manutenção e o desenvolvimento dos artrópodes, incluindo o ixodídeos, praticamente durante todo o ano, podendo ser transmitido para qualquer cão independente de sexo, idade, raça e cidade.

Associando a frequência do diagnóstico de cães positivos por meio das técnicas microscópicas com os dados do hemograma, pode-se evidenciar que grande parte dos cães positivos estavam como anemia, trombocitopenia e leucopenia. No entanto, somente as variáveis trombocitopenia e leucopenia foram estatisticamente significativas ($p < 0,05$). As possíveis causas da leucopenia são formação de agregados constituídos por plaquetas com leucócitos, sequestro dos leucócitos, aumento da sua utilização devido a eritrofagocitose e redução da sua produção. Apesar da leucopenia ser uma alteração esperada na piroplasmose canina, nesse estudo a mesma pode ter ocorrido devido a outras patogenicias, que não

foram associadas a esse estudo. Além da leucopenia, também foi observado uma diminuição na contagem das plaquetas nas amostras de sangue dos cães que tinham o parasito. A trombocitopenia é uma alteração quase sempre observada na infecção por piroplasmídeos, incluindo o gênero *Babesia*, sendo, portanto, considerada a alteração hematológica mais importante na piroplasmose canina. Esse achado hematológico, na babesiose é resultante da destruição das plaquetas, do sequestro plaquetário pelo baço, pela elevação da temperatura corporal no animal e pela coagulação intravascular disseminada.

De forma geral, por meio da distensão delgada corada pelo *kit* de coloração rápida, pode-se recuperar todas as amostras de sangue que foram consideradas positivas pela microscopia 32/407 (7,9%), seguido da coloração da distensão delgada pela solução de Giemsa 28/407 (6,9%), pela distensão espessa corada pelo Giemsa 27/407 (6,6%) e pela distensão espessa corada pelo *kit* de coloração rápida 25/407 (6,1%). Ao se comparar os resultados do diagnóstico para piroplasmídeos obtidos entre as técnicas de distensão e coloração, pode-se verificar uma concordância quase perfeita entre a maioria das comparações, ou seja, Kappa > 0,85. Esta elevada concordância foi corroborada pelo índice de McNemar, que teve o valor de p maior que 0,05. A frequência na detecção de piroplasmídeos por meio da distensão espessa ficou mais baixa do que nas lâminas de distensão delgada. Apesar de inúmeras tentativas na leitura das lâminas de distensão espessa no microscópio óptico, tanto nas lâminas coradas pela solução de Giemsa e principalmente nas coradas pela coloração rápida, a frequência no diagnóstico e a visualização das formas evolutivas ficou abaixo da frequência diagnosticada nas lâminas de distensão delgada. A distensão espessa foi analisada para pesquisa de piroplasmídeos, pois essa tem sido, uma das técnicas parasitológicas microscópicas mais realizadas e recomendadas no diagnóstico de outros protozoários Apicomplexa intraeritrocitários, como *Plasmodium* sp.. No entanto, na Parasitologia veterinária a realização da distensão espessa do sangue em lâmina de microscopia para pesquisa de protozoário não tem sido realizada, não tendo sido recuperado nenhum estudo que tenha utilizado essa técnica laboratorial como forma de diagnóstico. Nas

lâminas de distensão espessa dos cães pode-se evidenciar que muitos dos piroplasmídeos detectados apresentavam a sua morfologia alterada, apresentando-se muitas vezes retraídos. Estas alterações morfológicas e a falta de treinamento da equipe em detectar o parasito morfometricamente alterado, pode ter dificultado a leitura e conseqüentemente o diagnóstico dos piroplasmídeos nas lâminas de distensão espessa. Nas lâminas de microscopia analisadas, foram evidenciadas formas merozoítas dos protozoários com formato piriforme e ovalar com mensuração acima de 2,5 µm de comprimento compatível com *Babesia canis*. No entanto, também foi identificado formas evolutivas menores que 2,5 µm de comprimento característico de pequenos piroplasmídeos, como *Babesia gibsoni*.

A mensuração microscópica tem sido considerada uma ferramenta pouco confiável para classificar os piroplasmídeos como *Babesia* devido ao caráter pleomórfico do parasito. Desta forma, a segunda parte deste estudo será caracterizar molecularmente os parasitos para associar os dados morfológicos, moleculares com as variáveis demográficas e as informações obtidas dos hemogramas.

CONCLUSÕES: Foram detectadas formas evolutivas de piroplasmídeos similares a *Babesia* sp. em 7,9% das amostras de sangue de cães pesquisadas. Pela análise univariada, a leucopenia e trombocitopenia foram achados laboratoriais associados a infecção pelo protozoário. Ao se comparar os resultados obtidos entre as técnicas parasitológicas microscópicas, foi possível verificar que as mesmas apresentaram elevada concordância, sendo as maiores frequências de detecção dos parasitos principalmente observadas com as técnicas de distensão delgada coradas com o *kit* de coloração comercial do tipo Panótico e pelo Giemsa.

Agradecimentos: Agradecemos a UFF pela bolsa concedida e ao Centro de diagnóstico veterinário em Niterói pela parceria.





Ciências da Vida

AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE FORMAÇÃO BIOSINTÉTICA DOS DITERPENOS DE ALGAS PARDAS - Estudo e monitoramento dos perfis dos diterpenos da alga *Dictyota menstrualis* sob condições de cultivo in vitro

Thalísia Cunha dos Santos (IC), Johana Marcela Concha Obando (Ms), Diana Negrão Cavalcanti (PQ)*

Instituto de Biologia, UFF / Departamento de Biologia Marinha / Laboratório ALGAMAR (Produtos Naturais de Algas Marinhas)

INTRODUÇÃO: As algas pardas são o grupo taxonômico mais conhecido, em relação à química de produtos naturais e são caracterizados por diversos tipos de esteróis, carotenoides, presença de polifenóis (florotaninos), de hidrocarbonetos voláteis e síntese de terpenos exclusivos (Teixeira, 2013). Essas substâncias mediam as relações ecológicas agindo principalmente como defesa contra herbívoros, sinalizadores, protegem da radiação U.V., além de possuir múltiplas aplicações terapêuticas para o ser humano. As algas da tribo Dictyoteae produzem essencialmente diterpenos. Espécies família Dictyotaceae presentes em águas da costa brasileira, como por exemplo *Dictyota menstrualis* produzem diterpenos do tipo guaiano prenilado e derivados do xeniano com diferentes atividades biológicas. Conhecendo a importância biotecnológica dos diterpenos da família Dictyotaceae, o objetivo deste trabalho foi analisar a variação do perfil químico e sua interação com o tempo de cultivo dos espécimes de *Dictyota menstrualis* visando propor informações relativas de parâmetros abióticos, fundamentais para que um sistema de cultivo algal se torne efetivo para a avaliação da composição química destas algas.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Os indivíduos da alga *D. menstrualis* foram mantidos por 122 dias no sistema de cultivo in vitro. Os rendimentos dos extratos orgânicos obtidos da alga diretamente de campo ou tempo 0 (T0), além dos extratos orgânicos dos quatro tempos monitorados a cada 30 dias em laboratório variaram de 1 a 5,4% do peso da alga. Em cada tempo avaliado foram analisadas três réplicas exceto para o tempo 4 (120 dias),

pois a alga não estava em boas condições para extração. A análise por CCD dos extratos orgânicos nos tempos avaliados, após revelação com $Ce(SO_4)_2$, revelou a presença de bandas com características terpenoídicas, dentre elas, as bandas de cor violeta ($R_f = 0,6$), que apresentam um padrão de revelação cromático correspondente aos diterpenos menos oxidados e que estão presentes em várias espécies de *Dictyota*, cujo esqueleto carbônico é do tipo guaiano prenilado (grupo I) (Cavalcanti 1998; Freitas et al. 2007). As bandas de coloração marrom correspondem aos diterpenos mais oxidados com esqueleto de tipo xeniano e/ou derivados do grupo III ($R_f = 0,28$; 0,3 e 0,35). Análise de RMN-1H nos cinco tempos monitorados no sistema de cultivo. Nos espectros RMN-1H das amostras dos tempos avaliados foram identificados alguns dos sinais (ppm) associados aos hidrogênios dos 6 diterpenos registrados para esta espécie (Cavalcanti 1988; 2004; Freitas, 2006). Os sinais correspondentes desses diterpenos nos cinco tempos avaliados foram registradas junto a sua intensidade para seus posteriores análises; Pachydictyol A e Isopachydictyol A ; 5-hidroxi-1,6-ciclo-xenia-2,13-dieno-16,17-dial e 5-acetoxi-1,6-ciclo-xenia-2,13-dieno-16,17-dial ; o 6(R)-6-hidroxi-dichotomano-3,14-dieno-1,17-dial ; e o 6(R)-6-acetoxi-dichotomano-3,14-dieno-1,17-dial. Usando a média das intensidades registrada nas 3 réplicas dos experimentos nos cinco tempos de cultivo in vitro, foi possível desenhar gráficos de barras, para comparar descritivamente os diterpenos detectados nos cinco tempos avaliados. As comparações usando o valor das intensidades dos sinais relacionadas aos deslocamentos químicos (ppm) dos 6 diterpenos de *D. menstrualis* permitiram observar diferenças nos

perfis químicos destes diterpenos a través do tempo, porém pode-se corroborar a presença destes metabólitos ao longo do tempo de cultivo, Usando as intensidades como dados qualitativos foram testadas estatisticamente as hipóteses propostas neste ensaio piloto: (a) H₀: Não existem diferenças significativas das intensidades dos deslocamentos químicos nos cinco tempos avaliados. (b) H_a: Existem diferenças significativas das intensidades dos deslocamentos químicos nos cinco tempos avaliados. Todos os dados obtidos no teste de Kruskal-Wallis, apresentaram um valor de $p < 0,05$, sendo possível detectar diferenças estatísticas significativas entre as intensidades dos deslocamentos químicos dos diterpenos dos tempos avaliados no sistema de manutenção in vitro. As comparações qualitativas e quantitativas das intensidades dos sinais permitiram observar a presença dos diterpenos de interesse através dos cinco tempos avaliados, observando o aumento significativo das intensidades após 30 dias de cultivo e diminuição após 90 dias. Essas variações podem estar associadas ao ciclo de vida da alga em resposta aos parâmetros abióticos do sistema de cultivo implementado. Além disso, foram observados o aumento na intensidade dos sinais referentes a hidrogênios de esteróis após 90 dias de cultivo, indicando mudança no perfil químico da alga *Dictyota menstrualis* em função do tempo.

CONCLUSÕES:

O sistema de cultivo implementado a alga *D. menstrualis* proporcionou condições favoráveis a produção dos diterpenos de interesse durante o período de manutenção. O tempo 1 (30 dias) apresentou em média as maiores intensidades, mostrando que as condições de cultivo associadas a este tempo em específico são eficazes para obtenção de extratos orgânicos que podem ser potenciais para o fracionamento e isolamento desses diterpenos de interesse. Os resultados deste trabalho são importantes para que estudos posteriores de sistemas de cultura in vitro de macroalgas marinhas sejam

eficientes, permitindo o controle na produção de biomassa, análise das composições químicas e estudos de biossíntese de diterpenos nas espécies de algas pardas.

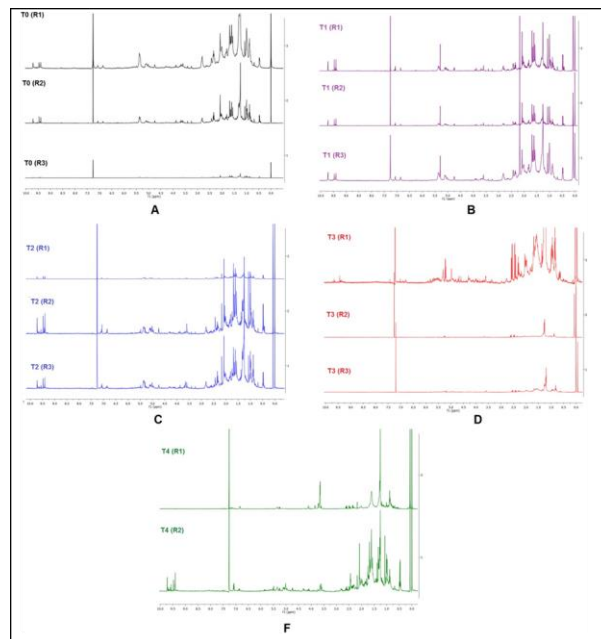
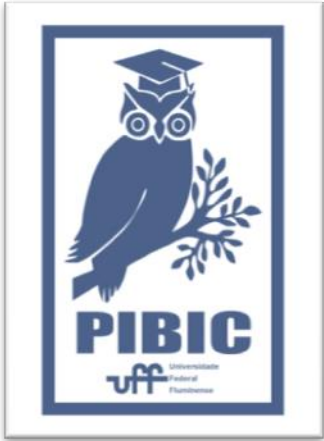


Figura 1. Espectros RMN-1H (500,0 MHz, CDCl₃) dos extratos diclorometânicos da alga *D. menstrualis*, Comparação geral dos cinco tempos monitorados em sistema de cultivo in vitro, A) Tempo 0 (3 réplicas obtidas da amostra obtida diretamente de campo); B) Tempo 1 (3 réplicas obtidas após 30 dias de manutenção); C) Tempo 2 (3 réplicas obtidas após 60 dias de manutenção) ; D) Tempo 3 (3 réplicas obtidas após 90 dias de manutenção); F) Tempo 4 (2 réplicas obtidas após 120 dias de manutenção)

Agradecimentos:

À Dra. Elisabete Barbarino pelo auxílio no cultivo das algas, ao dr. Roberto Villaça, pelo apoio às coletas das algas, ao apoio financeiro do PROPPI/PIBIC/UFF (TCS), a CAPES (JMCO), ao Laboratório de Produtos Naturais de Algas Marinhas - ALGAMAR /UFF.





Ciências Biológicas II

EFEITO COMBINADO DA SULFASSALAZINA E DO ÁCIDO DESIDRO ASCÓRBICO NA REDUÇÃO DA VIABILIDADE DE GLIOBLASTOMAS CULTIVADOS

Autores Manuela Vilas Carvalho, Igor Romano e Marcelo Cossenza

Departamento de Fisiologia e Farmacologia / Instituto Biomédico /

Laboratório de Farmacologia Molecular

INTRODUÇÃO:

Glioblastomas multiformes cerebrais (GBM) são tumores incuráveis que levam a óbito normalmente em 12 meses. Muitos esforços têm sido despendidos para o entendimento de sua biologia e busca por novos alvos farmacológicos. Neste sentido, nos últimos anos foi demonstrada a forte dependência destas células por sistemas antioxidantes, como a glutatona (GSH). Recentemente, nosso grupo demonstrou que a sulfassalazina (SAS), um antigo analgésico antiinflamatório, era capaz de bloquear um heterotrocador cistina/glutamato (sistema xc-) cuja função é fundamental é manter uma alta produção GSH via captação de cistina. A inibição deste heterotrocador pela SAS provoca uma perda de sua viabilidade celular com alto estresse oxidativo. Conhecidamente, o sistema redox que recupera a GSH de sua forma dimérica oxidada (GSSG) depende da forma oxidada da vitamina C, o ácido desidroascórbico (DHA). Em experimentos ainda não publicados, verificamos que a SAS em conjunto com o DHA diminui a viabilidade de gliomas cultivados de forma superior ao tratamento isolado com SAS. Além da GSH, o proto-oncogene proteína tirosina cinase src, altamente expresso nos GBM, vem sendo cada vez mais estudado, dado que sua inibição, desencadeada pela fosforilação da tirosina 527 (Y527) por ação da cinase da porção C-terminal da Src (Csk), reverte o potencial de célula tronco tumoral, reduzindo os mecanismos que atuam na sobrevivência e migração do tumor.

Desta forma, este projeto se interessa em estudar os efeitos antitumorais da SAS em conjunto com o DHA nas células de GBM com o foco de avaliar a contribuição do DHA como possível agente potencializador de efeito

antitumoral. Em outro aspecto, também vislumbramos a possibilidade de inibir a via da Csk/Src através de compostos que já testamos e publicamos com esta finalidade, os polifenóis presentes no café: ácido clorogênico (CGA) e ácido caféico (CFA).

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

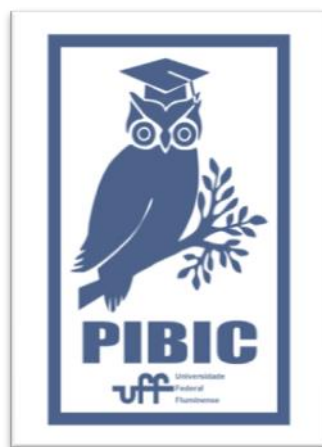
Nos tratamentos, a partir da concentração de 500 μ M pode-se observar uma queda da viabilidade das células U87MG cultivadas nos tratamentos com SAS e SAS+ DHA durante 24 horas quando comparados com o controle. A diminuição da viabilidade na condição SAS+DHA demonstrou-se maior que o tratamento apenas com a SAS. O tratamento apenas com DHA, apresentou viabilidade celular semelhante ao controle. Após o tratamento de 48 horas, observamos uma queda da viabilidade da linhagem U87MG a partir da concentração de 250 μ M de SAS e SAS+DHA. Inesperadamente, observamos uma queda significativa da viabilidade nas concentrações de 125 e 250 μ M nas condições tratadas com SAS+DHA, ao compararmos com o controle. Essa diminuição de viabilidade foi de 36% \pm 3,512 e 38,3% \pm 4,807, respectivamente. O tratamento apenas com DHA apresentou uma tendência de aumento na viabilidade das células U87MG a partir da concentração de 500 μ M, sendo esse efeito mantido nas concentrações seguintes. No tratamento de 1000 μ M apenas com DHA aumentou em 22% \pm 9,713 a viabilidade celular desta linhagem de glioma. Com a finalidade de analisar os níveis intracelulares de GSH, as células U87MG foram tratadas e, em seguida, incubadas com a sonda ThiolTracker (ThermoFisher). Como esperado, os níveis intracelulares de GSH mostraram-se significativamente reduzidos nas células U87MG sujeitas aos tratamentos com SAS e SAS+DHA

na concentração de 1000 μ M, sendo a redução de 53,6% \pm 1,202 quando tratadas apenas com SAS e 66,3% \pm 2,728 quando tratadas com SAS e DHA. Não foi vista alterações dos níveis de GSH, em relação ao controle, quando as células foram tratadas apenas com DHA na concentração de 1000 μ M. Nossos resultados indicaram que os níveis de ROS apresentaram aumento significativo quando as células tumorais foram tratadas com SAS e SAS+DHA. Para determinarmos a atividade da Src e Csk tratamos as células com SAS, CFA e CGA. No tratamento das células da linhagem U87 com SAS, CFA e CGA nas concentrações de 500mM para o primeiro e 300mM para os dois últimos, esperávamos observar um aumento da expressão da Csk e src 527 fosforiladas, já que desta maneira, a proteína src estaria inativada. No entanto, observamos um aumento da proporção de Y src 527 quando comparada com a src total, toda via o erro ainda está grande. Torna-se necessário reproduzirmos esse experimento para apresentarmos dados conclusivos e satisfatórios. Para determinarmos a viabilidade e testarmos o possível efeito sinérgico entre os fármacos, tratamos as células U87 com SAS, CFA e SAS+CFA em diferentes concentrações por 24 e 48h. Conforme mostra a figura 8, tanto a SAS quanto o CFA produziram um efeito dose-dependente na redução da viabilidade celular. Entretanto, a potência aparente desta redução foi mais evidente no tratamento combinado, sugerindo um possível efeito sinérgico.

CONCLUSÕES:

Os tratamentos com SAS produzem diminuição do número de células de forma concentração e tempo dependente. Os tratamentos com DHA isoladamente não produzem nenhuma alteração no número de células em 24h, mas em 48h esse tratamento parece aumentar a viabilidade dos U87MG de forma concentração-dependente; A presença de concentrações equimolares de DHA no tratamento com SAS parece aumentar o efeito da SAS na redução da viabilidade, especialmente no tempo de 24h. Este perfil sugere que a presença do DHA pode estar acelerando os efeitos da SAS. Como esperado, a SAS reduz as concentrações de GSH, medido pela sonda ThiolTracker™. A presença do DHA no tratamento com SAS apresenta uma tendência de aumento nesta redução. Por fim, o tratamento com SAS aumenta a fluorescência medida pela sonda H2-DCFDA, que indica

geração de ROS, com um aumento significativo nesta medida, quando o DHA está presente junto com a SAS. Tratamentos com CFA isoladamente produz importante redução da viabilidade das U87, de forma dose-dependente. O tratamento combinado da SAS e CFA deslocam a curva dose-resposta para a esquerda, identificando um provável aumento na potência aparente. Não foi possível até o momento correlacionar os efeitos do CFA com a inibição da via da CSK-Src, um efeito observado em publicações anteriores do nosso laboratório de Farmacologia Molecular da UFF.



Agradecimentos:

UFF-PROPI,
CNPQ-PIBIC



Ciências Biológicas

Papel do receptor associado a traços de aminas do tipo I em um modelo animal do transtorno de déficit de atenção e hiperatividade

Ícaro Raony M. dos Santos¹; Ivan Carlos Luca Domith Gallo²; Roberto Paes de Carvalho²; Pablo Pandolfo¹.

Departamento de Neurobiologia, Instituto de Biologia, ¹Laboratório de Neurobiologia do Comportamento Animal e ²Laboratório de Neurobiologia Celular da Universidade Federal Fluminense (UFF)

INTRODUÇÃO:

O transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) é um dos transtornos psiquiátricos mais prevalentes no mundo todo, podendo afetar desde crianças a adultos. Esse transtorno pode ser caracterizado pelos seus sintomas clássicos de desatenção e/ou hiperatividade-impulsividade, os quais estão associados a alterações na transmissão dopaminérgica na via mesocorticolímbica.

