



CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

REVISTA PIBIC 2022



Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas

Título do Projeto: VARREDURA DA ATIVIDADE ANTITUMORAL *IN VITRO* DE HÍBRIDOS NAFTOQUINONA-TRIAZOL-CUMARINA PARA UM POSSÍVEL TRATAMENTO DE CÂNCER DE CÉLULAS ESCAMOSAS DE BOCA.

Autores: Afonso Thales de Sousa Arruda, 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 carcinoma de células escamosas de boca (CCEB) é um tumor invasivo de pele ou mucosas revestidas por epitélio do tipo escamoso, considerado atualmente um problema de saúde pública no Brasil. Os principais fatores de risco para seu desenvolvimento são o tabagismo e etilismo. Esses fatos tornam fundamental o desenvolvimento de novas drogas terapêuticas, sobretudo, naftoquinona-triazol-cumarina. Esse é um composto sintético híbrido de naftoquinona-cumarina conectados por um espaçador 1,2,3-triazólico. A naftoquinona é uma quinona com propriedades antitumorais. O triazol é uma substância exclusivamente sintética, que quando fusionado a moléculas híbridas, potencializa sua ação biológica antineoplásica. Por fim, a cumarina é um derivado fenólico encontrado em plantas com capacidade de causar a morte celular por atuar,

por exemplo, como agentes intercalantes de DNA e outros.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foi realizada a varredura de 9 substâncias CUME1-9 em SCC9 para avaliar sua toxicidade pelo método colorimétrico MTT, sendo possível, assim, obter a concentração inibitória de 50% da viabilidade celular (IC_{50}) de cada substância. O controle positivo foi o DMSO e o negativo carboplatina, doxorubicina, lapachol e shikonina. Observou-se que a CUME1 ($IC_{50}=62,73 \mu M$), CUME6 ($IC_{50}=28,29 \mu M$) e CUME 7 ($IC_{50}=30,22 \mu M$) apresentaram IC_{50} inferiores ao da carboplatina ($IC_{50}=191,8 \mu M$) e do lapachol ($IC_{50}=161,8 \mu M$). Esses três compostos foram selecionados para serem testados no ensaio de MTT com células saudáveis da boca humana (fibroblastos), assim como também foi realizado o mesmo ensaio em outras linhagens de SCC – SCC4 e SCC25, a fim de posteriormente ser avaliado a média de

índice de seletividade. Com isso, notou-se que o composto que apresentou o melhor média de índice de seletividade foi a CUME6 (média IS= 2,12) em relação às demais cumarinas. Vale ressaltar que a mesma também apresentou resultado melhor que a própria carboplatina (média IS= 1,39).

O ensaio de estabilidade foi aplicado nas substâncias citotóxicas mais seletivas – CUME6 e CUME 7. O processo foi realizado a 37°C nos tempos de: 1, 6, 12, e 48 horas. Teve como controle o DMSO, carboplatina e meio de cultura DMEM F12. Observou-se que as cumarinas testadas demonstraram ser estáveis em relação ao controle carboplatina, se mantendo citotóxicas mesmo após o maior tempo de 48h. Além disso, destaca-se que a CUME6 obteve um comportamento muito similar à carboplatina.

Avaliou também o comportamento de CUME6 em outras linhagens de células neoplásicas (B16F10, HT29 e HEP2G) quanto ao índice de seletividade, utilizando como células normais o fibroblasto. Nota-se que a CUME6 também apresentou um resultado razoável de IS tanto nas linhagens B16F10 quanto nas HEP2G, obtendo valores acima de 2.

Os ensaios de marcação de núcleo picnótico e de EROs em linhagens SCC9 utilizando o CUME6 demonstrou que a via de morte não é por apoptose, pois não formou-se significativos núcleos picnótico quando comparado com o controle de DMSO, e a morte também não foi por estresse oxidativo, haja vista que não formou EROs.

O ensaio de hemólise foi realizado também para descartar um possível efeito tensoativo dos

compostos, que poderiam levar a destruição de células inespecíficas no processo do tratamento. Dessa forma, o CUME6 apresentou hemólise abaixo de 5%, valor próximo ao do controle PBS e do solvente DMSO. Isso demonstra que as substâncias são boas candidatas a teste de toxicidade *in vivo*.

O ensaio de toxicidade aguda foi realizado testando a substância CUME6 em camundongos fêmeas C56BL/6, sendo divididos em três grupos de três cada. A aplicação da substância foi realizada por injeção intraperitoneal nas concentrações de 25, 50 ou 62,5 mg/kg, diluído em PBS e 3% de DMSO. Durante os 14 dias de experimento, foram avaliados três aspectos, dentre eles: mobilidade, mortalidade e necropsia. No primeiro, os animais apresentaram lentidão nas três dosagens. No segundo aspecto não houve mortes nas dosagens de 25 e 50 mg/kg, enquanto na dosagem de 62,5 mg/kg três animais morreram. Já no terceiro, observa-se que a necropsia dos animais tratados com a dosagem de 25 mg/kg foi normal, 50 mg/kg os animais apresentaram adesão dos órgãos na cavidade abdominal e em 62,5 mg/kg esplenomegalia, cardiomegalia, manchas escuras nos pulmões e adesão dos órgãos da cavidade abdominal.

CONCLUSÕES:

Portanto, observamos que o CUME6 demonstrou efeito citotóxico em diferentes linhagens de CCEB, e apresentou melhor seletividade entre as substâncias testadas, se

mostrando promissora como um possível tratamento para CCEB.

Com isso, entendemos que é fundamental realizar outros experimentos para caracterizar as vias de morte celular induzidas pelo CUME6 e os possíveis alvos e mecanismos moleculares de ação.



AGRADECIMENTOS:

Agradeço ao Professor Dr. Bruno Kaufmann Robbs pela oportunidade e agradeço também as instituições fomento PROPPi/UFF; PIBIC/UFF.

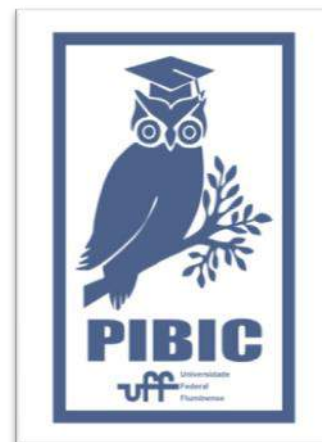


Martins e Christianne Brêtas Vieira Scaramello

Ciências Biológicas
REPOSICIONAMENTO DE
FÁRMACOS PARA O TRATAMENTO
DA COVID-19

Lívia da Silva Oliveira, Karyne Pollo
de Souza, Ivis Levy Fernandes

MFL/Instituto Biomédico



INTRODUÇÃO:

A lesão renal aguda e as lesões cardíacas são comuns em pacientes com COVID-19 em estado crítico e estão associadas à alta mortalidade decorrente da doença, caracterizando um papel relevante da síndrome cardiorenal. Oportunidades promissoras de reaproveitamento de fármacos têm sido identificadas através da área emergente da medicina de rede, que aplica conceitos de biologia dos sistemas e ferramentas da teoria de rede para elucidar a relação entre as propriedades do interactoma humano, sua organização funcional e as consequências de perturbações nesse arranjo. Nesta abordagem, doenças são causadas pela desregulação de uma rede de genes interligados que tendem a se agregar. Sendo as ações dos fármacos também compreendidas como perturbações locais no interactoma, alvos mais próximos de um módulo de doença tendem a ser mais eficazes no tratamento da mesma. Assim, o projeto visa selecionar fármacos a serem reposicionados para o tratamento das complicações cardiovasculares, respiratórias e renais da COVID-19 através da abordagem da medicina de rede. A primeira fase do estágio de

iniciação científica consistiu em atividades assíncronas e síncronas, como a consulta à literatura e a vídeos com conteúdo teórico relacionado à pesquisa, bem como preparo de material para apresentação e a discussão de artigos científicos diretamente associados ao projeto. De modo síncrono também foram realizados tutoriais para treinamento em pesquisa bibliográfica. Na segunda fase do estágio de iniciação científica, além das atividades relacionadas à discussão de artigos científicos e treinamento, atividades diretamente relacionadas ao desenvolvimento do projeto foram realizadas. O estudo foi dividido em três partes, tendo se iniciado a partir de procedimentos envolvidos com a coleta de dados ômicos das complicações cardiovasculares, respiratórias e renais da COVID-19 através da mineração da literatura.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Ao todo, 25 reuniões para a discussão de 25 artigos científicos foram realizadas pelo grupo de pesquisa em 2021/2 e 2022/1, incluindo três apresentações da aluna. Para complementação da fundamentação teórica, 21 vídeos de conteúdo acadêmico foram assistidos no

período, além do treinamento para a realização de pesquisa bibliográfica. Quanto ao desenvolvimento do projeto, 9203 artigos de acesso aberto com resumo disponível publicados entre 2019 e 2022 dentre revisões, sistemáticas ou não, meta análises e artigos clássicos foram rastreados a partir da busca no Pubmed com as palavras chaves “COVID-19 and GWAS”, “SARS-Cov2 and GWAS”, “COVID-19 and genes”, “SARS-Cov2 and genes”, “COVID-19 and proteomic”, “SARS-Cov2 and proteomic”, “COVID-19 and proteins”, “SARS-Cov2 and proteins”, “COVID-19 and transcriptomics”, “SARS-Cov2 and transcriptomics”, “COVID-19 and CRISPR”, “SARS-Cov2 and CRISPR”, “COVID-19 and microRNAs”, “SARS-Cov2 and microRNAs”, “COVID-19 and targets”, “SARS-Cov2 and targets”. Os artigos foram filtrados ainda pelo idioma (inglês) e espécie (humana), bem como pela faixa etária (adultos > 19 anos), uma vez que em crianças e adolescentes há a particularidade da síndrome inflamatória multissistêmica. Dentre o quantitativo de artigos rastreados por cada dupla de descritores supracitados, excluindo os documentos em multiplicidades, 6858 artigos de interesse foram listados. Uma amostragem aleatória simples utilizando o programa Excel foi realizada para selecionar 10% dos documentos a serem recuperados, totalizando 686 artigos. Dentre esses, 190 artigos foram resgatados para realização da mineração da literatura.

CONCLUSÕES:

Mediante as atividades propostas na primeira e na segunda fase do estágio de iniciação

científica, diversos conceitos abrangendo ciência de modo geral bem como da área específica do projeto, antes desconhecidos, foram aprendidos e sedimentados. Em destaque, a importância da biologia de sistemas para a compreensão do mecanismo de diversas doenças, como a COVID-19, bem como para a proposição de fármacos a serem reposicionados. É possível observar que muito tem sido produzido nesse campo no qual se busca um maior entendimento das interações entre os componentes dos sistemas vivos e de seus processos biológicos.

AGRADECIMENTOS:

CAPES, CNPq, Proppi/UFF

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

O ISOLAMENTO SOCIAL PODE ALTERAR O PROCESSAMENTO DA PROTEÍNA PRECURSORA AMILÓIDE EM ÁREAS CEREBRAIS SENSÍVEIS AO ESTRESSE?

AMANDA COSTA DA SILVA LEÃO, RAQUEL CAVALCANTI FIGUEIREDO & ADRIANA DA CUNHA FARIA-MELIBEU

DEPARTAMENTO DE NEUROBIOLOGIA / UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE / LABORATÓRIO NEUROBIOLOGIA DO DESENVOLVIMENTO

INTRODUÇÃO:

A proteína precursora amiloide (APP) é uma glicoproteína transmembrana do tipo I, conhecida por participar da fisiopatologia da doença de Alzheimer (DA) como fonte da substância β -amiloide ($A\beta$), formadora de placas senis e uma das causas da neurodegeneração encontrados na doença. Entretanto, a APP também realiza papéis fisiológicos, sendo encontrada predominantemente nos sítios sinápticos e envolvendo-se em uma série de eventos celulares, como adesão celular, crescimento neurítico, sinaptogênese e plasticidade sináptica. O metabolismo da APP envolve sua clivagem proteolítica por ação de secretases (α , β e γ) através de duas vias: as vias amiloidogênica e não-amiloidogênica. Na via não-amiloidogênica, a clivagem sequencial pela α -secretase e γ -secretase leva à liberação da sAPP α , fragmento solúvel que possui efeitos neurotróficos. Já na via amiloidogênica, a clivagem da APP pelas β -secretase e γ -secretase culmina na formação da sAPP β e do

peptídeo neurotóxico $A\beta$. Deste modo, a APP pode desempenhar um papel importante na fisiologia sináptica normal, bem como nos processos patológicos que levam à DA. No período atual, devido à pandemia de COVID-19, a população mundial precisou praticar o isolamento social (IS), algo que pode levar ao aumento dos sintomas ansiosos e depressivos, já que o IS e a solidão têm sido associados à depressão em diversos estudos, além de ser um fator de risco para a DA. Sendo assim, muitos buscam por estratégias para aumentar a neurogênese em pacientes com transtornos e doenças como a DA ou atuar como forma de prevenção. O enriquecimento ambiental (EA) tem sido utilizado como estratégia neuroprotetora no tratamento de déficits cognitivos, onde estudos com animais mostram que o EA pode promover a reversão de déficits de memória declarativa e social. Neste contexto, considerando que tanto o IS quanto o EA são fatores ambientais capazes de alterar a circuitaria neuronal cortical, assim como a de



seus alvos subcorticais, e considerando que a proteína APP e seus principais metabólitos exercem funções durante a organização do sistema nervoso, o presente trabalho visa avaliar (1) Se o IS pode modular os níveis da APP e de seus principais metabólitos em regiões encefálicas sensíveis ao estresse; (2) Se o EA, conhecido por promover várias formas de plasticidade neural e pelo seu envolvimento no tratamento de inúmeras condições médicas, poderia modular os níveis da APP e de seus principais metabólitos e (3) Se o EA seria capaz de reverter ou atenuar possíveis alterações tanto no comportamento, quanto nos níveis proteicos da APP e de seus metabólitos após o modelo de IS no hipocampo, córtex pré-frontal e no bulbo olfatório

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Ratos Lister-Hooded na idade p25 seguiram o protocolo de IS, onde foram divididos em 2 grupos, Isolados e Agrupados, permanecendo por 30 dias. Após o período de isolamento, seguimos com o protocolo de EA por 7 dias, onde os animais foram divididos em 4 grupos: Grupo Controle, Grupo Enriquecido, Isolado Controle e Isolado Enriquecido. Realizamos o teste do campo aberto, quantificando tempo gasto explorando as zonas do labirinto. Análises neuroquímicas foram feitas através da técnica de western blotting. Nossos resultados demonstram que o enriquecimento ambiental aumentou significativamente o comportamento exploratório dos animais, visto pelo maior tempo gasto explorando a zona central do campo aberto (N=10, $p=0,0439$; N=3, $p=0,0181$). Dados neuroquímicos preliminares sugerem que os

efeitos do IS e do EA sobre a sAPP α são expressos de forma diferente em várias áreas. No hipocampo, houve a diminuição significativa dos níveis de sAPP α nos animais isolados controle, se comparados ao grupo controle (N=5, $p=0,0152$). Já no córtex pré-frontal e no bulbo olfatório, há um aparente aumento da expressão da sAPP α nos grupos enriquecidos (N=3; N=1). Esses dados sugerem que tanto o IS quanto o EA poderiam modular a via não-amiloidogênica da APP neste modelo animal.

AGRADECIMENTOS:

Agradeço aos meus colegas do Laboratório Neurobiologia do Desenvolvimento e às agências de foment: FAPERJ, Proppi UFF e CNPQ.





Ciências Exatas e da Terra

HETEROGENEIDADE ESPACIAL E NICTEMERAL DAS EMISSÕES DE CO₂ EM LAGOS AMAZÔNICOS

Autor: Bruno Mançano Class

Orientadora: Roberta Bittencourt Peixoto

Departamento de Geoquímica

INTRODUÇÃO:

Águas interiores, como lagos e rios, transportam, metabolizam e emitem CO₂ em grandes quantidades, sendo reconhecidos como componentes chave do ciclo global do C (Battin et al, 2009; Cole et al, 2007). As extensas áreas alagadas da Amazônia representam cerca de 14% de toda bacia (Hess et al, 2015) e são sítios preferenciais tanto aos aportes de matéria orgânica provenientes da floresta (Sanders et al, 2017), quanto de liberação de gases estufa produzidos pela decomposição nos solos terrestres (Melack & Engle, 2009) ou no próprio meio aquático (Marotta et al, 2014; Cardoso et al, 2014). As altas temperaturas e pluviosidade anuais contribuem para tornar as taxas de produtividade da floresta amazônica dentre as mais elevadas da superfície terrestre (Nobre et al, 2013).

Trabalhos prévios indicam que lagos tropicais podem apresentar intensa emissão de CO₂ à atmosfera em virtude da intensa degradação biológica da matéria orgânica, embora também possam apresentar apreensão líquida desse gás (Marotta et al, 2009). A variação de CO₂ ao longo do ciclo diário também pode ser altamente importante nas águas lacustres (Staeher & Sand-Jensen, 2007), incluindo em latitudes tropicais (Marotta et al,

2012; Amaral et al, 2018). Nesse contexto, lagos com elevadas emissões de CO₂ à atmosfera evidenciam áreas mais sensíveis à evasão de gases de efeito estufa indicando-as como prioritárias para conservação e não para implementação de empreendimentos como reservatórios. Por isso, são fundamentais os estudos que objetivam quantificar a variabilidade e heterogeneidade das emissões de CO₂ de lagos amazônicos para atmosfera. Assim, o objetivo é avaliar a variação dos fluxos de CO₂ na interface água-ar de lagos da planície de inundação amazônica em relação aos diferentes períodos do dia (24h) e tipos de água classificadas como brancas pretas e claras, de forma a subsidiar a escolha de áreas prioritárias à conservação.

METODOLOGIA:

O fluxo de CO₂ na interface água-ar de lagos foi amostrado durante os anos de 2010, 2011 e 2015 no âmbito de outros projetos financiados no laboratório. Para investigar a variabilidade espacial e temporal foram acessados 25 lagos de águas brancas, 2 de águas pretas, 5 de águas claras próximo aos rios Madeira, Negro, Tapajós e Amazonas ao longo de três períodos do ciclo diário (6h00-11h59, 12h00-15h59 e 16h00-20h00). As

coletas ocorreram predominantemente nas estações de vazante (57%) e enchentes (21%). Foram utilizadas câmaras flutuantes (volume=8 L e área=0,049 m²) conectadas a um analisador infravermelho de CO₂ (IRGA-PP Systems) em sistema fechado (Lees et al, 2016). As incubações foram de curta duração (< 15 min) em cada um dos diferentes períodos do ciclo diário. Os cálculos dos fluxos de CO₂ foram pautados na maior inclinação estável da regressão linear significativa (p<0,05).

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Os lagos de água branca apresentaram um fluxo de CO₂ médio (8,24 ± 16,72 mmol m⁻² h⁻¹) ~2 vezes maior que os fluxos de CO₂ de águas claras (4,83 ± 6,55 mmol m⁻² h⁻¹) (Fig. 1), sendo que não apresentou diferença estatisticamente (FDR, p<0,05) quando comparado com águas pretas (8,87 ± 5,61 mmol m⁻² h⁻¹) (Fig. 1). Esses valores foram de 2 a 4 vezes maiores que os reportados para o Lago Curuai durante águas descendo (Ruddorf, 2011) e o maior valor encontrado é ~2 vezes menor que a média reportada de 15,45 mmol m⁻² h⁻¹ para águas crescentes (Ruddorf, 2011), cujos altos valores podem estar associados à riqueza de nutrientes nesses ecossistemas transportados pelos rios advindos dos Andes. (Junk et al, 2011)

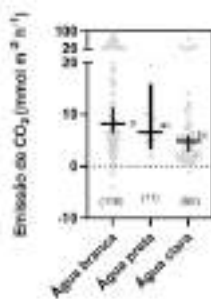


Fig. 1: Emissão de CO₂ (mmol m⁻² h⁻¹) de lagos de água branca, preta, clara na Amazonia.

Comparando os diferentes períodos estudados dentro de cada tipo de água (Fig. 2) observamos que, para as águas brancas e pretas, não houve diferença estatística (FDR, p<0,05) entre os horários. Os resultados também mostram que não houve diferença estatística (FDR, p <0,05) entre o período da tarde (12h às 16h) e anoitecer (16h às 20h), sendo assim, podemos extrapolar medições a tarde para calcular e estimar as emissões de CO₂ durante o anoitecer. Já para a água clara, o período do anoitecer (16h às 20h) apresentou um fluxo de CO₂ de 2,5 a 2,8 vezes menor quando comparado aos outros dois períodos (FDR, p<0,05).

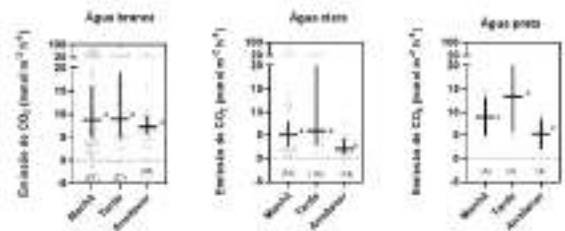


Fig.2: Comparação temporal dos fluxos de CO₂ (mmol m⁻² h⁻¹) em A) Água branca; B) Água clara e C) Água preta. As barras representam a mediana em (A) e (B) e representam a média em (C).

CONCLUSÕES:

Nesse sentido, o presente estudo mostra uma variação diária apenas para lagos de água clara e também uma variação espacial entre os tipos de água amazônica (branca, preta e clara). Assim, acredita-se que o estudo tenha grande importância para a acurácia das estimativas regionais de emissões líquidas de CO₂ de lagos amazônicos principalmente dado que muitas estimativas são baseadas em apenas uma amostragem de curta duração no período

diurno. Além disso, acredita-se que os resultados obtidos tenham grande implicação no avanço dos estudos sobre o papel das planícies de inundação de florestas tropicais úmidas para a emissão de gases de efeito estufa, além de gerar dados importantes para avaliar áreas prioritárias à conservação. Ressalta-se a necessidade de análises com um número maior de lagos de água preta e de análises com mais amostras noturnas (após 20h).

AGRADECIMENTOS:

O autor agradece o apoio financeiro da bolsa PIBIC-PD e aos colegas do Laboratório de Ecossistemas e Mudanças Globais (LEMG) e a GasUFF pelo apoio prestado durante o projeto.





Ciências Biológicas

DETECÇÃO DE *Escherichia coli* PRODUTORA DE BETA-LACTAMASES DE ESPECTRO ESTENDIDO SOB A PERSPECTIVA *ONE HEALTH*

Maria Theresa Xavier dos Santos¹; Geovana Espíndola Jardim¹; Aloysio de Mello Figueiredo Cerqueira¹; Júlia Peixoto de Albuquerque¹

Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Instituto Biomédico, UFF, ¹Laboratório de Enteropatógenos, Microbiologia Veterinária, Ambiental e de Alimentos - LEMA

INTRODUÇÃO

Escherichia coli é um bacilo Gram-negativo, anaeróbio facultativo pertencente à família Enterobacteriaceae, que habita de maneira comensal a microbiota intestinal de humanos e animais, principalmente em bovinos e aves. Apesar disso, *E. coli* é um dos principais patógenos humanos, podendo causar infecções intestinais e extraintestinais, dependendo dos patótipos envolvidos na infecção. Os mecanismos de resistência podem favorecer a infecção e levar à piora clínica do hospedeiro, pois a persistência da infecção aumenta as chances de disseminação da doença.

O crescimento da resistência antimicrobiana (RAM) constitui um problema de grande escala, que causa impactos na saúde pública global, afetando não somente o homem, mas também os animais e a natureza ao seu redor. Pensando em solucionar esse problema, a Organização Mundial da Saúde (OMS) organizou um plano global de vigilância para *E. coli* produtora de β -lactamase de espectro estendido (ESBL-Ec), usando a abordagem *One Health*. As β -lactamases são enzimas capazes de hidrolisar

os anéis β -lactâmicos dos fármacos desta classe, inativando-os.

Portanto este estudo se propôs a fazer um levantamento bibliográfico com a finalidade de realizar uma revisão, ainda no período de pandemia, sobre resistência e detecção ESBL-Ec.

Retornando às atividades presenciais, foram realizadas as coletas de amostras em ecossistemas marinhos - praias de Icaraí, Piratininga e Jurujuba, todas na cidade de Niterói, nos dias 21 de junho, 19 de julho e 23 de agosto de 2022, preparo dos meios de cultura seletivos para o isolamento e identificação de enterobactérias por métodos convencionais (provas bioquímicas) e MALDI-TOF, para posterior triagem do espectro de resistência em meios cromogênicos e avaliação da resistência através do teste de disco-difusão.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A revisão sobre o padrão de resistência aos antimicrobianos em ExPEC isolados de aves e seu ambiente de criação foi realizada de forma descritiva, visando uma abordagem *One Health* sobre o impacto do uso indiscriminado de antibióticos em sistemas de criação de aves. O

estudo concluiu o levantamento de dados e artigos publicados entre os anos de 2011 e 2021, analisando o perfil de resistência antimicrobiana de cepas de ExPEC em amostras animais, ambientais e humanas.

A partir da análise dos dados, foram encontrados testes de susceptibilidade para antimicrobianos de 14 diferentes classes. Ao longo de todo o período, as mais frequentes resistências observadas dentre os β -lactâmicos foram em amoxicilina (97,9%), flumequine (92,0%), neomicina (90,3%) e oxiticlina (88,0%). As menores frequências de resistência foram observadas em imipenem (4,2%), fosfomicina (4,4%), nitrofurantoína (5,2%), cefazolina (5,4%), netilmicina (6,0%) e piperacilina-tazobactam (9,4%).

Foram encontrados resultados de análises genotípicas para 1.591 amostras bacterianas (Quadro 1). Os isolados analisados apresentaram os genes que codificam as β -lactamases da classe A - CTX-M, TEM e SHV (ESBLs); as β -lactamases da classe C - CMY (plasmid-mediated AmpC-lactamases); e as β -lactamases da classe D - OXA (OXA- β -lactamases). Nenhum genótipo referente às β -lactamases da classe B – IMP, VIM e NDM (metalo- β -lactamases) foi encontrado. As maiores prevalências observadas para os genótipos de ESBL-Ec foram para CTX-M e TEM, sugerindo a sua importância na disseminação de resistência antimicrobiana em aves e potencial contaminação ambiental (Figura 1).

Quadro 1 - Prevalência de genes de resistência a beta-lactâmicos

Genes de resistência	Número de isolados	Prevalência (%)
CTX-M	1591	34,0
TEM	1561	11,0
SHV	1566	18,6
CMY	1064	18,0
OXA	627	1,8

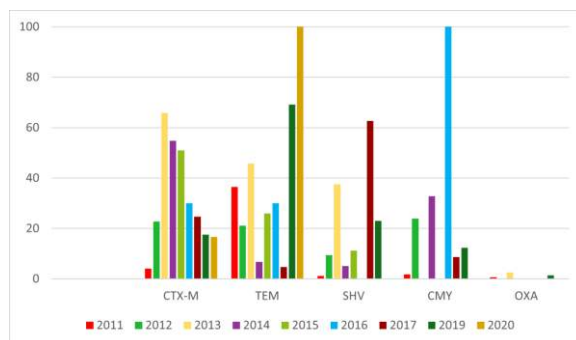


Figura 1 - Frequência (%) de genes de resistência a β -lactâmicos de 2011 a 2020.

Uma vez colonizadas por bactérias multirresistentes, a contaminação ambiental ocorre a partir das suas excretas que, contaminando o solo, podem levar à contaminação de águas superficiais próximas, bem como do lençol freático. Desta forma, a presença de animais carreadores de cepas bacterianas multirresistentes têm clara importância na manutenção da sanidade ambiental e, conseqüentemente, humana, via contaminação do solo e, principalmente, de fontes de águas naturais.

Retornando às atividades presenciais, foram realizadas as coletas de água para início do projeto em bancada.

Após as coletas, as amostras de água foram filtradas, visando a análise de balneabilidade e busca por *Escherichia coli* ESBL, KPC e Amp-C positivas. Até o presente momento foram submetidas à identificação por MALDI-TOF apenas alguns isolados da primeira coleta. Os resultados foram, por ponto de coleta: Piratininga - foram isoladas *Escherichia coli* e

Brevundimonas albigilva; Jurujuba - *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas alcaliphila*, *Serratia fonticola* e *Escherichia coli* a partir do ChromAgar ESBL, *Acinetobacter vivianii*, *Pseudomonas nitroreducens*, *P. putida* e *Stenotrophomonas maltophilia* a partir do ChromAgar KPC, além de todas as colônias lactose positivas isoladas pertencerem à espécie *E. coli*; já em Icaraí, as colônias submetidas à identificação foram oriundas apenas do ágar MacConkey e pertenciam às espécies *Proteus mirabilis*, *Comamonas kerstersii* e *E. coli*.

Os resultados da colimetria mostraram que Icaraí apresentava provável contaminação maior, dentre as três (Icaraí - 240 coliformes/100 mL, Jurujuba - 8 coliformes/ 100 mL, Piratininga - <2).

CONCLUSÕES

Apesar de a praia de Jurujuba aparentar ser mais impactada, inclusive com relação à própria geografia, pois é uma enseada mais fechada, Icaraí apresentou uma colimetria presuntiva maior. Entretanto, Piratininga, que é já mar aberto, fora da baía de Guanabara e com colimetria presuntiva abaixo de 2 coliformes/100 mL, apresentou um maior número de colônias nos meios cromogênicos do que as outras duas praias. Aparentemente, outros fatores podem influenciar de forma mais efetiva a presença de multirresistência em ambientes aquáticos. Entretanto, estas foram apenas as primeiras coletas e um conjunto maior de dados é necessário para que seja inferida a importância da influência antropogênica no resistoma aquático.

AGRADECIMENTOS:





**GRANDE ÁREA DO CONHECIMENTO: Ciências Biológicas.
TÍTULO DO PROJETO: PREVALÊNCIA DO PAPILOMAVÍRUS
HUMANO (HPV) EM INFECÇÕES GENITAIS E IMPACTO DA
VACINAÇÃO CONTRA HPV EM ALUNOS DO SEXO
MASCULINO DA UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
(UFF – NITERÓI).**

AUTORAS: Milena Siqueira Pereira, Silvia Maria Baeta

Cavalcanti, Katia Cristina da Silva e Nicole Costa.

**Departamento de Microbiologia e Parasitologia/ CMB/ Laboratório de Diagnóstico
Viroológico.**

INTRODUÇÃO:

A infecção pelo HPV é a Infecção Sexualmente Transmissível (IST) de origem viral mais frequente no mundo. Estima-se que mais de 50% dos indivíduos sexualmente ativos podem ser expostos a ele em algum momento da vida (BASEMAN; KOUTSKY, 2005). As infecções persistentes de alto risco por estes vírus estão associadas ao surgimento de lesões epidermóides de alto grau e ao desenvolvimento de cânceres anogenitais como, por exemplo, carcinomas de pênis; embora a maioria seja infecções transitórias, sendo combatidas espontaneamente pelo sistema imune (IARC, 2007; WHO-ICO, 2016). Nos homens, a prevalência de infecção pelo HPV em amostras anogenitais é em torno de 20%, sendo o HPV 16 o tipo mais comum (40,7%) e pode se manifestar de forma clínica, subclínica ou persistente. Em cerca de um terço à metade dos casos de câncer de pênis tem sido detectado algum tipo de HPV (STRATTON e CULKIN, 2016). Sendo assim, devido à importância em saúde pública que as infecções pelos HPV têm, tornou-se altamente desejável o

desenvolvimento de uma vacina profilática. Desse modo, em 2017, o Ministério da Saúde incorporou a população masculina de 11 a 14 anos de idade no esquema de duas doses (0 e 6 meses) ao calendário vacinal brasileiro do Sistema Único de Saúde (SUS) para a vacina quadrivalente *Gardasil®* contra os tipos 6 e 11 (baixo-risco) e 16 e 18 (alto-risco). O objetivo deste trabalho é avaliar a prevalência dos principais tipos de HPV e o impacto da vacina contra o HPV no sítio genital de alunos de sexo masculino na Universidade Federal Fluminense (UFF). Devido à alta sensibilidade a nível molecular, este trabalho visa determinar esta prevalência através da PCR genérica MY 09/11 e determinar os tipos de HPV pela técnica de Hibridização em Microarranjo de DNA (*microarray*).

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Das 100 amostras de esfregaço peniano testadas, em 17 foi observado algum resultado além dos controles. Foi possível detectar 19 tipos de HPV (HPV 6, 11, 18, 16, 31, 42, 51, 52, 54, 59, 61, 62, 66, 72, 73, 81, 82, 84 e 91), sendo assim 53% de baixo risco (HPV 6, 11, 42,

54, 61, 62, 72, 81, 84 e 91), 37% carcinogênicos (HPV 16, 18, 31, 51, 52, 59 e 66), 10% possivelmente carcinogênico (HPV 82 e 73). Os tipos de HPV mais frequentes foram o HPV 6 em seis amostras, seguido do HPV 11 em cinco amostras e, posteriormente do HPV 42 em três amostras. Estas 17 amostras foram genotipadas pela técnica de Microarranjo de DNA, aonde nove (53%) delas apresentaram infecção por um único tipo de HPV e oito (47%) tinham infecções por múltiplos tipos de HPV. Sendo, nos casos de infecção por um tipo, duas amostras pelo HPV 6, duas pelo HPV 11, duas pelo HPV 16, e uma para cada um genótipo de HPV 82, 54 e 61; já nos casos de infecções por múltiplos tipos a frequência foi de uma amostra para conjunto observado, como: HPV 6 e 42, HPV 11, 54 e 61, HPV 11, 31, 42, 52, 66, 72, 81 e 84, HPV 18 e 82, HPV 11, 42, 52, 62 e 66, HPV 6 e 59, HPV 6, 73 e 91, HPV 6 e 51. Tais resultados sugerem uma prevalência de HPV em 17% (17/100) na população estudada, corroborando dados da literatura internacional. A tipagem dos HPV de baixo risco se destaca nesse grupo sendo detectados em 10 das 17 amostras positivas (59%). Eles foram detectados sozinhos (n=7) ou em infecções múltiplas (n=8), estando acompanhados de tipos de alto risco (16, 18, 31, 51, 52, 59 e 66) em cinco pacientes – no qual são infecções consideradas de risco por apresentarem vírus com genótipo oncogênico associado. Nosso estudo demonstrou uma predominância dos tipos 6 e 11, assim como descritos em outros estudos (LACEY et al., 2020), porém acompanhados de outros quatro tipos bem prevalentes (HPV 42, 54, 61 e 82). Além disso,

das 17 amostras positivas, sete casos apresentaram tipos de alto risco para câncer (37%), embora quatro deles apareça associados a HPV de baixo risco (6, 11, 42, 62, 72, 81 e 84) e um associado ao HPV possivelmente carcinogênico (82). Ao longo dos dois anos de retorno destes pacientes positivos observamos a persistência do HPV em dois deles apenas, sendo o genótipo 6 (baixo-risco) e 51 (alto-risco) – taxa de persistência de 12% (2/17) e de eliminação em 88% (15/17) sugerindo infecções transitórias. Nenhum paciente previamente negativo foi infectado após dois anos da vacina, mostrando a eficácia da vacina, mas não efeitos terapêuticos. Vale ressaltar que as infecções que apresentaram vírus oncogênicos (a saber: HPV 16, 18, 31, 51, 52, 59 e 66) ou possivelmente carcinogênico (HPV 73 e 82) são consideradas de risco mesmo em alguns casos sendo infecções múltiplas associadas a HPV de baixo risco, pois embora nenhuma lesão genital tenha sido detectada, tais alunos podem transmitir o HPV aos parceiros sexuais e, especialmente no caso das mulheres, poderá haver desfecho desfavorável, com desenvolvimento de displasias, neoplasias e mesmo o câncer cervical. Já é reconhecido que o homem é uma importante fonte epidemiológica do HPV. Assim, seguiremos com o acompanhamento clínico dos estudantes, junto ao Setor de DST da UFF.

CONCLUSÕES:

Nesse sentido, tais resultados sugerem uma prevalência de HPV em 17% (17/100) na população estudada encontrando 19 genótipos diferentes de HPV em infecções únicas e

múltiplas, corroborando dados da literatura internacional. Embora a tipagem dos HPV de baixo risco se destaque nesse grupo eles também foram detectados em infecções duplas estando acompanhado de tipos de alto risco, o que considera estas infecções de risco por apresentarem vírus com genótipo oncogênico associado, demonstrando através da Hibridização em Microarranjo de DNA a possibilidade de compreender melhor as correlações entre os tipos de HPV. Ao analisar a persistência do vírus após o retorno destes pacientes positivos, observamos a presença de HPV em dois deles apenas, o que indica uma queda na prevalência com uma taxa de persistência de 12% e a taxa de eliminação em 88%, tendo em vista que 15 dos 17 positivos negativaram, o que sugere infecções transitórias que provavelmente o próprio organismo combateu. Já ao examinar o impacto da vacinação, nenhum paciente previamente negativo foi infectado após 2 ano da vacina, mostrando a eficácia da vacina, mas não efeitos terapêuticos. Dessa forma, embora os homens sejam público-alvo da vacina, não há um protocolo do Ministério da Saúde para diagnóstico e para acompanhamento vacinal o que o torna uma importante fonte epidemiológica do HPV.



AGRADECIMENTOS:

Agradeço a Universidade Federal Fluminense pelo local, os materiais cedidos e o incentivo. Agradeço a todos do Laboratório de Diagnóstico Viroológico por todo ensinamento passado e os momentos compartilhados durante essa jornada. E ao CNPq pelo fomento.



Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas II

Título do Projeto: EFEITOS DO CONSUMO CRÔNICO DE CAFEÍNA DURANTE A ADOLESCÊNCIA SOBRE O COMPORTAMENTO E CIRCUITO HIPOCAMPAL DE RATOS ADULTOS

Autores: Ana Gabriela da Silva Santos, Maria Carolina Peixoto Rodrigues, Paula Campello Costa Lopes

Departamento/Unidade/Laboratório: Neurobiologia, Instituto de Biologia, Laboratório de Neuroplasticidade

1. INTRODUÇÃO:

O sistema nervoso é dotado de uma grande capacidade de organização/reorganização dos seus circuitos em resposta a estímulos do ambiente (Martin, 2002). Esta característica é conhecida como plasticidade neural. Esta reorganização depende da habilidade das sinapses em alterar sua força em resposta à mudanças na atividade das suas vias (Johnston, 2009). O papel fisiológico destes processos está relacionado com o desenvolvimento do cérebro, a aprendizagem e a consolidação da memória (Malinow e Malenka, 2002). Estudos iniciais mostraram que essas mudanças estruturais ao nível sináptico induzidas por aprendizagem foram associadas à modificação comportamental.