Em 2001, foi descoberto o receptor associado a traços de aminas do tipo I (TAAR1), o qual pode ser encontrado em várias regiões encefálicas, como no estriado (EST), córtex pré-frontal (CPF) e hipocampo (HIP), regiões que também estão envolvidas na fisiopatologia do TDAH. Esse receptor é capaz de modular a transmissão dopaminérgica e melhorar prejuízos cognitivos, entretanto, a literatura carece de estudos sobre a participação do TAAR1 na fisiopatologia do TDAH.

Assim, o objetivo principal do presente estudo foi avaliar o possível envolvimento do TAAR1 nas características comportamentais apresentadas pelos ratos espontaneamente hipertensos (SHR), os quais são validados e amplamente utilizados para o estudo do TDAH, já que mimetizam as características comportamentais e neurobiológicas desse transtorno.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

O primeiro objetivo específico foi realizar uma caracterização dos níveis proteicos do TAAR1 em diferentes regiões envolvidas na fisiopatologia do TDAH, comparando os ratos SHR com a linhagem controle – os ratos Wistar Kyoto (WKY). Foram utilizadas amostras de 10 ratos adultos (5 WKY; 5 SHR) para a realização de *Western blot*. Os resultados desse

experimento revelaram que os níveis do TAAR1 no CPF, EST e HIP são significativamente menores nos SHR do que nos WKY.

O segundo objetivo específico foi avaliar os efeitos da ativação ou inibição do TAAR1 em comportamentos relacionados à sintomatologia do TDAH. Para isso, 35 ratos WKY e 27 SHR foram avaliados nos testes de labirinto em cruz elevado (LCE), campo aberto (CA) e de alternâncias espontâneas (AE). Dez minutos antes de cada tarefa, os animais receberam pela via intracerebroventricular 10 µl de uma solução contendo 50 µg do agonista RO5256390 ou do antagonista EPPTB do TAAR1. Os animais dos grupos controles receberam apenas a solução veículo (NaCl 0,9%; DMSO 10%; Tween20 1%).

A seguir, estão descritos sucintamente os resultados estatisticamente significativos dos testes comportamentais.

No LCE, os SHR, independente do tratamento, apresentaram um maior comportamento de risco que os WKY (*i.e.*, maiores porcentagens de entradas e de tempo nos braços abertos). Além disso, a inibição do TAAR1 aumentou o comportamento de risco dos WKY (*i.e.*, os 'WKY EPPTB' apresentaram uma porcentagem de tempo nos braços abertos maior que a dos 'WKY Veículo').

No CA, os SHR, independente do tratamento, também apresentaram um maior comportamento de risco em comparação aos WKY (*i.e.*, uma menor latência para primeira entrada na região central, mais tempo na região central e maior porcentagem de distância nesta região) e uma hiperatividade motora (*i.e.*, percorreram uma maior distância total, bem como desenvolveram uma maior velocidade média e máxima em comparação aos WKY). Em relação ao tratamento, a inibição do TAAR1 exacerbou o comportamento de risco dos SHR

(i.e., os 'SHR EPPTB', comparados aos 'SHR Veículo', apresentaram uma maior porcentagem de distância e tempo na região central). Em contrapartida, a ativação do TAAR1 melhorou a avaliação de risco dos WKY e SHR (i.e., os animais tratados com o RO5256390 tiveram uma maior latência para primeira entrada na região central em relação aos tratados apenas com veículo, independente da linhagem) e reduziu significativamente a hiperatividade dos SHR (i.e., os 'SHR RO5256390', em relação aos 'SHR Veículo' apresentaram uma menor distância total e menores velocidades média e máxima).

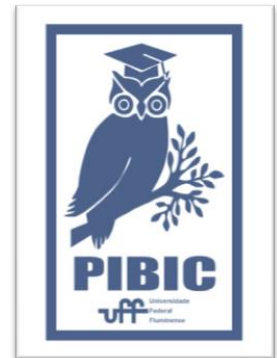
No teste de AE, os SHR, independente do tratamento, apresentaram um maior número total de entradas e uma maior porcentagem de AE em relação aos WKY. Embora esse último parâmetro seja um indicativo de um melhor desempenho cognitivo dos SHR, o coeficiente de correlação de Pearson, mostrou que a porcentagem de AE esteve diretamente relacionada ao número total de entradas, aludindo para a possibilidade de esta última variável ser um fator de confundimento para interpretação do resultado relativo à cognição dos animais.

CONCLUSÕES:

A primeira conclusão do presente estudo é que os SHR, semelhante ao observado nos indivíduos com TDAH, apresentaram um maior comportamento de risco e uma hiperatividade motora, corroborando esses animais como um modelo adequado para o estudo do TDAH. Ineditamente, mostrou-se que os SHR apresentaram uma subexpressão do TAAR1 em regiões da via mesocorticolímbica que participam da fisiopatologia do TDAH. Além disso, a diminuição dos níveis do TAAR1 contribuiu para as alterações comportamentais apresentadas pelos SHR, visto que a ativação do TAAR1 pelo RO5256390 diminuiu a hiperatividade e melhorou a avaliação de risco, enquanto que o antagonismo com EPPTB aumentou o comportamento de risco tanto dos SHR quanto dos WKY. Portanto, esses resultados indicam uma possível participação do TAAR1 na fisiopatologia do TDAH, bem como apontam para o seu potencial terapêutico.

AGRADECIMENTOS:

À Pró-reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação da UFF e às agências de fomento CNPq, CAPES e FAPERJ.





Grande área do conhecimento: CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Título do Projeto: POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE ALGAS MARINHAS NA INIBIÇÃO DOS EFEITOS TÓXICOS INDUZIDOS POR VENENO DE SERPENTES DO GÊNERO *Bothrops*

Autores: ¹Hosana Cristina Moitinho Marques, ¹Ana Cláudia Rodrigues da Silva, ²Carlos José Brito Ramos, ²Valéria Laneuville Teixeira, ¹André Lopes Fuly.

¹Departamento de Biologia Celular e Molecular, UFF, Niterói, Brasil;

²Departamento de Biologia Marinha, UFF, Niterói, Brasil;

INTRODUÇÃO:

O envenenamento por serpentes é um grave problema de saúde pública em diversas regiões do mundo, sendo considerado negligenciado. Nos países tropicais e subtropicais as maiores taxas de morbidade e mortalidade ocorrem em áreas pobres, subdesenvolvidas, rurais, e em lugares afastados (BARRETO *et al.*, 2010; BRITO & BARBOSA, 2012). Por ano ocorrem cerca de 1.800.000 a 2.700.000 envenenamentos e 81.000 a 138.000 mortes resultante da mordida de serpentes (GUTIÉRREZ *et al.*, 2017). No Brasil, entre 2000 e 2017, o sistema de vigilância oficial brasileiro registrou 471.801 mordidas por serpentes, resultando em 27.753 casos em média por ano (MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL, 2017).

Na distribuição de acidentes por gênero de serpentes peçonhentas no Brasil, o gênero *Bothrops* predomina com 86,12% dos casos, seguido da *Crotalus* com 10,65%, o gênero *Lachesis* com 2,03% e o gênero *Micrurus* resultou em com 1,2% (MS/DATASUS, 2017).

As serpentes do gênero *Bothrops*, estão em todo o território nacional, e são responsáveis pelo maior índice de acidentes ofídicos em nosso país. Possuem cauda lisa, não tem chocalho e as suas cores variam muito, dependendo da espécie e da região onde vivem. Habitam zonas rurais e periferias de grandes cidades, preferindo ambientes úmidos como matas e áreas cultivadas e locais onde haja facilidade para proliferação de roedores (paióis, celeiros, depósitos de lenha). Têm hábitos predominantemente noturnos ou crepusculares. Sendo importante destacar que as serpentes *Bothrops jararacussu* e *B. jararaca* merecem atenção especial devido à severidade de suas picadas e por habitar áreas densamente

povoadas, além de ambas as serpentes possuírem importância clínica no estado do Rio de Janeiro (ARAUJO, 2017). Mediante ao alto índice de acidente botrópico e a importância clínica provocados pelos envenenamentos pelas serpentes *B. jararaca* e *B. jararacussu* em nosso estado, neste trabalho investigamos o veneno destas serpentes.

Os componentes do veneno podem ser divididos em uma parte protéica e uma não-protéica. A parte não-protéica representa cerca de 0,5 a 1 % do peso seco do veneno e é formada por material inorgânico (sódio, potássio, cálcio, zinco, magnésio, ferro, cobalto) e orgânico (citrato, lipídios, carboidratos, nucleotídeos e aminas vasoativas). A parte protéica é constituída por uma gama de proteínas com ou sem atividade enzimática e peptídeos, sendo esta responsável pelos efeitos tóxicos observados no envenenamento. Esses componentes podem se ligar a receptores específicos, canais iônicos ou proteínas plasmáticas e causar alterações em mecanismos fisiológicos importantes do organismo animal. Por isso, eles têm sido alvo de estudos moleculares há anos, e têm contribuído com avanços farmacológicos importantes (MCCLERARY & KINI, 2013).

A soroterapia é o principal e o único tratamento específico do envenenamento de picada de serpentes (LALLAO, 2003). Sendo este produzido por quatro grandes centros: Centro de Produção e Pesquisa de Imunobiológicos (CPPI, Curitiba, PR), Instituto Vital Brazil (IVB, Niterói, RJ), Instituto Butantan (IB, São Paulo, SP) e a Fundação Ezequiel Dias (FUNED, Belo Horizonte, MG). Esta terapia deve ser realizada o mais rápido possível e a dose administrada varia de acordo com o tipo e a gravidade do acidente (BRASIL, 2019). A administração do soro deve ser realizada pelo

menos nas primeiras seis horas do envenenamento para que evite que ocorra a disseminação do veneno pelos órgãos (BRASIL, 2001), porém, mesmo que o tratamento seja feito rapidamente, a ação miotóxica do veneno não é neutralizada com eficácia, podendo gerar amputações e/ou deformações no membro acometido pela mordida (PICOLO, 2002).

Diante do exposto, torna-se importante a busca por novos tratamentos que possam complementar e/ou ser uma alternativa a atual soroterapia para neutralização dos efeitos toxicológicos do veneno nas vítimas.

A busca por novos tratamentos para acidentes ofídicos pode ser justificada pelo crescente número de casos, a necessidade de compostos mais apropriados para as diferentes condições clínicas do envenenamento, inibição de danos locais e pelos efeitos adversos da soroterapia. Por isso, objetivamos neste trabalho avaliar o efeito de três algas marinhas: *Caulerpa racemosa*, *Gracilaria spp* e *Kappaphycus alvarezii* (Tabela 1) em neutralizar os distúrbios de coagulação induzidos pelo do veneno das serpentes *B. jararaca* e *B. jararacussu* ajudando para um novo tratamento para o envenenamento por estas serpentes.

Tabela 1: Extratos das algas marinhas da planta e suas respectivas siglas

| Extratos | Siglas |
|------------------------------|--------|
| <i>Caulerpa racemosa</i> | ECau |
| <i>Gracilaria spp</i> | EGraci |
| <i>Kappaphycus alvarezii</i> | EKappa |

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

O veneno de *B. jararaca* foi capaz de coagular o plasma de maneira concentração-dependente, e a concentração de veneno capaz de coagular o plasma em 60 segundos foi designada de Concentração Coagulante Mínima (CMC) (dados não mostrados). A CMC foi usada para avaliar o efeito dos extratos das algas nesta atividade. O veneno de *B. jararaca* e *B. jararacussu* foi incubado com os extratos das algas: *C. racemosa*, *Gracilaria spp* e *K. alvarezii* por 30 minutos a 25°C, na proporção de 1:5 e 1:10 (veneno:alga, p/p) e em seguida a atividade coagulante foi avaliada. Como pode ser observado nas figuras 1 e 2, todos os extratos inibiram a atividade coagulante causada pela peçonha em todas as proporções, prolongando assim o tempo de coagulação do plasma. Sendo que o extrato da alga *K. alvarezii*

foi o mais efetivo frente ao veneno de *B. jararaca*, e o extrato da alga *Gracilaria spp* foi o mais efetivo frente ao veneno de *B. jararacussu*.

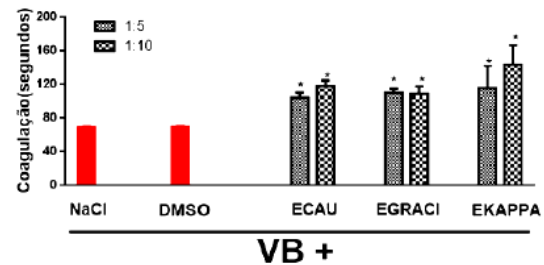


Figura 1: Efeito dos extratos das algas marinhas na coagulação induzida pelo veneno de *B. jararaca*.

O veneno de *B. jararaca* foi incubado com os extratos por 30 minutos a 25°C, na proporção de 1:5 e 1:10. E, em seguida, a mistura foi adicionada ao plasma e a coagulação monitorada como descrito. Os resultados expressam a média ± SEM de três experimentos individuais (n=3). * p < 0,05 em relação ao VB + salina (coluna vermelha, controle).

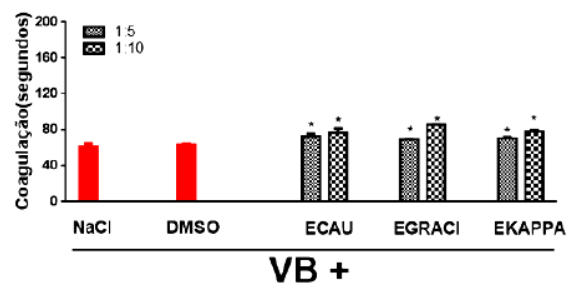


Figura 2: Efeito dos extratos das algas marinhas na coagulação induzida pelo veneno de *B. jararacussu*.

O veneno de *B. jararacussu* foi incubado com os extratos por 30 minutos a 25°C, na proporção de 1:5 e 1:10. E, em seguida, a mistura foi adicionada ao plasma e a coagulação monitorada como descrito. Os resultados expressam a média ± SEM de três experimentos individuais (n=3). * p < 0,05 em relação ao VB + salina (coluna vermelha, controle).

O veneno de *B. jararaca* foi capaz de coagular o fibrinogênio de maneira concentração-dependente, e a concentração de veneno que foi capaz de coagular o fibrinogênio em 40 segundos, designada de Concentração Coagulante Mínima (CMC) (dados não mostrados), foi usada para avaliar o efeito dos extratos das algas nesta atividade. O veneno de

B. jararaca e de *B. jararacussu* foi incubado com os extratos das algas: *C. racemosa* e *K. alvarezii* por 30 minutos a 25°C, na proporção de 1:5 e 1:10 e em seguida a atividade coagulante foi avaliada. Como pode ser observado nas figuras 3 e 4, todos os extratos inibiram a atividade coagulante causada pelas peçonhas em todas as proporções, prolongando o tempo de coagulação do plasma em relação ao controle. Sendo o extrato da alga *K. alvarezii* a mais efetiva frente ao veneno de *B. jararaca* e ao veneno de *B. jararacussu*.

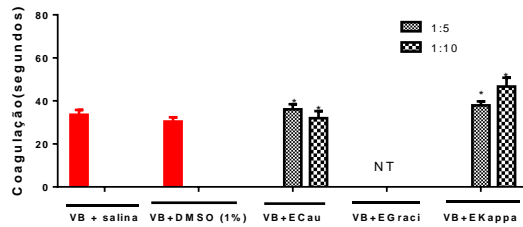


Figura 3: Efeito dos extratos das algas marinhas na fibrinocoagulação induzida pelo veneno de *B. jararaca*.

O veneno de *B. jararaca* foi incubado com os extratos por 30 minutos a 25°C, na proporção de 1:5 e 1:10 (Veneno: alga). E, em seguida a atividade fibrinocoagulação foi realizada. Os resultados expressam a média ± SEM de três experimentos individuais (n=3). * p < 0,05 em relação ao VB + salina (coluna vermelha, controle). NT= não testado

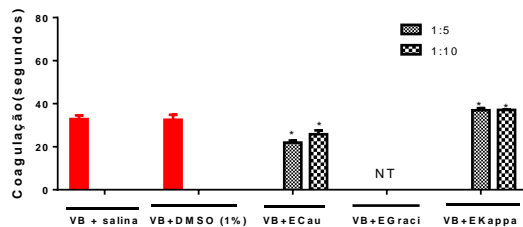


Figura 4: Efeito dos extratos das algas marinhas na fibrinocoagulação induzida pelo veneno de *B. jararacussu*.

O veneno de *B. jararacussu* foi incubado com os extratos por 30 minutos a 25 °C, na proporção de 1:5 e 1:10 (Veneno:alga). E, em seguida a atividade fibrinocoagulação foi realizada. Os resultados expressam a média ± SEM de três experimentos individuais (n=3). * p < 0,05 em relação ao VB + salina (coluna vermelha, controle).NT= não testado.

Os venenos de *B. jararaca* e *B. jararacussu* apresentaram uma atividade proteolítica dependente da concentração (dados não mostrados). Uma concentração efetiva (CE) foi designada como a concentração de veneno que causou uma variação de leitura de 0.2 em A420. Esta CE dos venenos *B. jararaca* e *B. jararacussu* foi incubada com os extratos das algas marinhas *C. racemosa*, *Gracilaria spp* e *K. alvarezii* na proporção 1:5 e 1:10 e a atividade proteolítica foi avaliada. As algas marinhas foram capazes de inibir a atividade proteolítica de ambos os venenos, e em diferentes proporções, principalmente a alga *Gracilaria spp* (Figuras 5 e 6).

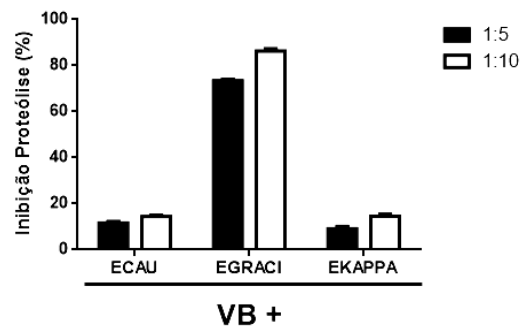


Figura 5: Efeito dos extratos das algas marinhas na atividade proteolítica induzida pelo veneno de *B. jararaca*.

O veneno de *B. jararaca* foi incubado com os extratos por 30 minutos a 25°C, na proporção de 1:5 e 1:10 (Veneno: alga). E, em seguida a atividade proteolítica foi realizada. Os resultados expressam a média ± SEM de três experimentos individuais (n=3).

Figura 7: Logo PIBIC

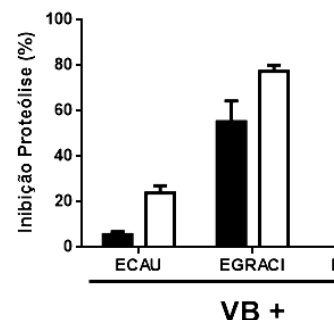


Figura 6: Efeito dos extratos das algas marinhas na atividade proteolítica induzida pelo veneno de *B. jararacussu*.

O veneno de *B. jararacussu* foi incubado com os extratos por 30 minutos a 25°C, na proporção de 1:5 e 1:10 (Veneno: alga). E, em seguida a atividade proteolítica foi realizada. Os resultados expressam a média \pm SEM de três experimentos individuais (n=3). NT= não testado.

CONCLUSÕES:

Os extratos das algas *C. racemosa*, *Gracilaria spp* e *K. alvarezii* foram capazes de neutralizar as atividades *in vitro* (coagulante, fibrinolítica, proteolítica) induzida pelo veneno de *B. jararaca* e *B. jararacussu* em diferentes potências. Portanto, essas algas marinhas têm potencial biotecnológico para levar ao desenvolvimento de terapias alternativas e/ou complementares para envenenamento pelas serpentes *B. jararaca* e *B. jararacussu*.

Esse trabalho também mostra a importância biotecnológica da biodiversidade marinha brasileira nos estudos de bioprospecção.

Agradecimentos:

PROPPI/FAPERJ/CAPES/CNPQ/UFF



Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas

Título do Projeto

Atribuindo implicitamente emoção nas faces neutras: efeito no comportamento - Resumo

Autores

Beatriz Sarmiero Rodolpho, Marta de Freitas Nudelman, Liana Catarina Lima Portugal, Isabel de Paula Antunes David, Mirtes Garcia Pereira, Leticia de Oliveira

Departamento/Unidade/Laboratório: Laboratório de Neurofisiologia do Comportamento (Labnec), Depto de Fisiologia e Farmacologia, Instituto Biomédico.