O hipocampo é uma região do cérebro crítica para a aprendizagem e a memória (Poldrack e Packard, 2003). Uma variedade de estudos têm associado a plasticidade sináptica Hebbiana (Hebb, 1949) hipocampal com os processos de aprendizado e formação de memórias (Bliss e Lomo, 1973). Em particular, a contribuição da plasticidade sináptica mediada por NMDARs para a função do hipocampo vem recebendo muita atenção (Bannerman et al., 1995).

A adenosina é um importante neuromodulador que regula quase todos os sistemas de neurotransmissores clássicos incluindo glutamato, GABA, entre outros (Fredholm et al., 2005). A

adenosina atua no SNC em funções diversas tais como neuroproteção, neuromodulação e a plasticidade estrutural e sináptica em diferentes regiões do SNC dentre outras (Tavares-Gomes et al., 2009; Cunha, 2001; Dunwiddie, 2001).

A cafeína, a droga psicoativa mais consumida no mundo, antagoniza receptores de adenosina (Fredholm et al., 1999). Esta droga possui maior afinidade pelos receptores A1 com efeitos inibitórios na liberação de neurotransmissores e pelos receptores A2a, com ação facilitatória quanto à liberação de neurotransmissores e consequente estabilização sináptica (Fredholm et al., 1999). O consumo de cafeína está relacionado com mecanismos de aprendizado e memória, diretamente. Trabalhos mostram que a droga altera a neurogênese de células hipocampais, de forma dose-dependente, além de relacionar a cafeína com testes que avaliam o aprendizado dependente de hipocampo e memória de longo prazo (Han et al., 2007; Wentz, 2009).

2.OBJETIVOS

Os objetivos gerais do trabalho estão relacionados com a investigação dos efeitos da ingestão crônica de cafeína durante a adolescência sobre a neuroquímica do hipocampo e o comportamento animal em ratos da linhagem Lister Hooded. Avaliamos: (1) O comportamento relacionado à

ansiedade, locomoção e memória; (2) a expressão de marcadores dos sistemas glutamatérgico e adenosinérgico.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL

O teste de labirinto em cruz elevado foi realizado para avaliar o comportamento relacionado à ansiedade dos animais. Avaliamos o tempo gasto nos braços abertos do labirinto. Os animais que receberam cafeína cronicamente apresentaram um menor tempo dentro dos braços abertos, o que indica que esses animais apresentam um comportamento tipo ansioso quando comparados com os animais do grupo controle. Já o teste de campo aberto foi realizado para avaliar as habilidades motoras e exploratórias dos animais. O grupo tratado com cafeína apresentou o mesmo tempo em movimento no aparato em relação ao seu respectivo grupo controle, o que sugere que não há nenhum comprometimento motor associado ao tratamento com a cafeína. Além disso, também foi avaliado o tempo de latência para entrada na zona periférica do aparato e os animais tratados com cafeína apresentaram tempos menores que os dos animais controle. Avaliamos ainda, o tempo gasto na zona periférica e na zona central do aparato. Os animais tratados com cafeína passaram a maior parte do tempo na zona periférica e menos na zona central. Em conjunto, estes dados corroboram com os anteriores reforçando comportamentos relacionados a ansiedade.

3.2 ANÁLISE NEUROQUÍMICA

O tratamento com a cafeína induziu a um aumento no conteúdo total de receptor A1 e uma maior imunomarcagem para esses receptores no hipocampo de animais adolescentes. Nossos resultados também demonstraram que os animais tratados com cafeína de DPN20 até DPN40 apresentaram maior expressão da subunidade

GluN1 que é sua subunidade constitutiva do NMDA no hipocampo em relação aos animais controle, indicando um aumento total deste receptor na superfície das células. Além disso observamos uma redução de GluN2a e aumento de GluN2b no grupo tratado com cafeína.

4 - CONCLUSÕES

Em conjunto estes resultados sugerem que as alterações glutamatérgicas possam ser a base neuroquímica para explicar o comportamento do tipo ansioso em animais submetidos a exposição crônica com doses moderadas de cafeína. Mais estudos são necessários para ampliarmos esta análise e ainda avaliar outros sistemas de neurotransmissão como o GABA, por exemplo.

5 - AGRADECIMENTOS:

Ao CNPQ (Bolsa PIBIC-UFF, PQ2), FAPERJ (CNE), CAPES (Bolsas de doutorado).



FARMACOLOGIA

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIPROLIFERATIVO IN VITRO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *CYMBOPOGON FLEXUOSUS* E DO COMPOSTO CITRAL E CITRAL COMPLEXADO COM CICLODEXTRINA FRENTE A LINHAGEM DE CÂNCER CERVICAL (HELA).

Julio Cesar Thurler Júnior, Thiago Sardou Charret, Vinicius D'ávila Bitencourt Pascoal.
Departamento de Ciências Básicas/ Instituto de Saúde Nova Friburgo/ LMCT

INTRODUÇÃO:

1.1. PRODUTOS NATURAIS NA MEDICINA.

A utilização de produtos naturais (PNs) para tratar enfermidades humanas remonta de tempos tão longínquos quanto a própria espécie. Essa ampla utilização se dá justamente pelas propriedades farmacológicas presentes nas diferentes espécies, em especial as atividades antibacterianas, anti-inflamatórias e antitumorais (BORCHARDT, 2002). No caso dos PNs de origem vegetal, tais propriedades biológicas se relacionam à produção de metabólitos secundários, que apresentam diversas funções vegetais como proteção química, física, contra predadores e contra espécies competidoras (CECHINEL FILHO *et al.*, 1998). Entretanto, em outros sistemas biológicos, esses metabólitos secundários podem desempenhar papéis diferentes quando interagem com receptores endógenos.

Diversos fármacos em utilização comercial são derivados de PNs. A aspirina, por exemplo, é um anti-inflamatório derivado da salicina,

extraída da árvore do Salgueiro (DESBOROUGH e KEELING, 2017). Já o Taxol, isolado da casca do Teixo-do-Pacífico, deu origem aos taxanos, uma classe de quimioterápicos que incluem o Paclitaxel e o Docetaxel (GOODMAN e WALSH, 2001).

Desta forma, a utilização de Produtos Naturais para o tratamento de diversas patologias, incluindo o câncer, se justifica pelo potencial das plantas em produzir moléculas bioativas.

1.2. *CYMBOPOGON FLEXUOSUS*

O *Cymbopogon flexuosus*, também conhecido como capim-limão, tem demonstrado efeitos antifúngicos, antibacterianos e anti-inflamatórios *in vitro* (PORFÍRIO *et al.*, 2017). O composto majoritário desta planta é o Citral, uma mistura de dois aldeídos monoterpênicos isoméricos. Entretanto a atividade anticâncer de *C. flexuosus* e de seu composto majoritário é ainda pouco explorada pela literatura.

1.3. COMPLEXAÇÃO COM CICLODEXTRINAS

A utilização prática de óleos essenciais e seus compostos majoritários é limitada devido à sua baixa solubilidade em água, por serem compostos hidrofóbicos, e devido à sua baixa estabilidade a agentes ambientais como oxigênio e temperaturas elevadas, sendo altamente voláteis (LU et al., 2017).

As ciclodextrinas (CDs) são oligossacarídeos de característica anfipática e têm sido amplamente utilizadas para melhorar a biodisponibilidade de produtos naturais, como terpenos e óleos essenciais, potencializando a sua aplicação farmacológica (RODRIGUES et al., 2017)

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

O óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus* foi submetido a identificação dos compostos por GC-MS com gás transportador He. A análise revelou como composto majoritário o α -Citral (43,67%) e o β -Citral (26,52%), resultado compatível com a literatura sobre a espécie.

No ensaio de viabilidade celular de MTT, foram obtidos os IC_{50} do óleo essencial de *C. flexuosus*, do Citral e do Citral complexado com ciclodextrina com os valores de 2,9 μ g/mL, 19mM e 5,9mM, respectivamente. Enquanto a Doxorrubicina, um quimioterápico já utilizado no mercado apresentou IC_{50} de 2,7mM. Dessa forma, as amostras testadas apresentam potencial antiproliferativo contra células HeLa. Sendo que a atividade do Citral foi melhorada de forma relevante com a complexação da β -Ciclodextrina, provavelmente pelo aumento da solubilidade da molécula.

O Índice de Seletividade (IS) foi obtido pela seguinte razão: $IS = \frac{IC_{50} \text{ célula não tumoral}}{IC_{50} \text{ célula tumoral}}$,

no qual moléculas com IS acima de 2 são consideradas seletivas. Utilizando células NIH-3T3 como não tumorais, o índice de seletividade do óleo essencial e do Citral foi, respectivamente, de 5,67 e 3,67, indicando seletividade dos compostos.

No ensaio de migração celular, células HeLa foram tratadas na concentração do IC_{50} por 24 horas. O óleo essencial de *C. flexuosus*, do Citral e da Doxorrubicina apresentaram, respectivamente, uma área do risco comparada à inicial de, 86,81%; 91,18%, 77,83%. Quanto maior a porcentagem do risco, maior foi a inibição da migração das células cancerosas, desta forma, tanto o óleo essencial quanto o Citral foram capazes de inibir a migração celular de forma mais pronunciada do que o quimioterápico Doxorrubicina.

CONCLUSÕES:

Conclui-se então que o óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus* e o Citral, seu composto majoritário, apresentam atividade antiproliferativa com 48hrs e antimigratória com 24hrs de tratamento. Além disso, a complexação com β -Ciclodextrina potencializou a atividade antiproliferativa do Citral, possivelmente pelo aumento da solubilidade. Mais estudos são necessários para avaliar os mecanismos pelo qual o Citral causa citotoxicidade às células tumorais.

basilicum complexed with β -cyclodextrin (β -CD) in mice. Food Chem Toxicol. 2017 Nov;109(Pt 2):836-846

AGRADECIMENTOS:

Ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica da Universidade Federal Fluminense pela contribuição à formação acadêmica de centenas de alunos. Ao CNPq e à FAPERJ pelo fomento, essencial à viabilidade deste projeto.

REFERÊNCIAS:

- 1.. Borhardt JK. The Beginnings of Drug Therapy: Ancient Mesopotamian Medicine. Drug News Perspectives, 2002; 15,187-192.
2. Cechinel-Filho V, Yunes RA. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais: conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. Química Nova, 1998, 21, 99-105.
4. Desborough M. J. R., Keeling, D. M. The aspirin story – from willow to wonder drug. British Journal of Haematology. 2017, 177, 674-683.
5. Goodman J., Walsh V. The Story of Taxol: nature and politics in the pursuit of an anti-cancer drug. Cambridge Press. 1ª ed, 2001.
6. Lu WC, Huang DW, Wang CR, Yeh CH, Tsai JC, Huang YT, Li PH. Preparation, characterization, and antimicrobial activity of nanoemulsions incorporating citral essential oil. J Food Drug Anal. 2018 Jan;26(1):82-899.
7. Porfírio em, et al. In Vitro Antibacterial and Antibiofilm Activity of Lippia alba Essential Oil, Citral, and Carvone against Staphylococcus aureus. ScientificWorldJournal. 2017; 2017:4962707.
8. Rodrigues LB *et al.* Anti-inflammatory activity of the essential oil obtained from Ocimum



CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ANÁLISE QUALI-QUANTITATIVA DE MICROPLÁSTICOS NAS ÁGUAS SUPERFICIAIS DE UM TRECHO RIO PARAÍBA DO SUL, RIO DE JANEIRO, BRASIL

EDUARDO DE FREITAS QUEIROZ E IGOR DAVID DA COSTA

DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS EXATAS, BIOLÓGICAS E DA TERRAS (PEB) / INSTITUTO DO NOROESTE FLUMINENSE DE EDUCAÇÃO SUPERIOR (INFES) / CURSO DE CIÊNCIAS NATURAIS / LABORATÓRIO DIDÁTICO DE ENSINO DE CIÊNCIAS

INTRODUÇÃO

Os resíduos plásticos estão cada vez mais presentes no cotidiano da sociedade, apresentando dimensões e cores variadas (DERRAIK, 2002). Os plásticos são constituídos de polímeros sintéticos e fabricados em larga escala, sendo um material versátil devido às suas características de isolamento térmico, resistência à corrosão e baixo custo (ANDRADY, 2009). De acordo com seu tamanho, os plásticos são classificados como megaplásticos (> 1m), macropelásticos (> 2,5cm), mesoplásticos (> 5mm), micropelásticos (MPs) (> 1 μ m) e nanopelásticos (< 1 μ m) (ARTHUR *et al.*, 2009; LIPPIATT *et al.*, 2013).

A bacia do rio Paraíba do Sul é o maior sistema hidrográfico da região biogeográfica do sudeste brasileiro, sendo de extrema importância ambiental e econômica para a região. Este abrange uma das áreas industriais mais desenvolvidas do Brasil,

região que contribui com 10% do produto interno bruto brasileiro (CEIVAP, 2006). Ao considerarmos a importância da temática apresentada, o presente trabalho teve como objetivo realizar uma análise quali-quantitativa dos MPs de águas superficiais em um trecho do baixo rio Paraíba do Sul, visando contribuir para a compreensão da poluição de MPs nos sistemas de águas continentais.

O rio Paraíba do Sul (20° 26' e 23° 00' S; 41° 00' e 46° 30' O) é a segunda maior bacia hidrográfica do leste brasileiro (55.300 km²), responsável pelo abastecimento dos Estados de São Paulo, Minas Gerais e Rio de Janeiro (CINTRA, 2020). O período de seca ocorre entre os meses de junho a agosto (inverno), representando somente 6% de toda a chuva anual na região.

As amostragens foram realizadas no município de Itaocara, nos seguintes pontos amostrais: 1) ponto amostral na região central do município, denominado "Itaocara", 2) ponto "Batatal", localizado 5 Km a montante do

ponto Itaocara; 3) ponto “Portela”, localizado 15 km a jusante do ponto Itaocara e 4) na confluência dos rios Pomba e Paraíba do Sul. Para as amostragens de água em cada ponto amostral foram utilizados dois métodos de coleta, sendo estes: (i) amostragens de 2 L de água, com auxílio de garrafas de vidro e (ii) uma rede de plâncton, com 30 cm de diâmetro de abertura, 70 cm de comprimento e malha de 20 µm.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram coletadas um total de 290 partículas plásticas. O período da cheia apresentou 201 MPs (69,3%) e o período da seca 89 MPs (30,6%). No período da cheia a maioria dos MPs pertence à categoria de fragmentos ($n = 124$; 61,6%), seguido de filamentos ($n = 77$; 38,3%), já no período da seca os filamentos ($n = 82$; 92,13%) foram os predominantes, seguido dos fragmentos plásticos ($n = 7$; 7,8%). Referente a coloração, nove cores foram encontradas, sendo estas: azul, preto, marrom, verde, amarelo, vermelho, cinza e branco, em ambos os períodos. Além das cores citadas, foram encontrados fragmentos com ausência de coloração, classificado como transparente e com várias cores, classificados como “multicolorido”.

Dentre todas as cores de MPs amostrados, a coloração azul (cheia = 75; seca = 50), vermelha (cheia = 19; seca = 4) e transparente (cheia = 13; seca = 7) foram as predominantes encontradas nas duas categorias (filamentos e fragmentos). Não houve diferença significativa na abundância de MPs entre os pontos de coleta (Anova; $F = 1,72$; $p = 0,18$). O período da cheia apresentou abundância média (média = 12) (Teste t; $F = 3,46$; $p = 0,02$) e riqueza (média = 3,5) (Teste t; $F = 2,17$; $p = 0,03$) de

MPs superior ao período da seca (médiaAbundância = 6; médiaRiqueza = 2).

CONCLUSÕES

A presente pesquisa avaliou a influência da sazonalidade e espacialidade na abundância e riqueza de MPs no trecho baixo da bacia do rio Paraíba do Sul. A ocorrência de MPs nos pontos de coleta foi de 100%. Destacamos que as principais fontes de contaminação de MPs no rio Paraíba do Sul, são relacionadas a ausência de ETEs nos municípios, promovendo a descarga *in natura* de esgoto doméstico no corpo hídrico; a presença de diversas indústrias localizadas ao longo do percurso do rio, que não se preocupam com o tratamento de seus efluentes e o desmatamento das margens do rio, que retira a capacidade de retenção de partículas para o interior do rio.

Considerando que o Brasil é o 4º maior produtor de lixo plástico do mundo, e menos de 2% do total produzido é reciclado, é urgente o monitoramento de tal impacto no ambiente, assim como o desenvolvimento de políticas públicas que atuem na não introdução dos MPs no ambiente.



Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas

Título do Projeto: ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO ENTRE OS POLIMORFISMOS -1377G/A NO GENE *FAS* E -844T/C NO GENE *FASL* E A GRAVIDADE DA SILICOSE OU SUSCETIBILIDADE À SILICOTUBERCULOSE EM TRABALHADORES EXPOSTOS À SÍLICA NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

Autores: Thayane da Silva Ramos, 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), que provoca uma reação fibrogênica pulmonar. É uma das mais importantes doenças pulmonares ocupacionais do mundo e se deu a partir do desenvolvimento do processo de industrialização, como mineração, trituração, moagem, corte e lapidação de pedras, extração de rochas dentre outros processos. O diagnóstico se dá a partir do histórico ocupacional do paciente, podendo ser classificada de acordo com as manifestações radiológicas da doença em silicose simples ou complicada. A forma simples é caracterizada pela presença de nódulos de 1-10mm de forma difusa, principalmente nas regiões posteriores dos lobos superiores. Já a forma complicada é caracterizada pela presença de grandes opacidades oriundas da fusão dos nódulos (tamanho superior a 10mm), que com o passar do tempo o conglomerado pode aumentar de tamanho, sofrendo confluência e

destruindo a arquitetura pulmonar em ambos os lobos.

A gravidade na manifestação do fenótipo depende da interação de diversos fatores ambientais e genéticos. Além disso, indivíduos expostos à sílica possuem um risco aumentado de desenvolvimento de tuberculose (Tb), sendo que pacientes silicóticos apresentam um risco 40 vezes maior, e indivíduos expostos à sílica saudáveis um risco 3,7 vezes maior, quando comparados à indivíduos não expostos saudáveis.

FAS (*Fas cell surface death receptor*) é um receptor de superfície celular que atua juntamente com seu ligante natural, *FASL*, sobre a apoptose. Os genes *FAS* e *FASL* são pertencentes à família do receptor TNF e suas mutações interferem na cascata de sinalização que leva à morte celular. Nesse estudo, dois polimorfismos serão avaliados: -1377G/A em *FAS*; e -844T/C em *FASL*, com o objetivo de avaliar as suas influências na gravidade clínica da silicose (simples e complicada) e na ocorrência de silicotuberculose em

trabalhadores expostos à sílica no estado do Rio de Janeiro.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

A amostra consistiu em 129 trabalhadores com história de exposição à sílica no estado do Rio de Janeiro, classificados em silicose simples (52 pacientes) e silicose complicada (77 pacientes). Destes, 62 pacientes tiveram tuberculose. Os dados clínico-demográficos avaliados foram os seguintes: tempo de exposição à sílica (anos), carga horária semanal de trabalho, tempo de afastamento do trabalho (anos) e carga tabágica (maços/ano). As amostras de DNA foram obtidas a partir de células bucais dos pacientes e submetidas à amplificação dos fragmentos contendo os polimorfismos -1377G/A em *FAS* e -844T/C em *FASL*, respectivamente, por Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) em tempo real, através da utilização de ensaios Taqman® específicos (C_12123966_10 e C_3175437_10, respectivamente; Thermo Fisher Scientific, Brasil). Nossa amostra total mostrou as seguintes médias (\pm DP) para características clínico-demográficas: tempo de exposição à sílica 21,29 (\pm 8,94) anos, carga horária semanal de trabalho 47,60 (\pm 9,52) horas, tempo de afastamento do trabalho 13,81 (\pm 9,36) anos, e carga tabágica 34,93 (\pm 30,67) maços/ano. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as duas formas clínicas da silicose (simples e complicada), com $p=0,116$ para tempo de exposição à sílica; $p=0,131$ para tempo de afastamento do trabalho; $p=0,774$ para carga horária semanal de trabalho; e $p=0,694$ para carga tabágica, indicando que estas variáveis

não tiveram influência na gravidade clínica da silicose em nossa amostra. Para os grupos com e sem tuberculose, também não houve diferenças entre os dois grupos quanto ao tempo de exposição ($p=0,891$), tempo de afastamento do trabalho ($p=0,511$), carga horária semanal de trabalho ($p=0,511$) e carga tabágica ($p=0,990$).

Em relação aos dados genéticos, a distribuição dos genótipos de ambos os polimorfismos se encontra em equilíbrio de Hardy-Weinberg. Para o polimorfismo *FAS* -1377G/A, não foram encontradas diferenças significativas na distribuição dos alelos ($p=0,729$) e dos genótipos ($p=0,709$) entre os grupos de silicose simples e complicada, assim como, para a prevalência de silicotuberculose (genótipos $p=0,509$; alelos $p=0,540$). Já para *FASL* -844C/T, foram encontradas diferenças significativas na distribuição dos alelos ($p=0,047$), assim como na distribuição dos genótipos em um modelo dominante para o alelo T ($p=0,037$), entre os grupos de silicose simples e complicada. Quando considerando a prevalência de silicotuberculose, não foram encontradas diferenças significativas para os genótipos ($p=0,584$) e alelos ($p=0,258$) de *FASL* -844C/T.

CONCLUSÕES:

Assim, pode-se concluir que não houve associação estatisticamente significativa entre a gravidade da silicose ou prevalência de tuberculose e -1377G/A no gene *FAZ*, assim como para nenhuma variável clínico-demográfica analisada. Porém, foi possível observar uma associação entre -844T/C no

gene *FASL* e a gravidade da silicose, mas não com a silicotuberculose.

AGRADECIMENTOS:

CNPq, CAPES, PIBIC/UFF, Propri/PDI/UFF.



Ciências Biológicas II

ANÁLISE FUNCIONAL DE MMP-9 E CXCR4 EM CÉLULAS ENDOTELIAIS NO CONTEXTO DA ANGIOGÊNESE DE GLIOBLASTOMA

Lucas Cunha Barbosa, Manoela Heringer, Lucas Quintanilha, Valéria Pereira Ferrer

Departamento de Biologia Celular e Molecular/ Instituto de Biologia/ Laboratório de Biologia Celular e Molecular de Tumores

INTRODUÇÃO:

Os gliomas difusos se originam das células da glia, as quais estabelecem uma conexão metabólica com os vasos sanguíneos e o parênquima cerebral. O glioblastoma (GB) é o tipo de glioma difuso mais agressivo, sendo caracterizado por sua heterogeneidade, resistência à radioterapia e à quimioterapia, bem como por possuir alta taxa de angiogênese e vasculatura aberrante. Pacientes portadores de GB, submetidos a tratamentos, têm uma sobrevida média de 12 a 15 meses. Por possuírem acentuada taxa de angiogênese, o estudo da microvasculatura que compõe o tumor e a maneira pela qual esse modifica os vasos já existentes é de grande interesse, inclusive para novos focos terapêuticos, visto que a terapia anti-angiogênica atual em fase pré-clínica falha a longo prazo. Portanto, há necessidade de um maior entendimento da relação molecular entre as células endoteliais (CE) e as células de GB, principalmente tendo o foco nas CE. Anteriormente, estabelecemos a

comunicação entre CE da microvasculatura cerebral (HBMEC) e GB através de meio condicionado (GB-MC). Não verificamos diferença na proliferação de HBMEC, ao passo que essas CE se tornaram mais migratórias quando tratadas com GB-MC. Nossos dados sugerem que as HBMECs tratadas aumentaram a capacidade migratória pelo aumento da enzima MMP-9 e do receptor CXCR4. Com o intuito de aprofundar esses estudos, no presente projeto cultivaremos as células HBMEC em matriz extracelular (MEC) pré-formada por HBMEC (controle) ou GBs (teste).

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Para tal foi necessário padronizar a obtenção da MEC pré-formada livre de células para os ensaios posteriores. Para ocorrer a lise celular e possibilitar uma matriz livre de células, foi testado o tampão Triton X-100 e a água Milli Q como alternativa ao tampão. O tampão Triton possui propriedades semelhantes a um detergente neutro e foi utilizado para lisar as células para a obtenção de uma matriz livre de células. A água Milli Q foi testada como uma alternativa ao tampão triton, porém o tampão possuiu uma eficiência melhor se comparado com a água Milli Q pura.

Para a confirmação, foi realizada uma imunofluorescência para confirmar a qualidade e eficiência do tampão. Para a marcação das células foi utilizado o 4,6-Diamidino-2-phenylindole (DAPI) que é um fluorocromo capaz de adentrar na membrana celular e se ligar de forma covalente a dupla fita de DNA no núcleo celular sendo um importante marcador através da fluorescência. Dessa forma, foi

possível afirmar que na marcação com a água Milli Q foi observado um número maior de células intactas se comparado ao tampão Triton. A fibronectina também foi marcada para avaliar a quantidade de matriz formada, ela é uma proteína de matriz bem conhecida que é responsável por diversas interações entre a célula e a matriz extracelular. Ao modificar geneticamente camundongos para não produzirem a fibronectina, os fetos morriam logo no início da embriogênese devido a malformações na angiogênese. Para efeito de comparação, as imagens da imunofluorescência com DAPI e da Fibronectina foram sobrepostas (MERGE) e também foram analisadas. Após a escolha do tampão triton como a melhor solução para a lise celular, foi idealizado que a adição de uma camada de gelatina aumentaria a aderência da matriz celular assim como a sua organização. Então, foram divididos 2 grupos para determinar qual seria a melhor opção, o cultivo celular com gelatina ou diretamente no plástico. Então as células foram cultivadas nos 2 ambientes e analisadas antes e depois da lise com tampão Triton. Para realizar essa comparação, foi realizada uma imunofluorescência e uma micrografia óptica invertida das células. Os resultados comprovaram que as células de GBM02 e de HBMEC que foram cultivadas em gelatina possuíam uma matriz mais ordenada e menos danificada se comparado às células que foram cultivadas diretamente no plástico. Após confecção e acondicionamento do meio condicionado este será utilizado em experimentos futuros.

CONCLUSÕES:

Portanto, foi possível observar que para a lise celular na obtenção de uma matriz celular livre de células, o tampão Triton foi mais eficiente e atuou de forma a preservar melhor a matriz. Os testes de imunofluorescência com a água Milli Q demonstram que ocorreu perda não só das células de GBM, mas da matriz também. Ao utilizar a gelatina foi possível afirmar que garantiu a integridade da matriz na placa dando coesão e contribuindo na organização e possivelmente na manutenção da atividade biológica.

REFERÊNCIAS

DE Oliveira Rosario LV, DA Rosa BG, Goncalves TL, Matias DIL, Freitas C, Ferrer VP. Glioblastoma Factors Increase the Migration of Human Brain Endothelial Cells In Vitro by Increasing MMP-9/CXCR4 Levels. (2020) DOI: 10.21873/anticancerres.14244.

V.P. Ferrer, V. Moura Neto, R. Mentlein. Glioma infiltration and extracellular matrix: key players and modulators, *Glia*. (2018). DOI: 10.1002/glia.23309

AGRADECIMENTOS

Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq); Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ); Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES); Universidade Federal Fluminense (UFF).



Ciências Biológicas

CAFEÍNA MODULA O SISTEMA GABAÉRGICO DE RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS (SHR)

de Moura, P., Rodrigues, B.M., Pereira, M. S., Kubrusly, R.C.C.

Laboratório de Neurofarmacologia - UFF, Niterói, Brasil

INTRODUÇÃO:

O Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH) é uma doença crônica caracterizada por sinais de desatenção, hiperatividade e impulsividade, sendo possível reverter esses sintomas com o uso farmacológico de psicoestimulantes como o metilfenidato e, segundo a literatura, com o tratamento crônico com cafeína (CAF), que tem como um de seus mecanismos de ação o antagonismo não-seletivo dos receptores de adenosina (A1R e A2AR). Esses receptores estão presentes em vários sistemas de sinalização, incluindo o GABAérgico. Portanto, nosso objetivo é avaliar se a CAF é capaz de modular o circuito GABAérgico no corpo estriado de ratos SHR adolescentes em comparação com ratos Wistar.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Inicialmente, para caracterizar o transporte de GABA no estriado dos animais Wistar e SHR, realizamos experimentos de captação de [³H]-GABA no estriado sob diferentes condições experimentais (No-711, S/Na e baixa temperatura). Em todas as condições experimentais foram observadas reduções significativas na captação de [³H]-GABA levando

em consideração que: 1) No-711 é um inibidor do transportador de GABA tipo 1 (GAT-1), logo, quando bloqueado, ocorre redução na captação; 2) o sódio é um importante controlador de substâncias que entram e que saem de dentro delas. Sua ausência também vai reduzir os níveis de captação; 3) 8°C (baixa temperatura) também vai reduzir os níveis de captação, pois o metabolismo celular estará mais lento. Além disso, também avaliamos os níveis de expressão do GAT-1 em fatias estriatais de ambos os grupos, e nenhuma diferença significativa para a expressão de GAT-1 entre os animais Wistar e SHR.

Também decidimos avaliar se o tratamento agudo ex-vivo em fatias estriatais com cafeína seria capaz de melhorar o transporte de GABA. Como resultado, não observamos alterações nos níveis de captação e liberação de [³H]-GABA nos animais Wistar. Por outro, a cafeína foi capaz de aumentar os níveis de captação e liberação de [³H]-GABA nos animais SHR, mas esse aumento não foi associado a um aumento na expressão proteica de GAT-1 no estriado desses animais.

Também realizamos um tratamento com o agonista do receptor A1, o fármaco CHA. Este impediu o aumento antes realizado pela cafeína

nos animais SHR. Nenhuma diferença significativa foi observada nos animais Wistar.

Os níveis de AMPc em ratos Wistar também não foram alterados. Mas, nos animais SHR, os níveis de AMPc aumentaram após o tratamento com cafeína, que novamente foi impedida pela presença do CHA.

Para avaliar se os níveis de expressão do A1R alterariam em ambas as linhagens, realizamos tratamento agudo com cafeína em fatias estriatais; a expressão do A1R manteve-se sem alterações em sua expressão tanto nos animais Wistar quanto nos SHR.

Por fim, decidimos analisar se a via PKA estaria contribuindo para a modulação do transporte GABAérgico dependente da cafeína. Não foram observadas diferenças significativas na captação basal de $[^3\text{H}]$ -GABA com o tratamento com CAF nos animais Wistar, e a adição de H-89 reduziu a sua captação, sozinho ou combinado com CAF. Em relação ao grupo SHR, a cafeína induziu aumento nos níveis de captação, enquanto o H-89 impediu esse aumento. H-89 sozinho também diminuiu a captação de GABA nos animais SHR.

CONCLUSÕES:

A cafeína age como antagonista não-seletivo dos receptores de adenosina A1 e A2a, distribuídos amplamente em diversas áreas do cérebro, incluindo o estriado. Por este motivo, essa substância psicoativa interage com diversos sistemas de neurotransmissores, incluindo o sistema GABAérgico. No presente estudo, foi possível observar que o tratamento agudo e ex-vivo com cafeína no estriado de animais SHR foi capaz de alterar o perfil de

captação e liberação de $[^3\text{H}]$ -GABA no estriado dos ratos adolescentes quando comparados com os animais Wistar. Além disso, também observamos que o efeito da cafeína é bloqueado quando na presença do agonista do A1R, o CHA, e do bloqueador da via da PKA, o H-89. Isto pode estar indicando que o efeito da cafeína interage com o bloqueio do A1R e com a sinalização via AMPc. Além disso, também observamos que os efeitos da cafeína no transporte de GABA não estão associados ao aumento nos níveis de expressão do GAT-1 ou do A1R.

AGRADECIMENTOS:

Agradeço a minha orientadora, Dr^a. Regina Kubrusly, a todos os membros do Laboratório de Neurofarmacologia e às agências de fomento Proppi-UFF, CNPq e FAPERJ.





Ciências Biológicas

TÍTULO DO TRABALHO: UMA PARCELA SIGNIFICATIVA DOS ALUNOS DA ÁREA DA SAÚDE NÃO ESTÁ IMUNIZADA COMO DEVERIA

PROJETO: COMO ANDA A SITUAÇÃO VACINAL E O CONHECIMENTO SOBRE INFECÇÕES IMUNOPREVENÍVEIS ENTRE ALUNOS DO ENSINO MÉDIO E UNIVERSITÁRIOS DE INSTITUIÇÕES

PÚBLICAS E PRIVADAS DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO?

Autores: Samuel Stoliar de Vilhena Machado, Camila Costa dos Santos, Eliza da Costa Pinto, Leonardo Motta de Abreu, Pedro Barbosa Gomes, Ana Lorena Lima Ferreira, Gina Peres Lima dos Santos, Silvia Maria Baeta Cavalcanti, Claudia Lamarca Vitral

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

INTRODUÇÃO:

A imunização é uma das intervenções de maior êxito na saúde pública para o controle de doenças infecciosas, salvando a vida de 3 milhões de pessoas anualmente e reduzindo desigualdades na saúde. Entretanto, nos últimos anos, vem sendo identificada uma crescente queda na cobertura vacinal contra diversas doenças graves. Profissionais da área da saúde (PAS) apresentam risco aumentado de infecção por doenças transmissíveis, sendo várias delas preveníveis por vacinação. Alguns estudos investigaram o estado vacinal dos PAS, mas poucos incluíram estudantes em formação. O objetivo foi avaliar a situação vacinal e o conhecimento sobre infecções imunopreveníveis entre graduandos dos dois primeiros anos da área da saúde da Universidade Federal Fluminense, UFF. Um estudo transversal foi realizado de agosto de

2018 a julho de 2022. Participaram 898 alunos dos cursos de Biologia, Biomedicina, Enfermagem, Farmácia, Medicina, Nutrição, Odontologia e Veterinária. De posse da carteira de vacinação, os alunos responderam um questionário relativo às vacinas estudadas, doenças associadas e formas de transmissão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

A mediana de idade dos participantes foi de 21 anos e 74,6% era do sexo feminino. Apenas uma pequena parcela dos alunos afirmou que sua carteira de vacinação já tinha sido solicitada em algum momento da graduação (24,5%), embora 64,5% tenham sido anteriormente orientados sobre a necessidade de vacinação. Poucos (<10%) relataram histórico de doenças imunopreveníveis, com exceção de varicela (59%). História de exposição a material potencialmente contaminado foi relatada por

33,6%, sendo mais frequente entre os alunos de veterinária (53,3%) e enfermagem (48,4%) ($p < 0,05$). A maioria dos alunos (70,4%) não soube informar quais vacinas devem estar em dia na carteira do PAS, sem diferença entre os cursos ($p > 0,05$). Apenas 2,3% dos alunos estavam com o calendário completo de vacinação recomendado para os PAS. Ao considerar apenas as vacinas oferecidas gratuitamente pelo SUS, a taxa de completude subiu para 46,2%, sem diferença entre os cursos. Outro fato que chamou a atenção foi que 96% dos discentes apresentaram uma percepção equivocada de estarem atualizados para as vacinas do PAS ($p = 0,01$) e 35% para as vacinas oferecidas pelo SUS ($p < 0,01$). O conhecimento do esquema de algumas vacinas (dupla adulto, hepatite B, influenza e tríplice viral) não interferiu na taxa de completude vacinal, exceto na vacina contra gripe ($p < 0,001$). Por outro lado, alunos que tiveram a carteira vacinal solicitada em algum momento da graduação, apresentaram uma maior prevalência de completude em relação as vacinas ofertadas pelo SUS em comparação aos alunos cuja carteira vacinal não foi solicitada ($p = 0,0459$). O Ministério da Saúde estabelece meta de cobertura de 95% para as vacinas indicadas pelo PNI, uma taxa não observada para nenhuma vacina indicada para os PAS neste grupo de universitários

CONCLUSÕES:

Uma parcela significativa dos alunos da área da saúde não está imunizada como deveria. Este fato é muito preocupante, não somente no que diz respeito à saúde dos discentes, como

também em relação a população com a qual muitos já tem contato durante a graduação. Fica claro que novas estratégias precisam ser implementadas visando reverter este cenário neste público. Seria importante a solicitação da carteira de vacinação como um dos documentos de matrícula no ingresso da universidade como fazem algumas instituições de ensino, juntamente com a devida orientação sobre as vacinas que devem estar em dia. Também seria muito importante o acesso a vacinas não disponíveis no SUS pelos PAS, assim como pelos alunos em formação. Verificamos que ações educativas como as implementadas por este projeto junto aos discentes, são fundamentais como uma estratégia auxiliar no aumento da cobertura vacinal, bem como para trazer à tona a discussão deste tema tão relevante para a saúde pública. Precisamos, mais do que nunca, falar sobre vacinas!



Agradecimentos:

Apoio financeiro: CNPq,
Proex



CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

EPIDEMIOLOGIA DA COLONIZAÇÃO MATERNA E DA INFECÇÃO NEONATAL POR STREPTOCOCCUS AGALACTIAE NO BRASIL

CLARISSA CAMPOS BARROS, ROSANA ROCHA BARROS

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA E PARASITOLOGIA/

INSTITUTO BIOMÉDICO / LABORATÓRIO DE ESTREPTOCOCOS BETA-HEMOLÍTICOS

INTRODUÇÃO:

Streptococcus agalactiae ou estreptococos do grupo B (EGB) é uma espécie beta-hemolítica, classificada em 10 tipos, baseado na diversidade da cápsula, o principal fator de virulência e marcador epidemiológico. É um importante agente de infecções em neonatos. Desde a década de 1970, EGB é associado a sepsis, pneumonia e meningite neonatais. A infecção é classificada de acordo com o tempo que leva para manifestar-se: precoce, (até 7 dias de vida) ou tardia (8 dias – 3 meses). O principal fator de risco da infecção precoce é a colonização do trato urogenital materno. A infecção tardia ocorre por transmissão vertical e em ambientes hospitalar ou comunitário. Alguns tipos possuem maior potencial de virulência, como III, o mais associado à infecção tardia e à ocorrência de meningite.

Em 1996, houve uma recomendação conjunta do “Centers for Disease Control and Prevention” (CDC) e outras instituições sobre a triagem de gestantes entre as 35^a-37^a semanas de gestação e a profilaxia com penicilina ou alternativas, em parturientes colonizadas por

EGB ou que apresentassem fatores de risco. Recomendações posteriores enfatizam a eficácia dos protocolos de profilaxia intraparto, baseados na pesquisa de colonização, cujo padrão-ouro é a coleta de secreção vaginal/retal, enriquecimento, cultura em ágar sangue, identificação da espécie e antibiograma. No Brasil, tais recomendações não são adotadas e há escassez de dados nacionais sobre taxas de colonização materna e de infecção neonatal.

Considerando tal cenário, o estudo teve como principal objetivo analisar, por meio de uma revisão sistemática da literatura, a prevalência de colonização materna e de infecção neonatal pelo EGB. Outros objetivos foram a avaliação do comportamento frente aos antimicrobianos e da predominância dos tipos capsulares na população bacteriana circulante no país.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Utilizando-se os termos de busca (*Streptococcus agalactiae*, estreptococo do grupo B, colonização materna, infecção neonatal, Brasil) em português e inglês, foram

encontrados 237 artigos, nos bancos de dados Scientific Electronic Library Online (SciElo) e National Library of Medicine National Institute of Health (PubMed). Como método de seleção foi utilizado o diagrama “Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses” (PRISMA).

Foram elegíveis 36 artigos, dos quais 29 abordaram dados de prevalência de colonização materna e sete, de incidência de infecção neonatal.

Menos da metade dos artigos seguiu as orientações do CDC de 2010 quanto ao período da realização da triagem de gestantes. O protocolo recomendado, com o uso de meios de enriquecimento e cultura em ágar sangue, foi utilizado em 82% dos estudos.

A colonização materna variou entre 3,2 e 51%, de acordo com a região geográfica e o método empregado. Métodos fenotípicos foram utilizados em todos os estudos. Sete estudos também usaram métodos genotípicos, com destaque para PCR convencional, qPCR e o Xpert® GBS. Maiores taxas de detecção de EGB foram obtidas com os métodos genotípicos.

Em relação à infecção neonatal, a incidência variou de 0,39 a 10,8 casos por mil nascidos vivos. Nos EUA, onde triagem de gestantes e profilaxia intraparto são feitas nacionalmente, a incidência de infecção neonatal é 0,23 casos por mil nascidos vivos.

Oito estudos mostraram a prevalência dos tipos capsulares entre amostras isoladas de gestantes e de recém-nascidos. O tipo capsular predominante foi o Ia, seguido pelos tipos V, II e III. O Brasil tem uma distribuição peculiar, onde

o sorotipo III não é o prevalente entre as amostras neonatais.

Doze estudos investigaram o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos, todos pelo método de disco-difusão, de acordo com o Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Foi observada resistência à clindamicina (2%-77%), eritromicina (4%-33%) e tetraciclina (69,2%-86%).

CONCLUSÕES:

- A prevalência de colonização materna e de infecção neonatal pelo EGB é diversa, variando de acordo com a região geográfica e com os métodos de laboratoriais empregados.

- A maioria dos estudos não seguiu as recomendações estabelecidas quanto ao período de triagem de gestantes, mas recomendações quanto ao procedimento laboratorial foram seguidas pela maioria.

- Os métodos genotípicos se mostraram promissores na detecção de *S. agalactiae*, com melhor rapidez, sensibilidade e especificidade.

- O Brasil apresenta uma prevalência de tipos capsulares peculiar. Isso se associa ao impacto teórico que uma vacina baseada nos antígenos capsulares tem na população.

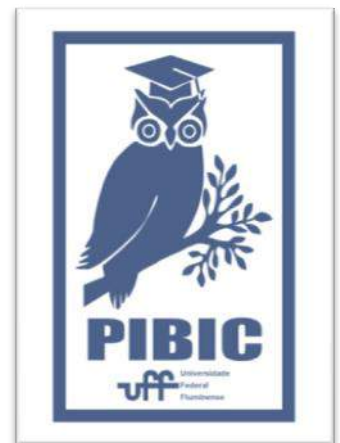
- As amostras circulantes no país apresentam taxas variáveis de resistência à clindamicina, eritromicina e tetraciclina, logo é necessária a realização do antibiograma, principalmente entre gestantes colonizadas que são alérgicas à penicilina, a fim de garantir a eficácia da profilaxia intraparto.

- Os dados obtidos indicam que o país já tem uma considerável literatura sobre a infecção

neonatal e a colonização materna por *S. agalactiae*, o que poderia ser utilizado pelo Ministério da Saúde do Brasil na formulação de políticas públicas para erradicar a ocorrência da infecção neonatal estreptocócica.

AGRADECIMENTOS:

Ao PIBIC/CNPQ pelo apoio financeiro.





Ciências Biológicas

**PAPEL DA ATIVAÇÃO DA VIA DA CSK/C-SRC POR
POLIFENÓIS DO CAFÉ E SEU PAPEL NA VIABILIDADE DE
GLIOBLASTOMAS E CÉLULAS DA GLIA SAUDÁVEIS**

Vanessa de Sousa Melo e Marcelo Cossenza

DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA/

INSTITUTO BIOMÉDICO/ LABORATÓRIO DE FARMACOLOGIA MOLECULAR

INTRODUÇÃO:

A retina de embrião de galinha é um excelente modelo de estudo do SNC. O papel da glia de Müller na retina é pouco estudada como modelo de glio-sinalização e em eventos de sinapses tripartite. A glia, quando alterada é uma célula-chave na formação de doenças do SNC. Conhecidamente, glioblastomas multiformes cerebrais (GBM) são tumores incuráveis derivados de astrócitos e 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 ativação da via da c-Src em GBMs e sua relação com crescimento, expansão e migração celular. A inibição da c-Src tem sido proposta como possível alvo terapêutico. A c-Src é constitutivamente inibida, em células saudáveis, pela fosforilação de seu resíduo tirosina 527, que controla seu potencial oncogênico. A enzima responsável por essa inibição é a quinase do C-terminal da Src (Csk), mas tem sido descrito, que em tumores como o GBM, a CSK e c-Src estão com pouca ou

nenhuma interação, provavelmente pela ausência da conexina 43, uma proteína do tipo gap presente em glias, que tem sido descrita por ancorá-las e juntá-las fisicamente. Também tem sido descrito que células de microglia recrutadas para o ambiente tumoral liberam citocinas e fatores de crescimento e promovem a expansão e migração dos GBMs. Recentemente, nosso grupo demonstrou que polifenóis presentes no café podem ativar intensamente a CSK nas células de microglia e desativar a c-Src e diminuir a produção de espécies reativas de oxigênio. Vale salientar que, até o momento, não foi proposta nenhuma estratégia de ativação da CSK por agentes farmacológicos. Baseado nestas informações, este projeto visa estudar a atividade destes polifenóis em cultura de retina de galinha e em gliomas cultivados e sua atividade na via CSK/ c-Src. Pretendemos, ainda, avaliar se esta atividade possui relação com possíveis efeitos tóxicos/protetores em células saudáveis de retina ou tumorais de glioblastoma.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Em face da pandemia, as atividades do laboratório ainda não foram retomadas, portanto, não foi possível realizar os experimentos planejados. Assim, esse período foi destinado a revisar artigos relacionados ao tema, apresentados ao grupo na forma de seminário durante as reuniões de laboratório que aconteceram semanalmente.

Os artigos “c-Src Phosphorylates and Inhibits the Function of the CIC Tumor Suppressor Protein” e “Intracellular Progesterone Receptor and cSrc Protein Working Together to Regulate the Activity of Proteins Involved in Migration and Invasion of Human Glioblastoma Cells” foram alguns dos artigos apresentados. O primeiro mostrou um importante mecanismo pelo qual a c-Src pode promover a tumorigênese em glioblastomas. A proteína Capicua (CIC), um agente supressor de tumor, é exportado do núcleo após ser fosforilado pela c-Src, sendo impossibilitada de cumprir sua função. O segundo, mostrou como o receptor de progesterona intracelular, ao ser estimulado, atua em favor da promoção, proliferação e invasão de células de glioblastomas através da ativação da c-Src. Esses achados ilustram mais uma vez a importância da inibição dessa proteína como alvo terapêutico e como explorar a atividade dos polifenóis do café na via da CSK, que desativa a c-Src, pode ser promissor para a terapia anti-glioma.

Outro artigo explorou possíveis alvos dos ácidos clorogênicos e confirmou a *downregulation* da via da Src/MAPK como um meio de inibir a progressão tumoral.

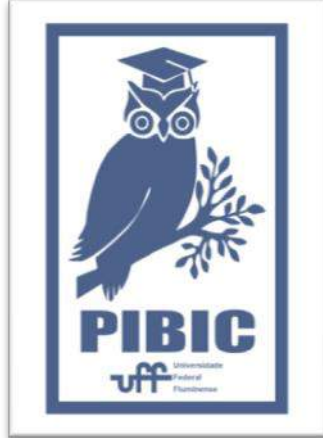
Wartchow *et al* (2021) mostrou como ativadores do AMPc podem ser eficazes no tratamento de glioblastomas, demonstrando seu efeito anti-Warburg, caracterizado pelo aumento da fosforilação oxidativa e promoção da passagem das células tumorais de um estado com maior capacidade proliferativa para um estado com menor capacidade proliferativa, levando à redução da invasão e do crescimento do glioblastoma. Isso pode sugerir que os polifenóis do café também atuam através desse mecanismo, já que se sabe que há aumento de AMPc quando a Csk está ativada, e um dos objetivos desse projeto é avaliar se ativadores da via do AMPc podem alterar o nível de ativação da CSK/ inibição da c-Src.

CONCLUSÕES:

Durante esse período as atividades do laboratório foram limitadas às ferramentas digitais, mas não menos proveitosas. Ampliaram o arsenal teórico do laboratório quanto aos elementos estudados e assim que as atividades forem retomadas, espera-se realizar os experimentos necessários para avaliar o efeito dos polifenóis que constituem o café na via de sinalização da CSK/c-Src em células da retina de galinha e gliomas cultivados.

AGRADECIMENTOS:

UFF-PROPII, CNPQ-PIBIC





CIÊNCIAS DA SAÚDE

PREVALÊNCIA DE ENTEROPARASITOS EM PESSOAS QUE CONVIVEM COM O VÍRUS HIV ASSISTIDOS POR UMA INSTITUIÇÃO FILANTRÓPICA DE NITERÓI

WALDYR PINTO PEREIRA¹; PAMELA MOREIRA DE SOUZA FURTADO¹, CAMILA RANGEL DA CUNHA¹, JOSÉ MAURO

PERALTA², REGINA HELENA SARAMAGO PERALTA¹; ALBA CRISTINA MIRANDA DE BARROS¹

¹ DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA-MPT/ HOSPITAL UNIVERSITÁRIO ANTÔNIO PEDRO / LABORATÓRIO DE PARASITOLOGIA/ UFF; ² DEPARTAMENTO DE IMUNOLOGIA/ INSTITUTO DE MICROBIOLOGIA PROF PAULO GÓES / UFRJ

INTRODUÇÃO:

As parasitoses intestinais são ocasionadas por helmintos e protozoários que constituem um problema de saúde pública e proporcionam maiores riscos à saúde para indivíduos que possuem um baixo nível socioeconômico. Tais infecções são favorecidas devido a condições precárias de saneamento básico e pela falta de políticas públicas de promoção da saúde.

A AIDS/HIV segue como uma pandemia, com dinâmica epidemiológica variável. Em crianças e indivíduos imunossuprimidos, como os portadores de HIV/AIDS, as enteroparasitoses apresentam uma maior probabilidade de desencadear agravamentos mais sérios de saúde.

Este estudo teve como objetivo verificar a prevalência de enteroparasitos em pacientes HIV/AIDS e seus familiares assistidos por uma Instituição Filantrópica em Niterói, por meio de

exames coproparasitológicos, além de aplicação da técnica de PCR em tempo real para a detecção e caracterização de *Cryptosporidium* spp.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram trinta e nove pessoas que concordaram em participar do projeto e assinaram o Termo de Consentimento Livre Esclarecido. Constatou-se que a maioria dos participantes foi do gênero feminino (64,1%), observou-se uma grande variação entre a idade dos participantes sendo entre 1 a 80 anos, tendo sido predominante a faixa etária de 35 a 50 (28,2%). Referente ao estado civil e a ocupação dos participantes, houve o predomínio de solteiros (76,9%) e de estudantes (20,5%).

Com relação à escolaridade, 53,9% dos participantes do estudo responderam que

apresentam o fundamental incompleto e 66,6% renda familiar de até um salário mínimo, ou seja, muito provavelmente são indivíduos que permeiam as margens da sociedade e contemplam certo nível de vulnerabilidade socioeconômica.

Frente à sintomatologia gastrointestinal, os indivíduos disseram apresentar flatulência (24,7%), dores abdominais (16,5%), abdômen aumentado (12,9%) e náusea ou vômitos (5,9%), sendo estes sintomas comuns em indivíduos que são portadores de alguma enteroparasitose.

Em relação aos participantes da pesquisa, observou-se que 51% deles foram HIV positivo, 31% não reagente para HIV e 18% não responderam.

Referente à investigação parasitológica realizada através dos métodos tradicionais de diagnóstico parasitológico, observou-se que os participantes HIV positivo apresentavam seis tipos diferentes de parasitas intestinais, sendo que os mais frequentes foram: *Endolimax nana* (36%), *Blastocystis* spp. (23%) e *Entamoeba coli* (18%), e no grupo de não reagentes para HIV, foram detectados três parasitos, *Endolimax nana* (43%), *Blastocystis* spp. (29%) e *Entamoeba coli* (29%). Ademais, parasitas como *Cryptosporidium* spp. (5%), *E. histolytica*/*E. dispar* (9%) e *Giardia duodenalis* (9%), apenas foram detectados em pacientes soropositivos para HIV. Neste estudo a prevalência de enteroparasitas foi maior em participantes HIV-positivos do que em HIV-negativos, o que também foi observado por outros autores.

Até o momento foi possível realizar o método de PCR em tempo real em apenas 19 amostras,

onde foi detectado o *Cryptosporidium* spp. em 63,1%, sendo que nestes voluntários em que foram detectados os protozoários, 58,3% eram HIV positivo. Isso demonstra como o método de PCR em tempo real consiste em uma técnica mais sensível para a detecção do parasito.

Embora os helmintos sejam parasitas frequentemente encontrados em estudos que tratam sobre parasitoses intestinais, não foram detectados em nenhuma amostra.

Os parasitas intestinais mais detectados foram os protozoários *E. nana*, *B. hominis* e *E. coli*, sendo estes comumente transmitidos através do consumo de água ou alimentos contaminados, o que remete ao reflexo das condições precárias que tal população possivelmente encontra-se inserida. Contudo, 82% dos participantes relataram que recebem água tratada em suas residências e mais da metade afirmam realizar a higienização dos alimentos. A questão é se a higienização é feita de maneira correta, visto que a indicação do Ministério da Saúde é que se deve utilizar o hipoclorito de sódio para a higienização correta dos alimentos, porém, apenas 28% dos participantes relataram utilizar cloro para higienizar seus alimentos.

CONCLUSÕES:

Podemos concluir através dos dados obtidos, que houve diferença entre os enteroparasitos nos grupos de participantes portadores de HIV e no grupo de não portadores de HIV. Apenas foi detectado o *Cryptosporidium* spp. e *Blastocystis* spp. como parasitas oportunistas entre os participantes do estudo. O parasito *Cryptosporidium* spp. foi encontrado em mais da

metade das amostras biológicas em que se foi aplicado a técnica de PCR. Portanto, é possível observar a partir destes resultados que provavelmente exista uma contaminação fecal-oral dentro do grupo de estudo. Além disso, medidas profiláticas, como o saneamento básico, medidas de higiene pessoal e terapia anti-retroviral, auxiliam no combate das parasitoses intestinais em indivíduos portadores de HIV.

AGRADECIMENTOS:

Esse trabalho teve o suporte financeiro das seguintes agências de fomento: PROEX-UFF e FAPERJ N° 29/2021.





CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ADENOVÍRUS HUMANOS (HAdV) COMO INDICADORES DE CONTAMINAÇÃO FECAL HUMANA EM ÁREAS DE CULTIVO DE VIEIRAS NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO.

¹Maria Eduarda Dias Huaman, ¹Gabriel Mascarenhas Siciliano, ¹Luiza Gomes Brandão, ¹Adriana de Abreu Correa, ²Renan Ribeiro e Silva, ³Antonia Lucia dos Santos, ¹Carmen Baur Vieira

¹Núcleo de Pesquisa em Virologia (NuPeV), Departamento de Microbiologia e Parasitologia (MIP), Instituto Biomédico, UFF; ²Instituto de Ecodesenvolvimento da Baía de Ilha Grande (IED-BIG); ³Laboratório de Esquistossomose e Zoonoses, Escola Nacional de Saúde Pública (ENSP), Fiocruz

INTRODUÇÃO:

A malacocultura é o ramo da aquicultura que engloba a produção de moluscos bivalves, como ostras, mexilhões e vieiras, e possui importância econômica mundial. Ao se alimentarem por filtração de partículas suspensas na água, podem concentrar patógenos e, ao serem ingeridos crus ou parcialmente cozidos pelo homem, são vetores de microrganismos infecciosos. Diferentes trabalhos demonstram a contaminação de áreas de cultivo e a transmissão de vírus entéricos pelo consumo de moluscos em todo o mundo.

A avaliação microbiológica da qualidade água de cultivo e dos moluscos bivalves é feita a partir de análise bacteriológica. No entanto, não há correlação entre detecção e concentração de indicadores bacterianos e vírus. Assim, diferentes estudos vêm sendo desenvolvidos e apontam os adenovírus humanos (HAdV) como indicadores virais, uma vez que eles têm alta prevalência e estabilidade no ambiente em diferentes regiões geográficas.

No Brasil, a malacocultura é uma importante atividade econômica. O estado do Rio de Janeiro é segundo maior produtor nacional, especialmente pela produção de vieiras nativas *Nodipecten nodosus* na Baía de Ilha Grande. Diferentes estudos demonstraram a presença de vírus entéricos em moluscos e águas de cultivo no país. No entanto, não há pesquisas de vírus em vieiras nas produções nacionais.

Assim, o objetivo deste estudo é avaliar a contaminação por Adenovírus Humanos de áreas de cultivo de moluscos bivalves da Baía da Ilha Grande, Rio de Janeiro, Brasil.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Coletas mensais de água (10L) e vieiras (15 animais) foram realizadas entre fevereiro e dezembro de 2019 em três regiões de cultivo da Baía da Ilha Grande: Instituto de Ecodesenvolvimento da Baía da Ilha Grande (IED-BIG, amostras de água), Ponta Leste (água e vieiras) e Jaconema (água e vieiras).

As vieiras foram dissecadas para obtenção do trato digestivo e os tecidos homogeneizados com o Homogeneizador Ultra-Turrax (IKA Labortechnik). Os vírus foram eluídos dos tecidos pelo método da proteinase K preconizado na ISO 15216:2017. Para as amostras de água, a técnica de concentração viral utilizada foi a floculação orgânica, que se baseia na adsorção das partículas virais às proteínas pré-floculadas do leite desnatado.

O material genético viral foi obtido a partir dos tecidos das vieiras e dos concentrados de água com NucleoMag® RNA Virus Extraction Kit (Macherey-Nagel) e Kit PureLink™ Viral RNA/DNA (Invitrogen), respectivamente. Os HAdV foram detectados e quantificados por PCR em tempo real com amplificação parcial do gene que codifica para a proteína do hexon.

Os HAdV foram encontrados em 4,6% (3/65) das amostras de água analisadas. Eles foram detectados nas Praias de Ponta Leste, região de cultivo e comercialização de animais, e no Rio Jacuecanga, que desagua na região do IED-BIG, em concentrações que variaram de $2,39 \times 10^3$ e $1,1 \times 10^5$ cópias genômicas por litro. A maior concentração foi observada no Rio Jacuecanga, o que pode ser associado a construções, e consequentes impactos antrópicos, ao longo do seu curso. Os percentuais de detecção e as concentrações virais encontradas na água de cultivo foram semelhantes ou inferiores às observadas em outras regiões de cultivo no Brasil.

Os HAdV não foram encontrados nas amostras de vieiras, o que pode ter ocorrido em função de ausência de contaminação viral ou a

presença de número de cópias abaixo do limite de detecção das técnicas empregadas.

Apesar das orientações nacionais para o cultivo de moluscos no Brasil, as amostras do Rio de Janeiro não são rotineiramente monitoradas.

CONCLUSÕES:

A pesquisa de vírus em regiões de cultivo é de extrema importância pela ausência de correlação entre indicadores microbiológicos e a detecção/concentração viral e especialmente em áreas em que não há monitoramento contínuo da qualidade da água de cultivo e dos moluscos produzidos e comercializados, como a região da Baía da Ilha Grande.

A água de cultivo de vieiras da região da Baía da Ilha Grande apresentou baixa contaminação por vírus entéricos e as vieiras comercializadas na região da Baía da Ilha Grande não apresentam contaminação, o que demonstra baixo risco para os consumidores.

AGRADECIMENTOS:

Ao CNPq (processo 425132/2018-8) pelo suporte financeiro do projeto e ao PIBIC UFF pela concessão da bolsa. A

Professora Ana Maria Pinto pelo apoio nas coletas.





Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas

Título do projeto: IMPACTO DA ADMINISTRAÇÃO CRÔNICA DO DESREGULADOR ENDÓCRINO, CLORETO DE TRIBUTILTIN, SOBRE O SISTEMA CARDIOVASCULAR DE RATOS WISTAR ALIMENTADOS COM DIETA REGULAR OU HIPERCOLESTEROLÊMICA

Autores: Camila Oliveira Freitas; Ana Beatriz Araújo Mendes;

Nádia Alice Vieira da Motta; Fernanda Carla Ferreira de Brito

**Departamento/Unidade/Laboratório: Fisiologia e Farmacologia/ Instituto Biomédico/
Laboratório de Farmacologia Experimental**

INTRODUÇÃO:

O tributilestanho (TBT - tributiltin) é um composto amplamente utilizado em biocidas, fungicidas agrícolas, bem como em tintas anti-incrustativas. Por ser lipossolúvel, ele tende a se acumular em peixes e frutos do mar. Dessa forma, a exposição humana ocorre também através da ingestão de frutos do mar contaminados com TBT e através de verduras, legumes ou frutas onde se usam biocidas à base de TBT. Sabe-se que ele inibe a aromatase responsável pela transformação da testosterona em estrogênio em gastrópodes fêmeas, funcionando como um desregulador endócrino. Diversos efeitos sobre o sistema cardiovascular, reprodutor e endócrino foram descritos na literatura, contudo permanecem dúvidas sobre seu impacto sobre o desenvolvimento de doenças cardiovasculares. O objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos da administração crônica de TBT sobre a expressão de marcadores inflamatórios no tecido cardíaco.

Para avaliar os efeitos do TBT os animais foram divididos randomicamente em dois grupos:

controle (C), tratado com veículo, etanol 0,4% e TBT (1000 ng/kg/dia), que receberam o tratamento uma vez ao dia, pela manhã, por via oral durante 30 dias. Os animais foram eutanasiados no 31º dia para coleta das amostras e realização dos ensaios funcionais, após anestesia com quetamina (100mg/Kg) e xilazina (10mg/Kg). Durante todo o experimento os animais foram monitorados e a cada três dias foram pesados para registro do peso corporal. As rações ofertadas aos animais foram pesadas no início e ao final de cada ciclo de 3 dias de monitoramento.

Após a eutanásia, os tecidos dos animais foram pesados e seu peso relativo foi avaliado, utilizando o seguinte cálculo: peso do tecido absoluto/peso corporal). Foram avaliados os seguintes tecidos: coração, fígado, gordura epididimária, gordura retroperitoneal, gordura inguinal, e gordura marrom. Os homogenatos de coração foram preparados utilizando o ventrículo esquerdo dos animais de cada grupo correspondente. Para o ensaio de Western Blotting em homogenatos de coração, foi realizada a dosagem de proteínas no

homogenato de coração através do método de Bradford, utilizando um kit (Bio-Rad Laboratories® Hercules, CA) (Bradford, 1976). Foram utilizados anticorpos primários anti-iNOS, anti-catalase, anti-Nrf2, anti-JNK e anti-pJNK (1:500). Para controle interno foram utilizados os anticorpos primários anti-vinculina (1:1000) (Santa cruz Biotechnology®). Após as etapas de lavagem das membranas, as proteínas foram visualizadas utilizando um reagente de quimioluminescência (ECL – Amersham - GE Healthcare Life Sciences), e a intensidade das bandas foi registrada utilizando um equipamento capaz de detectar a quimioluminescência (ChemiDoc™ MP System – BioRad). Os resultados foram expressos em unidades arbitrárias através das imagens adquiridas. A densidade das bandas foi obtida utilizando um software de imagem (imageJ, versão 1.48, National Institute of Health).

Todos os resultados foram analisados estatisticamente pela análise de Test-t de Student para um nível de significância de $*p < 0,05$. Os resultados foram expressos em média \pm erro padrão da média utilizando-se o programa GRAPH PAD PRISM versão 5.0 (GraphPad Prism Software Inc., San Diego, CA).

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Não foi observado diferenças significativas no peso corporal, assim como no ganho de peso durante o tratamento de 30 dias com o TBT quando comparado ao controle. Contudo, pudemos observar um aumento no peso relativo da gordura epididimária dos animais tratados com TBT ($0,01720 \pm 0,0006$) quando comparado ao grupo controle ($0,01531 \pm 0,0005$). Da mesma forma, foi observada

diminuição do peso relativo do coração no grupo TBT ($0,00277 \pm 0,0003$) quando comparado ao grupo controle ($0,00293 \pm 0,0003$).

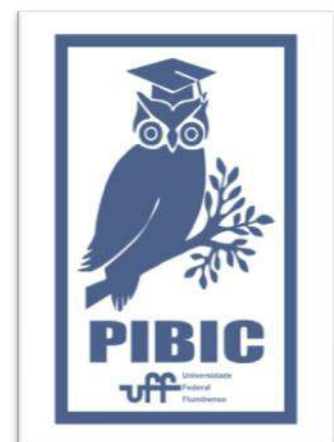
Foram observados aumentos da expressão das seguintes proteínas no grupo tratado com TBT quando comparado ao grupo controle: iNOS ($2,587 \pm 0,33$; $1,472 \pm 0,08$), Catalase ($1,687 \pm 0,19$; $0,660 \pm 0,29$), Nrf2 ($1,611 \pm 0,25$; $0,287 \pm 0,62$) e pJNK ($1,469 \pm 0,22$; $0,535 \pm 0,17$), respectivamente.

CONCLUSÕES:

Em nosso estudo, demonstramos que o tratamento por 30 dias, com a dose de TBT de 1000ng/kg/dia , não resultou em aumento do peso corporal, apesar de haver diferença no peso da gordura epididimária. Demonstramos também uma diminuição do tamanho relativo do coração, assim como aumento de proteínas relacionadas à inflamação (iNOS) e apoptose (pJNK), um aumento de enzimas antioxidantes (catalase) e um aumento de um regulador na resposta antioxidante (Nrf2) que podem estar relacionadas a atividades compensatórias do organismo.

AGRADECIMENTOS:

PIBIC/ UFF; FAPERJ; CNPq; CAPES; PROPPi/ UFF.





Grande área do conhecimento Ciências Biológicas
Título do Projeto: INFLUÊNCIA DOS SISTEMAS AGR E SAR NA VIRULÊNCIA DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* IN VITRO E IN VIVO

Autores: Julia Rajczul Messina, Helvécio Cardoso
Corrêa Póvoa

Departamento de Ciências Básicas / Instituto de Saude de Nova Friburgo / Laboratório de Microbiologia

Experimental e Aplicada

INTRODUÇÃO:

O projeto "Influência dos sistemas agr e sar na virulência de *Staphylococcus aureus in vitro e in vivo*", teve como objetivo avaliar a influência dos sistemas agrA e sar na virulência de *Staphylococcus aureus* utilizando cepas *Wild Type* e nocaute para os genes *agrA*, *agrB*, *agrC*, *agrD* e *sarU* e *sarT*, em ensaios de formação de biofilme e atividade hemolítica in vitro. Foi investigada a interação das cepas com culturas de macrófagos U-937 quanto a capacidade de adesão, invasão e citotoxicidade. *Caenorhabditis elegans* foi utilizado para confirmar o estudo do processo de infecção in vivo.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

No ensaio de avaliação da formação de biofilme e hemólise utilizando cepas de *S. aureus* não mutante wild-type US 300 em comparação as cepas de *S. aureus* Δ agr knockout mutante para o genes *agrA*, *agrB*, *agrC*, *agrD*, *sarU* e *sarT* não foram encontrada diferença significativa tanto na atividade hemolítica quanto

na formação do biofilme in vitro quando comparadas as cepas controle. Os ensaios de adesão, invasão e citotoxicidade também não apresentaram diferença entre as cepas de *S. aureus* selvagem e *S. aureus* mutante. OS ensaios com *C. elegans* foram interrompidos devido a uma contaminação nas placas contendo *C. elegans* N2 com uma espécie de ácaro. Novas cepas já foram providenciadas para a continuidade dos estudos.

Os resultados obtidos até agora não corroboram nossa hipótese onde, uma vez que locus agr codifica um elaborado sistema quorum-sensing capaz de regular diferencialmente a expressão tanto de proteínas associadas à parede celular quanto de exoproteínas secretadas em resposta a densidade da população bacteriana, cepas mutantes deveriam apresentar diferenças significativas na expressão gênica em relação a cepa selvagem. A função deste sistema regulatório parece ser propícia à produção de proteínas associadas à parede celular capazes

de se ligar a componentes de tecidos hospedeiros e fatores de defesa bacteriana durante o estágio inicial de infecção, seguindo-se a expressão de fatores de virulência que conferem invasividade aos microrganismos uma vez estabelecida a infecção. Outro locus envolvido na regulação da expressão gênica de *S. aureus*, o locus *sar*, necessário para a expressão do *agr*, confere um nível adicional de regulação dos fatores de virulência. Uma possível explicação em uma primeira análise estaria relacionada ao modelo experimental. Mesmo sendo consagrado na literatura, modelos *in vitro* são limitados na reprodução do ambiente e das condições naturais, muitas vezes não representando os mesmos achados *in vivo*, dada a complexidade e multiplicidade das interações entre o parasita e o hospedeiro. Outros fatores importantes relacionados a reprodutibilidade do método está a dificuldade do acesso aos protocolos completos, aos bancos de dados primários e as adaptações metodológicas não descritas nos artigos originais. Também, deve-se considerar que os a expressão gênica bem como de seus produtos, pode ocorrer em conjunto e que mecanismos moleculares intrínsecos ao microrganismo podem compensar a ausência de um gene através da hiperexpressão de genes análogos. Para corroborar essa hipótese seriam necessários testar cepas com nocautes de múltiplos genes relacionados ao fator expressado. buscado a compreensão do sistema quorum-sensing e a expressão diferenciada de proteínas bacterianas. Ensaio utilizando produtos bacterianos purificados da expressão dos genes estudos poderiam

também auxiliar na elucidação do papel destes genes na virulência do microrganismo.

CONCLUSÕES:

Cepas de *S. aureus* não mutante wild-type US 300 em comparação as cepas de *S. aureus* Δ *agr* knockout mutante para o genes *agrA*, *agrB*, *agrC*, *agrD*, *sarU* e *sarT* não foram encontrada diferença significativa tanto na atividade hemolítica quanto na formação do biofilme *in vitro* quando comparadas as cepas controle.

Os ensaios de adesão, invasão e citotoxicidade também não apresentaram diferença entre as cepas de *S aureus* selvagem e *S aureus* mutantes.

A hipótese nula observada pode estar relacionada ao complexidade da expressão gênica a e mecanismos moleculares intrínsecos ao microrganismo capazes de compensar a ausência de um gene através da hiperexpressão de genes análogos.

AGRADECIMENTOS:

A PROPPI e a FAPERJ





GRANDE ÁREA DO CONHECIMENTO: CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

TÍTULO: ESTUDO DA LESÃO HEPÁTICA CRÔNICA INDUZIDA POR DEFICIÊNCIA DE METIONINA E COLINA

Mayara L Assis, Júlia A Moraes, Jaciara G. Gama, Luiz A Alves, Jussara Lagrota-Candido.

Lab. de Imunopatologia, Departamento de Imunobiologia. Instituto de Biologia

INTRODUÇÃO:

O tecido hepático apresenta funções importantes no metabolismo de macronutrientes, produção de albumina e componentes da coagulação, quebra de compostos xenobióticos e participa da homeostasia de lipídios e colesterol¹. O fígado é considerado a maior glândula do corpo humano e em condições de homeostasia, é capaz de regenerar-se, após uma lesão, devido à proliferação de hepatócitos, envolvendo produção de citocinas e fatores de crescimento. Interações com as células do sistema imunológico regulam o processo de reparo tecidual para regeneração ou fibrose². Desordens hepáticas crônicas geram altos índices de mortalidade e morbidade por meio da interrupção de mecanismos de reparo e, conseqüentemente, perda funcional do tecido². Caracterizar os diferentes graus de lesão, a inflamação, fibrogênese e a perda funcional do tecido auxilia na compreensão da necessidade do transplante ou até mesmo aliar, ao transplante, metodologias alternativas².

Doenças hepáticas crônicas não reversíveis têm como única terapia eficaz o transplante de fígado, mas o número de órgãos viáveis é

inferior ao de pacientes na fila de espera. Alternativas ao transplante de fígado como transplante de hepatócitos humanos ou de outras espécies é essencial para diminuir as filas de espera e estudos têm demonstrado que a imunomodulação pode contribuir para diminuir a rejeição e proporcionar um microambiente mais propício à regeneração^{2,3}. Assim, a utilização de modelos de indução de lesão hepática crônica (IHC) como através da dieta deficiente em metionina e colina (DDMC), que mimetiza os efeitos da doença hepática gordurosa não-alcoólica (DHGNA) humana, são essenciais para a compreensão e a caracterização da lesão hepática³. Portanto, o objetivo do nosso trabalho é estabelecer um modelo de IHC induzida por DDMC, caracterizando a lesão e o infiltrado inflamatório no fígado desses animais. Posteriormente, esse modelo poderá ser utilizado nos estudos de técnicas alternativas ao transplante de fígado, como o transplante de hepatócitos e modulação imunológica.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram utilizados 20 camundongos C57BL/6 machos na idade de 12 semanas para padronizar o protocolo de indução de IHC por

DDMC. Os animais foram divididos em 4 grupos com 5 animais: controle com dieta comercial comum e grupos com 4, 6 ou 8 semanas submetidos à DDMC.

Os animais foram pesados semanalmente, sendo observada uma diminuição significativa do peso dos animais submetidos a DDMC, comparados ao controle e à semana inicial de tratamento (Fig.1). Os dados apresentaram uma distribuição gaussiana e foram analisados com o teste one-way ANOVA, com *post-teste* de análise de variância Bonferroni. Na análise macroscópica foi observada uma mudança na coloração do tecido hepático, apresentando uma coloração icterícia e mais atrofiado, comparado ao controle e às semanas iniciais da dieta (Fig.2). Nos cortes de fígados submetidos à DDMC, corados por tricrômico de Masson, foi evidenciado macro-esteatose, comparados-os ao controle. Foi observado também um aumento de tecido adiposo após 4, 6 e 8 semanas de dieta, além de uma histoarquitetura menos organizada, embora não tenha sido observada evidência de fibrose (Fig.3). Nas análises histomorfométricas, as lâminas serão escaneadas no scanner de lâminas MoticEasyScan (Motic, China), com auxílio do software MoticDSAssistant (Motic VM V1 viewer 2.0) para quantificação das áreas com substituição por tecido adiposo e fibrose.

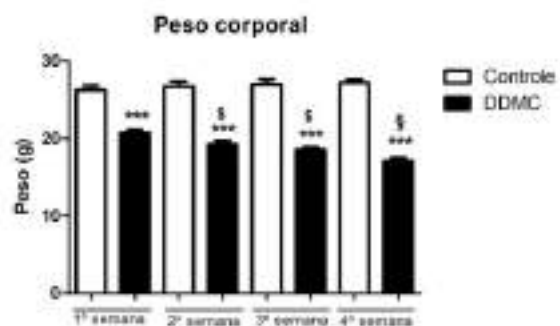


Figura 1. Avaliação do peso corporal dos camundongos submetidos à DDMC comparados ao controle. *** $p < 0,001$ (controle e tratado de cada semana); § $p < 0,05$ (comparação entre 3ª e 4ª à 1ª semana); § $p < 0,05$ (comparação entre 4ª e 1ª semanas).



Figura 2. Análise macroscópica do fígado submetidos a DDMC. Barra: 1 cm.

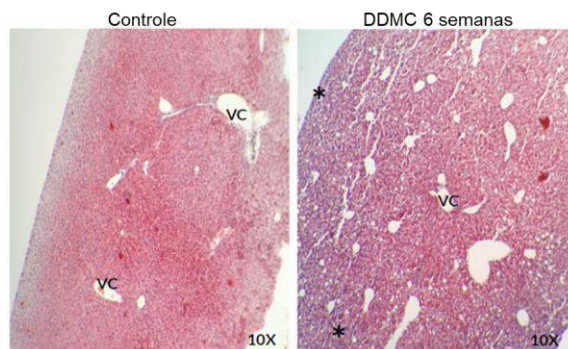


Figura 3 - Análise histológica de cortes de 5 μ m corados com Tricrômico de Masson. Regiões com macro-esteatose nos animais submetidos à DDMC por 6 semanas. VC: Veia centro-lobular; *Macro-esteatose.

CONCLUSÕES

A IHC pode ser estabelecida através de diferentes metodologias, inclusive pela DDMC, que mimetiza as lesões hepáticas da DHGNA. Baseando-se nas evidências histológicas e macroscópicas iniciais, obtidas no nosso modelo, foi possível inferir que o tempo de dieta foi suficiente, apenas, para induzir uma lesão de macro-esteatose nos camundongos. Embora tenha sido observado um desarranjo tecidual, diminuição de peso corporal, mudança no bolo fecal e um acúmulo de tecido adiposo no fígado dos animais tratados, será necessário aumentar o tempo de dieta para levar à IHC.