INTRODUÇÃO:

Uma série de evidências convergem para a ideia de que expressões faciais apresentam um papel importante na interação e comunicação social. É sabido que comportamentos sociais podem ser modificados e influenciados por estados afetivos, os quais sofrem regulação e influência da percepção de faces afetivas. O processamento de expressões faciais pode ser modulado por traços individuais e pelo contexto na qual são inseridas, principalmente para faces neutras, já que são faces mais ambíguas. A literatura aponta que, de fato, uma informação prévia tem a capacidade de alterar a percepção de faces. Todavia, grande parte desses estudos utilizou um desenho experimental onde as informações prévias eram explicitamente associadas às faces (informações biográficas sobre as faces). Diferentemente dos trabalhos prévios, neste projeto foi utilizada uma abordagem implícita de pré-ativação, a fim de atribuir emoção a faces neutras. Para isso, foi utilizada uma amostra universitária de 134 mulheres saudáveis (média= 21.68 e d.p.= 4.112), onde investigamos se, a partir de uma manipulação implícita de pré-ativação por apresentação de um texto negativo (temática de abuso sexual infantil; grupo com 67 voluntárias) em um primeiro experimento, conseguiríamos promover um efeito sobre o processamento das faces neutras em um segundo experimento. Como controle, outro grupo foi apresentado a um texto neutro (temática de carteira de

identidade; com 67 voluntárias). No segundo experimento, todas as participantes realizaram testes comportamentais divididos em duas tarefas. A primeira tarefa consistia no julgamento da orientação de duas barras periféricas onde as faces neutras eram apresentadas como distrativas e a segunda consistia no julgamento da valência das faces apresentadas, e as faces neutras eram apresentadas como foco de atenção.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram analisados o número de vezes que faces e objetos foram julgados como negativos ou neutros após a apresentação do texto negativo ou neutro. Foram realizadas duas ANOVA de medidas repetidas, contento dos fatores "Contexto" (Neutro e Negativo) e "Estímulo" (Faces Neutras e Objetos), e para todos os resultados adotamos o valor de $\alpha=0,05$. A partir disso, encontramos um efeito significativo do contexto ($F(1, 79) = 5,6537, p=, 01$), mostrando que, após o texto negativo, mais estímulos foram julgados como negativos do que após o contexto neutro, e um efeito significativo do estímulo ($F(1, 79) = 108,82, p<,001$), refletindo que e uma maior quantidade de faces foi julgada como negativa em comparação com os objetos, independente do contexto. Adicionalmente, encontramos uma interação entre "Contexto" e "Estímulo" ($F(1, 79) = 6,1976, p=,01$). Os resultados mostraram que a pré-ativação gerada pelo texto negativo (primeiro

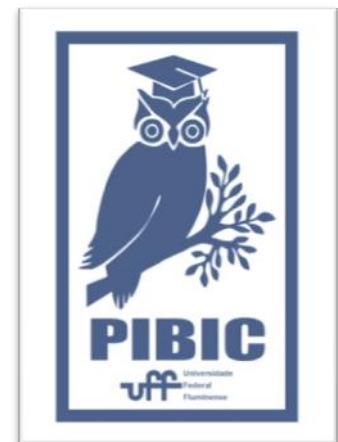
experimento) promoveu um efeito na tarefa de julgamento da valência das figuras (segundo experimento). Podemos observar que, no grupo apresentado ao texto negativo, houve um maior número de faces neutras julgadas como negativas, quando comparado ao efeito gerado pelo texto neutro, confirmando a hipótese deste trabalho. Já em relação ao tempo de reação, tanto na tarefa de julgamento de barras, como na tarefa de julgamento de valência das figuras, não foi observada nenhuma modulação pela pré-ativação induzida pelo texto prévio.

CONCLUSÕES:

Estes resultados mostram que uma informação apresentada em um experimento anterior e independente é capaz de alterar o comportamento em um experimento subsequente, mesmo quando realizado com intervalo de alguns minutos. Portanto, o presente trabalho acrescenta à literatura importante evidência de que nossos comportamentos e ações são moduláveis por informações precedentes de maneira implícita ou pouco percebida.

Agradecimentos:

Agradecemos a todos os voluntários que realizaram este experimento. Agradecemos também as agências financiadoras deste projeto, CNPq, CAPES, FAPERJ, PROPPi. Aproveitamos para registrar nossa preocupação com o desmonte destas agências e o frequente corte de verbas.





Ciências Biológicas

Avaliação da dinâmica populacional de amostras de *Streptococcus agalactiae* circulantes no Rio de Janeiro

Brenda Caruso Pimenta Avilez, Karen Baeta Alves, Andreza Martyres e Rosana Rocha Barros

Departamento de Microbiologia e Parasitologia/Instituto Biomédico/Laboratório de Cocos Gram Positivos

INTRODUÇÃO:

Streptococcus agalactiae (estreptococos do grupo B, EGB) é um importante patógeno humano, sendo agente etiológico de septicemia e meningite em neonatos e infecções no adulto imunocomprometido.

A doença neonatal é classificada como de início precoce, quando ocorre nos primeiros sete dias, ou tardia, da primeira semana ao terceiro mês. Como o principal fator de risco para desenvolvimento das infecções é a colonização materna, em 1996, foi elaborado pelo Centers for Disease Control and Prevention (CDC) e revisado 2002, o guia para prevenção da infecção precoce no recém-nascido, recomendando a quimioprofilaxia para todas as gestantes colonizadas por EGB entre a 35ª e a 37ª semanas de gestação. O antimicrobiano recomendado na profilaxia intraparto é a penicilina, porém outras opções devem ser administradas em pacientes alérgicas a esta droga. As principais alternativas são a cefazolina, quando há baixo risco de reações anafiláticas, clindamicina, se a amostra isolada apresentar susceptibilidade a este agente ou vancomicina, quando a amostra é resistente à clindamicina ou quando não há informação a respeito da susceptibilidade a este agente. No entanto, tem sido relatada, inclusive em nosso meio, a resistência à clindamicina e outros antimicrobianos, como as fluoroquinolonas. Recentemente também foram descritos casos de susceptibilidade reduzida a alguns β -lactâmicos. Estratégias de classificação epidemiológica de agentes infecciosos têm sido realizadas a fim de facilitar o estudo de tais patógenos e as doenças associadas. A classificação de sorotipos do EGB é baseada em diferenças antigênicas da cápsula

polissacarídica, sendo atualmente reconhecidos 10 tipos capsulares (Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII, VIII e IX). Além de sua importância como marcador epidemiológico, a cápsula é um importante fator de virulência contribuindo para a resistência à fagocitose. Devido à sua importância na patogênese do EGB, a cápsula polissacarídica é ainda considerada a principal candidata para o desenvolvimento de uma vacina a ser utilizada na gestante, a fim de prevenir a infecção neonatal. Assim, o conhecimento sobre os tipos capsulares circulantes em uma determinada região é essencial para fornecer subsídios sobre o impacto de uma vacina baseada em tipos capsulares em uma determinada população. Além disto, considerando que atualmente a prevenção da doença estreptocócica neonatal se baseia na profilaxia intraparto, é fundamental o contínuo monitoramento da resistência aos antimicrobianos recomendados.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Um total de 31 amostras de *S. agalactiae*, isoladas de secreção vaginal (18) e urina (13) de gestantes atendidas no Serviço de Pré-Natal do HUAP, entre outubro de 2013 e fevereiro de 2019, teve sua espécie confirmada pelos testes fenotípicos (hidrólise do hipurato de sódio e CAMP). Tais amostras foram submetidas ao teste de susceptibilidade aos antimicrobianos. As amostras foram sensíveis a ceftriaxona, clindamicina, levofloxacina, penicilina e vancomicina. Foi observada não-susceptibilidade à eritromicina (1 amostra intermediária, 3,2%) com fenótipo M de resistência aos macrolídeos, e à tetraciclina (23 amostras resistentes, 74,2% e uma amostra intermediária, 3,2%). Observa-se uma redução na ocorrência de resistência aos macrolídeos,

quando comparado a outros estudos realizados na região e em outras regiões geográficas, além da manutenção da significativa resistência à tetraciclina entre as amostras estudadas. Também foi determinada a distribuição dos tipos capsulares, principal marcador epidemiológico da espécie. Todas as amostras foram submetidas à tipificação capsular, sendo possível identificar o tipo de cápsula em 28 amostras (90,3%). Os tipos capsulares encontrados foram: Ia (10, 35,7%), Ib (5, 17,9%), II (6, 21,4%), III (3, 10,7%) e V (4, 14,3%). Considerando a origem clínica das amostras, a distribuição dos tipos capsulares foi a seguinte:

| Espécime/ Tipo capsular | Sec vaginal | Urina |
|----------------------------|-------------|---------|
| Ia | 7 (38,9%) | 3 (30%) |
| Ib | 4 (22,2%) | 1 (10%) |
| II | 3 (16,7%) | 3 (30%) |
| III | 2 (11,1%) | 1 (10%) |
| V | 2 (11,1%) | 2 (20%) |

Empregando-se o teste exato de Fisher, não foi observada associação significativa entre o tipo capsular e a origem clínica das amostras ($p > 0,05$).

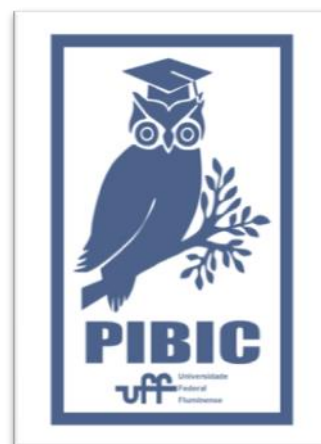
CONCLUSÕES:

- A resistência de *S. agalactiae* à tetraciclina, característica observada em diversos estudos realizados tanto na região como em outras regiões, continua sendo bastante significativa.
- A não susceptibilidade à eritromicina, característica que vem sendo observada continuamente, tanto em amostras circulantes na região como em outras, foi bastante reduzida no presente estudo.
- Foi observada uma ampla distribuição dos tipos capsulares, o que mostra que a população bacteriana circulante em nosso meio tem natureza policlonal.
- Não foi observada nenhuma associação estatisticamente significativa entre o tipo

capsular expresso pela amostra e sua origem clínica.

Agradecimentos:

FAPERJ, PROPPI/UFF





Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas

Título do Projeto: AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS DE MODULADORES DE NUCLEOTÍDEOS CÍCLICOS EM RATOS WISTAR ALIMENTADOS COM DIETA HIPERCOLESTEROLÊMICA.

Autores: Luiza Campos Tamega, Gabriel Ferreira Lima; Rosane de Oliveira Lopes; Stephani Correia Brazão; Nádia Alice Vieira da Motta; Fernanda Carla Ferreira de Brito.

INTRODUÇÃO: A aterosclerose é uma doença inflamatória crônica e está intimamente associada ao processo inflamatório, trombogênese e estresse oxidativo. As plaquetas contribuem diretamente para o desenvolvimento da aterosclerose. Uma vez que são capazes de interagir com as células endoteliais e leucócitos, elas representam um elo entre a inflamação, a trombose e a aterogênese, desempenhando um papel crucial não só na progressão da aterosclerose, mas também na fase inicial da doença. Diversos estudos têm demonstrado o importante papel exercido por moduladores de nucleotídeos cíclicos como o cilostazol e a inosina através de ações antiplaquetária, vasodilatadora, antioxidante e anti-inflamatória. Desta forma, postulamos a hipótese de que o cilostazol e a inosina poderiam exercer efeitos benéficos sobre a aterosclerose, uma doença que está intimamente associada ao processo inflamatório, estresse oxidativo e o sistema cardiovascular. Os objetivos deste trabalho consistem em: (1) Caracterizar o modelo de hipercolesterolemia e investigar o processo fisiopatológico desencadeado pela dieta, (2) Avaliar as propriedades antiplaquetárias dos moduladores de nucleotídeos cíclicos administrados subcronicamente no modelo experimental.

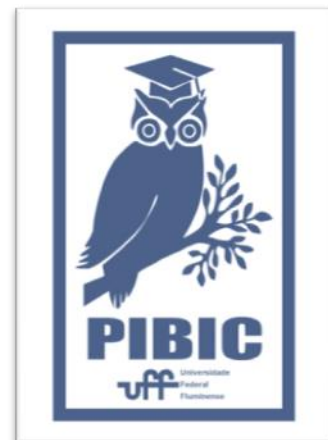
Ratos wistar (150-200g) foram divididos em 5 grupos: Grupo controle (C) e controle tratado com cilostazol (C+Cilo), controle tratado com inosina (C+Ino), alimentados com ração comercial padrão, grupo dieta

hipercolesterolêmica (HC), grupo dieta hipercolesterolêmica + Cilostazol (HC+Cilo) e grupo dieta hipercolesterolêmica + Inosina (HC+Ino) alimentados com dieta hipercolesterolêmica. No 31º dia de dieta, foi realizado o tratamento crônico com os compostos teste (Cilostazol 30 mg/Kg e Inosina 10 mg/Kg) uma vez ao dia, totalizando 15 dias de tratamento.

RESULTADOS E DISCUSSÕES: A dieta hipercolesterolêmica foi capaz de promover o aumento da agregação plaquetária induzida pelo ADP (HC: $CE_{50} = 0,09 \pm 0,02 \mu\text{M}$ X C: $CE_{50} = 0,40 \pm 0,05 \mu\text{M}$). e pelo colágeno (HC: $CE_{50} = 0,13 \pm 0,02 \mu\text{g/mL}$ X C: $CE_{50} = 0,65 \pm 0,06 \mu\text{g/mL}$). O tratamento com inosina, por outro lado, se mostrou capaz de reduzir de forma significativa a potência do ADP em induzir a agregação quando comparado ao grupo HC nas concentrações de 1 μM (HC+INO: $21,43 \pm 1,24$ x HC: $30,25 \pm 2,35$), 5 μM (HC+INO: $25,64 \pm 1,13$ x HC: $39,25 \pm 3,20$), 10 μM (HC+INO: $25,79 \pm 1,17$ x HC: $36,67 \pm 3,02$) e 20 μM (HC+INO: $27,57 \pm 1,05$ x HC: $37,17 \pm 3,21$). O tratamento com cilostazol foi capaz de reduzir a agregação plaquetária induzida pelo ADP nos animais alimentados com dieta hipercolesterolêmica, efeito este observado pelo aumento do CE_{50} : $0,42 \pm 0,06 \mu\text{M}$ ($p < 0,05$).

CONCLUSÕES: O conjunto de resultados observados mostrou que os tratamentos farmacológicos empregados apresentaram uma diminuição significativa da resposta agregante plaquetária, demonstrando eficácia no seu papel antiplaquetário no modelo *in vivo*.

**Agradecimentos: PIBIC/ UFF; FAPERJ;
CNPq; PROPPi/ UFF.**





Grande área do conhecimento

Análise do perfil lipídico das glândulas produtoras de feromônios sexuais de insetos vetores da doença de Chagas

Autores: Ana Paula da Silva Amaral Soares; Matheus Vianna de Sousa; Carolina Nascimento Spiegel; Rosane Lima Lopes e Suzete Araujo Oliveira Gomes.

Departamento de Biologia Geral/ Instituto de Biologia/
Laboratório de Biodiversidade de insetos e Patógenos

INTRODUÇÃO:

Os feromônios são caracterizados como compostos químicos que proporcionam mudanças comportamentais e/ou fisiológicas específicas em um ou mais indivíduos de uma mesma espécie (DUSENBERY, 1992; TILMAN *et al.*, 1999). Dentre estes podemos destacar os feromônios sexuais que promovem a atração entre machos e fêmeas para que ocorra o acasalamento (JOHANSSON & JONES, 2007; STEIGER & STÖKL, 2014).

Na maioria dos insetos a produção desses compostos ocorre em glândulas exodérmicas associadas a orifícios cuticulares (PERCY- CUNNINGHAM & MACDOLNARD, 1987). Essas glândulas são constituídas por células secretoras que podem estar associadas a um reservatório, onde os feromônios são estocados. Nas glândulas que não possuem reservatório seus compostos são sintetizados e imediatamente liberados no meio ambiente (TILMAN *et al.*, 1999).

Os hemípteros da subfamília Triatominae, vetores do *Trypanosoma cruzi* (CHAGAS, 1909), agente etiológico da doença de Chagas (CARCAVALLO *et al.*, 1999a), apresentam glândulas responsáveis pela síntese e emissão de feromônio sexual. Nas espécies *Triatoma infestans*, *Triatoma brasiliensis* e *Rhodnius prolixus* esses sinais químicos são encontrados nas Glândulas Metasternais (GMs) (MANRIQUE *et al.*,

2006; PONTES *et al.*, 2008; VITTA *et al.*, 2009).

Resultados prévios do nosso grupo, demonstraram através da técnica de microscopia eletrônica de transmissão que a porção secretora da GM de *R. prolixus* apresenta diversas inclusões lipídicas (dados ainda não publicados). Entretanto imagens de microscopia de luz do aparato glandular ainda não foram realizadas.

Nos insetos, os lipídios são constituintes de estruturas celulares, atuam como reservas energéticas, precursores de hormônios e feromônios (ARRESE *et al.*, 2001). Essas moléculas são adquiridas pela dieta, como os triacilgliceróis e fosfolípidos, que são hidrolisados em ácidos graxos livres e em seguida são absorvidos pelo epitélio intestinal (CANAVOSO *et al.*, 2001). Em *R. prolixus* a quantidade de lipídios no corpo gorduroso diminui gradativamente nos insetos em jejum (PONTES, 2008). Neste triatomíneo também foi analisado que parte dos lipídios armazenados no corpo gorduroso das fêmeas adultas são transportados por lipoforinas até os ovários (ATELLA *et al.*, 1992; COELHO *et al.*, 1997). Neste contexto, propomos capturar imagens de microscopia de luz da GM, afim de entender melhor os aspectos morfológicos dessa glândula, além de identificar o perfil de lipídios da GM de *R. prolixus*, para que futuramente possamos contribuir no desenvolvimento de estratégias inovadoras de controle desse inseto vetor.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

As análises de microscopia óptica confirmaram que a GM é composta por um tecido glandular associado a canaliculos intercelulares, responsáveis pela condução dos compostos produzidos nesse tecido até o ducto central, esta última estrutura é responsável por encaminhar o feromônio até o reservatório onde ficará armazenado até sua liberação (Fig. 1).

Através da TLC foram identificadas as classes de lipídios presentes na GM de *R. prolixus* (Fig. 2). A presença de lipídios na GM indica que essas moléculas provavelmente estão envolvidas na rota biossintética do feromônio sexual desse triatomíneo. Diversos estudos apontam os lipídeos como uma rica fonte de precursores para a biossíntese dos feromônios de insetos (PERCY-CUNNINGHAM & MACDONALD, 1987; TILMAN *et al.*, 1999).

Como por exemplo, nas mariposas que os compostos dos feromônios sexuais são alcoóis, aldeídos e acetatos ésteres (WITZGALL *et al.*, 2004), essas moléculas são sintetizadas a partir de ácidos graxos, armazenados nas glândulas de produção de feromônio sexual (JURENKA, 2003). Pontes e colaboradores (2008) relataram que os componentes do feromônio sexual de *R. prolixus* são alcoóis e cetonas, onde ácidos graxos podem ser os precursores desses compostos.

CONCLUSÕES:

Neste trabalho identificamos as principais estruturas presentes na porção secretora da GM, responsáveis pela produção e condução dos feromônios sexuais, até que ocorra sua liberação no meio ambiente. Além de identificamos pela primeira vez o perfil lipídico presente nas células responsáveis pela biossíntese do feromônio sexual. Outras análises bioquímicas e moleculares são necessárias a fim de identificar os principais lipídeos envolvidos na biossíntese do feromônio sexual de *R. prolixus*, dessa forma podemos futuramente desenvolver novas metodologias de controle desse inseto vetor.

Agradecimentos:

Dra. Jacenir Santos- Mallet (Laboratório Interdisciplinar de Vigilância Entomológica de Díptera e Hemiptera- IOC-FIOCRUZ) pelo auxílio na preparação e análise da microscopia de luz. Dra. Georgia Atella e Ténica Mileane Bush (Laboratório de Bioquímica de Lipídeos- IBQM- UFRJ) pelo auxílio na avaliação dos lipídios.

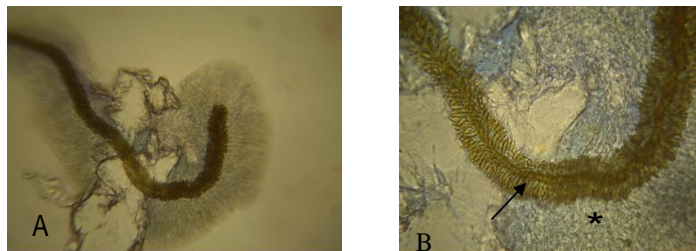


Figura 1: Imagem da porção secretora da GM de *R. prolixus* capturada através de microscópio óptico. A: visão geral da porção secretora, observamos a presença do tecido glandular associado aos canaliculos e ducto central, responsáveis por conduzir o feromônio até o reservatório. B: detalhe dos canaliculos (*) e ducto central (seta).

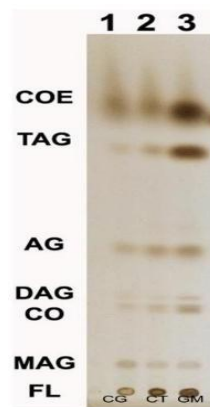


Figura 2: Cromatograma do perfil lipídico do corpo gorduroso (CG), cutícula (CT) e glândula metasternal (gm) de *R. prolixus*. 1- CG; 2- CT; 3- GM; FL: Fosfolipídios; MAG: Monoacilglicerol; CO: Colesterol DAG: Diacilglicerol AG: Ácido graxo; TAG: Triacilglicerol; COE: Colesterol Esterificado (Colesterol Ester).



Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas

Título do Projeto: Estudo do p75^{N^{TF}} como receptor para a proteína precursora do amiloide solúvel α (α APPs) em modelo de plasticidade induzida por nicotina na via retinocolicular

Autores Juliana Martins de Souza de Jesus Vicente; Gian Lucca Curty Mórias; Adriana da Cunha Faria Melibeu

Departamento de Neurobiologia /Instituto de Biologia/ Laboratório Neurobiologia do Desenvolvimento

INTRODUÇÃO:

O peptídeo A β é produto da clivagem da proteína precursora do amiloide (APP), processada pela via amiloidogênica. A via alternativa, não-amiloidogênica, gera um fragmento chamado de proteína precursora do amiloide solúvel α (α APPs) com funções neurotróficas e de crescimento neurítico, em neurônios de todo sistema nervoso central (SNC). Nosso grupo vem estudando a via retinocolicular de ratos como modelo para investigação dos mecanismos que regem o desenvolvimento e a plasticidade no SNC. Dados do nosso grupo demonstraram que o nível de expressão da APP é alto até a terceira semana do desenvolvimento no colículo superior de ratos. Estudos anteriores mostraram uma alteração na plasticidade nesse modelo, quando utilizado nicotina local, alterando o processamento da APP. O receptor de neurotrofina P75 (p75^{N^{TR}}) é alvo de muitos fatores de crescimento, incluindo fator de crescimento nervoso (NGF), e medeia processos antagonísticos como morte celular e sobrevivência. Estudos mostraram, em outros modelos, que o p75^{N^{TF}} pode se ligar tanto a APP, quanto aos seus fragmentos, gerando respostas diferentes. Quando ligado ao A β , o receptor libera seu domínio de morte intracelular e induz apoptose. Entretanto, quando ligados a α APPs induz crescimento neurítico. Nesse projeto, nosso primeiro objetivo foi caracterizar a presença e os níveis do receptor p75^{N^{TR}} nas camadas visuais do CS ao longo do desenvolvimento pós-natal.

METODOLOGIA:

O projeto foi aprovado pelo comitê de ética da UFF protocolo de número 00205. Foram usados ratos da linhagem Lister Hooded em diferentes estágios do desenvolvimento pós-natal, desde o DPN0 até o DPN70. Foram dissecadas amostras de colículo superior (CS) para análise bioquímica através da técnica de Western Blot. As análises estatísticas foram realizadas pelo programa Graphpad Prism e foram considerados significativos os valores de $P < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

A análise das diferentes isoformas do p75^{N^{TF}} foram realizadas, demonstrando um aumento significativo da isoforma madura durante o desenvolvimento pós natal. Foi visto um padrão de decaimento, não significativo, do nível proteico da isoforma imatura durante o desenvolvimento. Já o somatório das duas isoformas, p75^{N^{TF}} total não revelaram alterações significativas durante o desenvolvimento pós-natal. Nosso próximo passo será avaliar se tal receptor é capaz de interagir com a α APPs a fim de elucidar os mecanismos através dos quais os efeitos plásticos induzidos pela nicotina acontecem.

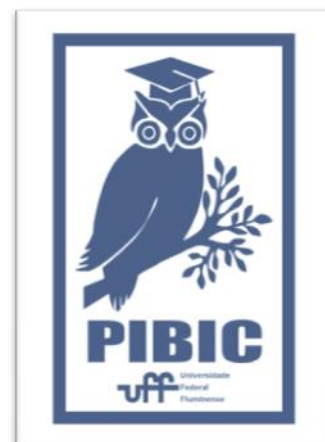
CONCLUSÕES:

Esses achados demonstram a presença do p75^{N^{TF}} no Colículo Superior e permitem o estudo de uma possível interação com a α APPs em modelos de plasticidade da via retinocolicular.

AGRADECIMENTOS:

Pró-reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação (PROPI), Universidade Federal

Fluminense (UFF), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).





Virologia

Grande área do conhecimento: Microbiologia

Título: Detecção molecular do poliomavírus de células Merkel em carcinoma basocelular e no tecido perilesional: um estudo transversal

Autores: Luan Zorzin Marcon, Marianna Tavares Venceslau Gonçalves, Flávio Barbosa Luz, Rafael Brandão Varella.

Local de realização: MIP/Laboratório de

INTRODUÇÃO:

O primeiro e até agora único poliomavírus humano oncogênico, o poliomavírus de células Merkel (MCPyV), foi descoberto na última década, infectando cerca de 80% dos carcinomas de células Merkel (CCM). Originado de células localizadas na camada basal da epiderme da pele, o MCC é um tipo raro e extremamente agressivo de câncer de pele não melanoma (CPNM), que geralmente afeta idosos, caucasianos e imunocomprometidos em áreas do corpo com alta exposição a UV. Compreendendo as neoplasias mais prevalentes em todo o mundo, os CPNM têm sido investigados para buscar e elucidar outros fatores de risco, como infecções por oncovírus. Nosso grupo foi responsável pelo primeiro estudo em uma população brasileira, com 32% de positividade para MCPyV em biópsias de vários CPNM. Neste estudo, nos concentramos em investigar o MCPyV exclusivamente em pacientes com carcinoma basocelular (CBC).

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Analisamos biópsias congeladas e tecido perilesional oriundas de 35 pacientes com diagnóstico histopatológico de CBC tratados no Hospital Universitário Antônio Pedro entre setembro de 2017 e dezembro de 2018. Os dados demográficos foram coletados durante a entrevista ao exame médico. A etnia foi definida pelo dermatologista, de acordo com o fototipo do paciente, classificado em "branco" ou "não branco". A localização do tumor foi utilizada para inferir a exposição solar (alta, moderada ou baixa). Todas as amostras tiveram DNA extraído utilizando um kit comercial. O DNA do MCPyV foi detectado por PCR aninhado para a região

LT3. A análise estatística foi realizada usando o software SPSS statistics 20 (SPSS, Inc., Chicago, IL). Todos os indivíduos concordaram em participar assinando um consentimento informado. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade.

Oito dos 35 pacientes contribuíram com mais de uma lesão. Em geral, os pacientes eram idosos (72.4 ± 11.8), predominantemente do sexo feminino (62.9%), brancos (94.3%) e imunocompetentes (97.1%). As comorbidades mais comuns encontradas foram hipertensão arterial sistêmica (68,6%) e diabetes mellitus tipo 2 (14,3%). Onze pacientes com história prévia de neoplasia e três com lesões pré-malignas no momento da cirurgia também foram identificados. As lesões localizavam-se principalmente na cabeça (68,7%), pescoço (14,6%), membros superiores (10,4%) e membros inferiores (6,3%).

Os pacientes foram classificados como MCPyV+ se pelo menos uma lesão tivesse DNA viral detectável, resultando em 9 (25,7%) pacientes com MCPyV+. Em relação às margens cirúrgicas, 8 (22,8%) pacientes eram MCPyV+. Não foi encontrada associação estatisticamente significativa (valor de $p \leq 0,05$) entre a positividade do MCPyV e o gênero, etnia, idade, exposição solar e estado imunológico dos pacientes.

Sendo um vírus epiteliotrópico e oncogênico recentemente descoberto, o MCPyV tornou-se um alvo de pesquisa por sua possível relação ao CPNM. Como importantes fatores de risco do CPNM ainda carecem de compreensão abrangente, este estudo teve como objetivo avaliar a positividade do MCPyV no CBC em 35 pacientes. Nossos resultados mostram que 25,7% dos pacientes eram positivos para

MCPyV, comparáveis a outras populações estudadas.

Segundo os resultados, as lesões do CBC e tecido perilesional foram semelhantes para a detecção do MCPyV, indicando que o vírus está espalhado ao redor do tecido, independentemente da presença ou ausência de lesão. Não é sabido se o MCPyV é acidental ou tem algum papel no desenvolvimento do CBC. No entanto, supõe-se que os oncovírus possam fornecer as condições favoráveis iniciais para o desenvolvimento de neoplasias pelo mecanismo "hit and run", dificultando a detecção do agente após o estabelecimento da lesão⁴.

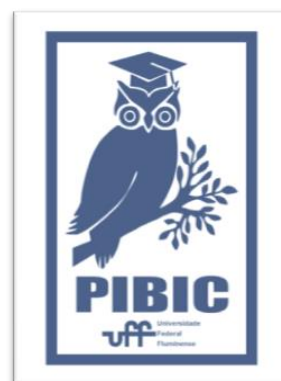
A falta de associação entre a detecção viral no CBC e os dados clínicos e demográficos indica que eles não são fatores determinantes. Em relação às comorbidades dos pacientes, nenhuma mostrou significância para a positividade do MCPyV. Infelizmente, não fomos capazes de testar essas lesões pré-malignas para detecção viral.

CONCLUSÕES:

Embora, a partir de nossos achados, o MCPyV pareça não se correlacionar com os principais fatores de risco para o desenvolvimento de CBC, este estudo amplia o conhecimento do MCPyV na população brasileira. Mesmo com sua característica mistura étnica, nossa população continua sendo uma das mais afetadas pelo CPNM em todo o mundo e, portanto, todo o conhecimento sobre possíveis associações de fatores de risco torna-se relevante.

Agradecimentos:

À FUNADERM (Fundo de Apoio à Dermatologia) e FAPERJ (Fundação de Pesquisa do Rio de Janeiro).





Ciências Biológicas

Efeitos da Hipóxia Sobre o Controle Neural Cardíaco

Rafael de Paiva Ferreira, André Luiz Musmanno Branco de Oliveira,
Pedro Paulo da Silva Soares

Departamento de Fisiologia e Farmacologia / Instituto Biomédico /
Laboratório de Fisiologia do Exercício Experimental e Aplicada

INTRODUÇÃO: A baixa pressão parcial de oxigênio das grandes altitudes leva a uma condição conhecida como hipóxia hipobárica. Estudos têm avaliado o controle neural cardíaco durante hipóxia em repouso demonstrando que mudanças significativas da modulação autonômica cardíaca e variabilidade da pressão arterial tendendo para predominância simpática começam a ocorrer a partir de níveis de F_{iO_2} de 15% ~2500m, não ocorrendo em F_{iO_2} maiores. Outro estudo, que utilizou uma F_{iO_2} 11,5% ~4800m, demonstrou que marcadores da variabilidade da frequência cardíaca relacionados a modulação vagal foram reduzidos durante hipóxia. Um recente estudo de revisão sistemática publicado pelo nosso grupo, encontrou que a resposta autonômica à hipóxia é dependente, principalmente, do nível de altitude, do tempo de exposição e da pressão barométrica. Mediante ao exposto, as respostas cardiovasculares de repouso durante à hipóxia não estão totalmente elucidadas. Portanto, se faz necessário mais investigações. Nossa hipótese é de que o controle reflexo do coração, bem como, as respostas ventilatórias estão relacionadas à queda da SpO_2 , que por sua vez é determinada por uma variação individual durante hipóxia.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Conforme o esperado, em hipóxia a saturação de oxigênio foi reduzida (SPO_2 normóxia: 98 ± 1 vs. SPO_2 hipóxia: $86 \pm 5\%$, $p < 0,0001$) e a ventilação aumentou em hipóxia (VE normóxia: $15,26 \pm 2,61$ vs. VE hipóxia: $16,60 \pm 3,34$ L/min, $p = 0,02$). A variabilidade da frequência cardíaca foi avaliada no domínio da frequência para estimar a modulação autonômica cardíaca. O componente de baixa frequência (LF), o qual representa modulação simpática e parassimpática em repouso, não foi alterado em unidades absolutas (LFA normóxia: 1917 ± 1791 vs. LFA hipóxia: 2176 ± 1710 ms²; $p = 0,44$). Enquanto que o componente de alta frequência, o qual representa a modulação parassimpática cardíaca, foi reduzido em unidades absolutas (HFA normóxia: 5069 ± 534 vs. HFA hipóxia: 3621 ± 4072 ms²; $p = 0,0034$). Em unidades normalizadas (percentuais), a modulação LFn em hipóxia foi aumentada (LFn normóxia: $30,16 \pm 16,28$ vs. LFn hipóxia: $41,94 \pm 21,77$ u.n.; $p = 0,02$). Enquanto que a modulação HFn em hipóxia foi reduzida (HFn normóxia: $63,32 \pm 15,70$ vs. HFn hipóxia: $50,68 \pm 18,40$; $p = 0,007$).

Dessa forma, o balanço simpatovagal foi aumentado em hipóxia (LF/HF normóxia: $0,57 \pm 0,45$ vs. LF/HF hipóxia: $1,39 \pm 1,98$; $p=0,01$). Além disso, a sensibilidade barorreflexa espontânea foi reduzida em hipóxia (α LF normóxia: $9,42 \pm 5,34$ vs. α LF hipóxia: $7,37 \pm 5,34$ ms/mmHg; $p=0,009$). Dessa forma, a frequência cardíaca (FC) foi aumentada (FC normóxia: 74 ± 9 vs. FC hipóxia: 82 ± 8 bpm; $p=0,0003$). O débito cardíaco (DC) também foi aumentado, (DC normóxia: $6,53 \pm 0,62$ vs. DC hipóxia: $7,27 \pm 0,82$ l/min; $p=0,0001$). O volume sistólico (VS) não se alterou (VS normóxia: 89 ± 13 vs. VS hipóxia: 90 ± 12 ml; $p=0,37$). Esses achados corroboram com os estudos anteriores em relação às alterações autonômicas provocadas pela hipóxia, demonstrando que a sensibilidade barorreflexa espontânea foi reduzida, contribuindo para um balanço autonômico aumentado.

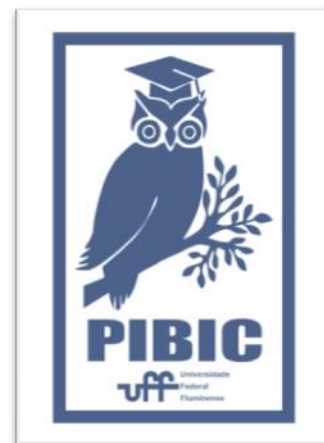
CONCLUSÕES:

A condição de hipóxia leva a diminuição da energia espectral da banda HF devido a retirada vagal. A potência total está tendendo a reduzir, indicando uma diminuição na modulação global da frequência cardíaca. Além disso, o aumento da energia espectral da banda LF e da relação LF/HF em hipóxia demonstram que, nesta condição, existe uma maior ativação simpática, o que levou a um aumento da FC e do débito cardíaco. O controle barorreflexo da frequência cardíaca foi reduzido durante a condição de hipóxia, provavelmente por uma maior dominância do controle quimiorreflexo periférico, ativado a partir dos baixos níveis de oxigenação

arterial. Esse reflexo também deve ter sido o responsável pelo aumento da ventilação em hipóxia, ocorrendo pelo aumento do volume corrente. Esses achados demonstram que a hipóxia estressa os sistemas cardiovascular e respiratório, a fim de garantir a manutenção da homeostase.

Agradecimentos:

Ao professor Pedro Paulo da Silva Soares pela orientação ao longo deste projeto, ao doutorando André Luiz Musmanno Branco Oliveira pela participação em todo o processo. Agradeço também ao CNPq pelo apoio financeiro e pela oportunidade.





Ciências Biológicas

Interações Moleculares envolvendo os Sistemas Glutamatérgico e Purinérgico em ratos com Transtorno de Ansiedade

Autores: Sofia Latgé Tovar Costa, Rodrigo Colaco Das Neves, Vanessa Gama Goulart, Sílvia Maissonette, J. Landeira-Fernandez, Paula Campello-Costa.

Instituto de Biologia/Departamento de Neurobiologia/Laboratório de Neuroplasticidade

INTRODUÇÃO:

Dentre os distúrbios emocionais conhecidos, a ansiedade é o que mais aflige a qualidade de vida humana. Apesar de ter um nível ótimo, propulsor do desempenho e defesa, taxas exageradamente baixas ou elevadas prejudicam a execução da tarefa, caracterizando certo aspecto patológico.

No cérebro de mamíferos, o glutamato é o principal neurotransmissor excitatório e suas ações são mediadas por diferentes receptores (Collingridge e Lester, 1989). Já é sabido que os receptores NMDA (N-metil-D-aspartato) e o AMPA (α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropionato), de glutamato, possuem um papel central na emocionalidade e cognição (Barkus et al., 2010) e da mesma forma, afetam aspectos da ansiedade, bem como, prejudicam certas formas de aprendizado e memória (Barkus et al., 2010).

Em meio a isso, este projeto tem como objetivos gerais realizar análises comportamentais e neuroquímicas comparativas em linhagens de ratos com alta (CAC) e baixa (CBC) taxa de congelamento em relação aos animais normais, controles da mesma espécie (CTL). Essa resposta de congelamento associada aos estímulos contextuais apresenta um interessante isomorfismo com o transtorno de ansiedade generalizado em humano, sendo uma importante medida de medo condicionado. A ansiedade, a memória e expressão e a localização de subunidades de receptores glutamatérgicos nos diferentes grupos também foram analisadas.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

O primeiro experimento realizado foi o teste do Labirinto em Cruz Elevado, clássico para análise do perfil de ansiedade dos animais. Neste teste, avaliamos a porcentagem de entradas e tempo nos braços abertos como indicativo de comportamento tipo ansioso. Os dados obtidos revelaram uma diminuição significativa na porcentagem de entradas e tempo nos braços abertos do grupo CAC em relação aos grupos controle e CBC, confirmando um fenótipo tipo ansioso nos animais CAC.

O próximo passo foi avaliar o teste de Campo Aberto, que permite a análise de diferentes parâmetros comportamentais. Inicialmente, foi possível observar um aumento da atividade locomotora nos animais CBC e uma diminuição significativa no número de *rearing* (locomoção vertical) no grupo CAC. Além disso, houve a maior locomoção central no campo aberto do CBC, confirmando um perfil menos ansioso neste grupo. Ainda mais, na avaliação do parâmetro *grooming*, houve um aumento significativo na comparação do grupo CBC com os grupos controle e CAC.

Ainda no Campo Aberto, para se avaliar também a memória de habituação entre os grupos, o número de cruzamentos totais nos dois dias do campo aberto foi analisado. Na segunda exposição, por já conhecer o ambiente, é esperado que o animal caminhe menos, o que indicaria uma boa memória. Foi detectada diferença significativa apenas no grupo controle com uma diminuição no número de cruzamentos no segundo dia em relação ao primeiro. Por não haver diferença no número de cruzamentos nos grupos CBC e CAC, sugerindo que houve

prejuízo na memória de habituação nestes grupos.

Realizamos também o teste de reconhecimento de objetos, um teste de memória amplamente utilizado. Não foi detectada diferença significativa entre os grupos, sugerindo que estes animais não tenham prejuízo neste tipo de memória.

Quadros de ansiedade são frequentemente associados a quadros depressivos e com isso, todos os grupos animais foram submetidos ao teste de nado forçado, o qual possui como critério de avaliação o tempo de imobilidade. Este é descrito como um indicador de desespero comportamental (Gutiérrez-Garcia e Contreras, 2009), parâmetro experimental associado à atividade depressiva. Observamos um aumento significativo no tempo de imobilidade do grupo CAC em relação ao grupo controle e entre CAC e CBC, demonstrando um fenótipo tipo-depressivo neste grupo experimental.

Levando em conta a hipótese de que a sinalização pelo glutamato pode ter um papel na disfunção comportamental da ansiedade, na parte neuroquímica do projeto, analisamos os níveis das subunidades GluN1, GluN2A e GluN2B do receptor NMDA no hipocampo dorsal e ventral de animais. Os dados obtidos no hipocampo ventral demonstraram um aumento significativo dos níveis de GluN1 em animais CBC e CAC em relação ao controle.

Em relação aos níveis da subunidade GluN2A, observamos uma diminuição significativa desta subunidade no hipocampo ventral nos animais CAC em relação aos animais controle e CBC. Por outro lado, a subunidade GluN2B, apresenta uma diminuição significativa nos animais CBC em relação aos animais controle e CAC.

No estudo neuroquímico, observamos no hipocampo ventral dos animais CAC um aumento da subunidade GluN1 e uma diminuição da subunidade GluN2A de receptores NMDA. No grupo CBC, observamos um aumento da subunidade GluN1 e uma diminuição da subunidade GluN2B de receptores NMDA. A razão entre as subunidades GluN2A e GluN2B, no hipocampo ventral, revelou um aumento nesta relação nos grupos CBC e uma diminuição no grupo CAC em relação ao grupo controle, indicando uma maior estabilidade sináptica no grupo CBC e menor do grupo CAC em relação ao controle.

Os receptores de adenosina estão intimamente ligados a liberação de neurotransmissores e a modulação de outras moléculas de sinalização envolvidas na plasticidade neuronal (Sebastião e Ribeiro, 2009), além estarem diretamente relacionados a várias desordens de ansiedade (Hohoff *et al.*, 2010; Huang *et al.*, 2014; Correa e Font, 2008). Analisamos então os níveis dos receptores A1 e A2A de adenosina, através da técnica de western blot, no hipocampo de ratos CBC, controle e CAC. Quanto ao conteúdo de A1, observamos uma diminuição deste receptor no grupo CAC e um aumento no grupo CBC em comparação ao grupo controle. Em relação ao receptor A2A de adenosina, detectamos uma diminuição significativa nos animais CBC em relação aos animais controle e CAC.

CONCLUSÕES:

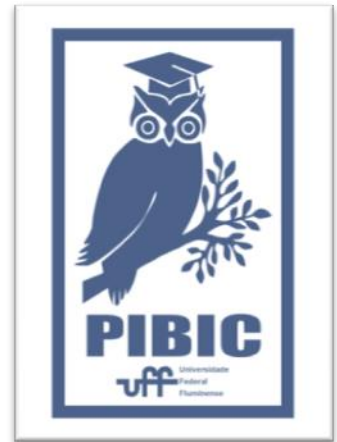
Em conjunto, estes dados confirmam que o grupo CAC apresenta um fenótipo tipo ansioso; e ainda apresenta prejuízo na memória de habituação. Observamos no hipocampo um aumento da subunidade GluN1 e uma diminuição da subunidade GluN2A de receptores NMDA.

Em contrapartida, o grupo CBC apresentou um fenótipo tipo menos ansioso, como pode ser visto na exploração mais ao centro no teste do campo aberto; com prejuízo na memória de habituação e hiperatividade (não podemos descartar sua influência nos resultados de ansiedade). Observamos no hipocampo um aumento da subunidade GluN1 e uma diminuição da subunidade GluN2B de receptores NMDA. Em relação aos receptores adenosinérgicos, os dados mostram que os animais CBC tem um aumento de conteúdo de receptores A1 e uma diminuição de A2a em relação aos demais grupos. Por outro lado, o animal CAC apresentou apenas uma diminuição do A1 em relação aos outros grupos

Em conjunto, estes dados apontam para a participação destes receptores nestes modelos animais com distintos fenótipos de ansiedade.