REFERÊNCIAS

1. Trefts E, Gannon M, Wasserman DH. The liver. *Curr Biol.* 2017;27(21):R1147-R1151.

2. Allaire M, Gilgenkrantz H. The impact of steatosis on liver regeneration. *Horm Mol Biol Clin Investig.* 2018;41(1).
3. Rinella ME, Elias MS, Smolak RR, Fu T, Borensztajn J, Green RM. Mechanisms of hepatic steatosis in mice fed a lipogenic methionine choline-deficient diet. *J Lipid Res.* 2008;49(5):1068-1076.

AGRADECIMENTOS

PIBIC-CNPq e PROPPI-UFF.





Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas
ESTUDO DA DOMESTICAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE
JABORANDI

Amanda Hammerschlag Lima e Luiz Mors Cabral (Orientador)
Departamento de Biologia Celular e Molecular/Instituto de
Biologia/Laboratório de Bioquímica das Interações

INTRODUÇÃO:

O jaborandi (*Pilocarpus Microphyllus*) é uma das espécies mais importantes e mais exploradas comercialmente, devido ao alcaloide pilocarpina presente em suas folhas. Apesar dessa importância econômica os mecanismos moleculares envolvidos na síntese da pilocarpina ainda são bastante desconhecidos. Sabe-se que a pilocarpina se origina a partir do aminoácido histidina, e algumas poucas enzimas envolvidas no processo já foram descritas (Link & Bernauer, 1974).

Este projeto busca identificar vias moleculares possivelmente envolvidas na produção diferencial de pilocarpina, através da comparação da produção de pilocarpina entre plantas de diferentes regiões do Brasil, e da análise da expressão de genes de interesse.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

BUSCA PELOS MECANISMOS CONHECIDOS PARA A PRODUÇÃO E CONSERVAÇÃO DE PILOCARPINA

Identificamos na literatura os genes importantes para a produção do alcaloide (Dewick, 1997) e fizemos uma busca por homólogos desses genes em *Arabidopsis* e milho. Os resultados desta busca estão listados na tabela 1.

Tabela 1. Genes homólogos de milho (*Z. mays*) e *Arabidopsis thaliana* relacionados a biosíntese de histidina.

Número de acesso em <i>Zea mays</i>	Número de acesso em <i>Arabidopsis thaliana</i>	Nome do gene
GRMZM2G068862	AT1G58080	ATP-phosphoribosyltransferase
GRMZM2G068862	AT1G09795	ATP-phosphoribosyltransferase
GRMZM2G082214	AT1G31860	Phosphoribosyl-ATP pyrophosphohydrolase / Phosphoribosyl-AMP cyclohydrolase
	AT2G36230	N'-[(5'-phosphoribosyl)formimino]-5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotide isomerase
	AT4G26900	Imidazole glycerol-phosphate synthase
	AT4G26900	Imidazole glycerol-phosphate dehydratase
	AT4G14910	Imidazole glycerol-phosphate dehydratase
	AT5G10330	Histidinol-phosphate aminotransferase
GRMZM2G170595	AT1G71920	Histidinol-phosphate aminotransferase
	AT4G39120	Histidinol-phosphate phosphatase
	AT5G63890	Histidinol dehydrogenase

IDENTIFICAÇÃO DE GENOMAS DE REFERÊNCIA PARA A CONSTRUÇÃO DE PRIMERS PARA JABORANDI

Os genes identificados em *Arabidopsis* e milho foram comparados com as sequências de genomas mais próximos ao jaborandi, como amoreira negra e laranjeira.

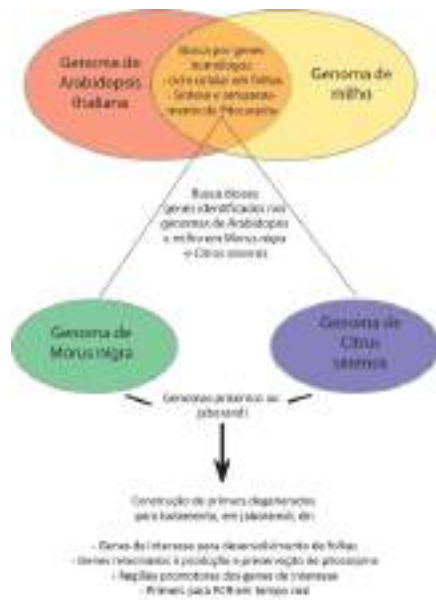


Figura 1- Representação esquemática da articulação entre diferentes genomas para que possamos desenhar os primers das regiões de interesse em jaborandi, planta que ainda não possui genoma disponível.

Dessa forma foi possível selecionar, nos genomas de referência, genes da via de síntese de histidina, e construir primers para analisar a expressão desses genes em jaborandi. Os genes selecionados se encontram na tabela abaixo 2.

Tabela 2. Genes selecionados para construção de primers

Nome do gene	Função
ATP-phosphoribosyltransferase	Biossíntese de histidina
Phosphoribosyl-ATP pyrophosphohydrolase	Biossíntese de histidina
carboxamide ribonucleotide isomerase	Biossíntese de histidina
Imidazole glycerol-phosphate synthase	Biossíntese de histidina
Imidazole glycerol-phosphate dehydratase	Biossíntese de histidina
Histidinol-phosphate aminotransferase	Biossíntese de histidina
Histidinol-phosphate phosphatase	Biossíntese de histidina
Histidinol dehydrogenase	Biossíntese de histidina

ANÁLISE DA EXPRESSÃO DOS GENES SELECIONADOS NAS DIFERENTES AMOSTRAS DE JABORANDI

Fizemos uma busca por amostras de jaborandi em diferentes regiões, e obtivemos plantas do Rio de Janeiro, Maranhão e Bahia.

Os resultados obtidos para a expressão dos genes das enzimas Imidazole glycerol-phosphate dehydratase (IGPD) e Histidinol-phosphate phosphatase (HPP) demonstraram que, embora sua expressão tenha sido similar nas amostras do Maranhão e da Bahia, eles apresentaram expressão diminuída nas plantas do Rio de Janeiro (figura 2).

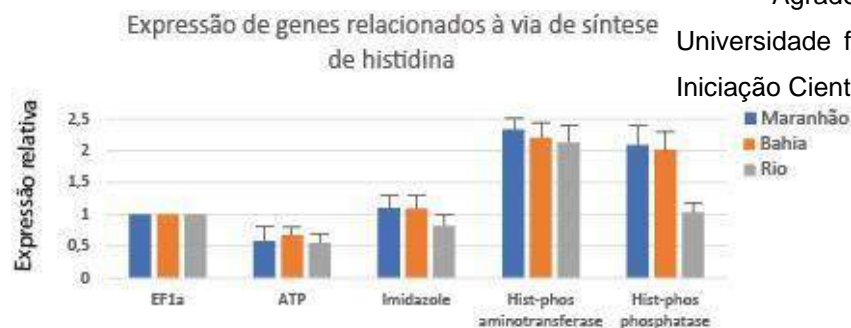


Figura 2. Expressão de genes da via de síntese de histidina nas plantas de três diferentes regiões do Brasil (Maranhão, Bahia e Rio de Janeiro).

CONCLUSÕES:

Aplicamos estudos *in silico* para identificar vias importantes para a produção e armazenamento da pilocarpina em jaborandi. Para isso, articulamos genomas bem anotados como *Arabidopsis* e milho com genomas mais recentes como o da amoreira e da laranjeira.

Analisamos a expressão dos genes de interesse e identificamos dois genes com expressão diferencial entre amostras de

diferentes partes do Brasil. Estamos no momento analisando as regiões promotoras desses genes, buscando as diferenças moleculares que se refletem na produção de pilocarpina.

REFERÊNCIAS:

- Link, H.; Bernauer, K.; Oberhans, W.E., 1974. Configuration of Pilocarpus alkaloids. *Helvetica Chimica Acta*, 57:2199-2200.
- Dewick, P.M., 1997. *Medicinal Natural Products: a Biosynthetic approach*, John Wiley & Sons, New York, p.352-353.

AGRADECIMENTOS:

Agradecemos ao programa PIBIC da Universidade federal Fluminense pela bolsa de Iniciação Científica.



Grande área do conhecimento: Biológicas

Título do projeto: ESTUDO DE PARASITOS PRESENTES NA AVIFAUNA DA BAÍA DE GUANABARA PROVENIENTES DO AEROPORTO INTERNACIONAL TOM JOBIM – RIOGALEÃO

Autores: Beatriz Brener de Figueiredo; Hannah Fontes Garcia dos Santos

Departamento/Unidade/Laboratório: MIP/ Instituto biomédico/ Laboratório de Artrópodes e Helmintos de Vertebrados

INTRODUÇÃO:

A coexistência de aves e aeronaves nos aeroportos e em suas áreas vizinhas se transformou em um risco real ao tráfego aéreo podendo acarretar prejuízos econômicos as companhias aéreas, além de colocar em risco a vida dos passageiros a bordo (MATYJASIAK, 2008). Devido a isso, todos os aeroportos devem desenvolver programas de Gerenciamento do Risco Aviário utilizando metodologias que melhor se adequam a necessidade de cada um (CARVALHO, 2017). O Aeroporto Internacional do Rio de Janeiro / Galeão – Antônio Carlos Jobim, realizou a contratação de uma empresa de manejo de fauna para o auxílio no afugentamento ou captura das aves (CePAR, 2016).

A falcoaria é uma das técnicas utilizadas pela empresa para dispersão das aves, contribuindo para a redução do risco aviário (BATTISTONI et al., 2008). O treinamento dos rapinantes é feito para que as presas não venham a óbito, entretanto, algumas vezes isto não é possível, em razão da possibilidade de ocorrer algum ferimento grave no momento da captura. Além disso, a falcoaria se apresenta

como um controle biológico e não extingue a chance de haver colisões de aves e aeronaves. As aves que vieram a óbito tanto pela captura quando por colisão, foram doadas ao laboratório da disciplina de Parasitologia, Instituto biomédico, da Universidade Federal Fluminense, para o estudo da fauna parasitária destas.

Ainda é escasso o conhecimento no que diz respeito a ectoparasitos de aves silvestres. As subordens Amblycera e Ischnocera, reúnem todos os piolhos mastigadores e são os parasitos mais frequentemente encontrados sobre as aves silvestres, juntamente com os ácaros de pena (Acari: Acaridida) e moscas da família Hippoboscidae (Diptera). No Brasil poucos trabalhos têm dado ênfase a esses parasitos de aves cativas. (FREITAS et al. 2002; SILVA et al. 2004).

Além dos parasitos citados anteriormente, as aves também podem ser parasitadas pelas moscas Psychodidae (Diptera), por carrapatos moles e duros (Metastigmata: Argasidae e Ixodidae) e alguns ácaros Prostigmata (e.g. Cheyletidae) e Mesostigmata (e.g. Rhinonyssidae) (GAUD e ATYEO, 1996; PROCTOR, 2003).

Nas aves de rapina de vida livre, parasitos intestinais são comumente encontrados e na maioria dos casos não causam sintomas clínicos. Entretanto, em aves jovens ou adultas, submetidas a situações de estresse como a reabilitação por exemplo, sinais clínicos podem aparecer e são inespecíficos, geralmente incluem diarreia, perda de peso e anorexia. (KINSELLA et al. 1996). *Capillaria* spp e ascarídeos, incluindo *Porrocaecum* spp e *Contracaecum* spp são os nematoides mais encontrados nesses animais (YABISLEY, 2008; COOPER, 2002).

A observação e estudo destes parasitos torna-se de suma importância, visto que, no Brasil, existe uma carência de estudos no que diz respeito as parasitoses de aves silvestres. Tal fato pode prejudicar a melhoria destes em programas de manejo e recuperação, devido ao desconhecimento das possíveis doenças parasitárias que podem acometê-los. Além disso, não se sabe exatamente se existem parasitos com potencial zoonótico circulando entre os animais, que funcionam como reservatórios.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

No projeto, foram utilizados para a coleta de parasitos os exemplares das carcaças de aves que chegaram à empresa de manejo de fauna do Aeroporto Internacional Tom Jobim oriundas da falcoaria ou acidentes com aeronaves, ou que vieram a óbito na empresa em função das técnicas de manejo de fauna, no período de agosto de 2020 a dezembro de 2021.

Nas carcaças de animais a coleta de parasitos foi realizada de forma manual, com o auxílio de pinça e pincel. Os ectoparasitos encontrados foram conservados em álcool 70° GL. Além disso, amostras de todos os espécimes encontrados foram congeladas para possibilitar a realização da biologia molecular, caso seja necessário futuramente.

Para o processamento, os ectoparasitos foram clarificados com Hidróxido de Potássio (KOH) a 10%, desidratados em série alcoólica crescente de álcool etílico 70%, 80%, 90% e álcool absoluto, diafanizados com Creosoto de Faia. Por fim, foram montados em lâminas permanentes e observados em microscópio óptico, para identificação morfológica.

Durante as necropsias foram feitas as buscas por helmintos nos sistemas digestório, respiratório, renal, cardíaco, reprodutor, assim como no fígado, tecido muscular, olhos e patas. Todo o material coletado foi colocado em placas de Petri com água destilada para observação em lupa. Os helmintos encontrados foram fixados em AFA por 24 horas e depois conservados em álcool 70° GL.

O conteúdo intestinal dos animais também foi coletado para a realização do exame coproparasitológico. Foram realizadas as técnicas de flutuação com sulfato de zinco (Faust) e sedimentação espontânea (Hoffman, Pons e Janer) para pesquisa de cistos de protozoários e ovos de helmintos.

Foram necropsiadas 31 aves das mais variadas espécies. Sendo: 2 andorinha-azul-e-branca (*Pygochelidon cyanoleuca*), 2 carcarás (*Caracara plancus*), 1 curiango-comum (*Nyctidromus albicollis*), 1 falcão-de-coleira

(*Falco femoralis*), 1 garça-branca-pequena (*Egretta thula*), 1 garça-moura (*Ardea cocoi*), gavião-caboclo (*Heterospizias meridionalis*), 1 marreca-toicinho (*Anas bahamensis*), 1 quero-quero (*Vanellus chilensis*), 1 savacu (*Nycticorax nycticorax*) e 3 urubu-de-cabeça-preta (*Coragyps atratus*).

As espécies de aves analisadas que se mostraram positivas para infestação de piolhos foram: carcará (*Caracara plancus*), garça-branca-pequena (*Egretta thula*), garça-moura (*Ardea cocoi*), gavião-caboclo (*Heterospizias meridionalis*), marreca-toicinho (*Anas bahamensis*), quero-quero (*Vanellus chilensis*), savacu (*Nycticorax nycticorax*) e urubu-de-cabeça-preta (*Coragyps atratus*). Os parasitos de carcará, garça-branca-pequena e urubu-de-cabeça-preta encontrados e analisados no microscópio óptico foram identificados segundo Price e colaboradores (2003) onde foi possível chegar nos espécimes à nível de gênero. Os espécimes de quero-quero foram identificados de acordo com Clay (1962) e Timmerman (1954), sendo encontrados 60 *Quadriceps incaï* e 172 *Austromenopon ochraceus*. O estudo para identificação e fechamento do gênero e espécie dos demais hospedeiros se encontra em andamento.

Devido à pandemia, ainda não foi possível realizar a identificação de helmintos durante o período determinado para o estudo.

CONCLUSÕES:

Quando se trata de animais silvestres, a biodiversidade parasitária é extensa, porém o conhecimento a respeito desse assunto é

escasso. Muitas espécies ainda são desconhecidas ou pouco estudadas, dificultando a pesquisa bibliográfica. Percebe-se então, que se torna ainda mais necessário realizar pesquisas direcionadas a esses seres e sua diversidade.

Nesse projeto, foram encontradas diversas espécies de parasitos, sendo possível avaliar diferentes hospedeiros e a intensidade de sua infecção correlacionada com as variáveis epidemiológicas do local onde estão inseridos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

BATTISTONI, V., MONTEMAGGIORI, A., IORI, P., Beyond falconry between tradition and modernity: A new device for bird strike hazard prevention at airports. In: Proceedings of International Bird Strike Committee IBSC, 2008, pp 1–13.

CARVALHO, A., Importância do manejo de fauna em aeroportos, 01/04/2017, Disponível em <<http://www.campuseros.club/a-importancia-do-manejo-de-fauna-em-aeroportos/>> Acesso em 23/03/2020.

CENTRO DE PRESERVAÇÃO DE AVES DE RAPINA. Plano adjunto de atividades de afugentamento e captura da avifauna do RIOgaleão. Rio de Janeiro: CePAR. 2015.

COOPER JE. 2002. Parasitic diseases. In: Birds of prey: health and disease. 3rd edition. Oxford (United Kingdom): Blackwell Science Ltd; p. 105–20.

ESCH,G.W.; FERNANDEX J.C.1993. A Functional Biology of Parasitism. Chapman and Hall, Londres,337 pp

FREITAS, M. F. L.; M. C. N. BOTELHO; A. S. LEITE; V. S. MAGALHÃES; A. E. SOBRINHO; R. A. OLIVEIRA; M. H. C. C. OLIVEIRA & J. B. L. OLIVEIRA. 2002. Ectoparasitos de aves silvestres mantidas em cativeiro no estado de Pernambuco, Brasil. *Entomologia y Vectores* 9: 25– 33.

GAUD, J & ATYEO, WT. 1996. Feather mites of the world (Acarina, Astigmata): the supraespecific taxa (Part I). *Annales du Musée Royal de l'Afrique Centrale*, vol 227. P 1-187.

IWERSEN, C., Perigo aviário: Controle e gerenciamento, 2018, Universidade do Sul de Santa Catarina, 10-12p.

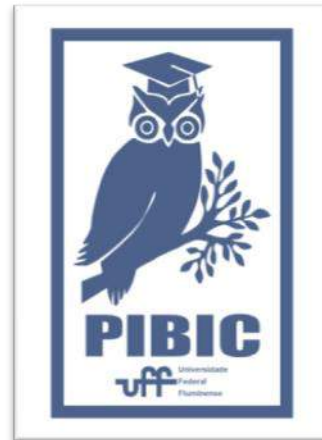
KINSELLA J.M, COLE R.A, FORRESTER D.J 1996 et al. Helminth parasites of the osprey, *Pandion haliaetus*, in North America. *Jornal da Sociedade Helminológica de Washington* vol. 63 p. 262-265.

MATYJASIAK, P., *Methods of Bird Control at Airports*, 2008, Warsaw, Poland, 33p.

PRICE, R. D.; HELLENTHAL, R.A.; PALMA, R.L.; JOHNSON, K.P.; CLAYTON, D.H. **The chewing lice: world checklist and biological overview.** Illinois, Illinois Natural History Survey Special Publication, vol. 24, 501p, 2003.

SILVA, S. O.; H. H. OLIVEIRA; R. H. F. TEIXEIRA & N. M. SERRA-FREIRE. 2004. Malófagos Parasitas de aves campestres cativos do Zoológico Municipal Quinzinho de Barros, Sorocaba, estado de São Paulo, Brasil. *Entomologia y Vectores* 11: 333–339.

YABSLEY MJ. Capillarid nematodes. In: Atkinson CT, Thomas NJ, Hunter DB, 2008 editors. *Parasitic diseases of wild birds*. Ames (IA): Wiley-Blackwell;. p. 463–97.





Ciências Biológicas

PARVOVÍRUS HUMANO B19 E ANEMIA EM ÁREA ENDÊMICA DE MALÁRIA

Ester dos Santos Motta¹, Milena de Paula Rebello¹, Ricardo Luiz Dantas Machado², Rubens Alex de Oliveira Menezes³, Margarete do Socorro Mendonça Gomes⁴, Rita de Cássia Nasser Cubel Garcia¹

Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Instituto Biomédico, UFF, ¹Núcleo de Pesquisa de Virologia – UFF, ²Centro de Investigação de Microorganismos; ³Universidade Federal do Amapá; ⁴Superintendência de Vigilância em Saúde SVS/AP.

INTRODUÇÃO:

O Eritroparvovírus de Primata 1, conhecido como Parvovírus Humano B19 (B19V) é classificado no gênero *Erythroparvovirus* da família *Parvoviridae*. A infecção pelo B19V é comum e apresenta um padrão epidemiológico cíclico a cada 4-5 anos, caracterizado por um aumento do número de casos de eritema infeccioso, uma doença exantemática aguda da infância. Devido ao tropismo por células progenitoras de eritrócitos na medula óssea, a infecção pelo B19V causa uma parada transitória da eritropoese (3-7 dias), resultando em anemia grave em pacientes com anemias constitucionais. Dado o potencial hemolítico do *Plasmodium falciparum*, alguns estudos demonstram que as crianças que vivem em regiões onde a malária falciparum é endêmica, também apresentam um risco mais alto de desenvolver anemia grave (Hb<8,0g/dL) no caso de coinfeção malária e B19V. Até o momento não existem dados sobre o efeito da coinfeção B19V/malária vivax no Brasil. Este projeto tem como objetivo elucidar se a infecção pelo B19V pode agravar os casos de anemia em

pacientes com malária na região amazônica, área de maior prevalência de infecções por *P. vivax*. Portanto, soros de indivíduos com doença febril, residentes no município de Oiapoque (AP), coletados entre novembro/2014 e novembro/2015 foram utilizados neste estudo para pesquisa da infecção pelo B19V por métodos sorológicos e moleculares.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Os soros de 152 pacientes, com confirmação laboratorial do diagnóstico de malária, foram inicialmente testados para a presença de anticorpos anti-B19V IgM e anti-B19V IgG utilizando o ensaio imunoenzimático comercial (Serion, Brasil), conforme instruções do fabricante. A seguir, os 152 soros foram testados para a presença do genoma viral pela reação de amplificação (PCR). Após extração do DNA utilizando o *High Pure PCR Template Preparation Kit* (Roche), a PCR foi realizada em termociclador automático, com o par de iniciadores P1F (1399-1422)/P6R (1682-1659) que amplificam um fragmento de 283pb da região do genoma que codifica para a proteína NS1, nas seguintes condições: desnaturação

inicial a 94°C por 5 minutos, seguida de 35 ciclos a 94°C/45 segundos, 58°C/1 minuto, 72°C/1 minuto e uma extensão final a 72°C/7 minutos. Como controle negativo foi utilizada água *Nuclease-Free* (IDT®) e como controle positivo, uma amostra de soro de paciente com eritema infeccioso B19V-DNA positiva.

Em relação aos resultados de sorologia, os anticorpos IgG foram detectados em 75,5% (115/152) dos pacientes, sem diferença estatisticamente significativa entre os sexos feminino e masculino (teste de Fisher $p=1,0000$). A prevalência de anticorpos aumentou de 43% (3/7) em crianças de 7-9 anos de idade para 79,5% (62/78) em adultos de 20-39 anos, chegando até cerca de 88% (15/17) nos maiores de 50 anos. Conforme também observado em outros estudos do Brasil, a prevalência de anticorpos IgG-anti-B9V na população aumenta com a idade. Um dos fatores que pode ter contribuído para este resultado é a faixa etária dos indivíduos, pois apenas 6% das amostras foram coletadas de crianças de 7 a 11 anos de idade, e mais de 70% de adultos entre 12 e 40 anos de idade.

A infecção recente por B19V (anti-B19V IgM positivo) pode ser confirmada em cerca de 40% (59/152) dos pacientes, enquanto 33,6% (51/152) já eram imunes ao vírus (anti-B19V IgG positivos). Apenas 13/152 amostras (8,5%) testaram anti-B19V IgM e anti-B19V IgG negativas. Existem relatos de surtos de eritema infeccioso mostrando que 2014-2015 foi um ano epidêmico de B19V no Brasil, o que explica a proporção de pacientes anti-B19V IgM positivos nesta população.

Utilizando a PCR convencional foi possível detectar o DNA-B19V em sete amostras.

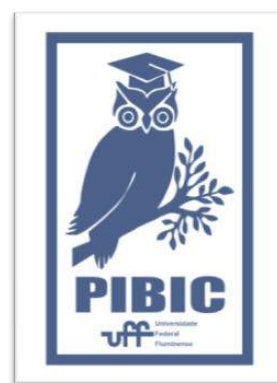
Entretanto, a detecção do genoma viral permitiu confirmar infecção recente em 3/50 pacientes IgM negativo/IgG positivo e outro paciente IgM negativo/IgG negativo. Um dos fatores que pode ter contribuído para a baixa detecção do DNA-B19V entre os 59 pacientes com infecção aguda é a carga viral, e para tal comprovação será necessário testar estas amostras pelo qPCR.

A infecção aguda pelo B19 foi diagnosticada em 52,5% (21/40) dos pacientes com anemia e em 33,92% (38/112) sem anemia, sem diferença significativa (teste de Fisher, $p=0,0579$). Não foi possível estabelecer uma associação entre a coinfeção B19/malária e anemia grave, já que apenas duas pacientes com infecção recente apresentaram $Hb < 8,0g/dL$.

CONCLUSÕES:

A infecção por B19V é comum na região amazônica, mas um número maior de amostras terá que ser testado para corroborar se a coinfeção B19V/malária vivax pode contribuir para a anemia grave na população com malária.

AGRADECIMENTOS: Proppi-UFF





Ciências Biológicas

DENDROECOLOGIA DE ESPÉCIES LENHOSAS ESTABELECIDAS APÓS SUPRESSÃO DE FOGO EM ÁREAS DE CERRADO

Davi Neves de Lemos, Arno Fritz das Neves Brandes

Departamento de Biologia Geral, Instituto de Biologia, Laboratório de Anatomia da Madeira e Dendrocronologia

INTRODUÇÃO:

O fogo é um fator importante no bioma Cerrado, influenciando a distribuição de florestas e savanas e a biodiversidade. O fogo leva a mortalidade de espécies, contudo vegetações típicas do bioma possuem estratégias para resistir ao fogo, com diferentes níveis de tolerância e capacidade de recuperação. A ocorrência frequente de fogo reduz a densidade de vegetação lenhosa através da mortalidade de indivíduos e alterações na regeneração.

A supressão do fogo pode levar a expansão de áreas florestais sobre as savanas. Apesar de espécies arbóreas terem um papel importante no cenário atual de mudanças climáticas no estoque de carbono, a expansão florestal em áreas de Cerrado leva a perda de biodiversidade e alterações na estrutura, no funcionamento e em outros processos ecológicos.

Estudos dendrocronológicos com espécies lenhosas que se estabeleceram depois da supressão do fogo podem ajudar a responder perguntas sobre os processos de mudança no bioma.

O objetivo deste projeto foi estudar a dendrocronologia de espécies lenhosas que se estabeleceram em áreas de Cerrado após 30 anos de supressão do fogo na Estação Ecológica de Santa Bárbara (EEcSB) a fim de inferir sobre os processos de mudança do Cerrado em floresta. Especificamente: (1) caracterizar a estrutura etária e (2) avaliar a dinâmica de incremento radial e produção de madeira das espécies *Moquiniastrum polymorphum* (Less.) G. Sancho e *Ocotea corymbosa* (Meisn.) Mez na área de estudo.

Para isso, foram coletadas amostras de madeiras da base do tronco das árvores em unidades amostrais manejadas com corte raso de espécies arbóreas para avaliar métodos para recuperar a biodiversidade do Cerrado na EEcSB, localizada em Águas de Santa Bárbara, São Paulo, Brasil (22°46'33" S - 22°50'33" S; 49°10'27" W - 49°15'36" W). Foram utilizados métodos convencionais de dendrocronologia para processamento das amostras, análise e medição dos anéis de crescimento.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram medidos 2392 anéis de crescimento de *M. polymorphum* em 52 séries temporais (raios) de 13 indivíduos, e 1513 anéis de crescimento de *O. corymbosa* em 46 séries temporais (raios) e 12 indivíduos.

A idade das árvores de *M. polymorphum* no local estudado teve uma amplitude de 25-80 anos (1993-1938), com média de 48 anos, e de *O. corymbosa* uma amplitude de 14-65 anos (2004-1953), com média de 33 anos. A maioria das árvores de *M. polymorphum* estavam nas classes etárias 21-30 anos (31%) e 41-50 anos (23%), e as de *O. corymbosa* 21-30 anos (42%) e 31-40 anos (33%) (Figura 1). A distribuição etária das árvores amostradas pode estar relacionada com a supressão do fogo. Isto porque a maioria das árvores amostradas foram recrutadas no período de controle de queimadas.

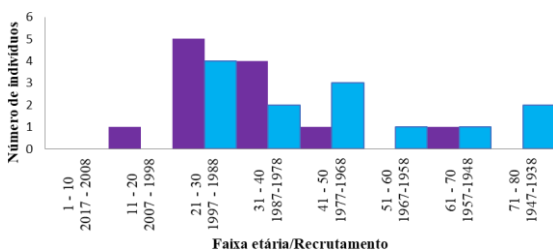


Figura 1: Comparação da estrutura etária e período de recrutamento das espécies *M. polymorphum* (azul) e *O. corymbosa* (roxo).

O incremento radial (IR) médio de *M. polymorphum* foi 1,81 mm/ano (0,15 min; 8,55 max) com tênue aumento oscilatório no incremento radial (~15 anos) e posterior tendência de diminuição com o aumento da idade (Figura 2). O IR médio dos indivíduos da espécie *O. corymbosa* foi 2,1 mm/ano (0,1 min; 9,5 max), com tênue aumento oscilatório com o

aumento da idade. Através do IR acumulado notam-se um aumento linear em *O. corymbosa* e um aumento linear com posterior redução em *M. polymorphum* (Figura 3).

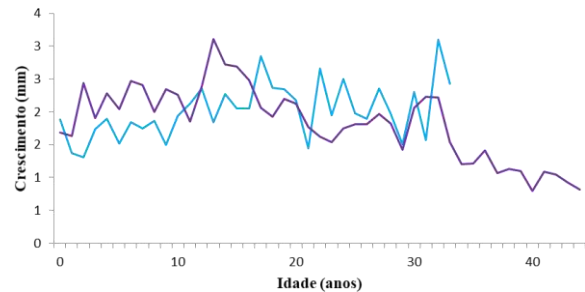


Figura 2: Comparação do incremento radial (mm) das espécies *M. polymorphum* (roxo) e *O. corymbosa* (azul).

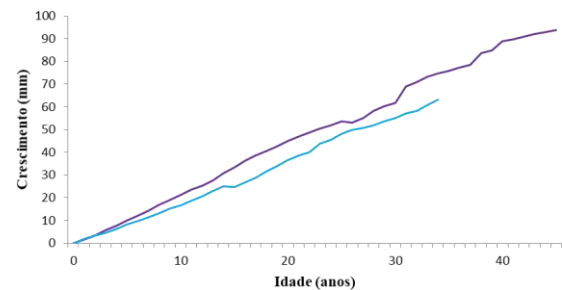


Figura 3: Comparação do incremento radial acumulado (mm) das espécies *M. polymorphum* (roxo) e *O. corymbosa* (azul).

O incremento de área basal (IAB) médio de *M. polymorphum*, foi 556,47 mm²/ano (1,38 min; 4.290,90 max) com aumento até ~30 anos e posterior redução. O IAB médio de *O. corymbosa*, foi 582,19 mm²/ano (min 1,35; max 5.282,41) com aumento com aumento da idade (Figura 4). Através do IAB acumulado nota-se um aumento exponencial com o aumento da idade nas duas espécies (Figura 5).

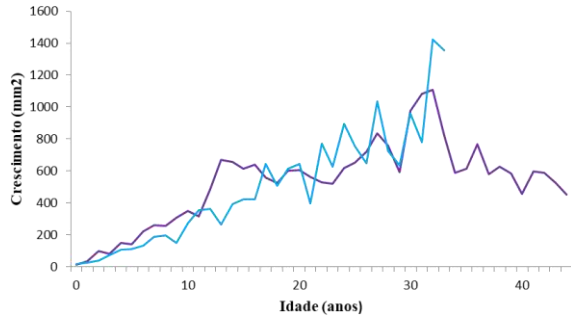


Figura 4: Comparação do incremento de área basal (mm^2) das espécies *M. polymorphum* (roxo) e *O. corymbosa* (azul).

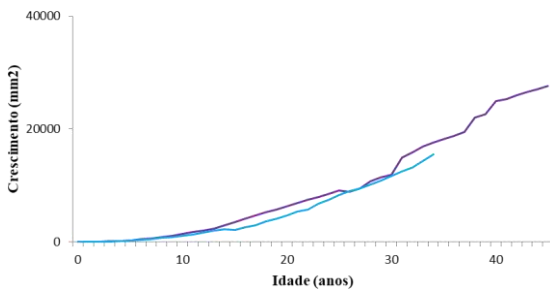


Figura 5: Comparação do incremento de área basal (mm^2) das espécies *M. polymorphum* (roxo) e *O. corymbosa* (azul).

CONCLUSÕES:

Foi possível verificar as idades, os períodos de recrutamento e a dinâmica de crescimento das árvores de *M. polymorphum* e *O. corymbosa* na Estação Ecológica de Santa Bárbara (EEcSB) em áreas que com supressão de fogo nas últimas décadas. A maior parte das árvores se estabeleceu durante o período de supressão do fogo (1968-1997), o que indica que ocorreu uma mudança de uma fitofisionomia aberta para uma fitofisionomia florestal, com o estabelecimento de espécies arbóreas, neste período.

O. corymbosa apresentou maior IR e IAB médios do que *M. polymorphum*, e ambas apresentaram tendência de aumento exponencial do IAB com a idade. Em relação ao IR, as espécies apresentaram padrões diferentes. São necessários outros estudos para refinar o conhecimento acerca dos processos de transformação das fitofisionomias do Cerrado, especialmente relacionadas a supressão do fogo, visando entender como e porque isto ocorre.

AGRADECIMENTOS:

Agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Universidade Federal Fluminense.



CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

AVALIAÇÃO *IN VITRO* E *IN SILICO* DO POTENCIAL ANTIVIRAL DE DERIVADOS DE CUMARINAS CONTRA ARBOVÍRUS E HERPESVÍRUS HUMANO

LUAN LETIERI BELEM MARTINS¹, VITOR WON-HELD RABELO¹, MARIA LEONISA SANCHEZ NUÑEZ¹, LEONARDO SIMÕES DE ABREU CARNEIRO², CAMILLA DJENNE

BUARQUE², IZABEL CHRISTINA NUNES DE PALMER PAIXÃO¹

¹LABORATÓRIO DE VIROLOGIA MOLECULAR E BIOTECNOLOGIA MARINHA, DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR, INSTITUTO DE BIOLOGIA, UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE, NITERÓI, RJ, BRASIL

²DEPARTAMENTO DE QUÍMICA, PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO DE JANEIRO, PUC-RIO, RJ, BRASIL

INTRODUÇÃO:

As arboviroses são infecções causadas por vírus transmitidos por artrópodes e consistem em um problema persistente para a humanidade. Dentre elas, pode-se citar as infecções pelo vírus Mayaro (MAYV), que afetam principalmente países da América Latina, e as infecções causadas pelo vírus Chikungunya (CHIKV) que passaram a ser consideradas importantes problemas de saúde pública por causa da disseminação global. Mesmo que apresentem baixa taxa de letalidade, essas doenças podem evoluir para a forma crônica de poliartrite crônica, o que compromete drasticamente a qualidade de vida dos pacientes por meses ou até anos após a infecção aguda. Contudo, ainda não há vacinas

ou fármacos antivirais específicos aprovados para o tratamento e prevenção das infecções pelo CHIKV e MAYV até o momento, o que torna a busca por novos agentes antivirais de grande relevância. Em outro cenário, as infecções causadas pelo vírus Herpes simplex tipo 1 (HSV-1) também são consideradas um problema de saúde pública mundial pela capacidade do vírus de permanecer em estado de latência no hospedeiro, apresentando momentos de reativação viral. O tratamento atual dessas infecções é realizado principalmente com o fármaco aciclovir (ACV), mas ele não promove a cura e eliminação do vírus do organismo. Além disso, a emergência de cepas resistentes aos fármacos disponíveis traz a necessidade de desenvolver um tratamento alternativo e, por isso, a busca por

novos agentes antivirais se torna de alta importância. Neste contexto, as cumarinas são substâncias amplamente distribuídas na natureza, com estrutura simples e com rotas sintéticas simples e de baixo custo, além da versatilidade e amplo espectro farmacológico. Por isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a citotoxicidade e atividade antiviral *in vitro* de novos derivados cumarínicos sintéticos sobre a multiplicação do CHIKV e analisar *in silico* as propriedades farmacocinéticas e toxicológicas dessas substâncias. Entretanto, como a triagem inicial revelou um efeito inibitório baixo na multiplicação deste vírus, também se avaliou a atividade antiviral frente a outros vírus de relevância para a saúde humana, como o MAYV e HSV-1.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Para avaliar o perfil farmacocinético e toxicológico dos derivados cumarínicos, foram utilizados os servidores *FAF-Drugs4* e *Osiris Property Explorer*. Foi possível observar que as substâncias apresentaram baixo riscos mutagênicos, carcinogênicos, irritantes e relacionado ao sistema reprodutor, exceto pelos derivados **LSO-36**, **LSO-86**, **LSO-87**, **LSO-88**, **LSO-89**, que apresentaram alto risco tóxico para o sistema reprodutor. Além disso, as substâncias apresentam um perfil farmacocinético e toxicológico promissor e boa biodisponibilidade oral, de acordo com as regras GlaxoSmithKline (4/400) e regra “dos cinco” de Lipinski, desenvolvidas por indústrias farmacêuticas. Por isso, os 11 derivados analisados foram avaliados experimentalmente. Inicialmente, foi avaliada a toxicidade dessas

substâncias em células Vero utilizando o método de MTT. As substâncias apresentaram baixa citotoxicidade, com valores de concentração necessária para reduzir em 50% a viabilidade celular (CC_{50}) variando de 314,69 μM com **LSO-85** a 754,10 μM com **LSO-36**. Então, os derivados cumarínicos foram avaliados em uma concentração de 100 μM frente a multiplicação viral (MOI = 1) após 24 h de tratamento e o título viral foi determinado por ensaio de redução de placas. Para o CHIKV, as substâncias apresentaram um efeito inibitório variando de 3,75% com **LSO-83** a 47,62% com **LSO-89**, nenhuma delas apresentou atividade antiviral significativa frente ao MAYV (<10%). Para o HSV-1, as substâncias apresentaram atividade inibitória entre 0% com **LSO-84** e 68,28% com **LSO-89**. A partir desses dados, diferentes concentrações de **LSO-89** foram analisadas frente à multiplicação do HSV-1 para determinar a concentração necessária para inibir a formação de 50% de partículas virais (EC_{50}). Esse derivado apresentou EC_{50} de 66,26 μM e índice de seletividade (IS) de 9,19, visto seu valor de CC_{50} igual a 609,18 μM .