AGRADECIMENTOS:

Aos colaboradores externos Silvia Maissonetti e Professor Landeira da PUC-RJ por disponibilizar os animais fenotipados, a Dra Vanessa Gama pela coorientação deste projeto e as agências de fomento CNPq pelas bolsas (PIBIC e PQ2), CAPES (bolsa de doutorado), FAPERJ.





Ciências biológicas

MARCADORES DE ENTEROPATOGENICIDADE E PRODUÇÃO DE BIOFILME EM CEPAS DE *Escherichia coli* ISOLADAS DE AVES, ALIMENTOS E AMBIENTE.

Joana D'arck Alves do Carmo Caldas; Juliana Alves da Silva; Eduardo de Oliveira Bressan; André Victor Barbosa; Julia Peixoto de Albuquerque; Aloysio M. F. Cerqueira

MIP/Instituto Biomédico/Laboratório de Enteropatógenos, Microbiologia de alimentos e Veterinária

INTRODUÇÃO:

Cepas de *E.coli* associadas a aves em geral apresentam um perfil comensal não patogênico porém algumas podem apresentar características associadas a virulência extraintestinal (ExPEC) e/ou de resistência ou multirresistência a antimicrobianos, seja isoladas de animais saudáveis ou doentes. Tal fato confere a estas cepas uma importância como potenciais causadoras de doenças nos seres humanos, geralmente transmitidas através de alimentos.

Dados prévios obtidos no presente projeto demonstraram a ocorrência de cepas com este perfil provenientes de aves, alimentos (carne de aves) e ambiente (solo).

Além do comportamento comensal e patogênico extraintestinal, uma grande diversidade de cepas de *E.coli* apresenta um caráter enteropatogênico, sendo conhecidos ao menos seis patótipos

METODOLOGIA:

Foram estudadas 262 cepas de *E.coli* isoladas após o processamento de 181 amostras fecais de aves, 70 amostras de alimentos e 15 amostras de solo. Dentre este conjunto de cepas dois grupos

distintos. Dados recentes na literatura têm indicado a presença destas cepas em aves de criação e, ainda que de modo mais raro, a ocorrência de cepas expressando simultaneamente fatores de virulência associados a um perfil patogênico intestinal e extra intestinal.

A atividade adesiva destas cepas é relevante na sua capacidade de se associar e causar doenças em várias circunstâncias.

O objetivo deste trabalho foi avaliar de a ocorrência de marcadores genéticos dos patótipos intestinais STEC (*E.coli* produtora de Toxina Shiga) e EAEC (*E. coli* enteroagregativa) e a habilidade de formação de biofilme em cepas de *Escherichia coli* isoladas de aves, alimentos (carne crua de origem aviária) e ambiente (solo).

compunham cepas com perfil de virulência extraintestinal (57 cepas- grupo V) e 26 com perfil de multirresistência a antimicrobianos (26 cepas- grupo R).

Foram investigados através de ensaios de reação de polimerase em cadeia (PCR), marcadores de STEC (genes *stx1* e *stx2*) e EAEC (gene *aggR*). A atividade hemolítica foi investigada em placas de agar sangue lavado de carneiro

(para diferenciação da alfa hemolisina após 3 horas de incubação e enterohemolisina após 18-24h de incubação).

A formação de biofilme em superfície abiótica (poliestireno) foi avaliada

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

A investigação dos genes *stx1* e *stx2*, marcadores de STEC, e *aggR*, marcador de EAEC, foi realizada de modo individual nas cepas das cepas dos grupos de virulência e resistência, bem como no conjunto total das 262 cepas, através de ensaios com pools de 5 cepas por reação .

A grande maioria dos pools testados foi negativa para estes genes. Apenas um pool de cepas isoladas de alimentos foi positivo para o gene *stx1* do qual se isolou uma cepa positiva (AAM 7.2). Esta cepa, no entanto, não faz parte nem do grupo de V ou R.

Adicionalmente, não se detectou os marcadores investigados em nenhuma das cepas testadas dos grupos V e R.

A atividade hemolítica, investigada em 92 cepas sendo 67 destas isoladas de fezes, 24 de alimentos e uma de solo,

CONCLUSÃO:

A ocorrência de *E. coli* apresentando marcadores genéticos de STEC e EAEC, associado ou não a perfil de virulência extraintestinal ou multirresistência parece ser rara em cepas isoladas de aves. No entanto, o fenótipo associado a produção de enterohemolisina, detectado em diversas cepas sugere a circulação/presença de genes normalmente encontrados em cepas enteropatogênicas.

A produção de biofilme em poliestireno, relativamente frequente mas de baixa intensidade é apresentada por cepas de *E. coli* com perfil de virulência extraintestinal isoladas de aves e carne de aves.

AGRADECIMENTOS:FAPERJ, CNPq

em microplacas após crescimento bacteriano de 48h, posteriormente fixado, corado e mensurado indiretamente pela intensidade do corante retido quantificado por avaliação espectrofotométrica.

revelou fenótipo alfa-hemolítico em uma cepa isolada de alimento (1,1%) e perfil enterohemolítico em 27 cepas (29,3%) sendo 23 isoladas de fezes (34,3%), 4 isoladas de alimentos (16,7%) e uma isolada de solo. Nove das 27 cepas pertenciam ao grupo V (n=8) e R (n=1).

A cepa positiva para o gene *stx1* não demonstrou fenótipo enterohemolítico.

A produção de biofilme em poliestireno, foi caracterizada em 11 das 26 cepas do grupo V investigadas: 6 cepas isoladas de fezes (1 forte, 1 moderada e 4 fracas) e 5 cepas isoladas de alimentos (fraca).



Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas

Título do Projeto: Avaliação do efeito de uma lectina isolada taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott, tarina, na hipoplasia hematopoiética de camundongo induzida com ciclofosfamida.

Autores: Maria Paula Vigna Freire, Érika Bertozzi de Aquino Mattos, Lyris Annunciata Demétrio Merida, Patrícia Ribeiro Pereira, Vania Margaret Flosi Paschoalin, Maria de Fátima Brandão Pinho e Maurício Afonso Verícimo.

Departamento/Unidade/Laboratório: Departamento de Imunobiologia, Instituto de Biologia, Laboratório de Doenças Infecciosas e Granulomatosas.

INTRODUÇÃO: A imunossupressão é o ato de reduzir a atividade ou eficiência do sistema imunológico. Pode ser causada por uma doença imune ou, pelo contrário, ser intencional em um tratamento de uma doença autoimune ou usada para evitar rejeição de um transplante. Portanto, é importante a pesquisa por novas alternativas terapêuticas que auxiliem na recuperação da homeostasia do sistema hematopoiético. Atualmente as substâncias utilizadas para acelerar a recuperação hematopoiética apresentam, além de um elevado custo, efeitos colaterais indesejáveis. A procura por produtos alternativos tem se intensificado, sendo as plantas fonte importantes de produtos biologicamente ativos. O nosso grupo purificou uma lectina do taro ou inhame (*Colocasia esculenta*) de 12kDa, denominada tarina, e demonstramos sua atividade mitogênica sobre células esplênicas, da medula óssea onde atenua parcialmente os efeitos indesejáveis da ciclofosfamida, como a indução da hipoplasia medular e ação mutagênica de células hematopoiéticas. Os resultados foram bastante sugestivos que tarina poderia contribuir na recuperação de precursores das linhagens de células hematopoiéticas da medula óssea. Desta forma, seria de grande importância para aplicação da lectina do inhame na área médica como uma alternativa no tratamento de pacientes com imunodeficiência da medula óssea decorrente de condições patológicas e tratamentos terapêuticos. O objetivo geral deste projeto é estudar os efeitos da tarina na recuperação hematopoiética de camundongos imunossuprimidos com ciclofosfamida.

RESULTADOS E DISCUSSÕES: No presente estudo foi realizada análise das populações celulares da medula óssea obtida dos fêmures de camundongos através da citometria de fluxo. No julgamento dos parâmetros de tamanho

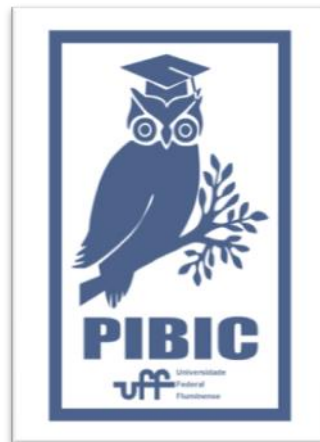
versus granulosidade, verificamos que os animais tratados com CY apresentaram um aumento na região correspondente a população de células mono/blásticas e diminuição na região de granulócitos e linfócitos, ao contrário daqueles que receberam a CY concomitante a tarina (CY+TAR). Na análise fenotípica verificou-se nestes animais uma drástica diminuição de células Ly6-C^{lo}Ly6-G^{hi}, marcadores de diferenciação da linhagem mielóide, de 25% para 0,72%, (controle e tratado com CY respectivamente). Os animais CY+TAR apresentaram maior frequência de progenitores mielóides Gr1^{int}c-kit^{lo}, correspondendo a 13% do total de células da medula óssea ao contrário daqueles que receberam apenas CY que corresponderam 8% da população total. Da mesma forma a frequência as células Gr1^{hi}c-kit nos animais CY+TAR foi cinco vezes maior naqueles imunossuprimidos não tratados com a lectina (8.5% e 1.5% das respectivamente). Por outro lado, ao analisar o ciclo celular, observamos que a associação de CY+TAR resultou em uma diminuição do número de células na fase G0 e o aumento de células em apoptose. Para determinar se as células da medula óssea dos camundongos imunossuprimidos tratados com tarina seriam capazes de proliferar *in vitro* em resposta a GM-CSF ou G-CSF, colônias e *clusters* foram contados em cultura de ágar após 7 dias. As culturas celulares obtidas de camundongos CY em que foram adicionadas a tarina no meio de cultura, exibiram um número maior de colônias e agrupamentos em comparação com as culturas celulares obtidas de animais os controles.

CONCLUSÕES: A administração da CY em camundongos reproduz os efeitos observados em pacientes sob quimioterapia, onde uma forte leucopenia é observada (Lustberg, 2012). Em

nosso estudo usamos o modelo de camundongos imunossuprimidos com ciclofosfamida (CY) e verificamos tanto *in vitro* quanto *in vivo* uma importante ação imunoestimuladora da tarina sobre células hematopoiéticas progenitoras. A tarina inoculada em camundongos imunossuprimidos por CY foi capaz de aumentar as células totais da medula óssea, como visto pelo nosso grupo, e alterar o perfil de distribuição das células da medula óssea. Portanto, esses achados confirmam as atividades de proliferação/diferenciação das células progenitoras. De fato, tanto os granulócitos como os seus progenitores das células da medula óssea estavam presentes com uma frequência superior à observada em animais imunossuprimidos não inoculados com tarina. Além disso, observou-se um aumento de células mono/blásticas, suportando a ação potencial da tarina na manutenção de células progenitoras hematopoiéticas. A tarina parece manter as células progenitoras e estimular a repopulação mais rápida de células Gr1^{hi} *in vivo*. Uma vez que o marcador Gr1 pode ser expresso em outros tipos de células, incluindo monócitos, macrófagos e células dendríticas (Ueha, 2011) o marcador da superfície celular Ly6-G foi avaliado. A presença de granulócitos maduros, Ly6-C^{lo}Ly6-G^{hi}, e de precursores granulocíticos, Ly6-C^{int}Ly6-G^{lo}, na medula óssea de camundongos imunossuprimidos com CY e tratados com tarina, reforça o potencial da tarina para estimular a diferenciação de células com células da linhagem granulocíticas. A proliferação de células da medula óssea em resposta ao GM-CSF e ao G-CSF em camundongos imunossuprimidos com CY e camundongos imunossuprimidos tratados com tarina, foi bastante similar em clusters e números de colônia no dia analisado. Considerando o maior efeito toxicológico do CY no dia 3 e o efeito da tarina nos granulócitos em diferentes estágios de desenvolvimento celular, é possível que os efeitos da inoculação de tarina possam ser evidenciados nos primeiros dias e/ou na composição do tipo celular presente nas colônias e clusters. O ciclo celular e a análise de apoptose de células BM de camundongos imunossuprimidos com CY tratados com tarina confirmaram a capacidade de estimular a proliferação celular. O elevado número de células em apoptose em camundongos imunossuprimidos com CY tratados com tarina

pode refletir a toxicidade para CY associada à estimulação com tarina. A CY poderia estar matando as células em processo de proliferação/diferenciação após o estímulo com a tarina. Assim, os dados sugerem que a tarina poderia promover uma repopulação mais rápida e a renovação das células mieloides em emergência. Em relação a isso, particularmente os neutrófilos desempenham um papel crucial no combate à infecção, assim, a tarina pode ser considerada como uma molécula imunoestimuladora candidata à recuperação do estado de imunossupressão. Uma vez que a tarina também apresenta efeitos proliferativos em células da medula óssea de animais imunossuprimidos, o uso desta molécula para evitar ou minimizar os efeitos colaterais da imunossupressão da quimioterapia foi considerado e cuidadosamente avaliado nos modelos murinos apresentados a seguir. Experimentos *in vivo* confirmaram que a inoculação de tarina atenuou os efeitos toxicológicos do CY, mantendo o número de leucócitos do sangue periférico mais alto do que em camundongos imunossuprimidos não tratados. Além disso, uma resposta proliferativa foi induzida em animais tratados apenas com tarina, evidenciada pelo aumento no número de leucócitos do sangue periférico, que atingiu o pico duas vezes após o segundo dia de tratamento com tarina. A administração de tarina também diminuiu o número de eritrócitos micronucleados *in vivo*, mas não preveniu ou atenuou a diminuição nos níveis de hematócrito em animais CY, indicando um efeito protetor nos progenitores eritróides, mas provavelmente não em sua diferenciação. Com base nos resultados obtidos, pode-se inferir que a administração de tarina em camundongos imunossuprimidos pode proteger progenitores hematopoiéticos, principalmente de linhagens granulocíticas, antecipando proliferação/diferenciação e consequente repovoamento da medula óssea e liberação de novos leucócitos para sangue periférico. Considerando que os quimioterápicos, incluindo a ciclofosfamida, podem causar linfadenomegalia e mielossupressão, e que mais de 10% dos pacientes se tornam suscetíveis a infecções, a tarina pode ser considerado como uma molécula adjuvante imunomoduladora promissora em regimes quimioterápicos.

AGRADECIMENTOS: Agradeço ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC) pela oportunidade de aprendizado e conhecimento. Aos meus orientadores Prof. Maurício Verícimo e Érika Bertozzi, por sempre me estimularem e por passarem seus conhecimentos, serei eternamente grata a eles principalmente por terem desenvolvido em mim o amor pela ciência e pesquisa.





Ciências Biológicas

AVALIAÇÃO FUNCIONAL DA NEUROTRANSMISSÃO COLINÉRGICA NO EPIDÍDIMO E SEU ENVOLVIMENTO COM SECREÇÃO EPIDIDIMAL E MATURAÇÃO DE ESPERMATOZOIDE DE RATOS

Corrêa TL (bolsista PIBIC)¹, Moreira TJ¹, Gontijo LS¹, Porto CS², Morales CR³, Maróstica E¹

¹ Laboratório de Farmacologia Experimental - Departamento de Fisiologia e Farmacologia (MFL)-Instituto Biomédico/UFF - Niterói, RJ. ² Departamento de Farmacologia; UNIFESP, SP, Brazil; ³ Department of Anatomy and Cell Biology, McGill University, Montreal, Canada.

INTRODUÇÃO:

Estudos anteriores do nosso laboratório demonstraram a expressão dos subtipos de receptores muscarínicos de acetilcolina M₁, M₂ e M₃ (mAChR) nos ductos eferentes (ED) e no epidídimo de ratos (Maróstica *et al.*, Life Sci 77:656, 2005; Siu *et al.*, Cell Tissue Res 323: 157, 2006). O subtipo M₃ está envolvido com a contração do músculo liso peritubular, mas as funções dos subtipos M₁ e M₂ ainda não foram esclarecidas. No trato reprodutor masculino os neurotransmissores autonômicos podem estar envolvidos com diversas funções, incluindo secreção de proteínas (Ricker *et al.*, J. Androl 17: 117, 1996). Considerando que o epidídimo de mamíferos desempenha um papel fundamental na maturação, no transporte, na proteção e no armazenamento de espermatozoides antes da ejaculação, bem como a relação da inervação autonômica com secreção de proteínas, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de agonistas e antagonistas muscarínicos sobre a secreção da Clusterina (CLU), uma proteína abundante no epidídimo e

importante para o processo de maturação dos espermatozoides.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Ratos Wistar machos adultos (240-260g) (CEUA/UFF 931/17) foram divididos em 6 grupos, que receberam 250µl de solução (i.v.), contendo: solução salina (grupo controle) - grupo **CO**; 0,04mg/kg⁻¹ de Carbacol (agonista muscarínico) - grupo **CA**; 1,8mg/kg⁻¹ de Atropina (antagonista muscarínico não seletivo), 30 minutos antes da administração de 0,04mg/kg⁻¹ de Carbacol - grupo **AT+CA**; 0,5mg/kg⁻¹ µg de Pirenzepina (antagonista muscarínico M₁-seletivo); 30 minutos antes da administração de 0,04mg/kg⁻¹ de Carbacol - grupo **PI+CA**; 0,5mg/kg⁻¹ de Metoctramina (antagonista muscarínico M₂-seletivo); 30 minutos antes da administração de 0,04mg/kg⁻¹ de Carbacol - grupo **ME+CA** ou 0,2 mg/kg⁻¹ (antagonista M₃-seletivo); 30 minutos antes da administração de 0,04mg/kg⁻¹ de Carbacol - grupo **DA+CA**. Duas horas após os tratamentos, os epidídimos foram retirados e dissecados. Os espermatozoides foram obtidos da cauda epididimal para a

avaliação espermática (motilidade total, motilidade progressiva, vigor, integridade e funcionalidade de membrana). Homogenatos do epidídimo foram preparados para ensaios de *western blotting*, bem como os epidídimos também foram fixados em formaldeído 4% para inclusão em parafina e ensaios imuno-histoquímicos. Os estudos de *western blotting* foram realizados com anticorpo primário monoclonal anti-CLU α (1:500) e secundário IgG anti-camundongo (1:3000) conjugado com peroxidase. Os estudos imuno-histoquímicos foram realizados com anticorpo primário anti-CLU α (1:100) e secundário anti-IgG de camundongo (1:250) conjugados com peroxidase. Os valores são expressos como média \pm EPM; ANOVA, Neuman-Keuls, $P < 0,05$. Na cabeça epididimal, o tratamento com agonista colinérgico, na ausência ou na presença de antagonistas muscarínicos, não alterou a expressão proteica da CLU nos diferentes grupos experimentais, quando comparados com os animais do grupo controle. Por outro lado, o bloqueio dos receptores M₁ com pirenzepina aumentou consideravelmente, a expressão desta proteína na região da cauda epididimal, tanto quando comparado ao grupo controle, como ao grupo que recebeu o carbacol, mas não foi diferente dos outros antagonistas. Nossos resultados da imunomarcção para CLU no grupo controle foram semelhantes ao padrão de marcação da literatura (Hermo *et al.*, J Androl 21: 122, 2000), Este padrão também não foi alterado com os diferentes tratamentos na região da região da cabeça, mas a diferença quantitativa na expressão da proteína vista nos ensaios de

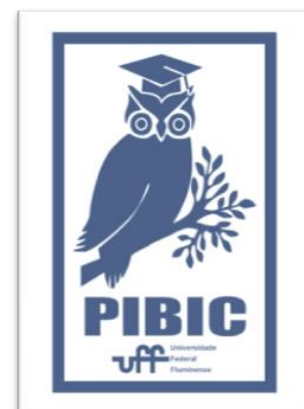
western blot foi evidente na região da cauda proximal, particularmente nos grupos PI+CA e ME+CA. Com relação à avaliação espermática, os parâmetros avaliados também não foram alterados com nenhum tratamento, quando comparados com os animais do grupo controle.

CONCLUSÕES:

Nossos resultados mostraram que o bloqueio de receptores muscarínicos aumenta a expressão da CLU na cauda proximal de ratos, e este efeito é mediado pelos subtipos M₁ e M₂, sugerindo que fisiologicamente a acetilcolina possa ter um papel na modulação de processos secretórios e/ou regulação da expressão de proteínas neste tecido. No entanto, a funcionalidade e integridade da membrana do gameta masculino parece não ser afetada pela ativação ou bloqueio dos receptores muscarínicos.

Agradecimentos:

Agradecemos o apoio financeiro do CNPq, CAPES, FAPESP e PROPPi/UFF.





Ciências Biológicas

Investigação dos mecanismos moleculares para caracterização da canela como um novo mimético da restrição calórica

Roberta da Fonseca Coutinho Pontes (bolsista PIBIC)

Lia Rafaella Ballard Kuhnert (doutoranda, PPBI)

Jessika Geisebel Neto (doutoranda, PPCB)

Karen de Jesus Oliveira (orientadora)

Projeto desenvolvido no Laboratório de Fisiologia Endócrina e Metabologia, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Instituto Biomédico, UFF

INTRODUÇÃO:

A restrição calórica (RC) vem sendo estudada e implicada como uma das estratégias para o retardamento ou prevenção de danos causados pelo envelhecimento celular em diferentes órgãos e tecidos. Conhecendo os benefícios da RC, tem-se buscado alimentos que possam mimetizar os benefícios da RC sem a necessidade de redução da ingestão alimentar. Sabe-se que a canela (*Cinnamomum verum*) atua no metabolismo da glicose, na redução da gordura corporal, no perfil lipídico e no estresse oxidativo em humanos e modelos experimentais de obesidade e diabetes. Portanto, buscamos investigar se a canela em pó poderia atuar mimetizando os mecanismos moleculares e os benefícios da RC, com foco nas adaptações promovidas no tecido adiposo.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Durante a experimentação, que durou 6 semanas, os animais foram divididos em 4 grupos (8 animais por grupo), e organizados de forma a conter 4 animais por gaiola. A ingestão alimentar e o peso corporal foram avaliados diariamente durante o tratamento. Os grupos foram ordenados de acordo com as dietas ofertadas, da seguinte forma: Controle (CT) que recebeu ração comercial *ad libitum* (AL); Restrição Calórica (RC) que recebeu ração comercial com oferta limitada a 70% da ingestão do grupo CT; Canela (CNL) que recebeu ração comercial *ad libitum* e suplementação diária

através de gavagem de 50 mg de canela em pó (*Cinnamomum verum*) por kg de peso corporal em suspensão com 1% de metilcelulose (Sigma-Aldrich); e Restrição Calórica + Canela (RCNL) que recebeu ração comercial com oferta limitada a 70% da ingestão do grupo CT, e suplementação diária através de gavagem de 50 mg de canela em pó por kg de peso corporal em suspensão com 1% de metilcelulose.