CONCLUSÕES:

Os derivados cumarínicos apresentaram propriedades farmacocinéticas e toxicológicas teóricas interessantes bem como baixa citotoxicidade. Entretanto, essas substâncias não apresentaram atividade inibitória significativa frente aos arbovírus CHIKV e MAYV. Por outro lado, o derivado **LSO-89** apresentou efeito inibitório elevado frente ao HSV-1. Apesar desta substância possuir

atividade e índice de seletividade inferiores ao ACV ($EC_{50} = 1,09 \mu\text{M}$; $IS = 880,73$), é importante ressaltar a emergência de cepas resistentes a tal tratamento, o que estimula o aprofundamento da investigação do mecanismo de ação desse derivado. Além disso, os dados obtidos podem subsidiar o planejamento de novos derivados com atividade antiviral mais potente e com maior espectro de ação.



AGRADECIMENTOS:

CAPES, CNPq, FAPERJ, PROPPI-UFF,
PIBIC-UFF



Ciências Biológicas

SINALIZAÇÃO POR CANABINÓIDES EM CÉLULAS DE RETINA DE GALINHA EM CULTURA

Alícia de Souza Carvalho, Thayane Martins Silva e Ana Lucia Marques Ventura

Neurobiologia/ Instituto de Biologia/ Neuroquímica

INTRODUÇÃO:

Em retinas embrionárias de galinha em cultura, a ativação de receptores canabinóides pelo seu agonista WIN 5212-2 (WIN) é capaz de diminuir a proliferação e a viabilidade de progenitores gliais. Este efeito é inibido pelos antagonistas de receptores de canabinóides CB1/CB2 AM-251 e AM-630 e pelo antagonista de receptores de nucleotídeos P2X7. Neste estudo investigamos o efeito de outros canabinóides na retina, como o Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC) e o canabidiol (CBD) que são os fitocannabinóides mais comuns da *Cannabis sativa*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Culturas obtidas de retinas de embriões de galinha com 8 dias e mantidas por 2 dias (E8C2) foram utilizadas em ensaios colorimétricos baseados na redução de MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide) para determinação da viabilidade celular. Para esses experimentos, as células foram pré-tratadas por 24 horas com THC 10 μM , CBD 10 μM na presença de diversas concentrações de PF514273 ou SR144528 (10 μM , 20 μM e 30 μM), antagonistas seletivos para os receptores CB1 e CB2, respectivamente. Nossos resultados

mostraram que a adição de THC ou CBD foi capaz de induzir uma redução de 65,1% e 78%, respectivamente, na viabilidade celular das culturas. Em culturas tratadas simultaneamente com THC ou CBD e PF514273, uma redução na viabilidade celular semelhante a obtida quando os agonistas foram utilizados sozinhos foi observada (em unidades arbitrárias: controle = $96,16 \pm 13,47$; THC 10 μM = $24,82 \pm 6,055$; CBD 10 μM = $10,94 \pm 5,357$; PF514273 10 μM = $102,5 \pm 10,56$; THC + PF = $13,06 \pm 5,246$; CBD + PF = $11,50 \pm 4,989$). Entretanto, quando as culturas foram tratadas com os agonistas e SR144528 10 μM simultaneamente, foi observado uma atenuação na diminuição da viabilidade celular em comparação com culturas tratadas apenas com os agonistas THC e CBD (em unidades arbitrárias: controle = $113,5 \pm 6,413$; THC 10 μM = $32,86 \pm 3,259$; CBD 10 μM = $28,66 \pm 6,197$; SR144528 10 μM = $121,6 \pm 7,627$; THC + SR = $61,20 \pm 16,67$; CBD + SR = $46,30 \pm 9,293$).

Para explorar mais detalhadamente a possibilidade da morte celular ocorrer via receptores CB2, as células foram novamente incubadas com o antagonista SR144528 por 24 horas, porém nas concentrações maiores de 20 μM e 30 μM .

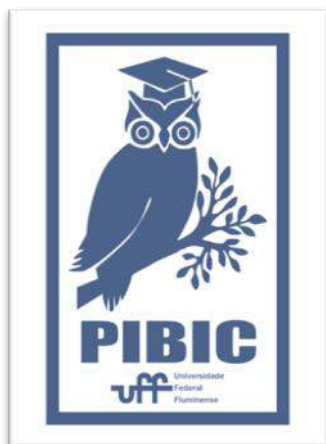
O tratamento conjunto das culturas com THC ou CBD e SR144528 revelou um bloqueio significativo na diminuição da viabilidade quando comparados com culturas tratadas apenas com os agonistas THC e CBD. Para SR144528 20 μ M, os valores observados em unidades arbitrárias foram: controle = $130,8 \pm 15,27$; THC 5 μ M = $68,64 \pm 10,25$; CBD 5 μ M = $48,81 \pm 9,939$; SR144528 20 μ M = $129,7 \pm 8,042$; THC + SR = $94,97 \pm 12,62$; CBD + SR = $112,2 \pm 18,46$. Para SR144528 30 μ M, os valores observados foram: controle = $119,1 \pm 13,84$; THC 5 μ M = $61,72 \pm 2,064$; CBD 5 μ M = $35,31 \pm 8,568$; SR144528 30 μ M = $117,8 \pm 15,29$; THC + SR = $106,6 \pm 17,90$; CBD + SR = $124,0 \pm 18,52$, sugerindo um envolvimento do receptor CB2 na morte celular induzida por canabinóides em nossas culturas.

CONCLUSÕES:

Nossos dados sugerem que a morte celular em retinas embrionárias de galinha induzida pelos canabinóides THC e CBD ocorra através da ativação de receptores canabinóides do tipo CB2.

AGRADECIMENTOS:

CAPES, PROPPi-UFF, CNPq, Faperj





CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DOS ÓLEOS ESSENCIAIS *EUCALYPTUS CINEREA* SOBRE *ULOMOIDES* *DERMESTOIDES* (FARMAIRE, 1893)

LOHAN DOS SANTOS SILVA¹; VALÉRIA COSTA
ROCHA² VIANA; MARIA DENISE FEDER¹

LABORATÓRIO DE BIOLOGIA DE INSETOS
(LABI-UFF) ¹; LABORATÓRIO DE TECNOLOGIA DE
PRODUTOS NATURAIS (LTPN-UFF) ²

INTRODUÇÃO

A forma de controle dos insetos pode variar desde a morte ao impedimento do seu desenvolvimento, sendo que eles podem ser aplicados de diversas formas, como sprays, iscas, difusão de liberação lenta, aplicação direta no solo e nas lavouras, entre outras. Com isso, o uso de inseticidas se tornou uma ferramenta presente na produção rural.

As plantas produzem uma diversa gama de compostos orgânicos, dentre eles, os metabólitos especiais são altamente específicos e desempenham um papel de importância na proteção vegetal para enfrentar estresses abióticos e bióticos. Entre os metabólitos especiais, destacam-se os compostos presentes na composição dos óleos essenciais, que são ricos em monoterpenos, sesquiterpenos e derivados fenilpropanóides.

Pesquisas utilizando óleos essenciais de origem vegetal representam uma alternativa importante no controle de pragas entomológicas. Se destacam por serem eficientes no combate, apresentarem baixa ou nenhuma agressividade ao homem e ao ambiente e

por não propiciarem a ocorrência de formas de resistência aos insetos.

De origem australiana, a espécie *Eucalyptus cinerea* é uma das menos exploradas do gênero, sendo utilizada pela importância medicinal que o gênero apresenta. inseticidas, utilizando modelos dípteros de importância médica.

O perfil químico do óleo essencial de *E. cinerea* utilizado no presente trabalho, apresenta poucas substâncias na sua composição, sendo elas em sua maioria monoterpenos oxigenados, além da substância química 1,8 cineol como majoritária.

O *Ulomoides dermestoides*, é oriundo do sudeste asiático onde tem sido detectado como inseto-praga na Malásia em grãos de milho e aveia. Para o território nacional, é considerado uma praga secundária ou praga exótica. O inseto foi introduzido na década de 1970 por colônias japonesas e por pesquisadores em São Paulo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para determinar a atividade biológica dos óleos essenciais sobre o inseto modelo, três grupos de 15 larvas, na faixa etária de

vinte a trinta dias após a eclosão dos ovos, foram separadas para posteriormente serem expostas ao óleo essencial mediante aplicação por contato.

O ensaio contou com sete tratamentos, descritos a seguir: Controle Negativo (sem tratamento); Óleo puro; 500 mg/mL; 250 mg/mL; 125 mg/mL; 62,5 mg/mL e Controle solvente (acetona).

Para a exposição dos insetos aos compostos, 9µl de cada solução foram aplicados sobre uma placa de Petri (revestida internamente com papel filtro). Os insetos foram colocados sobre a placa de Petri em contato direto com o papel filtro e as soluções e acompanhados durante 20 dias.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Ao final do experimento o óleo essencial puro de *Eucalyptus cinerea* apresentou a maior taxa de mortalidade ao final do experimento com $64,44 \pm 0,58\%$. As diluições apresentaram uma baixa taxa de mortalidade quando comparadas ao óleo puro.

Concentrações do óleo	Mortalidade no 20º dia após tratamento (%)
Óleo puro	$64,44 \pm 0,58$
500	$35,56 \pm 0,36$
250	$15,56 \pm 0,16$
125	0
62,5	0
Controles	Mortalidade no 20º dia após tratamento (%)
Solvente	0
Negativo	0

Figura 1. Porcentagem relativa do tratamento com óleo essencial de *Eucalyptus cinerea*,

diluições do óleo e controles solvente (acetona) e negativo (sem tratamento).

Foi obtido $35,56 \pm 0,36\%$ para 500 mg/ml com uma variação de $28,88 \pm 0,36\%$ em relação ao óleo puro e $15,56 \pm 0,16\%$ para 250 mg/ml com variação de $48,88\%$ em relação ao óleo puro. As demais diluições 125 mg/ml e 62,5 mg/ml não apresentaram nenhuma mortalidade.

Como observado na Figura 2, a taxa de mortalidade média (DL50) é obtida a partir de aproximadamente 783 mg/ml com variação de 680 mg/ml para margem inferior e 926 mg/ml para margem superior.

Dias após tratamento	20
DL 50	783,51 mg/ml
Limite 95% inferior	680,99 mg/ml
Limite 95% superior	926,38 mg/ml

Figura 2. Cálculo de Dose Letal Mediana (DL50) após o tratamento por contato de larvas de *Ulomoides dermestoides* com óleo essencial de *Eucalyptus cinerea* e diluições do óleo.

Poucos estudos utilizam o potencial biológico da espécie. Dentre os estudos, pode-se citar as análises de Kahla et al. (2007) que demonstram potencial antimicrobianos dos óleos essenciais. Como bioinseticida aparece em dois estudos: Rossi & Palácios, 2017 & Cavalca et al. 2010, utilizaram dois modelos dípteros de importância médica: *Musca domestica* e *Aedes aegypti*.

Em Cavalca et al. (2010) foi demonstrada ação larvicida do OE de folhas de *E. cinerea* frente às larvas L1 a L4 de *Aedes aegypti* em soluções aquosas com DMSO a 2%, e concentração de OE a partir de 0,4

mg/mL com CL50 de 0,27 mg/mL e CL90 de 0,38 mg/mL.

O estudo de Rossi e Palacios (2015) demonstra a eficácia do EO de *E. cinerea* em *Musca domestica*. Os adultos tratados com 10 mg com OE morreram em menos de 15 minutos. Após a morte, os insetos foram avaliados em busca da toxicidade dos metabólitos. A partir dos resultados obtidos, foi determinado que o componente 1,8 cineol é responsável pela maior parte da ação tóxica do OE.

CONCLUSÕES

O presente resultado demonstra que o óleo essencial derivado da planta *Eucalyptus cinerea*, demonstrou eficácia como bioinseticida ativo, novos testes deverão ser feitos visando procurar novos tipos de ações, como inibição de ecdise, alterações morfofisiológicas entre outros efeitos. Novos ensaios como ações de repelência do OE de *Eucalyptus cinerea* já foram feitos e os resultados estão passando por tratamento de dados.

Se confirma a importância da investigação de novas substâncias com efeito bioinseticidas, a fim de obter substâncias mais seletivas e biodegradáveis que possam desempenhar um papel importante no combate a pragas agrícolas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CAVALCA, P. A. M., LOLIS, M. I. G. D. A., REIS, B., & BONATO, C. M. *Homeopathic and larvicide effect of Eucalyptus cinerea essential oil against Aedes aegypti*. Brazilian Archives of Biology and Technology, 53(4): 835-843, 2010.

ROSSI, Y. E.; PALACIOS, S. M. *Insecticidal toxicity of Eucalyptus cinerea essential oil and 1,8-cineole against Musca domestica and possible uses according to the metabolic response of flies*. Industrial Crops and Products, 63: 133-137, 2015.

KAHLA, Y., ZOUARI-BOUASSIDA, K., REZGUI, F., TRIGUI, M., & TOUNSI, S. *Efficacy of Eucalyptus cinerea as a source of bioactive compounds for curative biocontrol of crown gall caused by Agrobacterium tumefaciens strain B6*. BioMed research international, 2017: 2017.

AGRADECIMENTOS

PIBIC/CNPq e PROPII





Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas

Título do Projeto: ESTUDO DO POTENCIAL NEUROPROTETOR DE INIBIDORES DO TRPA1 EM RETINAS EM MODELO DE GLAUCOMA

Autores: Guilherme Ribeiro Teixeira, Ana Gabriela Alves, Karin da Costa Calaza

Departamento/Unidade/Laboratório: Departamento de neurobiologia / Instituto de Biologia / Laboratório de neurobiologia da retina

INTRODUÇÃO:

O glaucoma, uma doença neurodegenerativa, é considerado o maior causador de cegueira irreversível no mundo. Pode ser definido como o conjunto de fatores que causam a morte das células ganglionares da retina, responsáveis por formar o nervo óptico e levar a informação da retina ao encéfalo, onde ocorre o processo de percepção e formação de imagens. Apesar do principal fator de risco ser o envelhecimento, o mais conhecido e que os tratamentos existentes abordam é o aumento da pressão intraocular (IOP). Um alto IOP dificulta o fluxo sanguíneo, impedindo a entrada de oxigênio e nutrientes ao mesmo passo que também impede a saída de produtos metabólitos retiniais. Outros fatores de risco importantes do glaucoma são diabetes, histórico familiar, hipertensão e miopia elevada.

O TRPA1 é um canal iônico permeável a cálcio que pode ser modulado por uma série de estímulos, sejam eles térmicos, mecânicos ou químicos. Alguns autores também o classificam como receptor ionotrópico de canabinoides, já que o mesmo pode ser ativado por moléculas endocanabinoides e

agonistas/antagonistas exógenos de canabinoides. Espécies reativas de oxigênio e compostos como o óleo de mostarda também são conhecidos moduladores deste canal. Na modulação, se destacam as vias de estresse oxidativo e inflamação, que por sua vez podem ser observadas durante a isquemia ocorrida no aumento de pressão intraocular no quadro de glaucoma.

Modelos animais de estudos de glaucoma podem envolver o aumento de pressão intraocular, realizado através da inserção de uma agulha na câmara anterior de camundongos C57BL/6 que apresentam entre seis e oito semanas de vida. A agulha fica acoplada em uma solução salina estéril (0,9 NaCl) elevada a um metro e meio do animal. Antes do início do aumento de pressão intraocular os animais são devidamente anestesiados por via intraperitoneal com solução contendo 5% de xilazina e 10% de ketamina em soro fisiológico. Em seus olhos são aplicados dois colírios, um com função dilatadora para as pupilas e outro como anestésico local. Os animais submetidos ao aumento de pressão são então tratados por uma

semana com colírios contendo dipirona 10 mM em dois veículos distintos: o primeiro é composto por DMSO e Tween 4% em salina e o segundo é composto por hipromelose 0,5%, também em salina. DMSO + Tween é um veículo amplamente utilizado, mas pode causar reações indesejadas, por ser uma substância irritante para mucosas (como a ocular). Pensando na aplicabilidade futura, buscamos um veículo amplamente utilizado para colírios humanos que não apresente tais adversidades, chegando assim na hipromelose. Também foi necessário um estudo para adequar a sua concentração. Sobre isso, nossos testes indicaram que a sua concentração ideal seria de 0,5%.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Estudos prévios sobre a dipirona realizados por nosso grupo já demonstraram que ela atua de alguma forma na inibição do TRPA1 em modelo de glaucoma por aumento de pressão intraocular. Como esperado, nossos resultados preliminares vêm demonstrando que o tratamento com o inibidor dipirona causa diminuição na reatividade glial na retina de camundongos no modelo isquêmico.

CONCLUSÕES:

Os receptores TRPA1 têm grande potencial para tratamento de retinopatias como o glaucoma e uma de suas ações parece envolver o controle da reatividade glial.

AGRADECIMENTOS:

Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro

(FAPERJ) INCT/CNPQ-INNT (Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Instituto Nacional de Neurociência Translacional), PIBIC.



ANÁLISE DO EFEITO DE POLIGODIAL E SEUS DERIVADOS EM CÉLULAS U87 – NA/K-ATPASE COMO ALVO

BRUNO GOMES DA SILVA , CAMILA SOUZA DOS SANTOS, CASSIANO F.G. ALBUQUERQUE E PATRÍCIA BURTH

LABORATÓRIO DE ENZIMOLOGIA E SINALIZAÇÃO CELULAR

INTRODUÇÃO:

A adenosina trifosfatase ativada por sódio, potássio e magnésio (Na/K-ATPase; NKA) é um complexo proteico encontrado na membrana plasmática de células animais, que atua acoplando a energia estocada na molécula de ATP ao transporte de íons Na⁺ e K⁺ através da membrana celular. O transporte desses íons cria um gradiente eletroquímico que é essencial para manter o potencial de membrana das células e a capacidade de excitação de células nervosas e musculares. Além da sua função na homeostasia iônica, a NKA também apresenta um papel na sinalização intracelular e em eventos relacionados à apoptose, como alterações no nível de K⁺ intracelular (Cui and Xie, 2017; Xie and Cai, 2003). Estudos realizados há cerca de trinta anos demonstrou uma densidade reduzida de receptores de ouabaína, ou seja, NKA, na membrana plasmática de células malignas (Latzkovits et al., 1983). Neste contexto, a NKA pode ser um importante alvo para a terapia anticâncer (Aperia, 2007). A primeira evidência epidemiológica para o efeito anticâncer dos glicosídeos cardíacos foi reportada por Stenkvis em 1979 (Stenkvis et al., 1979). Este estudo indicou que amostras de tecidos de câncer de mama retiradas de pacientes com insuficiência cardíaca

congestiva, tratados com glicosídeos cardíacos, exibiram mais características benignas do que amostras de tecidos de câncer de pacientes controle que não foram tratados com glicosídeos cardíacos (Stenkvis et al., 1979). O fato da NKA também atuar como um transdutor de sinal despertou novos interesses nas propriedades anticâncer dessas drogas (Gable et al., 2014; Kometiani et al., 2005).

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Os experimentos foram realizados com células U87 em cultivo convencional e também utilizando matrigel (MTG) o qual mimetiza o ambiente in vivo. A citotoxicidade da poligodial e seus derivados foi determinada através da quantificação de LDH. Resultados de 5 experimentos com tempo de incubação de 48 h, sendo 3 para cultivo tradicional e 2 para MTG mostraram diferenças na atuação das drogas quando submetidas a diferentes condições, neste caso, células em cultura 2D e células em cultura 3D. Quando colocadas em condições 2D, as células U87 foram mais afetadas pela Poligodial nas concentrações de 10 e 20 µM, enquanto nas concentrações de 50 e 100 µM, os efeitos da droga foram semelhantes aos da DR-P27. Dessa forma, o

derivado DR-P10 foi o que apresentou menor efeito citotóxico no modelo de cultura 2D em um tempo de exposição à droga de 48 horas. Nos experimentos realizados com matrigel, em cultura 3D, a Poligodial continuou apresentando maiores efeitos sobre as células. Contudo, nestas condições, em concentrações de 50 e 100 µM, a DR-P10 mostrou-se mais eficiente.

CONCLUSÕES:

Ainda são necessários mais estudos para concluir o real efeito dessas substâncias utilizadas e quais vias de morte celular são ativadas, porém, já é possível inferir que a Poligodial e seus derivados são citotóxicos contra o glioblastoma, com efeitos diferentes em cultivo em matrigel.

Referências:

- Cui, X., Xie, Z., 2017. Protein Interaction and Na/K-ATPase-Mediated Signal Transduction. *Molecules* 22, 990. doi:10.3390/molecules22060990
- Xie, Z., Cai, T., 2003. Na⁺-K⁺-ATPase-Mediated Signal Transduction: From Protein Interaction to Cellular Function. *Mol. Interv.* 3, 157–168. doi:10.1124/mi.3.3.157
- Latzkovits, L., Torday, C., Jánossy, T., Erdős, E., 1983. Manifestation of {K}⁺ transport alterations in cultured tumour cells of mice. *Acta Chir. Hung.* 24, 287–294
- Aperia, A., 2007. New roles for an old enzyme: Na,K-ATPase emerges as an interesting drug target. *J. Intern. Med.* 261, 44–52. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2006.01745.x>
- Stenkvist, B., Bengtsson, E., Eriksson, O., Holmquist, J., Nordin, B., Westman-Naeser, S., 1979. Cardiac glycosides and breast cancer. *Lancet (London, England)* 1, 563
- Gable, M.E., Abdallah, S.L., Najjar, S.M., Liu, L., Askari, A., 2014. Digitalis-induced cell signaling by the sodium pump: On the relation of Src to Na⁺/K⁺-ATPase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 446, 1151–1154. doi:10.1016/J.BBRC.2014.03.071
- Kometiani, P., Liu, L., Askari, A., 2005. Digitalis-induced signaling by Na⁺/K⁺-ATPase in human breast cancer cells. *Mol. Pharmacol.* 67, 929–936. doi:10.1124/mol.104.007302



GRANDE ÁREA: BIOLÓGICAS

TÍTULO DO PROJETO: ESTUDO DOS EFEITOS DA DIGOXINA EM LINFÓCITOS E NO MODELO EXPERIMENTAL DE MELANOMA MURINO

AUTORES: RAYANE OLIVEIRA COSTA, MARIA LUÍSA ARANTES CAMPOS, MATHEUS RAGGHIANI NEY

FERREIRA, MAYARA CRISTINI SEBASTIÃO SILVA, LUCIANA SOUZA DE PAIVA.

**DEPARTAMENTO/UNIDADE/LABORATÓRIO: DEPARTAMENTO DE IMUNOBIOLOGIA/
INSTITUTO DE BIOLOGIA/LABORATÓRIO DE IMUNORREGULAÇÃO**

INTRODUÇÃO:

A Digoxina (DIGO) é um glicosídeo cardiotônico muito utilizado na prática clínica para o tratamento da insuficiência cardíaca. Como outros esteróides cardiotônicos, a DIGO possui a capacidade de se ligar à subunidade α da Na⁺K⁺ATPase, desencadeando um efeito inibitório sobre a enzima. Tal inibição leva à inversão do trocador Na/Ca e o consequente aumento do cálcio intracelular e da força de contração muscular.

Em relação ao sistema imunológico, já foi demonstrado que o tratamento com DIGO leva à inibição da infecção das células T pelo HIV, devido a ausência de expressão de CD40-L e CD38 (ZHYVOLOUP et al., 2017). Também já foi observada a supressão da diferenciação das células Th17 pela DIGO em estudo realizado *in vivo* em modelo de artrite reumatóide em camundongos (LEE et al., 2015).

A DIGO apresentou ainda potencial antitumoral, sendo capaz de provocar morte de células de melanoma humano através do sinergismo com inibidores da via MAPK (ESKIOCAK et al., 2016). Também foi relatado que a DIGO

reduziu a viabilidade de câncer de pulmão *in vitro* em associação com adriamicina. Neste estudo foi demonstrado que a associação com a Digoxina não só aumentou a eficácia antitumoral, mas também reduziu a cardiotoxicidade da adriamicina (WANG et al., 2020).

Dessa forma, uma vez que o melanoma, um tumor derivado de melanócitos epidérmicos, apresenta altas taxas de mortalidade, devido à sua grande capacidade invasiva, este trabalho visa avaliar a capacidade de imunorregulação da Digoxina e investigar seu potencial de ação em um modelo murino de melanoma (B16F10).

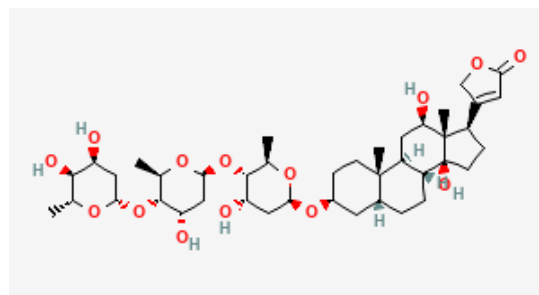


Figura 1 - Estrutura química da Digoxina

Fonte: PubChem

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nossos resultados mostram que houve um aumento em número absoluto de linfócitos B e T no baço de animais tratados *in vivo* com DIGO comparado ao grupo controle. Tal aumento não foi observado nas células mielóides do baço desses animais. No linfonodo mesentérico, linfonodo drenante do sítio da injeção, foi observado aumento no número absoluto e percentual de linfócitos B, mas não ocorreram alterações significativas nos linfócitos T.

O aumento dos linfócitos B não pode ser explicado pela maior proliferação desses linfócitos após o tratamento *in vitro* com DIGO. Também não foram observadas alterações em percentual e em número absoluto das células B apoptótica, demonstrando não haver relação entre o aumento do número absoluto de linfócitos B e a alteração na viabilidade dessas células.

Em relação à ativação celular, não foi evidenciado aumento significativo da expressão dos marcadores de ativação em linfócitos B tratados *in vitro* com Digoxina.

O possível efeito direto *in vitro* da Digoxina sobre as células de melanoma murino (B16F10) também foi avaliado e não houve uma redução significativa na porcentagem de células viáveis de melanoma tratadas com diferentes concentrações de Digoxina.

CONCLUSÕES:

O mecanismo de ação da Digoxina responsável pelo aumento observado em número absoluto dos linfócitos B ainda precisa ser melhor investigado. Além disso, a DIGO não interferiu diretamente no percentual de células viáveis de

melanoma, sugerindo que o efeito da mesma sobre modelo tumoral, se comprovado, provavelmente se deve à atuação indireta da mesma sobre o sistema imunológico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ESKIOCAK, U.; RAMESH, V.; GILL, J. G. et al. Synergistic effects of ion transporter and MAP kinase pathway inhibitors in melanoma. *Nature Communications*, 7: 1-17, 12336. 2016.

LEE, J.; BAEK, S.; LEE, J. et al. Digoxin ameliorates autoimmune arthritis via suppression of Th17 differentiation. *International Immunopharmacology*, 26: 103–111. 2015.

WANG, Y; MA, Q; ZHANG, S. et al. Digoxin Enhances the Anticancer Effect on Non-Small Cell Lung Cancer While Reducing the Cardiotoxicity of Adriamycin. *Frontiers in Pharmacology*, 11, 186. 2020.

ZHYVOLOUP, A.; MELAMED, A.; ANDERSON, I. et al. Digoxin reveals a functional connection between HIV-1 integration preference and T-cell activation. *PLoS Pathog*, 13: 1-28. 2017.

AGRADECIMENTOS:

Agradeço às agências de fomento, FAPERJ, Proppi/UFF e CNPq, que financiaram o estudo e a toda a equipe do laboratório, que tornou possível a realização do mesmo.



CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE E ATIVIDADE CONTRA O VÍRUS ZIKA DE DERIVADOS DE NAFTOQUINONAS

Guilherme Silva¹, Priscilla O. Esteves^{1,2}, Max W. L. Gomes^{1,2}, Victória Maranhão^{1,2}, Daniel Gonzaga³, Claudio C. Cirne-Santos², Izabel C. N. de P. Paixão² e Caroline de S. Barros¹

¹ Laboratório de Imunovirologia, Departamento de Imunobiologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Brazil;

² Laboratório de Virologia Molecular e Biotecnologia Marinha, Departamento de Biologia Celular e Molecular, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Brazil;

³ Departamento de Química, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, UERJ.

INTRODUÇÃO:

O Zika vírus (ZIKV) é um arbovírus emergente da família *Flaviviridae*, que inclui também os vírus da dengue (DENV), West Nile, Febre Amarela e Encefalite Japonesa (1).

A apresentação clínica clássica da doença se assemelha com a apresentação da dengue e também do chikungunya, com febre acompanhada de poliartralgia, mialgia, erupção cutânea maculopapular e dor de cabeça (1).

Devido a ausência de tratamentos anti-ZIKV estabelecidos, torna-se de extrema importância o desenvolvimento de agentes antivirais contra o ZIKV (2).

O presente trabalho teve o objetivo de avaliar a toxicidade e a atividade antiviral contra o ZIKV de derivados de naftoquinonas e de 1,2,3-triazóis conjugados ao anel tiofênico *in silico*, *in vitro* e em animais experimentais. Os resultados obtidos através das ferramentas

computacionais e *in vitro* foram utilizados para a escolha da substância mais promissora para os estudos em animais experimentais.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Inicialmente foram realizados os testes para avaliação dos efeitos dos triazóis em células VERO em diferentes concentrações, os resultados demonstraram a baixa citotoxicidade das substâncias.

Em seguida, foram realizados os testes de atividade antiviral para determinar o percentual de inibição da produção de partículas virais (ZIKV) na concentração de 20 μ M de cada triazol. As substâncias DP04, DP05, DP07, DP10, DP11, DP13 e PD14 apresentaram 99% de inibição do ZIKV. Esses triazóis foram selecionados para os ensaios de determinação do EC₅₀.

Os ensaios para avaliar a concentração das substâncias capaz de inibir em 50% a

produção de partículas virais (EC_{50}) demonstraram que as substâncias foram capazes de inibir a produção de partículas virais (ZIKV) com valores de EC_{50} variando de 0,62 a 1,5 μ M. O triazol DP14 foi o que apresentou maior potencial inibitório com EC_{50} de 0,62 μ M e foi selecionado para os testes *in silico*.

A naftoquinona PAV05, que apresentava resultados preliminares de atividade antiviral *in vitro*, e o triazol PD14, foram submetidas às análises *in silico* utilizando o servidor admetSAR 2.0. Onde as Drogas apresentaram parâmetros satisfatórios nas avaliações referentes a Hepatotoxicidade (H-HT), capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica (BBB) e absorção intestinal (HIA).

A substância DP14 foi selecionada para a realização do experimento de toxicidade aguda em camundongos BALB/c. Os camundongos foram tratados com 550mg/kg da droga e não apresentaram alteração significativa em seu peso e comportamento (figura 1).

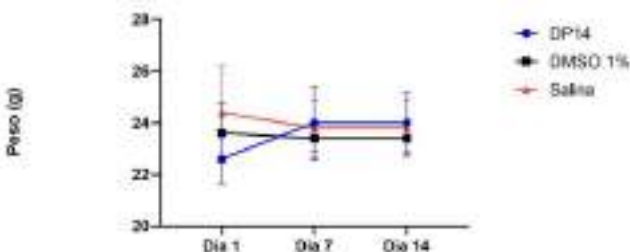


Figura 1: Evolução ponderal dos camundongos BALB/c tratados com o DP14. Os animais foram tratados com dose única no primeiro dia de

experimento. Análise estatística: 2 WAY ANOVA ($p > 0,05$).

Para avaliar a eficácia terapêutica, camundongos Swiss com 3 dias de idade foram infectados com de ZIKV (10^4 PFUs) por via intraperitoneal e tratados com a DP14 (15 mg/kg), pesados e os sinais clínicos observados durante 6 dias.

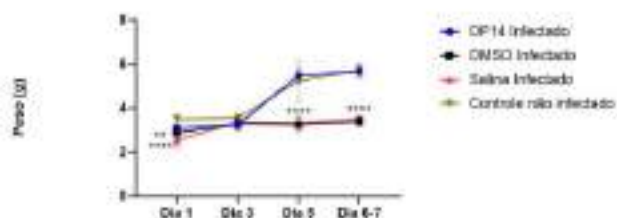


Figura 2: Evolução ponderal dos animais no experimento de eficácia terapêutica da DP14 contra o ZIKV. A análise estatística: 2 WAY ANOVA com pós teste de Dunnett 's, foram realizadas comparações múltiplas dos grupos infectados em relação ao grupo controle não infectado. (** $p = 0,0014$) (**** $p < 0,0001$).

Wu et al. (2018) (3), demonstraram a perda de peso de camundongos de seis dias infectados com ZIKV, o que corrobora com os resultados encontrados no presente trabalho para os animais infectados e tratados com DMSO ou salina. A DP14 foi capaz de manter o ganho de peso dos animais demonstrando um possível efeito antiviral do triazol (figura 2).

A análise da ultraestrutura do tecido cerebral demonstrou algumas alterações celulares e presença de possíveis partículas virais no animal tratado com o triazol (figura 3 A e B) , porém as alterações encontradas no animal infectado e tratado com salina foram mais intensas e também foram encontrados

aglomerados de partículas virais (figura 3 C e D).

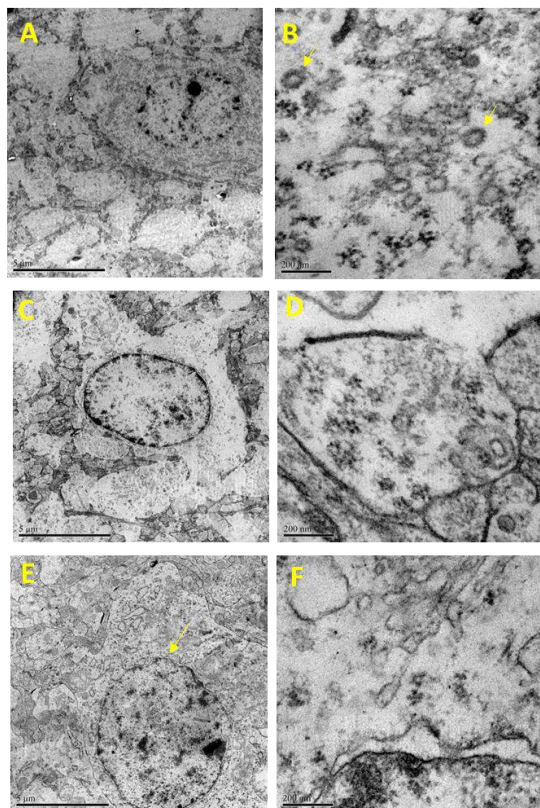


Figura 3: Ultraestrutura dos cérebros dos camundongos Swiss infectados com ZIKV. A) Grupo infectado tratado com PD14 (15mg/Kg) 6.000X. B) Grupo infectado tratado com PD14 (15mg/Kg) 80.000X. C) Grupo infectado tratado com salina 6.000X. D) Grupo infectado tratado com salina 80.000X. E) Grupo não infectado 6.000X. F) Grupo não infectado 80.000X.

CONCLUSÕES:

Nosso estudo mostrou o potencial anti-ZIKV da naftoquinona e do triazol DP14, demonstrando seus potentes efeitos antivirais, além de não apresentar citotoxicidade. Demonstrando assim, que essas substâncias podem ser promissoras terapias contra o ZIKV,

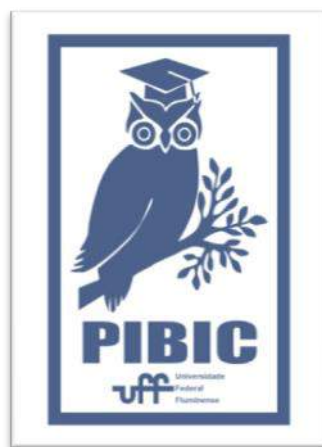
necessitando de outras análises para comprovar sua atividade e segurança.

REFERÊNCIAS:

1. Gatherer D, Kohl A. Journal of General Virology. 2015.
2. Qiu HY, et al. Chemical biology & drug design. 2018;91(3):681-90.
3. Wu, Y-H, et al., K-C.. PLoS neglected tropical diseases. 2018;12.

AGRADECIMENTOS:

Os autores deste trabalho agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Pró-reitoria de Pesquisa, Pós-graduação e Inovação da UFF (PROPI).





CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ESTUDO DO PERFIL DE EXPRESSÃO E PAPEL FUNCIONAL DE VARIANTES DE SPLICING DA OSTEOPONTINA NO ACOMETIMENTO DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL NA LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA PEDIÁTRICA

ISABELLA DE OLIVEIRA PEREIRA¹; ANA CLARA DOS SANTOS FONSECA BASTOS²; ETEL RODRIGUES PEREIRA

GIMBA¹

¹ DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS NATURAIS, INSTITUTO DE HUMANIDADES E SAÚDE, UFF, RJ, BRASIL; ²PROGRAMA DE HEMATO-ONCOLOGIA MOLECULAR, COORDENAÇÃO DE PESQUISA E INOVAÇÃO, INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER.

INTRODUÇÃO:

A leucemia mieloide aguda (LMA) é uma neoplasia hematológica caracterizada pela proliferação clonal e maligna de progenitores mieloides imaturos. A presença de algumas alterações genéticas é importante para definir o risco prognóstico do paciente e a estratégia de tratamento. Apesar das terapias eficazes, muitos pacientes ainda apresentam recaídas, principalmente no sistema nervoso central (SNC). Nesses casos, os pacientes com LMA são submetidos a um tratamento terapêutico intensivo associado a sequelas graves ou mesmo à morte. Esses fatos destacam a importância da descoberta de novos alvos terapêuticos e biomarcadores de LMA mais eficazes. Dentre os produtos gênicos com expressão alterada na LMA podemos citar a osteopontina (OPN), uma glicofosfoproteína de matriz extracelular. A OPN tem sido associada a vários aspectos da biologia da LMA, como taxas

de sobrevivência mais curtas de pacientes com LMA e a sobrevivência de progenitores leucêmicos e blastos de LMA. O transcrito primário de OPN está sujeito a *splicing* alternativo, gerando pelo menos cinco isoformas de *splicing* de OPN (OPN-SI) denominadas OPNa, OPNb, OPNc, OPN4 e OPN5 conhecidas por serem importantes biomarcadores de tumores sólidos. No entanto, pouco é conhecido sobre o papel desses OPN-SI na LMA. Nesse contexto, nosso estudo tem como objetivo investigar o perfil de expressão da OPN-SI em pacientes com LMA e a correlação entre a expressão dessas isoformas com recidiva no SNC para melhor compreender seu potencial como biomarcadores na LMA.

As análises foram feitas usando abordagens bioinformáticas pela base de dados GEPIA2 (<http://gepia2.cancer-pku.cn/#index>). Os níveis de expressão transcricional de quatro OPN-SI e as taxas de sobrevida global foram analisados em amostras de medula óssea de pacientes com

LMA (n=173) em comparação com amostras de medula óssea não tumorais (n= 70). Em seguida, realizamos uma análise de correlação entre OPN-SI e genes codificando proteínas conhecidas por estarem envolvidas na infiltração do SNC

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Descobrimos que OPNa, OPNb e OPN4 são superexpressos em amostras de pacientes com LMA quando comparados a amostras não tumorais. Esta análise também mostrou que OPNa é superexpresso em amostras de pacientes com LMA em relação a OPNb e OPN4. No entanto, OPNc é expresso em níveis mais elevados em amostras não tumorais quando comparadas com amostras de pacientes com LMA. Além disso, casos de LMA com níveis de expressão mais elevados de OPNa apresentam uma sobrevida global inferior. Dentre vários genes usados como marcador de recaída no SNC na LMA, encontramos que os genes *ITGB1*, *CD34*, *CD44* tiveram correlação positiva de grau fraco com OPNa e também são mais expressos em amostras tumorais do que em amostras não tumorais, exceto *ITGB1*.

CONCLUSÕES:

Concluimos que OPN-SI são expressos diferencialmente entre AML e amostras não tumorais. Além disso, OPNa é a variante mais expressa e está associada a baixas taxas de sobrevida. A correlação positiva entre OPNa e genes relacionados ao envolvimento do SNC

demonstra um potencial papel funcional da OPNa na invasão e migração do SNC. Mais informações ainda precisam ser geradas para melhor compreender os papéis das OPN-SI na LMA.

AGRADECIMENTOS:

Agradeço às minhas orientadoras Dra. Etel Gimba e MSc. Ana Clara Bastos pelo suporte e companheirismo, aos membros do grupo de Biomarcadores Neoplásicos (UFF) e Laboratório de Hemato-Oncologia (INCA); e ao CNPq, Proppi/UFF e PIBIC/UFF pelo fomento.





Grande área do conhecimento: 2.00.00.00-6 - Ciências Biológicas

Título do Projeto: “IDENTIFICAÇÃO DA ENZIMA CONVERSORA DE ANGIOTENSINA II (MECANISMO DE ENTRADA DO SARS-COV II) NO TUBO GASTROINTESTINAL DE MACACOS RHESUS (*MACACA MULATTA*) (CERCOPITHECIDAE, PRIMATES).”

Autores: Clarice Machado dos Santos e Larissa dos Santos Sebould Marinho

Departamento de Morfologia/Instituto Biomédico/Laboratório de Ensino e pesquisa em histologia e embriologia comparada

INTRODUÇÃO:

O novo coronavírus, SARS-Cov-2, é o causador da Covid-19 que gerou a pandemia decretada pela OMS em março de 2020. O principal mecanismo de entrada do vírus é através da ligação com a enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2). Essa enzima faz parte do mecanismo contrarregulador do sistema renina-angiotensina-aldosterona, responsável pela conversão da angiotensina 2 em angiotensina 1-9, diminuindo a pressão arterial. Nos seres humanos, a expressão dessa protease encontra-se principalmente nos enterócitos do intestino delgado, cólon e rins. Em contrapartida aos principais sintomas da doença serem respiratórios, observou-se mínima expressão nos pulmões.

Para estudos científicos, o macaco rhesus é amplamente utilizado, devido às semelhanças filogenéticas, cerca de 94% com seres humanos. Esta espécie, por exemplo, está envolvida em pesquisas com o vírus ebola, hepatite B, leishmaniose e tuberculose. Também é um modelo experimental em análises

clínicas e na produção de vacinas acerca da Covid-19.

Em decorrência da alta expressão da ECA2, sobretudo no intestino delgado, apesar de mecanismos ainda não estarem completamente elucidados, uma segunda via de transmissão fecal-oral já é sugerida em seres humanos, visto que sintomas gastrointestinais estão associados à doença e a detecção de RNA viral em swab fecal.

Colaborando para interpretação de artigos já publicados em humanos e auxiliando em pesquisas futuras, o projeto tem por objetivo a identificação da ECA2 no tubo gastrointestinal de macaco rhesus devido à espécie ser considerada um modelo experimental para a doença.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Na análise imuno-histoquímica foi identificada a marcação positiva para Anti-ACE2, na região do estômago e duodeno. No estômago, na região do cárdia, corpo e fundo não foram observadas imunomarcação positiva em nenhuma das regiões. Entretanto, na região pilórica, foi

observada marcação intracitoplasmática no polo apical das células glandulares pilóricas, localizadas na lâmina própria. Diferentemente do observado em seres humanos, não foi observada marcação no epitélio de revestimento intestinal.

No intestino delgado, na região duodenal, observou-se imunopositividade intracitoplasmática nas células das glândulas intestinais tubulares simples revestidas pelo mesmo epitélio das vilosidades. Esta reação ocorre no pólo apical das células de forma linear. No epitélio de revestimento observou-se leve marcação em sua superfície. Na submucosa do duodeno encontram-se as glândulas mucosas duodenais. A marcação destas glândulas foi diferente do observado nas glândulas intestinais, pois esta apresentou uma marcação intracitoplasmática não limitada à superfície apical da célula (Figura 01).

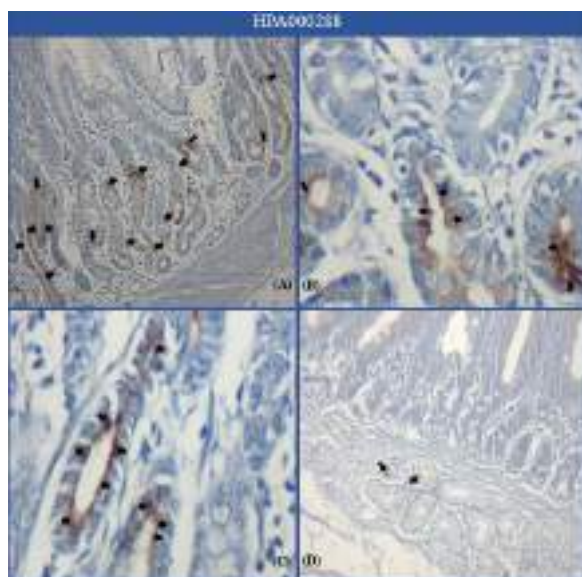


Figura 1: Macaco Rhesus. Análise imuno-histoquímica com marcação positiva para anti-ACE2 (seta). **(A)** Estômago, região pilórica. **(B), (C)** e **(D)** Intestino delgado, região duodenal.

Para a padronização da técnica, nove protocolos de imuno-histoquímica foram testados em diferentes diluições do anticorpo. Apesar da positividade que evidencia a presença da ECA2 nos tecidos digestivos estudados e da característica da marcação ser semelhante ao ser humano, em relação à localização intracelular, ao comparar-se às expressões houve uma disparidade significativa. No macaco Rhesus a intensidade da imunomarcação foi claramente menor quando comparado aos estudos em seres humanos. O motivo para tal discrepância ainda não está claro, podendo variar entre o anticorpo utilizado, protocolo ou a possível diferença na distribuição fisiológica da enzima no organismo dos macacos rhesus. O que pode acabar explicando as diferentes sintomatologia e gravidade da doença quando comparados a seres humanos e macacos.

CONCLUSÕES:

Apesar da semelhança genética da enzima conversora de angiotensina 02 entre macaco rhesus e seres humanos, a expressão da ECA2 no tubo gastrointestinal destes, são diferentes. Essa divergência devido a marcação espécie-específica pode dificultar o uso desse primata não humano como modelo experimental para estudos acerca da patogênese da Covid-19, pois a forma de infecção, transmissão e o curso da doença podem apresentar-se de formas distintas.

AGRADECIMENTOS:

Ao Instituto de Ciência e Tecnologia em Biomodelos, Fundação Oswaldo Cruz pela

doação de todos os animais aqui estudados.
Marcia Cristina Ribeiro Andrade e Claudia
Andréa de Araújo Lopes pela parceria científica.



Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas
ECOLOGIA DA GERMINAÇÃO DA CHUVA DE SEMENTES EM
FLORESTA DE RESTINGA INUNDÁVEL EM RESTAURAÇÃO NO
MUNICÍPIO DO RIO DE JANEIRO, RJ.

Clara Pietrani Alves; Luiz Roberto Zamith

Departamento de Biologia Geral /Instituto de Biologia/

Laboratório de Ecologia Animal e Vegetal

INTRODUÇÃO

Uma das principais limitações para o estabelecimento de plântulas nas comunidades é a germinação de suas sementes. Estudos sobre a ecologia da germinação de espécies vegetais permitem o entendimento das limitações que agem sobre esse estágio de vida das plantas nos diferentes habitats.

Nas restingas, as comunidades que as constituem apresentam fatores limitantes distintos para a germinação das sementes. Em restingas arbustivas abertas, as plantas estão sujeitas a altas temperaturas, radiação, ventos intensos e déficit hídrico no solo. Já em florestas inundáveis de restinga, as principais limitações devem-se ao afloramento do lençol freático, que causa inundações periódicas.

Este projeto teve como objetivo investigar os principais fatores responsáveis por influenciar a germinação de duas espécies que apresentam hábitos de vida distintos e ocorrem em diferentes comunidades de restinga, *Ficus clusiifolia*, encontrada em florestas inundáveis, e *Melocactus violaceus*, que ocorre em vegetação arbustiva aberta sobre cordão arenoso.

METODOLOGIA

O principal critério para a seleção das espécies foi a disponibilidade de sementes em período de frutificação no momento do início dos experimentos. Sendo *Ficus clusiifolia* e *Melocactus violaceus* as espécies escolhidas. Para *F. clusiifolia*, foi considerada também a sua alta representatividade na chuva de sementes de florestas inundáveis em restauração no Parque Natural Municipal de Marapendi, já que é a espécie mais abundante na chuva de sementes embora regenerantes dessa espécie, não venham sendo amostrados na área.

Os testes de germinação foram feitos em germinadores do tipo BOD. Nove tratamentos testaram o efeito de diferentes regimes de temperatura, intensidade luminosa e saturação hídrica na porcentagem de germinação de *F. clusiifolia*. Para *M. violaceus* três tratamentos sob luz branca testaram diferentes regimes de temperatura. Para as duas espécies foram calculados o índice de velocidade de germinação (IVG) para estimar o vigor das sementes.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Ficus clusiifolia obteve baixo percentual de germinação e não foram encontradas diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos com diferentes regimes de luz, temperatura e saturação hídrica. Porém foi observada uma tendência para uma melhor germinação em temperaturas alternadas de 20-30°C, sob luz vermelho extremo e vermelho e sem saturação hídrica. A diferença estatística significativa entre os tratamentos com a interação de condições de luz, temperatura e saturação hídrica indica a importância das interações de fatores para a maximização ou impedimento da germinação.

Para *M. violaceus*, a porcentagem de germinação no tratamento com temperaturas alternadas de 20-35°C foi significativamente maior do que com temperatura constante de 25°C e com temperaturas alternadas de 20-30°C. Uma vez que essa espécie ocorre em habitats abertos e que possuem uma alta amplitude térmica do ar e do solo, essas condições favoreceriam a germinação e o consequente estabelecimento de plântulas de *M. violaceus*.

CONCLUSÕES

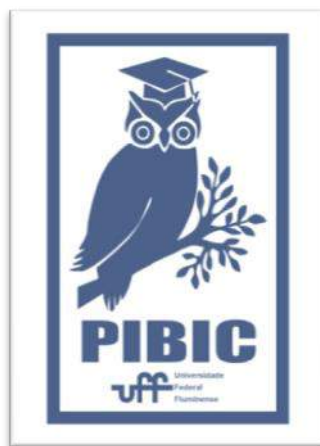
Foi possível perceber uma relação entre as condições ótimas de germinação e o padrão de ocorrência das espécies entre as diferentes comunidades vegetais de restinga, que reflete as respostas das espécies às condições de temperatura, de modo que *Melocactus violaceus* necessitou de uma alta amplitude térmica para germinar enquanto as sementes de *Ficus clusiifolia* não tiveram boas respostas a essas

mesmas condições. Análises multifatoriais serão necessárias para um melhor entendimento das condições ótimas de germinação de *Ficus clusiifolia*.

O estudo da ecologia da germinação das espécies permite o entendimento das dinâmicas de regeneração das espécies vegetais. Uma maior compreensão dos processos de recrutamento são necessários para melhores resultados nas ações de restauração ecológica.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Universidade Federal Fluminense (UFF) e a equipe do Laboratório de Ecologia Animal e Vegetal (LEAV) por fornecer as condições e logística necessárias para a realização deste projeto.





Ciências Biológicas

ENTOMOLOGIA DE PARASITOS E VETORES

INSECTICIDE ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS OF PLANTS FROM JURUBATIBA SANDBANK ON CHAGAS DISEASE VECTOR, *RHODNIUS PROLIXUS*

Lucas Pacheco Chaves (IC)^{1*}, 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: lucas_pacheco@id.uff.br

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.

INTRODUÇÃO:

A busca de modelos na natureza para resolver diferentes problemas que afetam ao homem e ao desenvolvimento dele tem usado às plantas como uma das principais fontes de estudo. A grande variação climática e geográfica de um país como o Brasil permite entender a ampla diversidade e as peculiaridades dos insetos e plantas que o país abriga. Essas características e a intensa interação competitiva com o homem, no caso dos insetos, possibilita explicar a ocorrência de muitas espécies que servem como vetores de transmissão para diversas infecções e doenças¹. Com a intenção de controlar as diferentes pragas entomológicas que afetam a saúde do

homem, são realizadas pesquisas que envolvem o uso de diferentes metabólitos secundários vegetais². As alterações que esses metabólitos geram na produção normal dos principais hormônios que atuam no desenvolvimento dos insetos vetores (ecdisona e hormônio juvenil) permitem conhecer a ação inseticida dos mesmos. Nesse sentido, testamos os óleos essenciais de *Ocotea pulchella*, *Ocotea elegans*, *Xylopiya ochranta*, *Myrciaria floribunda* e *Ocotea spixiana*, espécies nativas das restingas da região sudeste do Brasil, contra o inseto *Rhodnius prolixus*, vetor da Doença de Chagas.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram coletas folhas de *O. pulchella*, *O. elegans*, *X. ochranta*, *M. floribunda* e *Ocotea spixiana* no Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba, Rio de Janeiro, Brasil. O material coletado foi submetido à hidrodestilação, obtendo um óleo com uma composição alta em monoterpenos e sesquiterpenos. Para a análise da atividade inseticida do óleo frente aos insetos, grupos de 10 ninfas do 5º estágio foram separadas e posteriormente foi aplicado 1 µl do óleo sobre o dorso de cada inseto em quatro diferentes concentrações: óleo puro, 500 mg/mL, 250 mg/mL e 125 mg/mL. A avaliação biológica da ação inseticida de cada tratamento foi registrada em mortalidade e muda durante um período de 41 dias ^{3,4}. o tratamento tópico com os óleos essenciais testados causou altos níveis de mortalidade já em 24 horas após a alimentação sanguínea. Progressivamente, este alto nível de mortalidade aumentou durante o período de observação (24 dias) atingindo 96,6% ($p < 0.0001$), 93,3% ($p < 0.0001$) 80% ($p < 0.0001$), 76,6% ($p < 0.0001$) e 70% ($p < 0.001$) nos grupos tratados com *Ocotea spixiana*, *O. pulchella*, *M. floribunda*, *O. elegans* e *X. ochranta*, respectivamente, enquanto apenas 3,3% dos insetos do grupo controle (não tratados) morreram no mesmo período. Observou-se também a inibição total ou parcial da metamorfose dos

insetos sobreviventes nos grupos tratados com *Ocotea spixiana* (0%; $p < 0.01$) e *M. floribunda* (10%, $p < 0.001$) enquanto 43,3% dos insetos no grupo controle atingiram a fase adulta. Adicionalmente, nos grupos tratados com *Ocotea spixiana* e *M. floribunda*, todos os insetos que atingiram a fase adulta apresentaram deformidades nas asas.

CONCLUSÕES:

A variedade de efeitos dos óleos essenciais obtidos a partir de folhas de Canela Branca Grande, *O. pulchella*, *M. floribunda*, *O. elegans* e *X. ochranta* sobre o desenvolvimento do *R. prolixus* indica seus metabólitos secundários – neste momento sobre investigação e purificação em nosso laboratório – como bons candidatos para o estudo da fisiologia de insetos e possível utilização em programas integrados e ecologicamente seguros de controle das populações de vetores da doença de Chagas.

AGRADECIMENTOS:

FAPERJ/ CNPq/ PROPPI (UFF)

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

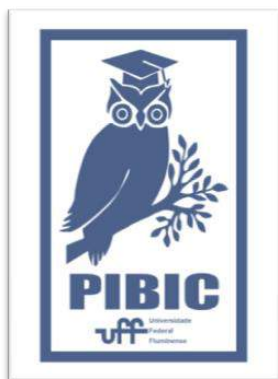
- 1- Viegas Júnior, C. 2003. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. *Quím. Nova* 26 (3): 390-400.
- 2-Ezeonu F.C.; Chidume, G.I.;

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

REGULAÇÃO DA EXPRESSÃO DOS RECEPTORES A1 DE ADENOSINA POR ÓXIDO NÍTRICO EM RETINAS DE EMBRIÃO DE GALINHA

1,2 Restier, J.G.*, 1Vaz, L.C., 1Haiidamus, A.B., 1Teixeira, L.F., 3Paes-de-Carvalho, R., 2Brito, R., 1Pereira, M.R.

1Laboratório de Sinalização Química do Sistema Nervoso, Programa de Pós-graduação em Neurociências, UFF, Niterói.

2Laboratório de Fisiologia e Patologia Neuronal, Departamento de Biologia Celular e Molecular, UFF, Niterói.

3Laboratório de Neurobiologia Celular, Programa de Pós-graduação em Neurociências, UFF, Niterói.

INTRODUÇÃO:

A adenosina é um neuromodulador do sistema nervoso central (SNC) que atua, por exemplo, na modulação da liberação de neurotransmissores e está envolvida em mecanismos neuroprotetores contra a morte neuronal induzida por excitotoxicidade. As ações da adenosina são mediadas por 4 tipos de receptores metabotrópicos: A1, A2a, A2b e A3. Os receptores A1 e A3 estão acoplados à proteína Gi inibindo a adenilil ciclase e diminuindo os níveis intracelulares de AMPc. Os receptores A2a e A2b estão acoplados à proteína Gs estimulando a enzima adenilil ciclase e aumentando os níveis de AMPc intracelular.

O óxido nítrico (NO) é um mediador gasoso sintetizado a partir do aminoácido L-arginina através da enzima óxido nítrico sintase. No SNC, esta molécula regula diversos eventos como morte e sobrevivência celular e também plasticidade sináptica.

Trabalhos da literatura mostram que óxido nítrico (NO) aumenta a expressão do receptor A1 em células PC12 ou culturas de neurônios corticais. Além disso, dados prévios do nosso grupo demonstram que a produção endógena de NO reduz a expressão dos receptores A2a em culturas mistas de retina de embrião de galinha tratadas com L-arginina. Dessa forma, o objetivo desse trabalho é avaliar se a produção de NO a partir de L-arginina também pode regular a expressão de receptores A1 em culturas mistas de retina.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Culturas mistas de retinas de embriões de 8 dias (E8) foram tratadas no primeiro dia de cultura (C1) com 1 mM de L-arginina até C3. Em seguida, as células foram processadas para experimentos de Western Blot e RT-PCR em tempo real.

O tratamento com L-arginina aumentou os níveis proteicos do receptor A1 e este efeito

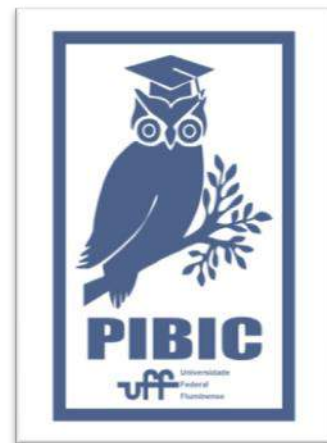
foi bloqueado pelo pré-tratamento com 7-NI, inibidor da enzima NO sintase neuronal (controle: 99.7 ± 8.1 , L-arginina: 137.0 ± 5.2 , 7-NI: 93.3 ± 19.4 , L-arginina + 7-NI: 97.7 ± 13.3 , $n = 3$; * $p < 0.05$). Também foi observado aumento dos níveis de RNAm do receptor A1 após o tratamento com L-arginina (controle: 1.0 ± 0.1 , L-arginina: 3.5 ± 0.8 , $n = 2$). Para avaliar se o NO produzido pela L-arginina aumenta os níveis do receptor A1 pela via clássica, as culturas mistas foram tratadas com KT 5823, inibidor da PKG. Os resultados preliminares mostraram que o aumento da expressão dos receptores de A1, após o tratamento por L-arginina foi bloqueado pelo KT 5823 ($n = 1$). Além disso, ZM 241385, antagonista do receptor A2a, bloqueia o aumento e diminuição dos receptores A1 e A2a, respectivamente (A1R, controle: 100, L-arginina: 134, ZM241385: 114, L-arginina + ZM241385: 106, $n=1$; A2aR, controle: 100, L-arginina: 68, ZM241385: 99, L-arginina+ ZM241385: 91, $n=1$).

Para avaliar se o aumento da expressão do receptor A1 está envolvido no efeito neuroprotetor da L-arginina, culturas purificadas de neurônios de retinas de embrião de 8 dias (E8) foram tratadas com L-arginina, seguido de tratamento com H_2O_2 para indução de morte neuronal. Foi observada uma tendência de redução do efeito neuroprotetor da L-arginina quando as culturas foram tratadas com DPCPX, antagonista de receptor A1 (controle: $101,8 \pm 14,9$, L-arginina: $105,1 \pm 8,7$, H_2O_2 : $64 \pm 9,8$, DPCPX: $97,8 \pm 11,0$, L-arginina + H_2O_2 : $114,6 \pm 12,96$, DPCPX + H_2O_2 : $61 \pm 11,1$, L-arginina + DPCPX: $103,5 \pm 8,8$, L-arginina + DPCPX + H_2O_2 : $83,3 \pm 4,4$, $n=2$).

CONCLUSÕES:

Os resultados obtidos neste trabalho sugerem que a L-arginina é convertida em NO através da enzima NO sintase neuronal e aumenta a expressão dos receptores A1 nas culturas mistas de embrião de galinha. Esse efeito parece ser dependente da ativação da PKG, além de estar envolvido na neuroproteção induzida por L-arginina contra a morte por estresse oxidativo. Além disso, nossos dados sugerem que o aumento da expressão do A1 por L-arginina é dependente da redução da expressão de A2a.

AGRADECIMENTOS: FAPERJ, CNPQ, PROPPI, CAPES, PRONEX-MCT





Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas

HIPÓXIA E CONTROLE NEURAL DO CORAÇÃO: INTERAÇÃO ENTRE O QUIMIORREFLEXO E BARORREFLEXO

Autores: Victor Quintella de Aragão Porto e Pedro Paulo da Silva Soares

Departamento/Unidade/Laboratório: Laboratório de Fisiologia do Exercício Experimental e Aplicada (LAFE-EA) – Instituto Biomédico – Bloco E sala 227

INTRODUÇÃO:

A pandemia de COVID-19, iniciada no Brasil no início do ano de 2020, teve grandes impactos diretos na saúde e nas condutas sociais da população mundial. Com uma letalidade de 2,2%, a maioria dos casos da doença são leves (síndrome gripal) ou assintomáticos, mas podendo evoluir com pneumonia grave e fenômenos tromboembólicos (RATNAYAKE et al., 2021). O grande número de infectados torna essa letalidade aparentemente baixa muito expressiva, havendo o número de óbitos no Brasil, até o mês de março de 2022, ultrapassado o valor de 650.000 indivíduos de acordo com dados do Ministério da Saúde, sendo a maioria desses representados por idosos e/ou pessoas com comorbidades prévias.

Na COVID-19 é comum encontrarmos uma situação inusitada, pacientes em hipoxemia com saturações arteriais de oxigênio extremamente baixas que, por outro lado, não apresentam dispneia ou sinais de esforço respiratório, como uso de musculatura acessória e tiragem intercostal. Esse fenômeno é conhecido como hipóxia silenciosa ou hipóxia

feliz, visto que, apesar da gravidade do quadro, o paciente aparenta estar clinicamente estável. Diversas hipóteses têm surgido para explicar tal quadro hipoxêmico na ausência de dispneia, de modo que grande parte é relacionadas a mecanismos neurais de redução do drive respiratório pelo comprometimento de áreas como o núcleo do trato solitário (ANOOP; VERMA, 2020) e os quimiorreceptores carotídeos (PORZIONATO et al., 2021).

Dessa maneira, tendo em mente o impacto da COVID-19 no mundo e o perigo que a hipóxia silenciosa promove aos pacientes pela falsa sensação de benignidade do quadro, faz-se necessária uma análise do perfil dos pacientes que apresentam esse quadro, visando à identificação de fatores de risco. Esses podem vir a guiar a prática clínica e fornecer base para hipóteses quanto à fisiopatologia da doença.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Prevalência de sintomas

Quanto à prevalência dos sintomas da doença, Alhusain et al., Busana et al. e Sirohiya et al. evidenciaram os três uma maior ocorrência de febre nos grupos que apresentaram dispneia.

Os dois primeiros também observaram maior relato de tosse no mesmo grupo. Assim, percebe-se que não só a sensação de dispneia não é presente naqueles com hipóxia silenciosa, como também se encontram menos sinais e sintomas de alerta para o diagnóstico da doença úteis aos médicos e pacientes.

Além disso, Busana et al. e Sirohiya et al. foram capazes de identificar maior número de sintomas gastrointestinais nos indivíduos com hipóxia silenciosa, enquanto Garcia-Grinshaw et al. descreveu um aumento de cefaleia nesse grupo, a qual correlacionou com um possível acometimento do tronco encefálico.

Exames de imagem

Le Borgne et al. encontrou lesões mais extensas na TC de tórax dos dispneicos (>50% extensão, $p < 0.01$) e Busana et al. identificaram achados de gravidade ao raio X de tórax mais frequentemente no grupo com dispneia, de modo que esses se correlacionaram com menores valores da relação PaO_2/FiO_2 , embora hipoxemia estivesse presente mesmo nos casos com radiografia levemente alterada (70 pacientes, 32.8%, com PaO_2/FiO_2 de 223 ± 70 mmHg) e uma fração considerável de indivíduos tenha permanecido eupneica apesar de severidade presente na radiografia.

Entretanto, Garcia-Grinshaw et al. não identificaram diferenças entre os grupos no nível de acometimento pulmonar e nem na relação PaO_2/FiO_2 .

Parâmetros ventilatórios

Busana et al., Garcia-Grimshaw et al. e Le Borgne et al. reportaram os três um aumento

da frequência respiratória, e o último um aumento da frequência cardíaca, nos pacientes com dispneia à hipóxia.

Alhusain et al. e Le Borgne et al. relataram uma maior prevalência de intubação em indivíduos com presença de dispneia, sendo que o último ainda observou um número maior de dias de ventilação mecânica e de intubações na emergência entre os integrantes do grupo dispneico. Já Sirohiya et al. mostrou um maior uso por parte dos dispneicos de cânula nasal de alto fluxo (16,03% vs. 9,52%) e de ventilação não invasiva (28,28% vs. 20,81%), mas não de ventilação mecânica, e Garcia-Grinshaw et al. uma necessidade de maior FiO_2 para esses mesmos pacientes.

Garcia-Grinshaw et al. interpretou tal ausência de resposta no aumento da frequência respiratória nos eupneicos na vigência de PaO_2 e $PaCO_2$ similares como uma disfunção das aferências quimiorreceptoras do sistema nervoso.

Internação e desfechos

Alhusain et al. verificou menor taxa de admissão em CTI para o grupo de hipóxia silenciosa (36% vs 64%). No entanto, entre os que foram internados, de acordo com Alhusain et al., Le Bogne et al., Garcia-Grinshaw et al. e Busana et al. não houve diferença significativamente estatística entre o tempo de permanência no CTI e nem entre o número de óbitos.

CONCLUSÕES:

A partir da pesquisa bibliográfica realizada, é possível verificar que, apesar da ausência de fatores de risco facilmente identificáveis para a hipóxia silenciosa, ela é uma condição de fisiopatologia complexa que não deve ser subestimada, dado que seu prognóstico não se afasta daquele dos pacientes com dispneia. Assim, tendo em vista, ainda, a menor prevalência de febre e outros sintomas respiratórios nesse grupo, sobressai-se o oxímetro de pulso como uma ferramenta de automonitorização da população importante para guiar a busca às instituições de saúde, não devendo ser a hipóxia silenciosa subestimada.



Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas.

Título do Projeto: AVALIAÇÃO DO EFEITO DO EXTRATO DE *ARRABIDAEA CHICA* VERLOT EM NEURÔNIOS DA RETINA E SUA RELAÇÃO COM O SISTEMA ADENOSINÉRGICO

Autores: Gabriel Ferreira dos Santos; João Gabriel Leal Restier; Karin da Costa Calaza; Rafael Brito da Silva.

Departamento/Unidade/Laboratório: Departamento de Biologia Celular Molecular, Instituto de Biologia, Laboratório de Fisiologia e Patologia Neuronal.

INTRODUÇÃO:

Arrabidaea chica (*A. chica*) Verlot é uma planta arbustiva pertencente à família Bignoniaceae. No Estado do Amazonas a planta é conhecida como “crajiru” e possui uso popular medicinal e não medicinal devido a presença de moléculas biologicamente ativas, como flavonoides. A presença desses componentes nas folhas de *A. chica* pode estar relacionada com as propriedades anti-inflamatória, antiangiogênica, antitumoral e antioxidante descritas para extratos brutos e frações obtidos dessas folhas. Apesar de dados na literatura apontarem para um papel benéfico do extrato bruto e frações de *A. chica*, não há nenhum trabalho relacionado o uso do extrato na proteção de neurônios do sistema nervoso. Entretanto, há uma série de evidências que demonstram a papel de outros flavonoides derivados de plantas na neuroproteção em diferentes paradigmas experimentais. Assim, é provável que o extrato de *A. chica* possua ações protetoras em células neuronais, como as da retina.

A retina é considerada parte integrante do sistema nervoso central (SNC). Em vertebrados, ela está localizada na parte posterior do globo ocular, sendo dividida em diversas camadas nas quais se distribuem diferentes tipos celulares

neurais e gliais. Por fazer parte do SNC, a retina possui todos os quase todos os sistemas de neurotransmissores e neuromoduladores, com o da adenosina. A retina de embrião de galinha, modelo de estudo do atual trabalho, possui todos os componentes do sistema da adenosina ao longo do seu desenvolvimento, o que inclui seus transportadores (ENT-1 e ENT2), receptores (A1, A2A, A2B e A3) e a própria adenosina. Através de seus receptores, adenosina exerce efeitos protetores em neurônios encefálicos e em neurônios retinianos, o que demonstra seu potencial de ser usada como estratégia na prevenção e/ou tratamento de doenças que acometem o SNC. Nesse sentido, a retina é susceptível a diferentes patologias que levam a morte de neurônios por diversos mecanismos, sendo um deles deflagrado por isquemia.

Isquemia consiste em uma condição onde o aporte sanguíneo para determinado tecido é insuficiente para a manutenção da atividade metabólica. Um evento isquêmico priva o tecido de oxigênio, nutrientes e da retirada de excretas. Diferentes patologias retinianas apresentam como uma das comorbidades a isquemia, que leva a morte celular e, conseqüentemente, a cegueira. Os tratamentos

vigentes não são completamente efetivos. Assim, é fundamental a busca por novos fármacos que atendam a esta finalidade, sendo o extrato de *A. chica* um candidato promissor neste objetivo.

Para estudar o efeito do extrato de *A. chica* na retina, ovos embrionários de galinha da espécie *White Leghorn* de quatorze dias (E14) foram injetados com concentrações do extrato (10, 15 e 20 mg/Kg). Após dois dias de tratamento (E16), os animais foram eutanasiados e as retinas processadas para a técnica de western blot. A análise estatística foi realizada através do software GraphpadPrism e os dados foram apresentados como média \pm desvio padrão de 3 ou mais experimentos e considerados estatisticamente significantes quando $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

O tratamento com *A. chica* aumentou a fosforilação da AKT em 10, 15 e 20 mg/Kg, sendo que em 15 e 20 mg/Kg houve uma diferença significativa (CTR 10 mg: $100 \pm 43,3$; $n=3$; A.C. 10 mg: $172,1 \pm 33,4$; $n=3$, $P < 0,1636$; CTR 15 mg: $100 \pm 10,6$; $n=4$; A.C. 15 mg: $185,6 \pm 22,3$; $n=4$, $P < 0,0310$; CTR 20 mg: $100 \pm 11,2$; $n=4$; A.C. 20 mg: $140,8 \pm 10,8$; $n=4$, $P < 0,0328$). Já na ERK, houve uma redução significativa na fosforilação nas concentrações de 15 e 20 mg/Kg (CTR 10 mg: $100 \pm 38,7$; $n=3$; A.C. 10 mg: $59,6 \pm 15,2$; $n=3$, $P < 0,1176$; CTR 15 mg: $100 \pm 36,5$; $n=3$; A.C. 15 mg: $37,91 \pm 11,4$; $n=3$, $P < 0,0321$; CTR 20 mg: $100 \pm 30,2$; $n=4$; A.C. 20 mg: $39,3 \pm 7,2$; $n=4$, $P < 0,035$). Por sua vez, o tratamento com 10 e 15 mg/Kg reduziram os níveis de fosforilação da CREB, embora o tratamento com 20 mg/Kg tenha induzido a um

aumento (CTR 10 mg: $100 \pm 13,7$; $n=5$; A.C. 10 mg: $59,9 \pm 12,3$; $n=5$, $P < 0,0313$; CTR 15 mg: $100 \pm 8,8$; $n=3$; A.C. 15 mg: $63,77 \pm 8,9$; $n=3$, $P < 0,057$; CTR 20 mg: $100 \pm 9,5$; $n=6$; A.C. 20 mg: $150,8 \pm 18,8$; $n=6$, $P < 0,0429$).

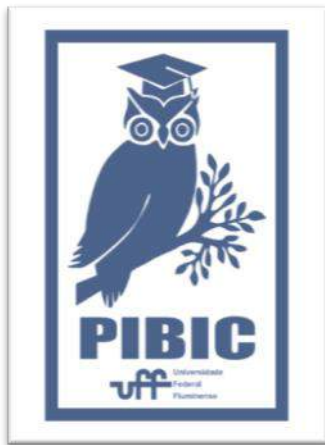
Os resultados revelam pela primeira vez o efeito do extrato de *A. chica* em células da retina, demonstrado que o extrato possui atividade biológica no SNC. As modificações encontradas nos níveis de fosforilação de proteínas chaves associadas a sobrevivência celular implicam em uma possível neuroproteção induzida pela administração do extrato em diferentes concentrações. Para responder a esta pergunta, é essencial submeter as retinas dos animais expostos a *A. chica* a um insulto isquêmico por privação de oxigênio e glicose para avaliar o nível de liberação de LDH, um método indireto para detecção de morte celular. É possível, que neste caso, haja uma proteção induzida pelo extrato como já demonstrado em outros tecidos e paradigmas experimentais. Embora não se tenha avaliado ainda os níveis dos receptores de adenosina, acreditamos que os mesmos também sofram modulação após o tratamento, como já visto com cafeína no modelo, o que em conjunto com as modificações nos níveis de fosforilação das proteínas de sobrevivência, contribua para uma provável proteção.

CONCLUSÕES:

o tratamento com diferentes concentrações do extrato de *A. chica* modulou a fosforilação de importantes proteínas associadas a sobrevivência celular (AKT, ERK e CREB), o que pode estar contribuindo para tornar a retina resistente contra insultos excitotóxicos.

AGRADECIMENTOS:

Os autores agradecem a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) e a Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação (PROPI) da UFF pelos os auxílios fornecidos que possibilitaram o desenvolvimento do trabalho.





Ciências Biológicas

CANELA POTENCIALIZA O EFEITO DA RESTRIÇÃO CALÓRICA SOBRE ASPECTOS MOLECULARES E HISTOLÓGICOS DO TECIDO ADIPOSEO BRANCO

Roberta da Fonseca Coutinho Pontes, Lia Rafaella Ballard Kuhnert, Jessika Geisebel Neto e Karen de Jesus Oliveira

Laboratório de Fisiologia Endócrina e Metabologia, Instituto Biomédico, UFF

INTRODUÇÃO:

O envelhecimento celular é um processo progressivo comum a todos os seres vivos, caracterizado por modificações na fisiologia de órgãos e sistemas do nosso organismo, aumentando a suscetibilidade de doenças crônicas não transmissíveis¹. As condições ambientais, incluindo estilo de vida, podem afetar significativamente a taxa de envelhecimento. Dessa forma, certas estratégias e comportamentos podem melhorar a nossa saúde, regredindo os danos causados pelo envelhecimento e aumentando a expectativa de vida. Uma delas é a utilização da Restrição Calórica (RC)^{1,2}, já que esta diminui a inflamação e atua favorecendo processos biológicos como homeostase glicêmica, biogênese mitocondrial, balanço oxidativo, e reparo e manutenção celular³. No entanto, visto que manter uma dieta restritiva em longo prazo é de difícil execução, pesquisadores vêm buscando alimentos que causem os mesmos efeitos da RC sem a necessidade de se diminuir a ingestão alimentar^{4,5}. Os alimentos funcionais têm demonstrado serem bons reguladores

metabólicos. A canela (*Cinnamomum verum*) possui efeitos benéficos no metabolismo glicídico e lipídico, composição corporal, inflamação e estresse oxidativo⁶. Nesse contexto, tivemos como objetivo investigar se a canela é capaz de exercer efeitos similares ou potencializar os fenótipos induzidos pela RC, com foco em aspectos moleculares e histológicos do tecido adiposo.