Após o tratamento, os animais foram sacrificados e tiveram tecidos coletados, pesados e armazenados para as posteriores análises. A massa do tecido adiposo branco dos compartimentos epididimal e perigonadal foram utilizados para avaliação da adiposidade visceral dos animais. Foram feitas análises histológicas (hematoxilina e eosina) do tecido adiposo marrom e do tecido adiposo branco, onde 250 adipócitos/animal foram avaliados para as medidas de sua área e diâmetro. Além disso, foram feitas análises das concentrações séricas de glicose (glicosímetro portátil), colesterol e triglicerídeo (kits colorimétricos comerciais).

Considerando as análises realizadas, o resultado da avaliação do padrão de ingestão alimentar acumulada mostra que não houve diferença significativa entre os animais dos grupos *ad libitum* (CT: 1050 ± 1,601g; CNL: 1021 ± 2,69g) e entre os animais dos grupos de RC (RC: 737,5 ± 3,171g; RCNL: 740,3 ±

3,013g). Avaliamos o peso corporal dos animais através do cálculo do delta, onde diminuimos o peso no dia do sacrifício pelo peso do início dos experimentos e observamos uma diminuição significativamente nos grupos RC (RC: $-13,00 \pm 9,21$ e RCNL: $-16,57 \pm 4,69$) em comparação com ambos os grupos AL (CT: $53,88 \pm 6,89$; CNL: $45,29 \pm 4,10$). Não observamos diferenças significativas em relação ao perfil lipídico (colesterol e triglicérideo séricos), glicemia e a massa do tecido adiposo marrom. Em relação à massa do tecido adiposo branco, os animais do grupo RCNL apresentaram redução quando comparado ao grupo CNL (RCNL vs CNL, $p = 0,0111$) e quando avaliamos a histologia deste tecido, observamos da mesma forma uma diminuição no diâmetro dos adipócitos do grupo RCNL, quando comparado aos demais grupos (vs CT, $p=0,0002$; vs RC, $p=0,0019$; vs CNL, $p<0,0001$). Quando analisada a porcentagem da área ocupada por gotículas lipídicas através da histologia do tecido adiposo marrom, foram observadas diferenças significativas dos dois grupos de RC em relação ao grupo CT, apresentando ambos os grupos $p<0,0001$, e entre o grupo CNL e os de RC (vs RC, $p=0,0038$; vs RCNL, $p=0,0002$).

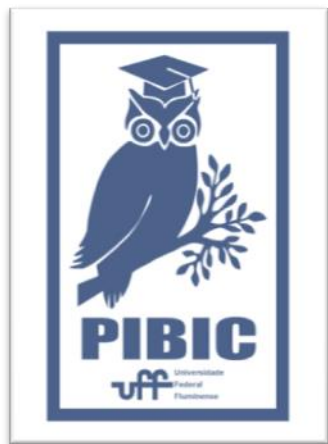
CONCLUSÕES:

Portanto, de acordo com os dados já obtidos até o presente momento, identificamos que a canela é um potencializador de benefícios da restrição calórica, por aumentar a redução da adiposidade induzida pela RC.

Agradecimentos:

FAPERJ, CNPq, PROPPI





Grande área do conhecimento: CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Título do Projeto: “ESTUDO DE LESÕES CUTÂNEAS INDUZIDAS PELO VENENO DE *BOTHROPS LEUCURUS* E TRATAMENTO COM HEPARINA”

Autores: LUIZ PAULO SOUZA RIOS (IC), RAFAELA GOMES, PAULA ALVARENGA BORGES e SABRINA CALIL-ELIAS

Departamento/Unidade/Laboratório: MAF/UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE/ LABORATÓRIO DE FARMACOLOGIA DA FACULDADE DE FARMÁCIA

INTRODUÇÃO:

Os acidentes ofídicos configuram um sério problema de saúde pública nos países tropicais. Somente no Brasil, em 2017, dos acidentes ofídicos notificados, cerca de 70 % foram ocasionadas por serpentes do gênero *Bothrops*. A serpente *B. leucurus* usualmente conhecida como “jararaca do rabo-branco”, é encontrada da região Sudeste até o Nordeste brasileiro, sendo o principal responsável pelos acidentes ofídicos na região Nordeste. O objetivo deste trabalho é avaliar a ação da heparina em antagonizar as alterações induzidas pelo veneno de *Bothrops leucurus* na pele de camundongos. O projeto foi aprovado pelo CEUA/UFF.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Um dia após a injeção intradérmica de solução fisiológica salina foi possível observar a pele com características normais. Por outro lado, 24 após a injeção de veneno verificou-se completa desorganização das camadas da pele com intenso infiltrado inflamatório. O tratamento com heparina não foi possível antagonizar o efeito do veneno.

Na análise dos grupos de três dias após a lesão, observou-se que a injeção de solução salina não promoveu alteração no tecido cutâneo. No grupo que recebeu a injeção de veneno a espessura da epiderme adjacente a área da lesão aumentou e no local da lesão havia necrose do tecido com intenso infiltrado inflamatório e pontos hemorrágicos. O tratamento com heparina

aparentemente foi efetivo em relação à ação do veneno, visto que não se observa a mesma intensidade de infiltrado inflamatório e vasos congestos como observado no grupo do veneno. Além disso, é possível identificar também sinais de cicatrização cutânea.

A avaliação da pele 7 dias após a injeção observou-se que os animais do grupo controle continuaram sem alteração morfológica. Entretanto, no grupo que recebeu apenas a injeção do veneno ainda é possível identificar intenso infiltrado inflamatório, na derme. Nos animais que receberam tratamento com heparina observa-se menor infiltrado inflamatório quando comparado ao grupo que recebeu apenas veneno. A derme se apresenta mais organizada se aproximando a estrutura do controle.

CONCLUSÕES:

O veneno de *B. leucurus* induz lesão cutânea caracterizada por intensa atividade inflamatória e proliferação celular, necrose, hemorragia e vasos congestos, e que o tratamento com heparina pode ser de fato eficaz, pois está evidente a diminuição do processo inflamatório e da intensa proliferação celular. No entanto, seria necessária uma continuidade com o experimento em questão, para estabelecer melhor panorama em relação aos efeitos da heparina.



Área do Conhecimento: Ciências Biológicas

Papel dos Endocanabinoides no Desenvolvimento da Retina

Karin da Costa Calaza e Victória Porto Caruso

Laboratório de Neurobiologia da Retina – Departamento de Neurobiologia – Instituto de Biologia da UFF

INTRODUÇÃO: O Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC) e o canabidiol (CBD), encontrados na *Cannabis sativa*, atuam em receptores específicos do sistema endocanabinoide, sendo os principais os receptores canabinoides tipo 1 e tipo 2 (CB1 e CB2, respectivamente). Eles são estimulados, em condições fisiológicas normais, por dois principais ligantes endógenos: N-araquidonoil etanolamina (anandamida ou AEA) e 2-araquidonoilglicerol (2-AG). O nível celular destes ligantes é regulado por diversas enzimas, especialmente a monoacilglicerol lipase (MAGL), hidrolase de amida de ácidos graxos (FAAH) e a ciclooxigenase-2 (COX-2). Este sistema exerce um importante papel na regulação da neurotransmissão no sistema nervoso central (SNC). Como a retina possui a mesma origem embriológica do SNC, ela possui propriedades similares ao mesmo, sugerindo que os endocanabinoides possuem ação no processamento visual, precocemente e tardiamente. Há evidências da presença do sistema endocanabinoide durante o desenvolvimento neural. O envolvimento deste sistema na regulação da plasticidade neural, por exemplo, reside em sua função neuromodulatória, já que o receptor CB1 exerce um amplo papel regulatório em diversos tipos de sinapses. Além disso, a sinalização por endocanabinoides está envolvida em processos neurogênicos (proliferação neuronal, diferenciação e maturação) e na manutenção e sobrevivência de células neurais diferenciadas. No caso das retinas de embriões de galinha, a presença do sistema endocanabinoide já foi descrita desde o quinto dia embrionário (E5) e continua com uma alta expressão até o dia pós-natal 7 (P7), com uma diminuição da expressão ao longo do desenvolvimento. Ele está localizado, predominantemente, nas células ganglionares e amácrinas da retina, além das células de Muller. Um estudo recente avaliou se o agonista de receptores canabinoides CB1 e CB2 WIN modulava a proliferação, viabilidade, e

respostas relacionadas ao íon cálcio em progenitores retiniais de embriões de galinha. Foi visto que este agonista, assim como os inibidores enzimáticos URB 602 e URB 597, diminuam a incorporação de timidina, detectada pela administração de timidina tritiada ($[^3\text{H}]$ -timidina). Além disso, o WIN também reduziu o número de células positivas para antígeno nuclear de proliferação celular (PCNA), sugerindo que a ativação dos receptores CB1 e CB2 inibe a proliferação de progenitores retinianos *in vitro*. Os efeitos do URB 602 são mais notórios do que os do URB 597, sugerindo que, neste caso, o endocanabinoide 2-AG possui uma influência maior nas culturas de progenitores retinianos de embriões de galinha. A morte celular foi independente de TRPV ou GPR55, que também fazem parte do sistema endocanabinoides, mas é bloqueada pelo inibidor de receptor P2X7.

Portanto, há evidências de que o sistema endocanabinoide está presente nas células da retina, e modula o desenvolvimento da mesma, podendo ser deletério caso esteja em concentrações acima das fisiologicamente encontradas. Neste estudo, visa-se compreender a atuação e os efeitos causados por este sistema em diferentes períodos do desenvolvimento e ampliar para a avaliação do seu papel na neuritogênese e na sinaptogênese das células da retina, para a compreensão da influência deste sistema especificamente durante os processos citados.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Sabendo que o tratamento com URB597 e 602 em culturas de E7C2 há morte celular e com o objetivo de estabelecer um protocolo de cultura para avaliar o papel dos endocanabinoides em neuritogênese/sinaptogênese, investigamos os efeitos dessas drogas em diferentes períodos de maturação da retina e da cultura. Inicialmente, URB 602 (50 μM) foi administrado em culturas

de células de embrião de 8 dias cultivados por 4 dias (C4), sendo o tratamento em C1. Nesse período e nesta concentração, URB 602 (50 μ M) foi devastadoramente tóxica não sobrando célula para contagem. Uma concentração menor de URB 602 (10 μ M), também apresentou efeito claramente deletério. Uma análise qualitativa dos experimentos realizados com URB 597, em todas as concentrações (0,01 μ M, 0,1 μ M e 1 μ M), não demonstraram mudanças em relação ao grupo controle.

Com as primeiras culturas feitas com embriões E8, foram realizados três ensaios de MTT com resultados conclusivos: neles, foi observado que os grupos que receberam URB 602 nas concentrações de 50 μ M e 100 μ M apresentaram uma menor absorvância do MTT em relação ao grupo controle, indicando que mais células sofreram morte celular com este tratamento. Os demais grupos não apresentaram alterações significativas em relação ao grupo controle.

Realizamos ensaios de MTT com culturas de embriões E8, mas com o tratamento feito em uma cultura mais avançada, ou seja, no terceiro dia de cultura. Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos controle e os grupos tratados, sugerindo que o efeito de morte celular causado pela inibição da MAGL e da FAAH depende do estágio de desenvolvimento da retina, desaparecendo em estágios mais maduros.

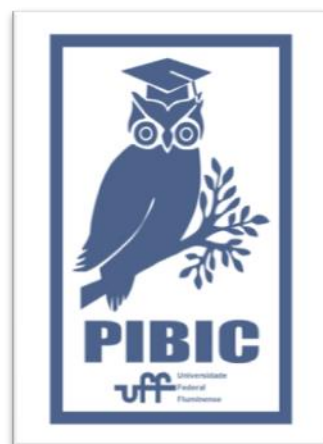
Assim, pretendemos avaliar a neuritogênese e a formação de sinapses excitatórias nesse período no qual o aumento da disponibilidade de endocanabinoides não induz morte celular, procurando compreender, desta forma, o papel dos endocanabinoides na neuritogênese e sinaptogênese da retina e, assim, contribuir para a elucidação da função destes compostos no desenvolvimento da retina.

CONCLUSÕES:

Diante dos resultados apresentados, é possível propor que, o uso de inibidores das enzimas MAGL e FAAH do sistema endocanabinoide (respectivamente, URB 602 e URB 597) não causa morte celular em culturas de células embrionárias de 8 dias, quando tratadas tardiamente. No entanto, com as mesmas células, o tratamento precoce com as mesmas substâncias provocou morte celular no caso do URB 602, enquanto o URB 597 não possuiu efeito.

Agradecimentos:

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), CNPq/PIBIC, Proppi/UFF, Fundação de Amparo a Pesquisa do Rio de Janeiro.





Ciências Biológicas

Prevalência de *Cryptosporidium* spp em Animais da Classe Reptilia (Testudines) oriundos do Zoológico do Rio de Janeiro – RioZoo

Marianne Suarez e Beatriz Brener

Laboratório de Diagnóstico Coproparasitológico/ Departamento de Microbiologia e Parasitologia/ Instituto Biomédico

INTRODUÇÃO:

A Classe Reptilia possui cerca de 6000 espécies, divididos em 2 Subclasses e 4 Ordens. A Subclasse Anapsida engloba a Ordem Testudines, representada por cágados, tartarugas e jabutis. Existem cerca de 650 espécies de répteis naturalmente ocorrentes no Brasil, destes, 35 são Testudines. Existem diversos relatos de parasitismo em répteis, por várias espécies de parasitos de diferentes grupos, como artrópodes, helmintos e protozoários. A criptosporidiose é uma coccidiose causada pelo protozoário do gênero *Cryptosporidium* e acomete diversos hospedeiros, incluindo mamíferos, aves, répteis, anfíbios e peixes. Os protozoários habitam as células epiteliais dos tratos gastrointestinal, respiratório e urinário dos animais, sendo o oocisto a estrutura de resistência encontrada no ambiente. A criptosporidiose é uma doença relativamente comum em répteis, geralmente de curso crônico, e pode se manifestar de duas maneiras: de caráter clínico, ocasionando gastrite, enterite e gastroenterite, ou de caráter subclínico, no qual o animal infectado representa importante papel como carreador de oocistos para o ambiente. As espécies responsáveis pela infecção nessa Classe são *C. serpentis* e *C. varanii* e recentemente foi descrita uma nova espécie, *C. ducismarci*, associada à doença intestinal e responsável por

um surto de diarreia em um grupo de testudíneos de cativeiro. Não há um fármaco comprovadamente eficaz no tratamento da criptosporidiose, portanto, o manejo ambiental é uma das medidas mais importantes para a profilaxia da doença. Em novembro de 2018, amostras de lavagem cloacal de 40 testudíneos foram coletadas, sendo de 32 cágados e 8 jabutis, oriundos do Zoológico do Rio de Janeiro. As amostras foram analisadas através do ensaio imunoenzimático (ELISA) no laboratório de Imunodiagnóstico da FIOCRUZ.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Uma das amostras (2,5%) apresentou-se positiva ao exame imunológico, indicando a presença de antígeno de *Cryptosporidium* spp em um cágado-amarelo, de dois desta espécie analisados. Esse resultado representa o primeiro registro do protozoário em cágados no Brasil. Há relatos deste parasitismo em outras espécies de testudíneos na Itália e na Alemanha.

O kit utilizado para detecção de antígenos de *Cryptosporidium* foi inicialmente formulado para detecção de espécies que infectam humanos. Assim, há possibilidade de ocorrência de falsos negativos nos resultados encontrados. Além disso, existe a possibilidade de falsos positivos, devido à carreação mecânica de oocistos

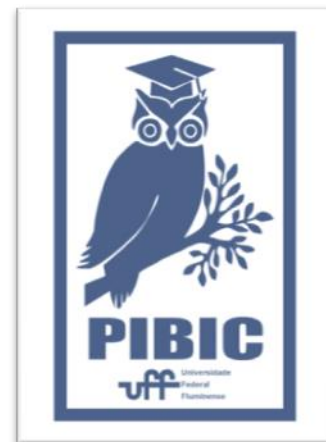
presentes nos alimentos oferecidos a estes animais. Portanto, estudos através da biologia molecular e detecção do protozoário a nível de espécie são necessários para confirmação da doença.

CONCLUSÕES:

Apesar dos vários relatos do parasitismo por *Cryptosporidium* nas espécies de répteis, ainda há uma carência de informações quanto à epidemiologia da infecção em animais de vida livre e cativo. No ambiente cativo fatores como manutenção e transmissão da protozoose ainda precisam ser mais claramente elucidados, sendo necessária a realização de estudos com os hospedeiros e os recintos onde habitam, já que o cativo favorece a infecção e aparecimento de sinais clínicos. Assim, a pesquisa da criptosporidiose em répteis de cativo poderá contribuir para dados epidemiológicos da infecção e uma intervenção terapêutica e profilática precoce com maiores chances de sucesso no controle da enfermidade e recuperação dos animais infectados.

Agradecimentos:

À Universidade Federal Fluminense e, em especial, à orientadora Dr^a Beatriz Brener pelo apoio e ensinamentos de grande importância no projeto. Aos funcionários, biólogos e médicos veterinários do Zoológico do Rio de Janeiro (RioZoo) pela participação e ajuda nas atividades e coletas. À Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ-RJ) e a Dr^a Fernanda Santos pela realização dos exames imunológicos.





Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas

Título do Projeto: Como anda a situação vacinal e o conhecimento sobre infecções imunopreveníveis entre alunos de Cursos de Graduação da área da saúde?

Autores: Vitória Carvalho Guimarães dos Santos, Caio H. da Silva Teixeira, Paulo R.T. Silva, Sandra Fonseca, Gina Peres L. dos Santos, Sílvia M. Baeta Cavalcanti, Cláudia Lamarca Vitral

Departamento de Microbiologia e Parasitologia/Instituto Biomédico/Laboratório de Virologia e Instituto de Saúde Coletiva, Universidade Federal Fluminense

INTRODUÇÃO:

A imunização continua sendo uma das intervenções de maior êxito na saúde pública para o controle de doenças infecciosas. Profissionais da saúde (PS) têm risco aumentado para doenças imunopreveníveis conforme sua suscetibilidade, podendo também atuar como transmissores de patógenos no ambiente de trabalho, constituindo um grupo de risco importante para imunização. Este estudo teve como objetivo avaliar a situação vacinal e o conhecimento sobre infecções imunopreveníveis entre alunos dos dois primeiros anos dos cursos de graduação da área da saúde da UFF. Participaram do estudo 333 universitários, com idade de 18 a 48 anos (média $21,2 \pm 2,4$), 76,1% do sexo feminino, sendo 91 alunos do curso de Medicina, 31 de Biomedicina, 78 de Enfermagem, 63 de Farmácia, 14 de Odontologia, 24 de Medicina Veterinária e 32 de Biologia. O convite a participação foi realizado em sala de aula, onde os alunos inicialmente responderam a um questionário com questões relativas às formas de transmissão e as doenças causadas pelos agentes infecciosos relacionados às vacinas investigadas. Em seguida, de posse da carteira de vacinação, as seguintes vacinas foram analisadas: dupla bacteriana, hepatite B, tríplice viral, influenza, hepatite A, varicela, meningocócica C, pólio e febre amarela. Ao final da entrevista, todos os participantes receberam uma carteira de vacinação do adulto com as vacinas

necessárias assinaladas de acordo com as recomendações do Ministério da Saúde e da SBI para 2019. Os dados foram armazenados em banco de dados e analisados com auxílio do programa SPSS 23[®]. Para verificar a associação entre a variável dependente, a vacinação em dia e as demais variáveis independentes, foi realizado o teste do qui-quadrado e estimada a razão de prevalência, por regressão multivariada, para medir a magnitude da associação dos fatores estudados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Apenas uma pequena parcela dos alunos afirmou que sua carteira de vacinação já tinha sido solicitada em algum momento da graduação (30,9%), enquanto que 65,2% dos alunos informaram já terem sido orientados anteriormente sobre a necessidade de vacinação. Somente 131 alunos (39,3%) afirmaram estar com a carteira em dia. Entretanto, a avaliação dos cartões evidenciou que na verdade os alunos não sabem verificar se a carteira vacinal está em dia, uma vez que apenas 7/131 (2,1%) estavam com a carteira realmente em dia. Não estar com a vacinação em dia ao entrar na universidade torna o aluno susceptível a desenvolver doenças por agentes infecciosos imunopreveníveis, uma vez que vários destes alunos desenvolvem atividades práticas diversas que os colocam sob risco aumentado de infecções, quer seja pelo contato

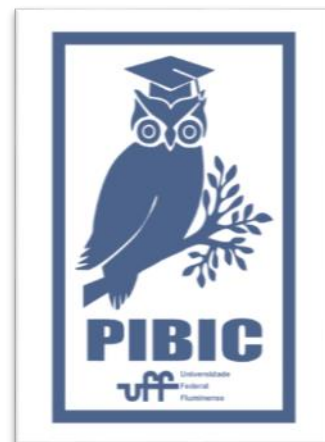
com pacientes em Unidades de Saúde, como também pelo envolvimento em projetos em Laboratórios de Pesquisa. Além disso, somente 23,4% dos alunos souberam informar todas as vacinas indicadas para o PS. Lacunas importantes de conhecimento foram também observadas em relação ao esquema das vacinas de hepatite B e tríplice viral, assim como as vias de transmissão de algumas doenças infecciosas, como hepatite B, sarampo, rubéola e difteria. Os alunos participantes tinham em média 21 anos, portanto nascidos depois da introdução de uma série de vacinas no Programa Nacional de Imunização. De fato, apenas uma minoria referiu história de sarampo (3,6%), hepatite B (0,3%), rubéola (2,1%) e caxumba (5,1%). As vacinas contra varicela e hepatite A entraram mais recentemente no PNI e, no caso da varicela, esta continua sendo uma doença bastante prevalente na infância, relatada por 64% dos participantes. Foi preocupante observar que apenas sete alunos (2,1%) apresentaram a situação vacinal em dia. Considerando-se as vacinas disponíveis no SUS esse percentual aumenta para 26,1%, mas ainda continua sendo muito baixo. A análise por curso de graduação evidenciou que não houve diferença significativa para o status vacinal em dia, considerando todas as vacinas.

Apoio financeiro: CNPq, Proex

CONCLUSÕES:

Acreditamos que é responsabilidade da Instituição de Ensino Superior (IES) informar aos alunos sobre a vacinação logo após o seu ingresso, assim como dos riscos a que estarão expostos por falta ou recusa em imunizar-se. Em nossas ações, temos como objetivo principal orientar os alunos participantes a respeito da importância de manter a carteira de vacinação em dia, expondo os riscos da negligência vacinal para um profissional da área da saúde. Ao promover esse conhecimento no âmbito acadêmico, esperamos que os alunos possam também difundir tal conhecimento em outros locais.

Agradecimentos:





Ciências Biológicas

Entomologia de Parasitos e Vetores

Green insecticide against Chagas disease: effects of essential oil from *Myrciaria floribunda* (Myrtaceae) on the development of *Rhodnius prolixus* nymphs

Jairo Salas Enríquez (IC)^{1*}, Aixa Navarro(IC)¹, Marcelo S. Guerra (PQ)³, Cicero B. M. Neto (PQ)¹, Leandro Rocha (PQ)², Denise Feder (PQ)¹ and Marcelo S. Gonzalez (OR)¹

Email: jairo.saen@outlook.com

¹Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal Fluminense, Morro do Valonguinho S/N0, CEP 24001-970 Niterói, RJ, Brasil.

²Laboratório de Tecnologia de Produtos Naturais, Departamento de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal Fluminense, Rua Mário Viana 523, Santa Rosa, CEP 24241-000, Niterói, RJ, Brasil.

³Departamento de Ciências, Faculdade de Formação de Professores, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rua Dr. Francisco Portela, 24435-000, São Gonçalo, RJ, Brasil.

INTRODUCTION:

The main strategy of interrupting *Trypanosoma cruzi* transmission is to control the vector populations. Studies of new agents with activity against these vectors have a priority interest. This study evaluated the insecticidal activity of the essential oil of *Myrciaria floribunda* against nymphs of *R. prolixus*. *M. floribunda* was collected in Jurubatiba Sandbank (southeastern Brazil). Leaves were extracted by hydrodistillation and the essential oil analyzed by mass spectrometry and flame ionization gas chromatography. The pure essential oil at various dilutions or purified 1,8-cineole was topically applied to *R. prolixus*. Sesquiterpenes were the main group detected followed by monoterpenes. *M. floribunda* essential oil, but not 1,8-cineole, significantly increased mortality and disrupted metamorphosis. Overaged nymphs and juvenoid-like insects were also observed. Our data indicate the special metabolites in the essential oil of *M.*

floribunda as promising candidates for studying insecticidal activity and for use as environmentally friendly control compounds to Chagas disease vectors.

RESULTS AND DISCUSSION:

Due to the deforestation that resulted in decreases in wild animal host numbers, wild triatomines encroached upon human peridomestic and domestic areas primarily for their feeding needs. In addition, although the development of vector control strategies resulted in a dramatic reduction in new vector-borne cases in endemic countries, re-infestation of vacated niches in insecticide-treated houses by sylvatic triatomine populations has occurred in Bolivia, Colombia, and Venezuela, as well as new outbreaks in different areas of Brazil, Colombia and Venezuela. Herein, GC/MS and CG/FID identified thirty-four substances. Sesquiterpenes were the main group detected (70%), followed by

monoterpenes (19.2%), in the essential oil from leaves of *M. floribunda*, but 1,8-cineole (10.4%) was also the major single constituent found in the essential oil. Moreover, rapid action of essential oils or its constituents against insect pests is an indicative of neurotoxic actions. Thus, the disruption of more than one phase of the insect life cycle makes essential plant oils more effective, with low potential to develop insect resistance and to cause impacts on either non-targeted organisms or the environment.

CONCLUSIONS:

In conclusion, this is the first time that the insecticidal activity against the hematophagous triatomine, *Rhodnius prolixus*, has been reported for the species *M. floribunda*. The present results on the various effects of the essential oil from leaves of *M. floribunda* on the development of fifth-instar nymphs of *Rhodnius prolixus* indicate that this oil is a promising candidate to provide an environmentally friendly control method for Chagas disease vector populations. Furthermore, to our knowledge, this is the first time that the insecticidal activity against this hematophagous triatomine, *R. prolixus*, has been reported for extracts of *M. floribunda*.

Agradecimentos:

FAPERJ/ CNPq/ PROPPI (UFF)

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

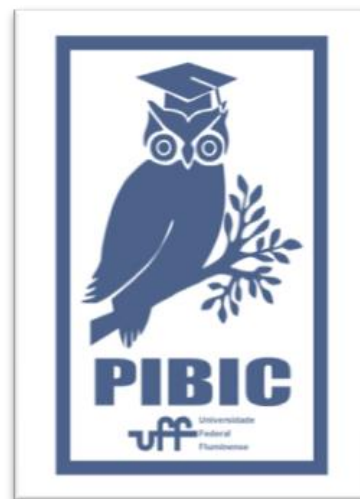
1- Viegas Júnior, C. 2003. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. *Quím. Nova* 26 (3): 390-400. 2-Ezeonu F.C.; Chidume, G.I.; Udedi, S.C. 2001. Insecticidal properties of volatile extracts of orange peels. *Bioresource Technology* 76: 273-274.

2- Mello CB, Mendonça-Lopes, D, Feder D, Uzeda CD, Carneiro RM, Rocha MA, Gonzalez MS. Laboratory Evaluation of the Effects of Triflumuron on the Development

of *Rhodnius Prolixus* Nymph. 2008. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, Vol. 103(7): 839-842.

3- Mello CB, Uzeda CD, Bernardini MV, MendonçaLopes D, Kelecom A, Fevereiro PCA, Santos MG, Oliveira AP, Rocha LM, Gonzalez MS. 2007. Effects of the essential oil obtained from *Pilocarpus spicatus* Saint-Hilaire (Rutaceae) on the development of *Rhodnius prolixus* nymphae. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 17(4): 514-520.

4- Armitage P, Berry G, Matthews JNS. 2002. Comparison of several groups and experimental design. In P Armitage, *Statistical Methods in Medical Research* (4rd edition), Blackwell, Oxford, p. 208-256.





Ciências Biológicas

ESTUDO DO METABOLISMO DA GLICOSE NO ESTRIADO DE MODELO MURINO DA DOENÇA DE PARKINSON

Lucas Tadeu de Andrade Almeida¹, Maria Virginia Ruiz Villegas¹, Livia de Sá Hayashide¹, Wagner Seixas da Silva², Manuel Gustavo Leitão Ribeiro¹

¹Departamento de Biologia Celular e Molecular / Instituto de Biologia / Laboratório de Bioquímica das Interações

²Instituto de Bioquímica Médica, UFRJ

INTRODUÇÃO: A doença de Parkinson (DP) é a segunda maior doença neurodegenerativa do mundo e sua principal característica é a perda de neurônios dopaminérgicos. Até o momento, não existe cura, apenas tratamento sintomatológico. Ainda não se sabe exatamente o que desencadeia a DP e um diagnóstico precoce é algo que pode melhorar muito a vida dos pacientes. Traços marcantes da patologia são: disfunções mitocondriais e estresse oxidativo com a consequente geração de espécies reativas de oxigênio (ROS). Existem diversas evidências de que o metabolismo da glicose está alterado em pacientes com DP, incluindo deficiências nas enzimas da via das pentoses-fosfato e redução nos níveis de glutathiona (GSH), e que isto pode ocorrer antes do aparecimento dos sintomas motores. A compreensão desta alteração e suas causas pode auxiliar no desenvolvimento de um diagnóstico antecipado. A fim de reproduzir em laboratório essa doença, um dos modelos animais mais estudados é obtido provocando-se a morte de neurônios dopaminérgicos com a injeção estriatal da neurotoxina 6-hidroxi-dopamina (6-OHDA). Neste modelo, os estágios da DP são mimetizados e pode-se estudar as alterações progressivas que ocorrem no tecido ao longo de algumas semanas. Neste projeto, o tratamento com 6-OHDA foi realizado no estriado esquerdo de camundongos C57Bl6 adultos e o estriado contralateral será utilizado como controle interno, além de serem utilizados também animais SHAM (em que a cirurgia é realizada mas não há injeção da droga). Sabendo que o stress oxidativo desempenha um papel importante na patogenia da DP e que a Hexocinase (HK; enzima responsável pela fosforilação da glicose ao entrar na célula,

produzindo glicose-6-fosfato) está envolvida na proteção neuronal contra o estresse oxidativo, nosso objetivo foi investigar a atividade da HK em frações de estriado do modelo experimental animal da DP.

METODOLOGIA: Utilizamos camundongos machos da linhagem C57BL6 com idade entre dois e três meses. Esses animais foram anestesiados e submetidos à injeção unilateral de 6-hidroxi-dopamina (6-OHDA) no estriado esquerdo com procedimentos estereotáticos. O camundongo SHAM submetido aos procedimentos cirúrgicos não recebeu injeção de 6-OHDA e foi usado como controle. Depois de quarenta e oito horas, uma (1W), duas (2W) ou quatro semanas (4W), o animal foi eutanasiado, o estriado esquerdo (lesão) e direito (controle) foram dissecados e homogeneizados. O homogenato foi submetido à centrifugação diferencial, e frações foram usadas para determinação da atividade da HK expressa em nmols. Todos os procedimentos foram aprovados pelo comitê de ética animal da UFF (617/2014).

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Nós analisamos a atividade da HK em homogenato e em frações citosólicas e mitocondriais. Quarenta e oito horas (48h) depois da lesão com injeção de 6-OHDA, vimos que a atividade da HK na porção mitocondrial do estriado lesionado era menor ($0,034 \pm 0,0059$) comparada ao controle ($0,038 \pm 0,0096$ $p=0,58$ $n=3$). Observamos comportamento semelhante em 1W (L: $0,031 \pm 0,016$ C: $0,042 \pm 0,014$ $p=0,27$ $n=5$), 2W (L: $0,044 \pm 0,02$; C: $0,05 \pm 0,02$ $p=0,71$), e 4W (L: $0,0365 \pm 0,011$; C: $0,047 \pm 0,035$;

p=0,60). Nenhum padrão foi observado na porção citosólica (4wL: 0,022 ±0,0063; L: 0,022±0,007894 p=0,23 n=4; 2wL: 0,024 ± 0,0032 2wC: 0,026 ± 0,012 p =0,689 n=5; 1wL: 0,027±0,0062 1wC: 0,024±0,0027 p= 0,45 n=5; 48hL: 0,066±0,047 48hC: 0,034±0,0036 n=3 p=0,31 n=3) e homogenato (4wL: 0,037±0,0058 4wC: 0,032±0,0079 p=0,29 n=4; 2wL: 0,030±0,0065 2wC: 0,039±0,014 p=0,27 n=5; 1wL: 0,028±0,0063 1wC: 0,033±0,0064 p=0,27 n=5; 48hL: 0,039±0,0042 48hC: 0,032±0,015 p=0,48 n=3).

CONCLUSÕES:

A pequena diminuição na atividade da HK na fração mitocondrial (mas não no homogenato e na porção citosólica) do estriado lesionado permaneceu ao longo do tempo (48h, 10.33%; 1W 25.97%; 2W 12.06%; 4W 21.56%). Embora não seja significativa, isso pode indicar uma mudança considerável na oxidação de glicose, geração de ATP e isso pode ser resultado de stress oxidativo. Estudo com outras enzimas do metabolismo energético está sendo testado para que, assim, possamos ter um panorama maior da ação da progressão de morte neuronal nos tecidos afetados pela DP.

Agradecimentos:

Apoio financeiro: CNPq



Ciências Biológicas

VIAS DE SINALIZAÇÃO ENVOLVIDAS NO EFEITO DE PACAP E AMP CÍCLICO SOBRE O CRESCIMENTO GLIAL EM CULTURAS DE RETINA DE EMBRIÃO DE PINTO SUBMETIDAS À LESÃO MECÂNICA.

Paloma Claudia de Seta Cosentino, Thayane Martins Silva e Ana Lucia Marques Ventura

Neurobiologia/ Instituto de Biologia/ Neuroquímica

INTRODUÇÃO: A ativação de receptores de UTP induz o crescimento e a migração de vários tipos celulares, incluindo células gliais em culturas de células da retina após lesão mecânica. Em contraste com o efeito positivo do UTP, a ativação de receptores associados ao acúmulo de AMP cíclico (AMPc) pode inibir a migração de progenitores gliais e microglias em diferentes áreas do sistema nervoso central em desenvolvimento. Neste trabalho, investigamos o efeito do AMPc sobre o crescimento de células gliais em culturas de células da retina após lesão mecânica e sobre as vias de sinalização intracelular ativadas após a lesão.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

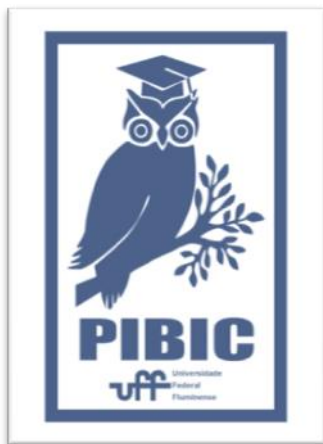
Cultura de células de retina obtidas de embriões de pinto com 8 dias e cultivadas por 7 dias (E8C7) foram lesadas mecanicamente e tratadas durante três dias até E8C10. O crescimento glial foi estimado pela redução da área livre de células na lesão. Diminuição no crescimento glial sobre a lesão foi observada com a incubação das culturas com 10 μ M de forskolina, um ativador direto da adenilil ciclase (controle = $6.3 \pm 0.8 \text{ mm}^2 \times 10^{-2}$; forskolina = $16.4 \pm 1.8 \text{ mm}^2 \times 10^{-2}$, n = 4) ou 200 μ M de 8-CPT-cAMP, análogo permeável do AMP cíclico

(controle = $6.3 \pm 0.8 \text{ mm}^2 \times 10^{-2}$; 8-CPT-cAMP = $19.9 \pm 1.5 \text{ mm}^2 \times 10^{-2}$; n = 4). O tratamento das culturas com PACAP-38 também resultou em uma inibição do crescimento glial sobre a área da lesão dependente de sua concentração (controle = $6.1 \pm 1.7 \text{ mm}^2 \times 10^{-2}$; PACAP 10 nM = $13.2 \pm 1.1 \text{ mm}^2 \times 10^{-2}$; PACAP 50 nM = $16.2 \pm 0.7 \text{ mm}^2 \times 10^{-2}$, n = 3). Não foi observado efeito do PACAP-38 no número de células gliais proliferativas PCNA⁺ na borda da área da lesão (% de núcleos PCNA⁺: Controle = $79.9 \pm 1.4\%$; PACAP 38 = $87.3 \pm 1.2\%$; n = 2), sugerindo que PACAP-38 não afete a proliferação celular na borda da área da lesão. Experimentos de detecção de AMP cíclico em células cultivadas usando a sonda Flamingo2 mostraram que tanto forskolina quanto PACAP-38 foram capazes de aumentar os níveis de AMP cíclico em células gliais na borda da lesão. Além disto, experimentos de imunocitoquímica contra ERK e Akt fosforiladas mostraram que tanto Forscolina quanto PACAP-38 foram capazes de atenuar a fosforilação de AKT, mas não da ERK, estimulada por UTP, sugerindo que a formação de AMP cíclico seja capaz de reduzir a fosforilação da AKT mediada por UTP em culturas submetidas à lesão mecânica. Por outro lado, o tratamento de células gliais dissociadas

com forskolina ou PACAP-38 também foi capaz de aumentar a sua adesão em placas de cultura revestidas com fibronectina, sendo o efeito do PACAP-38 atenuado pelo antagonista de receptores PAC1 PACAP 6-38 (número de células/ 10 campos: controle = 75.2 ± 10.9 ; foscolin = 153.5 ± 5.2 ; PACAP-38 = 120 ± 9.9 ; PACAP-38 + PACAP 6-38 = 92.3 ± 9.7 , n = 2).

CONCLUSÕES:

Nossos dados sugerem que o aumento de AMPc intracelular promovido pela ativação de receptores de PACAP-38 seja capaz de inibir o crescimento de células da glia de retina de embrião de galinha em culturas submetidas à lesão através da inibição da via da PI3K/Akt ativada por UTP e aumento da adesão destas células ao substrato.



Agradecimentos:
CAPES, CNPq,
PROPPi-UFF,
Faperj.



Grande Área do Conhecimento: Ciências Biológicas

Título do Projeto:

Efeito protetor do Resveratrol contra a morte neuronal induzida por estresse oxidativo na retina de galinha.

Autores: Santos-Pereira, R.¹; Paes-de-Carvalho¹, R; dos Santos-Rodrigues, A.¹

¹Depto. de Neurobiologia, Instituto de Biologia, UFF, Niterói, RJ.

INTRODUÇÃO:

O estresse oxidativo é uma consequência citopatológica do desequilíbrio entre a produção de radicais livres e os sistemas intracelulares antioxidantes. Muitos estudos sugerem que a morte neuronal induzida pelo estresse oxidativo desempenha um papel importante no desenvolvimento de doenças neurodegenerativas. O resveratrol é um composto polifenólico presente na pele e nas sementes de mais de 70 espécies diferentes de plantas, incluindo uvas, frutas, chá, grãos e amendoins. Muitos estudos relataram que o Resveratrol possui propriedades neuroprotetoras, no entanto, o mecanismo pelo qual ele exerce essa função protetora ainda não é bem compreendido. Nosso modelo de estudo é a retina de galinha, que é parte do SNC e é um ótimo modelo de estudo de interações neuroquímicas do SNC. Nosso objetivo foi investigar os efeitos intracelulares desencadeados pelo resveratrol para modular a morte neuronal induzida pelo peróxido de hidrogênio (H₂O₂) em culturas purificadas de neurônios da retina.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

As culturas purificadas de neurônios de retina de galinha foram obtidas a partir de embriões com oito dias (E8) de desenvolvimento. Para avaliar o efeito do resveratrol na morte neuronal induzida pelo estresse oxidativo, pré-tratamentos foram feitos com Resveratrol 10µM por 6h, 24h e 48h antes do tratamento com H₂O₂ em

diferentes concentrações, que foram realizadas por 24h para induzir a morte neuronal. Nós observamos que os tratamentos por 24 horas com H₂O₂ 1µM e 10µM induziram uma redução significativa da sobrevivência neuronal ($52,9 \pm 8,7\%$ e $17,2 \pm 4,2\%$ respectivamente, em relação ao controle; n = 4). Pré-tratamentos com Resveratrol 10µM por 6h, 24h e 48h protegeram significativamente contra a morte neuronal induzida por H₂O₂ 1µM (6h: $96,1 \pm 6,7\%$; 24h: $105,7 \pm 12,7\%$ e 48h: $102,1 \pm 6,6\%$ em relação ao controle; n = 3) e 10 µM de H₂O₂ (6h: $57,1 \pm 7,2\%$; 24h: $57,3 \pm 12,5\%$ e 48h: $102,1 \pm 6,6\%$ em relação ao controle, respectivamente; n = 3). Depois disso, testamos se o efeito do resveratrol na sobrevivência celular era mediado pela via PI3K/Akt. Para os tratamentos com LY294002 (inibidor da PI3K) e com Triciribina (inibidor da Akt), nós incubamos as células por 30 minutos antes do início da incubação com Resveratrol. Após esses tratamentos, as culturas celulares foram fixadas com glutaraldeído 2,5%. A viabilidade celular foi avaliada por contagem das células fixadas e os resultados foram avaliados no programa Prism 7.0. De acordo com nossos resultados, tanto a inibição da PI3K quanto a inibição da Akt não bloquearam o efeito protetor do Resveratrol 10µM (pré-tratamento por 24h) contra a morte neuronal induzida por H₂O₂ 1µM e 10µM. Estes resultados sugerem que o Resveratrol não está mediando sua

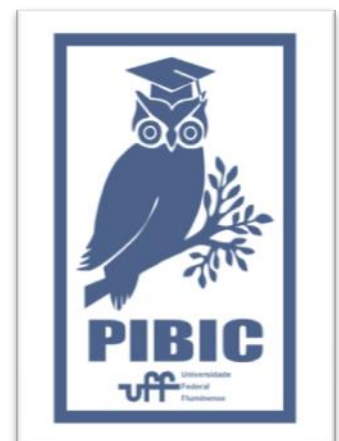
sobrevivência celular através da ativação da via PI3K/Akt.