Para isso, nós utilizamos ratos Wistar machos com 3 meses de idade e os dividimos em 4 grupos (n=8 por grupo): grupo controle com oferta alimentar livre (CT); grupo Canela (CNL) com oferta alimentar livre e tratado com 50 mg de canela em pó/kg de peso corporal; grupo Restrição Calórica (RC) que recebeu ração com oferta limitada a 70% da ingestão do grupo CT; grupo Restrição Calórica com Canela (RCNL) que recebeu ração com oferta limitada a 70% da ingestão do grupo CT + suplementação de 50 mg de canela em pó / kg de peso corporal. O tratamento durou 6 semanas e após isso os animais sofreram eutanásia para posteriores análises moleculares e histológicas. O tecido adiposo marrom (TAM), tecido

envolvido na termogênese, e o tecido adiposo branco (TAB), responsável pelo armazenamento de triglicérido, foram coletados para análises histológicas (hematoxilina e eosina) e para análises de imuno-histoquímica da proteína desacopladora 1 (UCP1), e para a análise molecular usamos PCR em tempo real (q-PCR) para avaliar genes relacionados ao processo de *browning* do TAB (*Sirt1*, *Fgf21* e *Ppar γ 1a*) e genes envolvidos na via da autofagia (*Becn1*, *Atg5*, *Map1b*, *Atg7* e *Lamp2*).

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Em relatórios anteriores, mostramos que canela potencializou os efeitos da RC sobre a massa adiposa, o volume dos adipócitos e sobre a redução da expressão de genes lipogênicos no TAB visceral. Além de mimetizar a RC no TAB subcutâneo de acordo com o parâmetro do diâmetro dos adipócitos. No entanto, analisando o corte histológico como um todo do TAB subcutâneo, observamos áreas com tecido adiposo diferenciado que sugerimos ser o tecido adiposo bege, obtido através do processo de *browning*. Em relação à análise imuno-histoquímica desse tecido, quantificamos a porcentagem de área ocupada pela proteína UCP1 (biomarcador do *browning*) e observamos que grupos RC, CNL e RCNL apresentaram imunomarcação positiva com resultados significativos quando comparados ao grupo CT ($p < 0,05$). Também nesse tecido, ao analisarmos marcadores de *browning* por q-PCR (*Sirt1*, *Fgf21* e *Ppar γ 1a*) não identificamos alterações significativas entre os grupos. Ao analisarmos a expressão de RNAm de genes envolvidos na via autofágica, não observamos diferenças significativas na expressão dos genes da *Becn1*,

Atg5 e *Map1b*. Porém, ao avaliarmos o gene *Atg7* obtivemos significância marcada por uma menor expressão em ambos os grupos de restrição (RC e RCNL) quando comparados ao grupo CT ($p < 0,05$). Já os valores de *Lamp2* apresentou diferença no grupo RCNL comparado ao grupo CNL.

CONCLUSÕES:

Portanto, de acordo com os dados obtidos até o presente momento, sugerimos que a canela atue como um mimético e um potencializador da RC quanto ao diâmetro dos adipócitos. As análises moleculares feitas nesta etapa sugerem que nos tempos e dose usados, a RC ou canela, não foram capazes de modular a expressão do *Fgf21*, *Ppar γ 1a* e *Sirt1* no tecido adiposo subcutâneo. Mas foi capaz de modular a expressão do gene autofágico *Lamp2* no grupo RCNL.

REFERÊNCIAS:

- 1 VAISERMAN, A.M. et al. Ageing Res Ver., v.31, p. 9-35. 2016.
- 2 GILLESPIE, Z.E.; PICKERING, J.; ESKIW, C.H. Frontiers in Genetics, v. 7, p. 1-21. 2016.
- 3 YAMAMOTO, H.; SCHOONJANS, K.; AUWERX, J. Molecular Endocrinology, v. 21, n. 8, p.1745–1755. 2007.
- 4 ROTH, G.S.; INGRAM, D.K. Ann. N.Y. Acad. Sci., v. 1363, p. 5-10. 2016.
- 5 LOPES, B.P. et al. Food Funct., v.6, p. 3257-3265. 2015.

AGRADECIMENTOS:

Agradecemos ao PIBIC e a PROPPI UFF. As agências de fomento: CNPq, FAPERJ e CAPES. A Divisão de Patologia do Instituto Nacional de Câncer (DIPAT-INCA). Ao Laboratório de Patologia Experimental, Laboratório de Fisiologia Endócrina e Metabologia e ao PPBI UFF.



Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas.

Título do Projeto: ASPECTOS DO CONTROLE DA QUALIDADE E COMERCIALIZAÇÃO DE PRODUTOS VEGETAIS A BASE DE GUACO (*MIKANIA GLOMERATA*).

Autores: Nayara de Almeida Rodrigues Venancio, Fernanda Moreira do Amaral, Ana Joffily e Selma Ribeiro de Paiva.

Departamento/Unidade/Laboratório: Departamento de Biologia Geral/ Instituto de Biologia/ Laboratório de Botânica Estrutural e Funcional.

INTRODUÇÃO:

O conhecimento tradicional e os estudos científicos têm demonstrado o potencial terapêutico de diversas espécies vegetais, que vêm sendo utilizadas como recurso para o tratamento de sintomas e doenças.

Mikania glomerata Spreng pertence à família Asteraceae e é conhecida popularmente como “guaco”. O seu uso medicinal consiste na utilização de folhas para tratamento de doenças respiratórias como bronquite, asma, gripe, tosse e resfriado (BRASIL, 2018). *M. glomerata* é comumente confundida com outras espécies do gênero, entretanto apenas *Mikania glomerata* e *Mikania laevigata* são descritas como “guaco” na 2ª edição do Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2021). Nesse sentido, é importante considerar que no comércio de produtos vegetais, seja *online* ou em lojas físicas, a falta de fiscalização e controle da qualidade possibilita a venda de matérias-primas vegetais de qualidade e segurança duvidosas, estando propícias à adulterações e falsificações.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

A primeira etapa deste estudo consistiu na análise de produtos à base de “guaco” comercializados na internet. Para isso, foram analisados os 30 primeiros produtos encontrados a partir de pesquisa utilizando como termo de busca a combinação do nome popular e científico com a palavra comprar, na aba “Shopping” do Google. Com a combinação “guaco e comprar”, dos 30 produtos analisados, 87% correspondiam à droga vegetal e foram analisados segundo a RDC N° 26, de 13 de maio de 2014. Com a combinação utilizando o nome científico, *Mikania glomerata* dos 30 produtos analisados, 37% correspondiam à droga vegetal e 50% à suplementos que foram analisados segundo a RDC N° 240, de 26 de julho de 2018 e a RDC N° 243, de 26 de julho de 2018. Constatou-se que 73% dos produtos comercializados como droga vegetal não apresentavam informações de notificação para chá medicinal e forneciam informações de indicações terapêuticas, o que não é permitido para comercialização como chá alimento. Já os produtos que estavam sendo comercializados como suplementos não apresentaram

informação de composição das cápsulas e os rótulos estavam em não conformidade com a legislação vigente e forneciam indicações terapêuticas, o que não é permitido.

A segunda etapa deste estudo envolveu a avaliação de produtos comercializados como “guaco”, na forma de droga vegetal, no comércio formal. Para isso, foram adquiridos, nas cidades do Rio de Janeiro e Niterói, 6 produtos de marcas diferentes que foram codificados de G1 a G6. Foram empregadas técnicas usuais de anatomia vegetal para a análise (KRAUS & ARDUIM, 1997). Nas amostras G1-G4 e G6 os caules, parte vegetal que não corresponde à droga vegetal preconizada na Farmacopeia Brasileira (6ª edição), estavam presentes de forma majoritária constituindo mais de 50% do peso total do produto. O estudo anatômico dos fragmentos foliares de cada amostra, na região da nervura principal, evidenciou a presença de três padrões distintos. O padrão I foi observado em todas as amostras e está de acordo com a descrição na literatura para *M. glomerata*, pelo formato biconvexo da folha no plano transversal, sistema vascular composto por 3-5 feixes colaterais em arco aberto, presença de tricomas glandulares, canais secretores e hipoderme na região intercostal (ALMEIDA *et al*, 2017; COSTA *et al*, 2017 & BRASIL, 2018). Entretanto, não é possível descartar a possibilidade da presença de outras espécies do gênero. O padrão II foi identificado na amostra G2 e distingue do padrão I pela ausência de hipoderme, sendo sugestiva para a presença de outras espécies do gênero *Mikania*, excluindo-se *M. glomerata* e *M. laevigata* que são as únicas autorizadas para comercialização. Já o padrão III foi identificado

na amostra G1 e distingue dos demais principalmente pela organização do sistema vascular, composto por um único feixe anficrival, sendo sugestiva a presença de planta de outro gênero.

CONCLUSÕES:

A análise dos produtos comercializados na internet evidenciou que a maioria dos produtos identificados como droga vegetal e suplementos não estavam em conformidade com a legislação. O estudo anatômico de amostras comerciais possibilitou a identificação de dois padrões adulterantes: o padrão II, na amostra G2 e o padrão III, na amostra G1. É sugestiva a presença de *M. glomerata* e/ou *M. laevigata* nas amostras G3-G6, enquanto as amostras G1 e G2 estavam misturadas com outras espécies. Portanto, o controle da qualidade e a fiscalização desses produtos são fundamentais para garantir a qualidade e segurança desses produtos.

AGRADECIMENTOS:

À UFF e ao PIBIC/CNPq.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ALMEIDA, *et al*. 2017. Comparative morphoanatomical analysis of *Mikania species*. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 27, p. 9-19.

BRASIL. 2018. Ministério da Saúde. Informações Sistematizadas da Relação

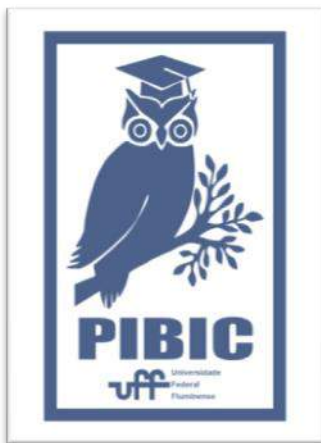
Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS: *Mikania glomerata* Spreng., Asteraceae – Guaco.

BRASIL. 2019. Ministério da Saúde. Farmacopeia Brasileira 6ª edição, volume II - monografias.

BRASIL. 2021. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira. 2ª Edição.

COSTA, V. C. *et al.* 2018. Comparison of the morphology, anatomy, and chemical profile of *Mikania glomerata* and *Mikania laevigata*. *Planta Medica*, v. 84, n. 03, p. 191-200.

KRAUS, J. E. & ARDUIN, M. 1997. Manual básico de métodos em morfologia vegetal. Editora Universidade Rural (EDUR), Seropédica, RJ. p. 198.





BLOQUEIO AT1R PREVINE ALTERAÇÕES ENDOTELIAIS E VASCULARES INDUZIDAS POR ESTRESSE EM INDIVÍDUOS COM SOBREPESO E OBESIDADE

Luiza R Lima, Helena NM Rocha, Gabriel MS Batista, Amanda S Storch, Vinicius P Garcia, Teixeira Gabriel F Teixeira, Juliana Mentzinger, Erika AC Gomes, Monique O Campos, Antonio CL Nóbrega, Natalia G Rocha.

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

INTRODUÇÃO:

A obesidade é uma doença crônica multifatorial caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal gerado por um desequilíbrio entre consumo e gasto energético. O estresse mental (EM) ou psicossocial também é um importante fator de risco para a morbimortalidade cardiovascular. A exposição aguda ao EM leva à ativação endotelial, liberação de microvesículas e, conseqüentemente, disfunção endotelial transitória. Estudos recentes indicam, ainda, que o risco de morbimortalidade cardiovascular em situações estressantes aumenta em até duas vezes em indivíduos com obesidade, quando comparados a indivíduos eutróficos.

Além disso, desordens psicossociais estão associadas a um aumento do componente retrógrado do fluxo sanguíneo (FSR), o qual não é capaz de estimular mecanicamente a vasodilatação dependente de endotélio, resultando, então, em efeitos vasoconstritores. Estudos sugerem que o endotélio, quando submetido ao FSR, é mais susceptível ao desenvolvimento de placas ateroscleróticas

quando comparado a regiões onde o fluxo é contínuo e a taxa de cisalhamento é moderada/alta. Contudo, tais evidências correspondem a indivíduos saudáveis e, assim, as vias pelas quais o EM induz ou agrava as DCV em indivíduos com excesso de peso ainda não foram completamente elucidadas.

Situações de estresse levam à liberação exacerbada de angiotensina II (ANG II). Ao ligar-se ao receptor tipo 1 de angiotensina II (AT1R), a ANG II modula diversas ações intracelulares, como contração da musculatura vascular gerando vasoconstrição e aumento de pressão arterial. Espera-se então que os efeitos do bloqueio do AT1R sejam uma alternativa para minimizar os efeitos deletérios do EM sobre o tônus vascular, prevenindo disfunções endoteliais.

O protocolo do presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Instituição (CAAE: 76594217.0.0000.5243).

Durante as sessões experimentais foram administrados por via oral o placebo ou o bloqueador de AT1R [olmesartana (OLM), 40mg]. A pressão arterial (PA) e frequência

cardíaca (FC) foram medidas durante todo o protocolo experimental. Foi aplicado o teste de EM conflito palavra-cor (*Stroop color word test*) por 5 minutos. O registro do diâmetro da artéria braquial e das medidas de fluxo foi feito através da técnica de ultrassom doppler vascular. Além disso, a dilatação mediada pelo fluxo (FMD), foi analisada por meio do cálculo da diferença entre o diâmetro de pico pós-isquemia (provocada através da inflação de um manguito no braço a 200 mmHg) e o diâmetro basal, expressa em porcentagem (FMD%). Essa variável também foi ajustada pelo diâmetro de repouso dos indivíduos (alometria).

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Foram recrutados 14 voluntários do sexo masculino (7 sobrepesos e 7 obesos) e idade 27 ± 7 anos. Foi observado um aumento da velocidade sanguínea durante o EM, que se manteve na sessão bloqueio mas retornou ao basal na sessão placebo. Tanto para o fluxo sanguíneo médio quanto para o anterógrado houve um aumento decorrente do EM, e ambas as variáveis reduziram durante a recuperação na sessão com bloqueador. No caso do fluxo sanguíneo retrógrado e da taxa de cisalhamento retrógrado, a sessão bloqueador apresentou uma diminuição significativa da variável em resposta ao EM, se mantendo na recuperação, enquanto na sessão placebo essa redução ocorreu somente durante a recuperação. Ao analisar a magnitude de resposta ao estresse, foram observados aumentos no fluxo sanguíneo retrógrado (placebo $4,55 \pm 16,11$; bloqueador AT1R $-13,32 \pm 16,78$; $p=0,006$), na taxa de cisalhamento retrógrada (placebo $2,53 \pm 5,73$; bloqueador AT1R $-4,49 \pm 6,14$; $p=0,003$) e no

índice de cisalhamento oscilatório (ICO, placebo $0,0083 \pm 0,057$; bloqueador AT1R $-0,0734 \pm 0,084$; $p=0,002$) em resposta ao estresse, e o bloqueio AT1R parece reduzir essa resposta. Quanto à FMD corrigida pelo diâmetro de base, observou-se um prejuízo na função endotelial 30 minutos após o estresse mental na sessão placebo. Já durante a sessão com bloqueador de AT1R, a FMD aumentou em resposta ao estresse, tanto 30 como 60 minutos após o EM ($P<0,05$ vs. basal; $P<0,05$ vs. PL).

CONCLUSÕES:

O bloqueio do receptor AT1 foi capaz de reduzir o fluxo sanguíneo retrógrado e a taxa de cisalhamento retrógrada ainda durante o estresse mental. Em concordância, foi possível observar que o estresse mental prejudica a função endotelial, representada pela FMD, principalmente, 30 minutos após o teste de estresse mental. O bloqueio do receptor AT1 se mostrou benéfico também nesse contexto, melhorando a função endotelial em 30 e 60 minutos após o estresse. A partir desses resultados, é possível concluir que a ativação do AT1R parece estar envolvida na disfunção endotelial em resposta ao estresse, mesmo que de forma transitória.

AGRADECIMENTOS:

CAPES, CNPq, FAPERJ e FINEP





GRANDE ÁREA DO CONHECIMENTO: CIÊNCIAS BIOLÓGICAS, MORFOLOGIA

IMPACTO DOS MODULADORES DO SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA NA MORFOLOGIA E METABOLISMO MUSCULAR EM ANIMAIS OBESOS

JAIME ALEX M. S. FILHO, ANA BEATRIZ PROENÇA, BEATRIZ ALEXANDRE-SANTOS, GUILHERME SANTOS REIS, ANTONIO CLAUDIO LUCAS NÓBREGA, D'ANGELO MAGLIANO, ELIETE DALLA CORTE FRANTZ

DEPARTAMENTO DE MORFOLOGIA, LABORATÓRIO DE CIÊNCIAS DO EXERCÍCIO (LACE) E LABORATÓRIO DE ANÁLISES MORFOLÓGICAS E METABÓLICAS (LAMM)

INTRODUÇÃO: A obesidade é um relevante problema de saúde pública e promove importantes desregulações na composição corporal. O sistema renina-angiotensina (SRA) tem sido apontado como alvo na conduta do tratamento e prevenção da obesidade, assim como regulador da massa muscular (1). Na obesidade ocorre uma superativação do eixo clássico [enzima conversora de angiotensina (ECA), angiotensina (Ang) II e receptor de angiotensina tipo 1 (AT1R)] em detrimento ao eixo protetor [ECA2, Ang 1-7 e receptor Mas (MasR)]. Assim como, o sistema caliceína-cinina (KKS, do inglês *kalicrein-cinin system*) sofre influência do SRA, e na obesidade apresenta maior ligação da bradicinina ao receptor do tipo 1 (B1R) em detrimento do receptor do tipo 2 (B2R) (2). O deslocamento do equilíbrio do SRA e do KKS, podem prejudicar a biossíntese proteica e favorecer a degradação muscular, culminando na progressão da atrofia

e disfunção do músculo esquelético em obesos. Portanto, a modulação dos eixos do SRA, farmacológica ou não, podem atuar como opções terapêuticas na prevenção e tratamento da obesidade (3,4).

OBJETIVO: Investigar a modulação do SRA no músculo esquelético, com foco na síntese e degradação muscular, comparando o treinamento aeróbio e um inibidor da ECA, associados ou não, em modelo de obesidade.

MÉTODOS: Camundongos C57BL/6 foram alimentados com dieta controle (SC) ou hiperlipídica (HF) por 16 semanas. Após 8 semanas, os animais HF foram subdivididos em 4 grupos (n = 8): HF, HF + Enalapril (HF-E), HF + Treinamento (HF-T) e HF + Enalapril + Treinamento (HF-ET). Foram avaliados: massa e composição corporal, ingestão alimentar, capacidade máxima de treinamento, pressão

arterial sistólica, irisina plasmática, estereologia do tecido muscular esquelético –diâmetro médio, volume e densidade de número de miofibras por área. Em andamento está a análise dos componentes dos eixos do SRA e KKS, mediadores da biossíntese e degradação muscular por imunohistoquímica e *Western blot*. A análise estatística foi realizada por *one-way* ANOVA, com pós teste de Holm-Sidak, considerando $P \leq 0,05$, e dados apresentados como média e desvio padrão. Aprovação CEUA/UFF 2504060718.

RESULTADOS: Após 16 semanas de experimento, os animais HF apresentaram maior ganho de massa corporal, aumento no percentual de gordura corporal, diminuição na massa muscular e aumento da pressão arterial sistólica e resistência à insulina em relação ao grupo controle. Tanto o tratamento com enalapril quanto o treinamento físico por oito semanas, mesmo mantendo a ingestão de dieta hiperlipídica, promoveram menor ganho de massa corporal e percentual de gordura, redução da pressão arterial sistólica e sensibilidade à insulina para níveis semelhantes ao grupo controle. A ingestão alimentar não apresentou diferença entre os grupos durante todo período experimental. A irisina plasmática, uma importante miocina para a saúde muscular, foi aumentada apenas nos grupos treinados (HF-T e HF-ET), os quais apresentaram melhora na capacidade física avaliada pelo teste de esforço máximo, comparados aos demais grupos experimentais. Os animais obesos apresentaram atrofia muscular, evidenciada pela redução no diâmetro médio das miofibras,

aumento na densidade numérica de miofibras por área analisada, além de desorganização da histoarquitetura do tecido muscular esquelético compatível com dano tecidual. Somente os animais treinados revertem os danos teciduais, restaurando a morfologia típica do músculo esquelético similar ao grupo SC e apresentaram hipertrofia (aumento de diâmetro e volume, redução da densidade numérica) das miofibras em relação ao grupo HF. O tratamento com enalapril parece exercer um efeito intermediário sobre a morfologia muscular em relação aos grupos SC e HF. Quanto às análises de expressão proteica, os animais obesos apresentaram ativação do eixo clássico do SRA (ECA/Ang II/AT1R) e aumento de B1R no KKS, considerados mecanismos de degradação muscular. Ambas as intervenções deslocaram o eixo do SRA a favor do eixo protetor (ECA2/Ang 1-7/MasR) e aumentaram a razão B2R/B1R, marcadores de biossíntese e saúde muscular.

CONCLUSÃO: A obesidade induzida pelo consumo de dieta hiperlipídica promove o desequilíbrio do SRA e KKS, atrofia e desorganização da morfologia do tecido muscular esquelético. Os resultados obtidos sugerem que ambas as intervenções (treinamento aeróbico e enalapril) estimulam o eixo protetor e B2R do SRA e KKS, respectivamente. Mas somente o treinamento aeróbico foi capaz de reverter os danos teciduais musculares.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

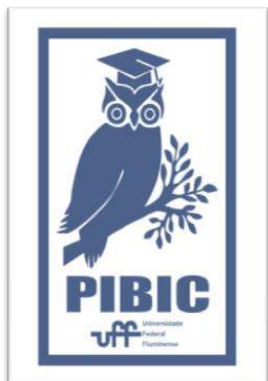
- 1) Cabello-Verrugio C, Morales MG, Rivera JC, Cabrera D, Simon F. Renin-angiotensin

system: an old player with novel functions in skeletal muscle. *Med Res Rev* 2015; 35: 437-463;

- 2) Frantz EDC, Prodel E, Braz ID, Giori IG, Bargut TCL, Magliano DC et al. Modulation of the renin-angiotensin system in white adipose tissue and skeletal muscle: focus on exercise training. *Clin Sci (Lond)* 2018; 132: 1487-1507
- 3) Effting PS, Thirupathi A, Müller AP, Pereira BC, Sepa-Kishi DM, Marqueze LFB, et al. Resistance Exercise Training Improves Metabolic and Inflammatory Control in Adipose and Muscle Tissues in Mice Fed a High-Fat Diet. *Nutrients*. 2022;14(11):2179.
- 4) Nguyen BL, Yoshihara T, Deminice R, Lawrence J, Ozdemir M, Hyatt H, et al. Alterations in renin-angiotensin receptors are not responsible for exercise preconditioning of skeletal muscle fibers. *Sport Med Heal Sci* [Internet]. 2021;3(3):148–56. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.smhs.2021.06.003>

AGRADECIMENTOS:

Agencias de fomento (CAPES, CNPq, FAPERJ) pelo apoio financeiro. À UFF pela infraestrutura física e apoio financeiro (FOPESQ).



CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

OS EFEITOS ESPERADOS E CONTROVERSOS DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL SOBRE O CONSUMO DE ETANOL

JOÃO ARTHUR SILVA CUNHA & ADRIANA DA CUNHA FARIA MELIBEU

DEPARTAMENTO DE NEUROBIOLOGIA / UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE / LABORATÓRIO NEUROBIOLOGIA DO DESENVOLVIMENTO



INTRODUÇÃO:

O álcool etílico é uma das substâncias psicoativas mais consumidas no mundo (Hendriks, 2020). Apesar do seu consumo constituir um hábito social em diversas culturas, o consumo nocivo de álcool pode resultar em uma série de consequências prejudiciais à saúde, à economia e à sociedade, configurando um problema de saúde pública (Mehta & Sheron, 2019). Diversos fatores podem influenciar nos padrões de consumo do álcool, como o ambiente, por exemplo (Silveira *et al.*, 2014). Tem sido demonstrado que o enriquecimento ambiental, processo que busca estimular a neuroplasticidade, pode alterar os padrões de consumo de diversas drogas (Sikora *et al.*, 2018). Entretanto, a relação entre o EA e o consumo de álcool ainda é pouco clara, pois apesar de ser constantemente relatado como um fator protetor, alguns estudos demonstram uma influência do ambiente enriquecido sobre um aumento do consumo de álcool (Rae *et al.*, 2018). A elaboração deste trabalho buscou reunir informações atualizadas acerca da relação entre o EA e o consumo de álcool, almejando analisar

a controvérsia de resultados relacionada a esse tema, além de investigar questões importantes possivelmente associadas à variação dos resultados, como efeitos relacionados ao sexo, à exposição ao etanol durante períodos críticos do desenvolvimento e às diferenças exibidas entre protocolos de EA, possibilitando discutir o potencial do ambiente enriquecido como uma ferramenta não farmacológica na redução do consumo nocivo de álcool.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

No total, 28 trabalhos experimentais acerca da relação entre EA e o consumo de álcool foram identificados entre 2012 e 2022. Cerca de 71,4% desses artigos demonstraram efeitos relacionados à redução do consumo de álcool, ou seja, os trabalhos demonstram majoritariamente uma relação entre o EA e a redução do comportamento relacionado ao álcool. É possível que parte da divergência de resultados observada entre os trabalhos tenha sido causada pela diversidade de protocolos de EA utilizados. Interessantes questões puderam ser analisadas através dos artigos. Por exemplo, o estresse é

um importante fator de risco ao consumo nocivo de álcool e diversos trabalhos demonstraram que o EA pode promover uma forte modulação das respostas ao estresse, propiciando efeitos ansiolíticos e reduzindo a tendência aumentada ao consumo de álcool (Marianno *et al.*, 2017; Bahi & Dreyer, 2019; Odeon & Acosta, 2019). Outra questão promissora demonstrada é que o EA pode amenizar efeitos enfrentados em períodos de interrupção do consumo de álcool, que muitas vezes provocam recaídas (Rueda *et al.*, 2012; Nobre, 2016; Campbell *et al.*, 2019). Outro resultado bastante promissor foi em relação à exposição extremamente precoce ao etanol, durante o período pré-natal ou a infância, o que pode aumentar o risco de consumo nocivo de álcool durante a vida adulta. Os trabalhos que abordaram essa questão demonstraram que a implementação de um ambiente enriquecido é capaz de reduzir o risco aumentado ao consumo nocivo de álcool, além também de amenizar ou reverter alterações epigenéticas e déficits cognitivos sofridos (Wang *et al.*, 2018; Brancato *et al.*, 2020; Wille-Bille *et al.*, 2020). Os mecanismos neurobiológicos envolvidos na interação entre o EA e o consumo de álcool não são conhecidos, mas possíveis mediadores foram apontados pelos estudos, como alterações nos níveis de BDNF (Pautassi *et al.*, 2017), alterações no sistema ocitocinérgico (Rae *et al.*, 2018) e os níveis de corticosterona (Odeon & Acosta, 2019).

CONCLUSÕES:

A maioria dos estudos demonstra um potencial terapêutico e protetor do EA em relação ao

consumo nocivo de álcool. A controvérsia de resultados existentes pode ser decorrente de uma série de fatores relativos, por exemplo, ao próprio processo de EA. Como não há uma definição padrão para os protocolos de EA, esse processo pode apresentar diversas variações entre diferentes trabalhos e a obtenção de resultados divergentes deve ser esperada. O EA apresentou resultados promissores em relação ao aumento da resiliência em períodos de abstinência de álcool, à redução do risco de maior consumo de álcool influenciado por estresse e à problemática de exposição pré-natal ao etanol. É necessária a elaboração de mais estudos acerca do tema para consolidar a relação entre o EA e o consumo de álcool, principalmente estudos que investiguem os mecanismos neurobiológicos mediadores.

AGRADECIMENTOS:

Agradeço à minha orientadora, Adriana da Cunha Faria Melibeu, aos meus colegas do Laboratório Neurobiologia do Desenvolvimento e às agências de fomento, Proppi UFF e CNPQ.



Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas (2.00.00.00-6)

Título do Projeto: PROSPECÇÃO DE NOVOS COMPOSTOS PROMISSORES COM ATIVIDADE ANTI-SARS-COV-2

Autores: Nayra Cordeiro da Conceição (IC), Leonardo Alves Miceli (Pós-doc), Francislene Juliana Martins (Professor colaborador), Juliana Silva Novais (Pós-doc), Helena Carla Castro (Orientadora)

Departamento/Unidade/Laboratório: Instituto de Biologia/ Departamento de Biologia Celular e Molecular/Laboratório de Antibióticos, Bioquímica, Ensino e Modelagem Molecular – LABiEMol

INTRODUÇÃO:

O novo *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (SARS-CoV-2) é o agente responsável pela *Coronavirus Disease 2019* (COVID-19), que foi detectado pela primeira vez em dezembro de 2019 na China. Rapidamente, o que havia sido considerado um surto, tornou-se um problema de saúde pública mundial, sendo caracterizado como pandemia, em março de 2020, pela Organização Mundial de Saúde (OMS). O elevado número de casos, associado à evolução rápida da doença para a forma grave, impactou os sistemas de saúde em todo o mundo. No Brasil, observou-se a falta de leitos hospitalares no Sistema Único de Saúde (SUS), além do desabastecimento de oxigênio para os pacientes e de anestésicos, sedativos e bloqueadores neuromusculares necessários ao procedimento de indução e manutenção da ventilação mecânica invasiva, o chamado “*kit* intubação”.

Até o momento, seis medicamentos foram registrados junto à ANVISA para o tratamento de casos leves ou moderados da doença ou profilaxia pré-exposição, sendo que Evusheld, Paxlovid e

Molnupiravir se encontram sob registro de uso emergencial. O uso de metodologias *in silico* é uma estratégia útil, pois permitem realizar o *screening* de muitos compostos em um período relativamente curto, ao passo que se pode prever como a molécula se comportará no meio biológico ao analisar as interações que ela realiza com o sítio-alvo e seus parâmetros farmacocinéticos e toxicológicos, além de servir como triagem para análise de substâncias *in vitro*, sendo possível reduzir o tempo de estudo e uso de materiais nesta fase.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

As moléculas utilizadas para o estudo das atividades anti-SARS-CoV-2 foram os derivados pirazólicos, 1,3,4-oxadiazólicos e quinolônicos. Ao total, foram analisadas 35 moléculas. A proteína do SARS-Cov-2 selecionada para este estudo foi a 3-CL-protease.

O *docking* molecular, metodologia utilizada para avaliar as interações entre o complexo macromolécula-ligante, foi realizado com o arquivo PDB da 3-CL-protease e os 35 compostos. Ao final, obteve-se como resultado que 14 complexos de derivados pirazólicos e 1,3,4-oxadiazólicos com a enzima geraram

energia acima de $-6,0 \text{ Kcal mol}^{-1}$ e tais moléculas foram consideradas promissoras para a atividade anti-SARS-CoV-2, e, portanto, seus parâmetros farmacocinéticos e toxicológicos foram avaliados.

Segundo a Regra dos Cinco de Lipinski, as moléculas designadas por ROM0107, ROM0207, ROM2301, ROM1305, OXO-01, ROM1810, ROM0810, ROM2008, ROM0909, ROM2409, ROM1501, ROM1006, MCO3105 e ROM1408 cumpriram os requisitos estabelecidos pela regra. Porém, as moléculas ROM1810, ROM0810, ROM0909 e ROM2409 violaram o requisito de lipofilicidade, mas como são prováveis protótipos à fármaco oral, foram aprovadas, já que se houve violação de um parâmetro. A avaliação do Filtro de Veber mostrou que todos os derivados estão dentro dos valores de referência; a interação dos derivados com as isoformas da enzima CYP450 também foi avaliada e mostrou que os compostos interagem de modo inibitório com algumas isoformas de CYP450. A predição de *pan-assay interference compounds* (PAINS) foi realizada e o resultado obtido foi de que não há presença desses fragmentos em nenhuma molécula, e por fim, foi realizada a avaliação dos parâmetros toxicológicos das moléculas. Os derivados estudados não apresentaram potencial carcinogênico nem mutagênico, entretanto apresentaram potencial hepatotoxicidade - exceto as moléculas ROM0909, ROM1501 e ROM1408; e todos os derivados foram classificados na Categoria Tóxica III de toxicidade oral aguda, com DL_{50} entre 50 e 300 mg kg^{-1} .

A correlação de Spearman mostrou que há correlação positiva e moderada entre a energia dos complexos formados entre a enzima 3-CL-protease e os substituintes ligados ao C_2 do anel oxadiazol ($\rho = 0,573$; $p = 0,01$). Já a correlação entre a energia e os substituintes ligados ao N_1 do pirazol foi considerada zero ($p = 0,173$). Sendo assim, os substituintes ligados ao C_2 do anel oxadiazol podem ser importantes para modificar a energia de ligação dos complexos com a enzima 3-CL-protease.

CONCLUSÕES:

A partir da análise de *docking* molecular realizada com os derivados pirazólicos e 1,3,4-oxadiazólicos, concluiu-se que os compostos ROM0107, ROM0207, ROM2301, ROM1305, OXO-01, ROM1810, ROM0810, ROM2008, ROM0909, ROM2409, ROM1501, ROM1006, MCO3105, ROM1408 podem ser promissores quanto à atividade anti-SARS-Cov-2 ou servirem de protótipo para modificações moleculares, numa perspectiva de desenvolvimento racional de fármacos, enquanto os derivados quinolônicos não apresentaram essas características. A avaliação dos parâmetros farmacocinéticos e toxicológicos desses compostos também norteiam os futuros estudos, visando a utilização destas moléculas como um possível medicamento anti-SARS-CoV-2.

AGRADECIMENTOS:

PROPPI-UFF, Faperj, CNPQ e CAPES.



Ciências da Saúde
ESTUDO QUIMIOFENÉTICO DO GÊNERO
***VISMIA* VAND. (HYPERICACEAE):**
CONTRIBUIÇÃO PARA A BUSCA RACIONAL
DE SEUS METABÓLITOS BIOATIVOS.
Marcelo Ferreira Fernandes, Maria Carolina
Anholeti da Silva Virginio

Laboratório de Farmacognosia, Departamento de Farmácia e Administração
Farmacêutica (MAF) – Universidade Federal Fluminense

INTRODUÇÃO:

A análise sistemática e filogenética das plantas foi tradicionalmente baseada em caracteres morfológicos. Entretanto, sua produção metabólica também é capaz de refletir o grau de parentesco entre grupos vegetais, o que levou ao surgimento da quimiosistemática, com o objetivo de aliar aspectos químicos e botânicos no estudo do Reino Vegetal (WINK, 2003). A quimiofenética visa descrever a variedade metabólica para um determinado táxon, contribuindo para sua descrição de modo semelhante às abordagens morfológicas e auxiliando no direcionamento da pesquisa fitoquímica (ZIDORN et al., 2019).

Vismia Vand. é o principal representante da família Hypericaceae Juss. no Brasil. Inclui espécies de uso medicinal e demonstra um grande potencial para a obtenção de substâncias de interesse terapêutico. Pertence à tribo Vismieae, entretanto, as diferenças morfológicas utilizadas para separar os grupos parecem não refletir as relações filogenéticas (RUHFEL et al., 2011) e os estudos moleculares disponíveis ainda são preliminares.

O objetivo deste trabalho foi realizar um estudo quimiofenético do gênero *Vismia*,

visando contribuir para direcionar a busca racional de seus metabólitos bioativos e identificar possíveis tendências evolutivas no táxon.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO

O levantamento bibliográfico foi realizado utilizando a palavra-chave “*Vismia*” nas bases de dados *Science Direct* (Figura 1) e *PubMed* (Quadro 1). Também foram obtidos artigos por “busca ativa” a partir das referências consultadas. Foram incluídos artigos publicados no período entre a data da primeira publicação disponível sobre o gênero até julho de 2021. Foram excluídos artigos que não abordassem a composição química das espécies. Títulos em duplicidade foram computados apenas uma vez.

Artigos	SD	PB	BA
Total	401	63	46
Rejeitados	381	45	38
Aceitos	20	18	8

Figura 1: Levantamento bibliográfico. SD = *Science direct*, PB = *PubMed*; BA = Busca Ativa.

Foram identificados trabalhos com 19 espécies de *Vismia*, de um total estimado em 55 (STEVENS, 2001, *onwards*). Os sinônimos botânicos foram contabilizados uma única vez (Figura 2).

Espécies	Artigos
<i>Vismia gracilis</i>	1
<i>Vismia parviflora</i>	1
<i>Vismia lindeniana</i>	1
<i>Vismia falcata</i>	1
<i>Vismia rubescens</i>	1
<i>Vismia cauliflora</i>	1
<i>Vismia martiana</i>	1
<i>Vismia micrantha</i>	1
<i>Vismia jefensis</i>	1
<i>Vismia orientalis</i>	1
<i>Vismia japurensis</i>	2
<i>Vismia decipiens</i>	3
<i>Vismia latifolia</i>	4
<i>Vismia Cayennensis</i>	4
<i>Vismia macrophylla</i>	4
<i>Vismia guineensis</i>	5
<i>Vismia baccifera</i> / <i>Vismia mexicana</i>	7
<i>Vismia laurentii</i>	8
<i>Vismia guianensis</i> / <i>Vismia reichardtiana</i> / <i>Vismia quaramirangae</i>	12

Figura 2: Espécies de *Vismia* identificadas no levantamento bibliográfico.

ELEIÇÃO DOS MARCADORES QUÍMICOS

Após a compilação dos dados em planilha eletrônica (Excel), foi feito o cálculo do número de ocorrências (NO) para as substâncias e para as classes metabólicas identificadas (Figura 3) (SANTOS et al., 2010). O NO determina o grau de relevância das classes metabólicas ao caracterizar sua tendência de produção no táxon. Aquelas com maiores valores de NO são caracterizadas como marcadores químicos.