CONCLUSÕES:

Nossos resultados indicam que o tratamento a longo prazo com Resveratrol tem um efeito neuroprotetor contra a morte neuronal induzida por H₂O₂, o que indica que esse composto é um potencial agente no tratamento de doenças neurodegenerativas.

AGRADECIMENTOS:

UFF





Ciências Biológicas - Parasitologia

PESQUISA DE PARASITOS EM HORTALIÇAS COMERCIALIZADAS NA REGIÃO METROPOLITANA DO RIO DE JANEIRO

Nathany Pacheco Sousa; Lucas Terencio Soares Alves Azeredo;
Matheus Santos Luquez; Vivian Moura de Oliveira; Patrícia Riddell Millar;
Danuza Pinheiro Bastos Garcia de Mattos

MIP/CMB/ Laboratório de Parasitologia

INTRODUÇÃO: A busca por uma alimentação mais equilibrada e saudável é algo crescente na população mundial. Vegetais crus são ótimas fontes de vitaminas, minerais, e fibras alimentares, sendo seu consumo regular associado à redução dos riscos para diversas doenças cardiovasculares e certos tipos de neoplasias. Por outro lado, a contaminação do solo e da água utilizados no cultivo dos vegetais por fezes humanas ou de animais pode representar um risco à saúde coletiva caso não seja realizada uma atenciosa higienização destes alimentos antes de sua ingestão.

As parasitoses intestinais são importantes problemas de saúde pública, principalmente em regiões de clima tropical e subtropical, que favorecem o desenvolvimento e a viabilidade das estruturas parasitárias no meio ambiente.

Diversas pesquisas do Brasil e do mundo apontam a presença de parasitos em vegetais contaminados, sendo os mais relevantes *Giardia duodenalis* e *Cryptosporidium* sp. Portanto, visando contribuir com dados epidemiológicos para a região metropolitana do Rio de Janeiro, o presente trabalho busca analisar a contaminação parasitária em hortaliças comercializadas na região metropolitana do Rio de Janeiro.

RESULTADOS E DISCUSSÕES: Foram analisadas um total de 104 amostras de hortaliças provenientes de feiras e mercados da região metropolitana do Rio de Janeiro. Foram coletadas um total de 104 amostras de nove diferentes tipos de hortaliças, sendo estas: 33 de salsa (*Petroselinum crispum*), 33 de hortelã (*Mentha* spp), 8 de cebolinha (*Allium schoenoprasum*), 7 de coentro (*Coriandrum sativum*), 6 de rúcula (*Eruca sativa*), 6 de couve

(*Brassica oleracea*), 5 de manjeriço (*Ocimum basilicum*), 4 de alface (*Lactuca sativa*), 2 de agrião (*Nasturtium officinale*). Foram contabilizadas como positivas para contaminação 102 amostras (98,07%) sendo esta por: larvas nematoides em 100 amostras (96,15%); rotíferos em 91 (87,5%); ácaros em 29 (27,88%), ovos de nematoides de vida livre 25 (24,03%); ovos tipo Strongylida em 12 (11,53%); protozoários de vida livre em 11 (10,57%); outros artrópodes em 10 (9,61%); ovos de *Hymenolepis diminuta* em 2 (1,92%); ovos de ascarídeos em 2 (1,92%) e cistos de *Giardia* sp em 1 (0,96%). Optamos por indicar a presença de contaminantes com e sem potencial patogênico para humanos para melhor avaliar se houve ou não higienização prévia dos vegetais (entre a colheita e sua comercialização); e se as metodologia empregadas em laboratório detectavam estruturas maiores como larvas e adultos nematoides ou pequenos protozoários de vida livre. Para SANTANA et al. (2006) os resultados podem estar relacionado às condições sanitárias do ambiente em que são cultivados, diferindo em cada sistema produtor e de acordo com as práticas de cultivo usadas. Os resultados demonstram elevado índice de contaminação biológica nas amostras, indicando que provavelmente não houve higienização prévia desde sua colheita. Sendo assim, as observações podem indicar a condição sanitária da área de plantio no que se refere à presença/ausência de parasitos potencialmente patogênicos a humanos, assim como condições de transporte, armazenamento e manipulação. A presença de estruturas potencialmente patogênicas, como ovos tipo Strongylida (11,53%), indica a contaminação recente com fezes de pessoas ou animais parasitados, pois

seus ovos embrionam em pouco tempo no ambiente. Pelas características percebíveis destes vegetais, o tempo entre colheita e comercialização é normalmente curto, sendo difícil estabelecer o ponto mais provável de contaminação.

Entretanto, diversos fatores podem contribuir para a contaminação das hortaliças, além das condições de plantio. PARTELI (2005) relacionou a contaminação dos vegetais ao armazenamento inadequado, transporte e exposição no momento da comercialização. WERNECK et al. (2015) analisaram as condições higiênicas sanitárias dos manipuladores de alimentos da barracas de feiras livres de Seropédica, RJ, e constataram que 70,83% não apresentavam uma higiene adequada das mãos, corroborando com o alto índice de contaminação do vegetais.

A presença de ovos de *H. diminuta*, um cistoide de roedores, que pode eventualmente infectar humanos, indica a contaminação dos alimentos por fezes destes animais em algum momento, sendo mais provável durante sua estocagem e comercialização.

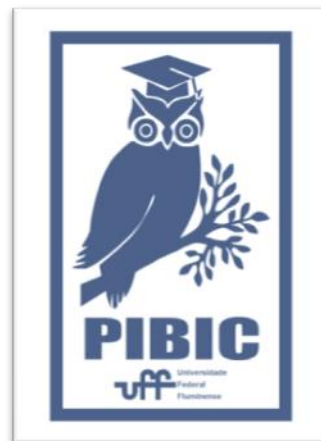
Cistos de *Giardia* sp (0,96%) e ovos de ascarídeos (1,92%), que também representam risco potencial para consumidores do alimento, foram achados em poucas amostras (0,96% e 1,92% respectivamente).

CONCLUSÕES:

Foram observados elevados índices de contaminação biológica nos diversos tipos de hortaliças. Sendo encontradas também estruturas parasitárias potencialmente infectantes para consumidores, ressaltando a necessidade de correta higienização dos vegetais antes do seu consumo.

Agradecimentos:

Os autores agradecem à PROPPi a oportunidade de realização do projeto (IC-voluntário).





Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas

Título do Projeto: Indução de obesidade e Diabetes Mellitus tipo 2 em roedores para estudos correlacionados a citocinas inflamatórias

Autores: Rafaela Moraes Pereira de Souza*, Vivian Salvado*, Raissa Guimarães*, Lia Ballard**, Karen Oliveira**, Sergio Girão Barros***, Carla Eponina de Carvalho Pinto*

*Depto. Imunobiologia, Instituto Biologia, Laboratório de Patologia Experimental. **Depto. Fisiologia e Farmacologia, Instituto Biomédico. ***Depto. Nutrição e Dietética, Faculdade de Nutrição.

INTRODUÇÃO:

A diabetes afeta milhões de pessoas em todo o mundo. No Brasil pouco mais de 14 milhões de pessoas sofrem com esta doença e até 2040, esse número deverá ultrapassar 23. A Diabetes Mellitus Tipo 2, DM2, é metabólica e adquirida na vida adulta, sendo geralmente acompanhada por obesidade, doença esta que vem aumentando na população mundial, portanto, ambas consideradas um problema na saúde pública em vários países. Sendo assim, as pesquisas científicas buscam o envolvimento de moléculas reguladas nos processos inflamatórios que acompanham estas enfermidades. O nosso grupo publicou em 2015 um estudo aonde os níveis da citocina APRIL estavam diminuídos em pacientes com DM2. Em 2017, nossa aluna defendeu sua dissertação de mestrado nos estudos da APRIL em pacientes Obesos/DM2 quando foi demonstrado o aumento de APRIL nestes. Além do mais, outros artigos científicos demonstraram, em diferentes doenças crônicas, a produção desta proteína. Neste trabalho estamos produzindo um modelo animal para indução de obesidade e DM2 em roedores para futuras análises de órgãos e de elementos sanguíneos. Durante a indução de obesidade/DM2 com sacarose em água, os animais são acompanhados semanalmente para observação do ganho de peso e consumo de ração, mensalmente aferição da glicemia. Após 32 semanas será feita a avaliação da composição corporal, através do método DEXA, dos animais dos grupos experimentais e seus respectivos controles, mais o teste de tolerância a glicose. Estes animais serão punccionados para coleta do sangue, e em seguida eutanasiados e necropsiados para a retirada de órgãos como, intestinos, pâncreas, baço, linfonodos, fígado,

tecidos adiposos. Os órgãos serão fixados em formalina 5% e criopreservados em OCT. Os fixados em formalina serão incluídos em parafina e após processados serão analisados pela Hematoxilina e Eosina, os congelados para imunohistoquímica que será realizada com anticorpos marcados com peroxidase/fluorocromados para adipocitocinas, anti-IL-10, anti-APRIL, TACI e BCMA. Os intestinos serão congelados a -80 °C para análise de microbiota. Do sangue total feito hemograma completo, lipidemia e glicemia. A partir desses resultados experimentais pretendemos avançar nos estudos sobre a participação de APRIL na diáde obesidade/DM2. Deste modo, sinalizando, a possibilidade desta proteína vir a ser um marcador biológico no desenvolvimento destas doenças.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Os resultados preliminares, ou seja, obtidos até o presente (18 semanas), no experimento com os camundongos fêmeas C57BL/6 foram em uma média tirada entre os 5 animais de cada grupo: na primeira semana, considerada a semana 0, todos os animais suplementados com 40% de açúcar comum, A, 40% de açúcar demerara orgânico, B, e o grupo com os animais controles somente com ração e água potável, C, obtiveram uma média da massa corporal (gramas) de 15g, sendo, portanto, homogêneos. Ao final das 18 semanas, o grupo A, já tem uma massa de 29g, o grupo B de 27,5g e o grupo C, 25g. A glicemia dessa linhagem mostrou o seguinte resultado até o presente: na semana 0 os três grupos tiveram uma média entre 100-140 mg/dL. O grupo A na semana 18 apresentou com uma média de 160 mg/dL, já os grupos B e C mantiveram a glicemia entre 100-150 mg/dL.

A linhagem de camundongos fêmeas Suíços apresentaram os seguintes resultados com uma média entre os 5 animais de cada grupo: na semana 0 todos os grupos experimentais (A, B e C), tinham massa de 21g. O grupo A, ao final das 18 semanas, apresentou massa corporal de 40g, o grupo B de 38g, e o grupo C de 30g, com $p < 0,003$. A glicemia desta linhagem verificada foi entre 100-125mg/dL. Na semana 18, o grupo A e B foi de 140 e 150mg/dL, respectivamente, enquanto o grupo C foi de 90mg/dL, sendo $p < 0,04$.

CONCLUSÕES:

Analisando os resultados obtidos, embasados na tabela 4 do artigo SANTOS *et al* 2016 pode-se concluir que os grupos A e B que ambas as linhagens já apresentam valores glicêmicos elevados, podendo indicar uma possível resistência à insulina, como na Diabetes mellitus tipo II em pacientes, o que levou a implementação de mais uma técnica - a técnica de gavagem - antes dos animais serem eutanasiados, para ratificar a resistência à insulina. O notório aumento da massa corporal, dos grupos que receberam a suplementação dos diferentes açúcares na alimentação, foi satisfatório, salientando que a linhagem de camundongos Suíços obteve uma resposta mais significativa como modelo de obesidade para o projeto em estudo.

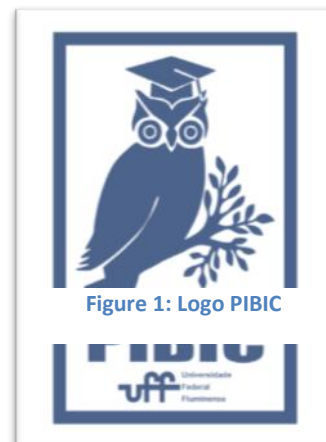
Os animais têm respondido ao experimento para os estudos de dietas comparativas, mais especificamente as dietas relacionadas a diáde Obesidade/DM2. Partindo da observação de dados atuais divulgados e novas tendências para o consumo cada vez mais frequente de alimentos industrializados ricos em sacarose, devido ao ritmo de trabalho e vida das pessoas nas zonas urbanas, poderão demonstrar a curto prazo as consequências do uso exagerado do açúcar na saúde dos indivíduos.

Agradecimentos:

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, pelo auxílio financeiro com uma bolsa de Iniciação Científica dentro do Programa PIBIC/CNPq.

Ao laboratório de Patologia Experimental da UFF e a sua equipe.

A orientadora Dra. Carla Eponina de Carvalho Pinto por toda a orientação na realização deste trabalho e confiança depositada para a execução deste projeto.





Animal e Vegetal

Grande área do conhecimento Ecologia Aplicada

Título do Projeto Avaliação temporal da chuva de sementes em plantios de restauração de floresta inundável de restinga no Município do Rio de Janeiro, RJ

Autores Julia Fleming Pimentel, Luiz Roberto Zamith

Departamento/Unidade/Laboratório GBG/EGB/Laboratório de Ecologia

INTRODUÇÃO: Para avaliar se um projeto de restauração está caminhando em direção aos seus objetivos é fundamental que seja realizado um monitoramento constante e de longo prazo investigando a estrutura e composição da vegetação e sua trajetória sucessional, o que inclui a regeneração. A chegada de novos propágulos através da chuva de sementes determina os processos de regeneração das comunidades vegetais e seu monitoramento permite avaliar os plantios de restauração, comparando-os com as áreas de referência. Este projeto teve o objetivo de caracterizar a chuva de sementes em plantios de restauração de florestas inundáveis de restinga, no Parque Natural Municipal de Marapendi (PNMM), no município do Rio de Janeiro, entre junho de 2015 e maio de 2018, para avaliar a variação temporal e espacial entre as diferentes áreas, comparando com áreas de referência no PNMM. Foram selecionadas nove áreas de plantios e três áreas de referência. Em cada área foram instalados três coletores circulares, com área de 0,25 m², que foram visitados mensalmente para coleta do material.

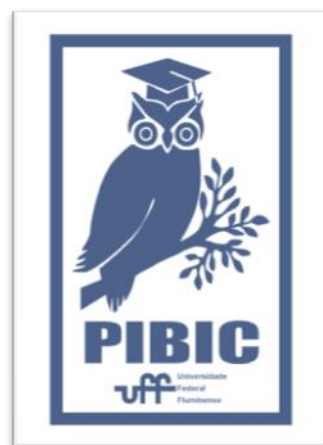
RESULTADOS E DISCUSSÕES: Entre junho de 2015 e maio de 2016 foram amostradas em média 171 sementes.0.25 m⁻² .ano⁻¹ nas áreas de referência e de 68 a 598 sementes.0.25m⁻².ano⁻¹ nas áreas de plantio. Entre junho de 2016 e maio de 2017 foram amostradas entre 140 e 263 sementes.0.25 m⁻² .ano⁻¹ nas áreas de referência e entre 108 e 296 sementes.0.25m⁻².ano⁻¹ nas áreas de plantio. Entre junho de 2017 e maio de 2018 foram amostradas entre 110 e 268 sementes.0.25m⁻².ano⁻¹ nas áreas de referência e entre 89 e 624 sementes.0.25m⁻².ano⁻¹ nas áreas de plantio. Foi possível identificar 24 táxons na chuva de sementes, sendo apenas duas espécies exóticas. As sementes não identificadas foram

classificadas em 57 morfotipos. A espécie com maior abundância de sementes foi *Ficus clusiifolia*, com 25,8%, 26,2%, e 36,4% do total, no primeiro, segundo e terceiro ano, respectivamente. Em relação às espécies exóticas, *Casuarina equisetifolia*, que é anemocórica, foi amostrada em todas as áreas, e teve uma abundância percentual de 19,1%, 13,6% e 5,8% do primeiro ao terceiro ano, enquanto *Syzygium cumini*, zoocórica, representou 0,2%, 2,7% e 0,3%, e não ocorreu em todas as áreas de coleta. Para comparar a chuva de sementes entre as diferentes áreas e entre os diferentes períodos de estudo foram retiradas as sementes das exóticas *C. equisetifolia*, *S. cumini*, Morfotipo 1 (Asteraceae) e de um morfotipo de semente alada, possivelmente semente de liana. Ao compararmos as diferentes áreas em cada período de estudo podemos observar que no primeiro período, entre junho de 2015 e maio de 2016, não foi encontrada diferença significativa na riqueza entre as áreas, mas foi encontrada diferença significativa entre as abundâncias, sendo que uma das áreas de plantio obteve a maior abundância de sementes devido a grande quantidade do morfotipo 26 e outras cinco áreas de plantio foram as com menor abundância. Para o período entre junho de 2016 e maio de 2017 não foram encontradas diferenças entre as áreas quanto à abundância, mas sim entre as riquezas, onde duas áreas de referência e três de plantio mostraram maior riqueza. E para o período entre junho de 2017 e maio de 2018 novamente apenas a riqueza de espécies apresentou diferença estatística entre as áreas, sendo uma das áreas de referência a de maior riqueza e uma das áreas de plantio a de menor riqueza. Considerando as espécies utilizadas nos plantios realizados entre 1998 e 2002, foi observado que a similaridade entre a chuva de sementes e o estrato arbóreo adulto

de cada área variou bastante entre as áreas sendo menor em uma das áreas de plantio e maior em duas das áreas de referencia. Entretanto, como o Índice de Sorensen só leva em conta a presença e ausência das espécies, sem considerar a abundancia, este resultado não retrata adequadamente a grande contribuição em termos de abundancia das espécies autóctones, pois para todas as áreas de referencia e para quatro áreas de plantio a porcentagem de sementes de origem autóctone na chuva de sementes foi maior que 60%. A porcentagem mais baixa foi amostrada em uma das áreas de plantio, resultado fortemente influenciado por não haver *Ficus clusiifolia* como adulto nesta área.

CONCLUSÕES: Considerando os atributos abundancia e riqueza da chuva de sementes, não foi possível separar claramente e para todos os períodos temporais observados as áreas de plantio e as áreas de referência. Estes resultados, a princípio, parecem sugerir que estes atributos ecossistêmicos já estão funcionalmente presentes nas áreas de plantio de forma comparável com as áreas de referência. Possivelmente o fato da maior parte das espécies originalmente plantadas serem de dispersão zoocórica, conforme o observado nos ecossistemas naturais, deve ter contribuído para estes resultados. Futuros estudos observando outros aspectos da chuva de sementes nestas áreas em restauração, como a sazonalidade, diversidade e equabilidade, poderão elucidar de forma conclusiva se estes atributos ligados ao processo ecossistêmico da regeneração são bons indicadores para avaliar a trajetória sucessional de florestas inundáveis de restinga em restauração.

Agradecimentos: Agradecemos a toda equipe do LEAV, alunos e ex-alunos, que contribuíram para a obtenção dos dados e esclarecimento de dúvidas. Agradecemos também ao Setor de Botânica - UFF, pela cessão de espaço e equipamentos.





Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas

Título do Projeto: Estudos morfológicos em *Monteverdia* A. Rich (Celastraceae) e *Sorocea* A.St.-Hil. (Moraceae) como subsídios para a verificação da autenticidade de espinheira-santa.

Autores: Isabel Andrade Manhães, Selma Ribeiro de Paiva, Ana Joffily

Departamento/Unidade/Laboratório

INTRODUÇÃO:

A espinheira-santa é uma planta medicinal amplamente consumida no Brasil, cujas propriedades farmacológicas vão desde analgesia à desinfecção. A verdadeira espinheira-santa, especificamente chamada *Monteverdia ilicifolia* (Mart ex Reissek) Biral (sin. *Maytenus ilicifolia* Mart ex Reissek) (Biral *et al*, 2017) apresenta como característica morfológica mais marcante a presença de margem foliar espinescente. A presença de classes químicas potencialmente terapêuticas já foi amplamente descrita em *Monteverdia ilicifolia* na literatura. Nessa perspectiva, o chá de espinheira-santa é bastante consumido pela população, principalmente para o tratamento de úlceras gástricas. Um problema relacionado à comercialização de espinheira-santa é a adulteração da droga vegetal, através do acréscimo ou da substituição por outras espécies do próprio gênero, assim como espécies do gênero *Sorocea* e *Zolernia*, sendo respectivamente *M. aquifolia*, *S. bonplandii* e *Z. ilicifolia*. Dessa forma, a necessidade de um método suficientemente abrangente que possibilite a identificação botânica.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Folhas de diferentes espécies de *Monteverdia* e *Sorocea* foram estudadas com técnicas usuais em anatomia vegetal para o estabelecimento de padrões morfológicos para contribuir com o controle da qualidade. As características encontradas nas regiões do pecíolo, nervura principal em três alturas, regiões intercostal e bordo, como a presença de tricomas e a ocorrência de flanges cuticulares, a presença de colênquima e esclerênquima, o formato e projeções do pecíolo, a organização do feixe vascular e presença de bainha de fibras na região da nervura principal são de grande ajuda para a diferenciação entre as espécies (*M.*

aquifolia, *M. urbaniana*, *M. schumanniana*, *S. bonplandii*, *S. racemosa* e *S. hilarii*) até o momento descritas como adulterantes da verdadeira espinheira-santa (*M. ilicifolia*), evidenciando. Além disso, o padrão de nervação é muito contrastante nos dois gêneros, sendo uma ferramenta de fácil visualização para a distinção entre os gêneros *Sorocea* e *Monteverdia*.

CONCLUSÕES:

A anatomia vegetal mostrou-se uma ferramenta segura e acessível para o controle de qualidade de fitoterápicos, podendo facilmente identificar adulterantes nas amostras comercializadas

Agradecimentos:

À Universidade Federal Fluminense
Ao Pibic