Classes dos constituintes Químicos	NO
Derivados antracênicos	116
Sesquiterpenos	116
Xantonas	46
Triterpenos	23
Benzofenona poli-isopreniladas	18
Flavonoides	14
Esteroides	9
Benzocumarinas	4
Ácido fenólicos	4
Lignanas	3
Lípideos	1

Figura 3: Classes dos constituintes químicos por número de ocorrências (NO).

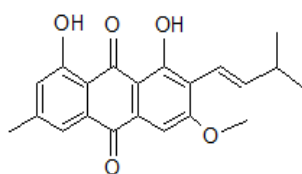
DERIVADOS ANTRACÊNICOS

Os derivados antracênicos destacaram-se como uma das classes mais relevantes para *Vismia* (NO = 116). Foram identificadas 50 substâncias, divididas em 5 subclasses (Figura 4).

Subclasses dos derivados antracênicos	NO
Antraquinona	56
Antranol	48
Antrona	7
Diantrona	4
Hidroxi-antrona	1

Figura 4: Subclasses dos derivados antracênicos por número de ocorrências (NO).

As estruturas dos derivados antracênicos sugerem sua origem na via do acetato/malonato, devido à presença de um grupo metila nas posições 3 ou 6 e o padrão de oxigenação meta característico (Figura 5). Foi observada a presença de resíduos isoprênicos ligados às estruturas dessas substâncias, com predominância de derivados monoprenilados (NO = 43) (Figura 6).



Vismiaquinona
No = 8

Figura 5: Derivado antracênico com maior número de ocorrências em *Vismia* (NO).

Ocorrência de prenilação nos derivados antracênicos	NO
Monoprenilado	43
Diprenilado	5
Triprenilado	20
Tetraprenilado	3
Monogeranilado	6
Dimero prenilado	2
Sem prenilação	17

Figura 5: Prenilação em derivados antracênicos, de acordo com o número de ocorrências (NO).

A prenilação de produtos naturais aromáticos contribui para a complexidade e diversificação estrutural das classes metabólicas, além de aumentar a lipofilicidade e a afinidade por membranas biológicas (CHEN et al. 2014).

Do ponto de vista evolutivo as reações de C-prenilação são raras em espécies lenhosas basais de Angiospermae. Já as reações de oxidação são importantes para conduzir aos metabólitos secundários e espera-se um grau elevado de oxidação em substâncias produzidas por espécies mais derivadas (GOTTLIEB, 1990).

O parâmetro de avanço evolutivo baseado em oxidação (AE_O) para os derivados antracênicos de *Vismia* resultaram em um valor negativo, AE_O = - 0,19, indicando que as espécies desse táxon são pouco oxidadas, característica de grupos vegetais basais (SANTOS et al., 2010).

A proteção de hidroxilas fenólicas de metabolitos especiais destaca-se em alguns grupos vegetais e indica certo grau evolutivo. Para os derivados antracênicos de *Vismia* foram obtidos valores dos parâmetros de avanço evolutivo (AEx) baseados em: acetilação; metilação; prenilação; proteção total e desproteção (SANTOS et al., 2010). Os resultados mostraram uma predominância de derivados antracênicos com hidroxilas desprotegidas, e uma preferência à proteção por metilação. A desproteção das hidroxilas corrobora o caráter basal das espécies de *Vismia* demonstrado pelo parâmetro evolutivo baseado na oxidação (Figura 6).

Parâmetros de avanço evolutivo	Valores
Oxidação (AE _O)	-0,19
Prenilação (AE _P)	0,08
Metilação (AE _M)	0,12
Acetilação (AE _A)	0,02
Desproteção (AE _D)	0,74
Proteção total (AE _{PT})	0,22

Figura 6: Parâmetros de avanço evolutivo para derivados antracênicos de *Vismia*.

CONCLUSÕES:

O levantamento bibliográfico revelou uma grande diversidade de constituintes químicos em *Vismia*, destacando-se os derivados antracênicos. A ocorrência de derivados antracênicos prenilados torna esse gênero um alvo interessante para pesquisas fitoquímicas. Do ponto de vista evolutivo, os estudos baseados em oxidação e proteção de hidroxilas fenólicas sugerem um caráter basal para as espécies pertencentes ao táxon.

AGRADECIMENTOS:

PIBIC/UFF; CNPQ.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

CHEN, X. et al. 2014. **Pharm. Biol.** 52(5): 655-660.

GOTTLIEB, O. R. 1990. **Phytochemistry** 29: 1715-1724.

RUHFEL, B. et al. 2011. **Am. J. Bot.** 2011. 98(2): 306-25.

SANTOS, M.I.S. et al. 2010. **Abordagem Quimiosistemática e Evolução Química de Fanerógamas**, Rio de Janeiro: Editora da UFRJ. 318p. p.39-50.

STEVENS, P. F. (2001 onwards). **Angiosperm Phylogeny Website**. Version 14, July 2017 [and more or less continuously updated since]. Disponível em: <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. Acesso em 15 mar 2022.

WINK, M. 2003. **Phytochemistry**, 64(1): 3–19.

ZIDORN, C. 2006. **Biochem. Syst. Ecol.** 34(2): 144-159.



CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

REATIVIDADE GLIAL ENTÉRICA NO COLÓN DE CAMUNDONGOS MODELO DA DOENÇA DE PARKINSON.

**MARIANNA GONCALVES DE CARVALHO; MARIA CAROLINA
GARCIA RICCIARDI; BEATRIZ BASTOS DE MORAES THOMASI;
LUIZA VALDETARO; ANA LUCIA TAVARES GOMES**

Instituto de Biologia / Departamento de Neurobiologia/Laboratório da Interação Neuro-Glial.

INTRODUÇÃO:

O sistema nervoso entérico (SNE) é reconhecido como segundo cérebro devido as suas particularidades e complexidades neuroquímicas e funcionais, sendo muito semelhante ao encontrado no sistema nervoso central (SNC). O SNE se localiza ao longo de todo o trato gastrointestinal (TGI), é responsável pela motilidade gastrointestinal, secreção e absorção de nutrientes, fluxo sanguíneo e processos inflamatórios. A glia entérica (GE) é o tipo celular mais encontrado neste sistema e está extremamente interligada a homeostasia intestinal apresentando influência sobre a neurotransmissão entérica, a regulação do epitélio intestinal assim como um papel chave na imunomodulação. A doença de Parkinson (DP) é reconhecida pela comunidade científica como uma doença multicêntrica, que afeta diferentes sistemas do organismo levando a manifestação de sintomas não-motores clássicos, como a constipação. A literatura descreve que a GE se encontra alterada no TGI de pacientes da DP tendo a expressão da proteína GFAP aumentada concomitante a um

quadro inflamatório. A indução de modelos animais da DP vem servindo como base para identificação e caracterização da fisiopatologia da doença assim como para testes de terapias. O objetivo deste trabalho é estudar se há alteração da glia entérica e se está acontecendo na mesma janela temporal de modificações na barreira epitelial intestinal.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Realizamos a cirurgia estereotáxica para administração da droga 6-OHDA no estriado de camundongos C57/bl6 para obtenção do modelo da DP. Os animais foram mantidos com diferentes tempos pós-cirurgia: 48h, 1 semana e 2 semanas. Realizamos uma técnica que permite aferir o trânsito colônico de forma indireta, através da % de água nas fezes. Observamos uma redução da % de água nas fezes em animais com sobrevivência de 1 e 2 semanas, o que indica um maior tempo das fezes dentro do tubo gastrointestinal, levando a uma maior reabsorção de águas do bolo fecal pelo intestino grosso, ou seja, o trânsito intestinal lento. Realizamos o processamento

histológico do intestino grosso para análise da presença de GFAP e realizamos a produção de amostras bioquímicas para avaliação através da técnica de western blotting do mesmo marcador. Através da análise do conteúdo de GFAP na camada neuromuscular do colón observamos um aumento desde 48 h após a indução do modelo de DP, que persistiu no tempo de 1 semana após a indução do modelo PD, retornando ao nível do controle no tempo de 2 semanas. Observamos também que no tempo de 1w pós-indução do modelo de PD, os animais 6-OHDA apresentam células GFAP-positivas com uma morfologia amebóide, com menos ramificações e corpos celulares arredondados, quando comparados ao controle. Após 2 semanas de indução do modelo PD, a análise qualitativa não apresentou alterações na morfologia celular.

CONCLUSÕES:

Nosso resultado demonstra uma menor porcentagem de água nas fezes de animais modelo da DP nos tempos de 1 e 2 semanas pós-cirurgia, refletindo um atraso no trânsito intestinal. Identificamos uma modificação no perfil da glia entérica na camada neuromuscular. Mas experimentos são necessários para avaliar se as alterações gliais poderiam estar envolvidas com a alteração do trânsito intestinal. Os dados aqui apresentados fizeram parte de artigo publicado em revista indexada qualis A.

Thomasi BBM, Valdetaro L, Ricciardi MCG, Hayashide L, Fernandes ACMN, Mussauer A, da Silva ML, da Cunha Faria-Melibeu A, Ribeiro MGL, de Mattos Coelho-Aguiar J, Campello-

Costa P, Moura-Neto V, Tavares-Gomes AL. Enteric glial cell reactivity in colonic layers and mucosal modulation in a mouse model of Parkinson's disease induced by 6-hydroxydopamine. *Brain Res Bull.* 2022 Sep;187:111-121. doi: 10.1016/j.brainresbull.2022.06.013. Epub 2022 Jun 28. PMID: 35772606.



Ciências Biológicas

NEUROCIÊNCIAS E SAÚDE PÚBLICA: RESPOSTAS EMOCIONAIS EVOCADAS POR ALIMENTOS ULTRAPROCESSADOS.

Amanda Duarte Campos Souza, Thayane Castro Carvalho

Lemos, Isabel de Paula Antunes David

Departamento de Fisiologia e Farmacologia/ Instituto

Biomédico/ Laboratório de Neurofisiologia do Comportamento.

INTRODUÇÃO

O consumo de alimentos ultraprocessados favorece sistemas alimentares que são pouco saudáveis e sustentáveis. A redução do consumo destes alimentos pela população constitui-se, no entanto, um árduo desafio para os setores de saúde pública. Os alimentos ultraprocessados são promovidos através de estratégias publicitárias agressivas, além de serem hiperpalatáveis devido a combinação de açúcares, gorduras e aditivos alimentares. Devido às suas características peculiares, é possível que os alimentos ultraprocessados possam evocar fortes reações emocionais que predisponem o seu consumo em detrimento de alimentos *in natura* ou minimamente processados. Recentemente, o alto valor hedônico dos alimentos ultraprocessados vem se tornando alvo de uma nova discussão, na qual estes poderiam possuir características semelhantes as drogas de adicção. O objetivo deste estudo foi avaliar se a gravidade dos sintomas de adicção alimentar em uma amostra universitária, está associada a uma maior reatividade emocional aos alimentos ultraprocessados quando comparada aos

alimentos *in natura* ou minimamente processados.

MÉTODO

Foi utilizada para a avaliação emocional das imagens a metodologia aplicada ao Sistema Internacional de Imagens Afetivas (International Affective Pictures System, IAPS - Lang, Bradley, and Cuthbert, 2008) adaptada para o formato remoto. Para avaliar a validade desta adaptação, foram realizadas correlações de Spearman entre os resultados obtidos em estudos anteriores realizados presencialmente e os obtidos no presente estudo. O experimento foi programado através do software Psychopy® e disponibilizado ao participante através de um link que dava acesso ao experimento de forma remota. O experimento consistia na visualização de 16 imagens de alimentos (8 ultraprocessados e 8 *in natura*/minimamente processado) em conjunto com 74 imagens de outras categorias afetivas do catálogo IAPS. Após a visualização de cada imagem, os participantes a classificavam em duas dimensões da emoção: valência hedônica e ativação emocional através de uma escala denominada *Self-Assessment Manikin* (SAM,

Bradley and Lang, 1994). Utilizamos ainda uma escala denominada “Yale Food Addiction Scale” (YFAS 2.0; Gearhardt, Corbin and Brownell, 2016), para aferição de sintomas de adicção alimentar nos indivíduos. Nessa escala atribuí-se pontuações para perguntas que relacionam os hábitos alimentares aos critérios de dependência de substâncias do DSM 5 (Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Cada imagem foi plotada em um plano cartesiano baseado nos valores de valência e ativação obtidos através da escala SAM, resultando em um espaço afetivo. Imagens de alimentos localizaram-se na porção superior do espaço afetivo, representado pela motivação apetitiva. Os valores de valência e ativação obtidos no estudo remoto para as imagens do catálogo IAPS correlacionaram-se com os valores obtidos no estudo original (valência: $\rho = 0,95$, $p < 0,05$; ativação: $\rho = 0,8$, $p < 0,05$) e no estudo anterior do nosso grupo realizado de forma presencial (valência: $\rho = 0,97$, $p < 0,05$; ativação: $\rho = 0,89$, $p < 0,05$) sendo, portanto, válida a adaptação da metodologia IAPS para o formato remoto. Os participantes foram então divididos em dois grupos: entre os que apresentavam ao menos um sintoma referente à adicção alimentar e os que não apresentavam sintomas. Em cada grupo foram realizadas comparações entre as valências hedônicas e ativações das imagens de alimentos *in natura* e ultraprocessados através de teste-t pareado. Dentre os indivíduos sintomáticos, a ativação obteve resultado significativo o que não ocorreu para a valência (Valência_{*in natura*}: Média (M)= 6,5

e Desvio Padrão (DP) = 0,9, Valência_{ultraprocessado}: M= 6,6 e DP= 1,1, $p > 0,05$; Ativação_{*in natura*}: M= 3,5 e DP = 1,8, : Ativação_{ultraprocessado}: M= 3,8 e DP= 1,8, $p < 0,05$). Já os indivíduos assintomáticos não apresentaram resultados significativos para ambas as condições (Valência_{*in natura*} M= 6,2 e DP = 1,0, Valência_{ultraprocessado}: M= 6,4 e DP= 1,0, $p > 0,05$; Ativação_{*in natura*} M= 3,7 e DP= 1,7, Ativação_{ultraprocessado} M= 3,8 e DP= 1,7, $p > 0,05$).

CONCLUSÃO

Com os dados coletados no experimento, foi possível validar o método online através da aferição da resposta emocional dos indivíduos quanto às imagens e comparação da mesma com os valores obtidos anteriormente no estudo original e estudo prévio do grupo. Além disso, conseguimos observar que indivíduos com sintomas de adicção alimentar apresentam maior ativação emocional para alimentos ultraprocessados do que para alimentos *in natura* e minimamente processados, apesar do mesmo não ocorrer para o grau de agradabilidade (uma vez que valência hedônica dos diferentes grupos de alimentos foi semelhante). O mesmo não ocorreu para o grupo sem sintomas de adicção alimentar, visto que a reatividade emocional para ambos os grupos de alimentos foi semelhante nesses indivíduos.

REFERÊNCIAS:

1. Bradley MM, Lang PJ. Measuring emotion: The self-assessment manikin and the semantic

differential. *J Behav Ther Exp Psychiatry*. (1994) 25:49–59.

2. Gearhardt AN, Corbin WR, & Brownell KD. Development of the Yale Food Addiction Scale Version 2.0. *Psychology of Addictive Behaviors*, (2016) 30(1), 113–121.

3. Lang, P. J., Bradley, M. M., and Cuthbert, B. N. (2008). International affective picture system (IAPS): Affective ratings of pictures and instruction manual. Technical Report A-8, Gainesville, FL: University of Florida.



Ciências Biológicas

MODULAÇÃO DO SISTEMA ENDOCANABINÓIDE COMO ABORDAGEM TERAPÊUTICA PARA O TRATAMENTO DA RETINOSE PIGMENTAR.

Marina Pollis Davis, Camila Feitosa Magalhães e Lucianne Fragel Madeira

Laboratório de Desenvolvimento e Regeneração Neural / Departamento de Neurobiologia / Instituto de Biologia

INTRODUÇÃO:

A retinose pigmentar é uma doença genética de origem multifatorial e hereditária que induz a degeneração progressiva dos fotorreceptores na retina, bastonetes e cones, ao longo do desenvolvimento. Uma vez que não possui cura, o estabelecimento da doença leva a perda irreversível da visão. A degeneração se inicia na periferia do tecido com a morte celular em massa de bastonetes. Com isso ocorre a perda da visão noturna e o estabelecimento de uma visão tubular. Em estágios tardios, os cones também sofrem neurodegeneração no centro da retina e, a partir disso, se estabelece a perda total da capacidade visual e o vazamento de pigmentos pela retina (HIRAM e cols., 2022).

O sistema endocanabinóide é representado principalmente pelos receptores transmembranares CB1 e CB2, os ligantes endógenos Anandamida (AEA) e 2-AG, e pelas enzimas relacionadas com a síntese, o transporte e a degradação dessas substâncias.

Atualmente, alguns estudos demonstram uma ação neuroprotetora desse

sistema no tratamento de retinopatias como o Glaucoma (TOMIDA e cols., 2004) e a própria Retinose pigmentar (LAX e cols., 2014). Dessa forma, o foco da nossa pesquisa é investigar o comportamento e a influência do sistema endocanabinóide sobre a neurodegeneração de fotorreceptores no modelo murino Pde6 β rd10 (rd10), com o intuito de desenvolver novas formas de tratamento para retinose pigmentar.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Pesquisas anteriores do nosso grupo indicaram diferenças quanto à expressão do sistema endocanabinóide na retina de camundongos rd10 e camundongos C57/Black 6 (Black 6). Por meio de Imunofluorescência foi observado que, o receptor CB1 é expresso com maior intensidade na retina dos camundongos Black 6 do que em camundongos rd10. Quanto à expressão de CB2, os camundongos Black 6 apresentaram uma marcação intensa do receptor nas camadas plexiformes da retina. Porém, essa marcação sofreu atenuação em idades tardias. Em camundongos rd10, a marcação de CB2 inicialmente era fraca e em

idades tardias se tornou expressivamente maior na camada nuclear interna. Esses resultados demonstram uma alteração do sistema endocanabinóide em circunstâncias fisiopatológicas, sugerindo que o sistema não só é influenciado como também desempenha um papel no estabelecimento dessas condições na retina.

Depois, foi realizada a modulação farmacológica do sistema endocanabinóide em camundongos rd10, com o intuito de investigar um possível efeito neuroprotetor desse sistema sobre a morte celular progressiva dos fotorreceptores. O fármaco administrado nos animais foi o URB597, que atua como inibidor da FAAH. Uma vez que a atividade da FAAH é bloqueada, a quantidade de anandamida no meio extracelular aumenta, prolongando a ativação do sistema endocanabinóide.

O URB597 foi administrado em injeções intraperitoneais diárias. A aplicação era realizada em camundongos rd10 a partir de P13 (abertura dos olhos) até P18 e P24, acompanhados de análise 24 horas depois (P19 ou P25). Nos camundongos P19 e P25, o tratamento não só aumentou significativamente o número de fotorreceptores, como também reduziu o número de células apoptóticas na periferia da retina. Em experimentos seguintes, o URB597 foi administrado junto com um inibidor do CB1, o fármaco rimonabanto. Os resultados gerados demonstraram que na periferia o efeito do URB597 é inibido. Entretanto, no centro da retina observou-se que a administração dos dois fármacos promove um aumento no número de fotorreceptores, a partir disso se observou que a neuromodulação

desenvolvida pelo sistema endocanabinóide na retina ocorre de forma diferente a depender da região do tecido.

CONCLUSÕES:

Com base nos resultados de pesquisas anteriores do laboratório, é possível concluir que o sistema endocanabinóide exerce influência no comportamento da retina, uma vez que sofre alterações frente a condições fisiopatológicas na retina. Além disso, foi observado que a modulação farmacológica desse sistema gerou um aumento expressivo no número de fotorreceptores em camundongos rd10. Esses resultados o qualificam como um alvo em potencial para o desenvolvimento de abordagens terapêuticas voltadas para o tratamento da retinose pigmentar. Sendo assim, o objetivo deste projeto é dar continuidade ao estudo sobre ação neuroprotetora do sistema endocanabinóide na sobrevivência de fotorreceptores. Para isso, estão sendo realizados experimentos com imunofluorescência e western blot para analisar o mapeamento dos receptores CB1 e CB2 e a expressão da enzima FAAH na retina de camundongos rd10, tratados e não tratados com URB597, em diferentes fases do desenvolvimento.

AGRADECIMENTOS:

Agradecemos ao CNPq, FAPERJ e CAPES pelo apoio financeiro.



CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

PESQUISA DE PIROPLASMÍDEOS EM GATOS DOMÉSTICOS (*Felis catus*) DE TERESÓPOLIS, RIO DE JANEIRO

ALINE DE LIMA COELHO¹, JOÃO PEDRO SIQUEIRA PALMER¹,
LAÍS LISBOA CORRÊA¹, GILBERTO SALLES GAZÊTA²,
ALYNNE DA SILVA BARBOSA¹

1. DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA E PARASITOLOGIA, INSTITUTO BIOMÉDICO, LABORATÓRIOS DE PARASITOLOGIA
2. INSTITUTO OSWALDO CRUZ, LABORATÓRIO DE REFERÊNCIA NACIONAL EM VETORES DAS RIQUETSIOSES

INTRODUÇÃO:

As infecções determinadas por piroplasmídeos em gatos domésticos vem sendo relatadas cada vez mais em diferentes países. No entanto, em alguns estados do Brasil, principalmente naqueles onde a população de gatos domésticos vem aumentando substancialmente, as informações sobre a ocorrência desses agentes são altamente escassas. Mediante essa escassez de informações, este estudo objetivou analisar a frequência e o perfil hematológico e clínico da infecção por esses parasitos, bem como os fatores de risco inerentes a infecção em gatos domésticos em Teresópolis, RJ. Metodologia: Este estudo foi aprovado na CEUA/UFF e CEP/UFF e incluiu 250 gatos atendidos em clínica médica veterinária em Teresópolis, RJ entre setembro de 2020 e agosto de 2021. Os tutores desses animais foram sensibilizados e aqueles que concordaram assinaram o TCLE e responderam um formulário com perguntas sobre os animais. Na consulta clínica, era realizada a coleta do sangue e de ixodídeos quando o animal estava infestado. As amostras de sangue foram

submetidas a análises de distensões delgadas e a realização de hemograma. Todas as formas evolutivas foram mensuradas e classificadas morfológicamente. O DNA extraído das amostras de sangue de gatos foi submetido a pesquisa de piroplasmídeos por meio de primers que amplificam fragmentos dos genes 18S RNAr, hsp70 e COX-1. Além disso, os ixodídeos foram classificados morfológicamente e também foram submetidos a análise molecular para pesquisa de piroplasmídeos de acordo com o utilizado nas amostras de sangue. Todos os amplificados foram encaminhados ao sequenciamento gênico. As informações obtidas nos formulários, na análise hematológica e clínica, bem como os resultados das técnicas foram analisadas por estatísticas univariada e multivariada.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Nos gatos, foi verificada positividade de 2,8% para piroplasmídeos somente na análise molecular do gene 18S RNAr. Em seis amostras, foram verificadas sequências nucleotídicas com 99 a 100% de identidade com *Babesia vogeli*. Apenas em uma amostra foi

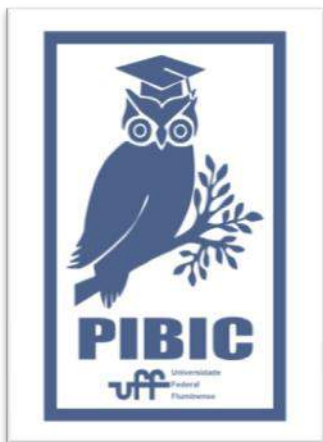
identificada sequência nucleotídica de *Cytauxzoon* spp.. As informações sobre o acesso ao quintal, apatia/fraqueza/prostração e hemorragias/sangramentos foram associadas a positividade para os piroplasmídeos ($p \leq 0,05$).

CONCLUSÕES:

Foi evidenciado positividade para diferentes espécies de piroplasmídeos em amostras biológicas de gatos de forma pioneira na cidade da região serrana fluminense, bem como fatores epidemiológicos e clínicos associados a positividade para piroplasmídeos.

AGRADECIMENTOS:

Gostaríamos de agradecer aos tutores por terem permitido a coleta de sangue nos seus animais.





Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas

Título do Projeto: GRAVIDADE DA COVID-19 EM INDIVÍDUOS COM A SÍNDROME DE DOWN

Autores: Giovanna da Silva Santos, Paula Souza de Azevedo, Márcia R. Amorim

**Instituto de Biologia / Departamento de Biologia Geral/
Laboratório de Genética Humana**

INTRODUÇÃO:

A COVID-19 é a doença causada pelo vírus SARS-CoV-2 (coronavírus 2) e afeta primariamente o sistema respiratório humano. A doença pode causar uma reação inflamatória anormal e exacerbada, caracterizada por aumento na concentração dos níveis de marcadores inflamatórios conhecida como “tempestade de citocinas”. A síndrome de Down (SD) é um distúrbio genético causado pela trissomia do cromossomo 21. Indivíduos com SD apresentam desregulação imunológica crônica, doenças autoimunes e maiores níveis de hospitalizações por doenças infecciosas respiratórias. Com a cópia do cromossomo 21 extra, muitos genes sofrem superexpressão e podem estar relacionados com a desregulação do sistema imune. Além das alterações imunológicas, os indivíduos com síndrome de Down podem apresentar cardiopatias congênitas, diabetes e obesidade, que são fatores de risco associados a pior prognóstico para a COVID-19. Este projeto tem por objetivo avaliar fatores de risco para a infecção pelo SARS-CoV-2 e a gravidade da COVID-19 em pacientes com síndrome de Down. Nesta primeira etapa do projeto foi realizada uma revisão bibliográfica sobre o tema, com busca de artigos científicos em três plataformas *online*:

PubMed, Science Direct e Google Acadêmico. Como critério de inclusão foram considerados artigos na língua inglesa e portuguesa, abrangendo os anos de 2020 a 2022. As palavras chaves utilizadas para as buscas foram: “Down syndrome”, “Síndrome de Down”, “Covid-19” e “Sars-Cov-2”.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Após exclusão dos artigos citados em duplicidade nas três plataformas, foram selecionados 48 artigos; estes foram divididos em três categorias principais: 19 trabalhos de revisão bibliográfica, 13 relatos de caso e 16 estudos epidemiológicos.

Os resultados mais significativos foram reunidos em três tabelas. Nestes últimos dois anos, a maioria dos trabalhos de revisão tem proposto mecanismos moleculares para compreender a relação entre a síndrome de Down e a gravidade para a COVID-19. Um dos aspectos de relevância é presença de três cópias da serino protease transmembrana tipo II (TMPRSS2), pois o gene está presente no cromossomo 21, facilitando a interação da proteína S do SARS-CoV-2 com o receptor celular, permitindo a infecção da célula pelo vírus.

Em estudos epidemiológicos alguns autores verificaram que indivíduos com SD apresentaram uma incidência maior de superinfecções, como as bacterianas, podendo influenciar no prognóstico da COVID-19. Quando comparados com aqueles que não apresentam a síndrome, têm maior probabilidade de serem intubados e maior taxa de mortalidade do que os controles. Indivíduos com SD hospitalizados com a doença tinham uma chance três vezes maior de morrerem do que a população em geral; complicações pulmonares (como pneumonia e síndrome respiratória aguda grave) foram mais prevalentes em pacientes com SD. A idade foi o principal fator de risco, com aumento da mortalidade a partir de quarenta anos, um limiar mais prematuro do que da população.

Em estudos avaliando pacientes com SD menores de 18 anos foi demonstrado uma maior incidência de sintomas respiratórios, febre, e outras complicações causadas pela Covid-19. Idade, epilepsia e obesidade foram fatores de risco significativos para hospitalização entre pacientes com SD.

Além disso, alguns trabalhos reforçaram a necessidade da vacinação prioritária nos indivíduos com síndrome de Down, pois, de modo geral, apresentam uma resposta a vacinas abaixo do ideal. A próxima etapa deste projeto incluirá entrevistas com mães de indivíduos com síndrome de Down para avaliar a incidência de infectados pelo SARS-CoV-2 e a gravidade da doença nesses pacientes.

CONCLUSÕES:

Indivíduos com SD são mais suscetíveis a infecções do trato respiratório e quando hospitalizados com COVID-19 são mais propensos a desenvolver uma forma mais severa da doença, com maiores taxas de complicações e mortalidade. As principais pesquisas sugerem que a infecção mais grave nesses indivíduos, está relacionada a alguns genes principais, como o gene *TMPRSS2*. Mais estudos são necessários para estabelecer precisamente as bases moleculares da infecção do SARS-CoV-2 e a gravidade da COVID19 na síndrome de Down.

AGRADECIMENTOS:

Agências de fomento, CNPq e à Propri





CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ETOGRAMA DAS FÊMEAS DE PATO-MERGULHÃO (*MERGUS OCTOSETACEUS*) NO PARQUE NACIONAL DA SERRA DA CANASTRA, MG

GABRIELLA DA SILVA PEREIRA, SÁVIO FREIRE BRUNO.

DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E CLÍNICA

VETERINÁRIA/ FACULDADE DE VETERINÁRIA/ SETOR DE
ANIMAIS SELVAGENS

INTRODUÇÃO:

Mergus octosetaceus Vieillot, 1817, popularmente conhecido como pato-mergulhão, é uma ave aquática que se encontra criticamente ameaçada de extinção no mundo segundo *The IUCN Red List of Threatened Species* (2019) e de acordo com a portaria nº 148 publicada pelo Ministério do Meio Ambiente (2022) também se encontra na mesma categoria de avaliação, sendo assim considerada uma das aves mais raras do mundo. É o único anseriforme representante da tribo Mergini encontrado no hemisfério sul (CAMPOS, 2017; DISCONZI, 2012) e uma das seis espécies pertencentes ao gênero *Mergus*, cujo integrantes possuem pequenas projeções serrilhadas de queratina nas bordas das maxilas com a função de capturar os peixes pertencentes a sua dieta (BUZATTO, 2020). O pato-mergulhão, um dos animais mais emblemáticos e raros do cerrado, é totalmente dependente das áreas úmidas do bioma (DISCONZI, 2012), mas também habita algumas regiões de floresta subtropical (HUGHES et al, 2006). O estabelecimento de populações da espécie se concentra em ambientes aquáticos de pouca ou nenhuma poluição, como rios caudalosos, ricos em corredeiras de grandes altitudes. Por este motivo, o pato-mergulhão é considerado um bioindicador, ou seja, demonstra que o ambiente em que está presente possui equilíbrio (ICMBIO, [2020?]).

Uma das principais ameaças à sobrevivência desta espécie é a devastação de seu habitat, que ocorre principalmente através do aumento da turbidez das águas. Estima-se que a população total da espécie seja inferior a 250 indivíduos. Por isso, a sobrevivência de *Mergus octosetaceus* Vieillot depende da conservação de áreas naturais no interior e no entorno do Parque Nacional da Serra da Canastra, local do estudo, pois é onde se encontra população com maior número de indivíduos (BIRDLIFE, 2019; FUNDEP, 2017).

Pautado no princípio de que é necessário conhecer para preservar, o objetivo geral deste trabalho foi a elaboração de um etograma para as fêmeas da espécie *Mergus octosetaceus* Vieillot, 1817 (pato-mergulhão), durante a época reprodutiva, compreendendo o período de abril a outubro, que inclui desde a escolha do ninho pelo casal, o acasalamento, até a separação dos filhotes. Os objetivos específicos foram: descrição dos atos e categorias comportamentais; estimar a frequência desses atos; quantificar o tempo gasto em cada um dos três substratos (água, solo e rocha).

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram registrados 28 atos distintos realizados pela fêmea de pato-mergulhão, estes foram agrupados em seis categorias comportamentais: “manutenção”, “locomoção”, “descanso”, “social”, “alimentação”, “vigilância”.

Foram assistidos vídeos do ano de 2016 até o ano de 2021. No ano de 2016, foram obtidos 122 minutos de filmagens, sendo a categoria comportamental descanso a mais desempenhada e o ato “dormir em vigília” o mais efetuado. No ano de 2017 foram totalizados 302 minutos, a categoria locomoção consistiu na mais desempenhada, pois a fêmea da espécie passou 39,8% do total de tempo obtido nadando. Já no ano de 2018, o tempo foi de 23 minutos, a categoria comportamental mais desempenhada foi a locomoção, com destaque de ato mais desempenhado para “nadar”, com 52,95%. Em 2019 foram totalizados 64 minutos e, novamente a categoria locomoção foi a que se sobressaiu, com 31,66%, sendo o ato nadar o responsável por 31,02% deste total. No ano de 2021, totalizaram-se 200 minutos e novamente a categoria locomoção tomou a frente com 37,12% de atuação, sendo o ato nadar o mais desempenhado. Ao total, foram contabilizadas aproximadamente 12 horas de filmagens em atos.

Também foi analisado o tipo de substrato mais utilizado durante toda a amostragem de tempo em filmagens, sendo classificados em água, rocha e solo. Os resultados obtidos demonstraram que a água foi o substrato em que foi passado mais que a metade de todo o tempo total, seguido de rocha e por último, solo.

Já se tratando do desempenho de cada ato comportamental, os resultados obtidos evidenciam que os atos mais desempenhados foram nadar, com 36,09% do total de tempo, seguido de ficar em alerta, com 27,40%.

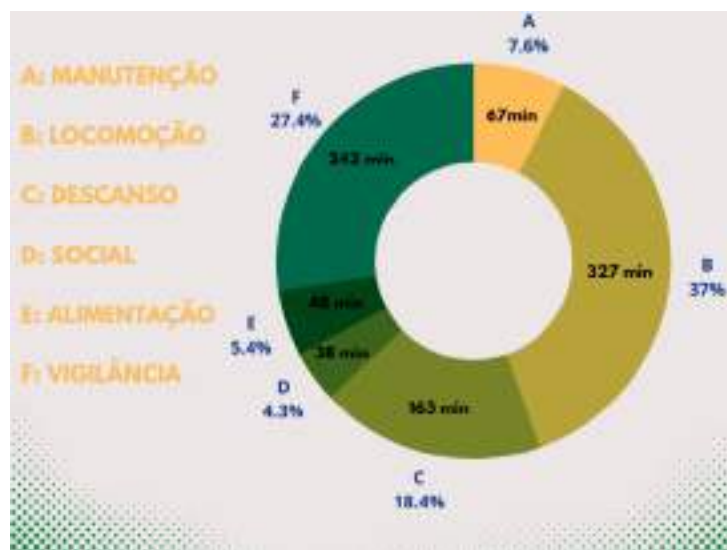


Figura 1: Resultados das categorias comportamentais do somatório de todos os anos de estudo.



Figura 2: Resultados dos substratos mais utilizados pela fêmea de pato-mergulhão durante o período de estudo.



Figura 3: Resultados dos desempenhos de cada ato comportamental pela fêmea de pato-mergulhão durante o período de estudo.

CONCLUSÕES:

Este estudo comportamental é inédito para as fêmeas da espécie, trazendo uma metodologia que não foi encontrada outra na literatura.

Com base na observação e estudo comportamental das fêmeas de pato-mergulhão do Parque Nacional da Serra da Canastra, MG, a partir de filmagens analisadas, pode-se notar que a maior parte do tempo, as fêmeas de pato-mergulhão passaram nadando em alerta, realizando ambos os atos conjuntamente em boa parte do tempo, visto que as categorias mais desempenhadas foram a “locomoção” e “vigilância”, bem como os atos mais desempenhados foram “nadar” e “ficar em alerta”. O substrato em que passam mais tempo, a água, também corrobora com tal afirmação.

Proteger o pato-mergulhão também significa garantir a proteção dos rios e matas onde ele vive, por isso, há a necessidade de se priorizar ações para reverter este quadro grave de

declínio de uma espécie próxima à extinção (DISCONZI, 2012).

AGRADECIMENTOS:

Agradecemos o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Universidade Federal Fluminense pela bolsa PIBIC.





GRANDE ÁREA DO CONHECIMENTO: CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
TÍTULO DO PROJETO: CARACTERIZAÇÃO DO EFEITO DO
EXTRATO BRUTO DE SEMENTE DE *POUTERIA CAIMITO* (RUIZ
& PAVON) RALDK SOBRE CÉLULAS DO SISTEMA
IMUNOLÓGICO E NA DERMATITE NÃO ALÉRGICA DE
CAMUNDONGO

AUTORES: FABIANA TEIXEIRA E SILVA, RENATA DE ALMEIDA E MAURÍCIO AFONSO VERÍCIMO

DEPARTAMENTO/UNIDADE/LABORATÓRIO: DEPARTAMENTO DE IMUNOBIOLOGIA,
INSTITUTO DE BIOLOGIA, LABORATÓRIO DE IMUNOLOGIA DAS DOENÇAS
INFECCIOSAS E GRANULOMATOSAS (LIDIG)

INTRODUÇÃO:

Pouteria caimito é uma planta conhecida popularmente como abiu, pertence à família da Sapotaceae encontrada com destaque na Floresta Amazônica. Estudos recentes realizados em nosso laboratório demonstram que o extrato bruto de semente *P. caimito* (EBPC) apresenta propriedade hemaglutinante, antifúngica e ao ser administrada pela via intraperitoneal (IP), em camundongos, resulta numa leucopenia transitória e, uma redução de progenitores da linhagem linfocítica na medula óssea (MO). Assim, seria de grande importância o isolamento e a caracterização dos componentes do EBPC, responsável(is) pelas atividades citadas, visando avaliar seu potencial terapêutico em processos inflamatórios e na regulação da resposta imunológica. Considerando que a administração do EBPC reduz temporariamente o número de leucócitos circulantes e diminui seletivamente precursores

hematopoiéticos, formula-se a hipótese de que o referido extrato atue como agente anti-inflamatório e/ou modulador da resposta imunológica. O objetivo geral deste projeto foi de avaliar se os extratos obtidos de semente da *P. caimito* apresentam ação moduladora da resposta imunológica e um modelo de dermatite não alérgica em camundongo.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

No presente trabalho dois processos de extração das proteínas das de *P. caimito* foram realizados: com solução salina (EBsal) e com tampão borato de sódio (EBbor). Através de eletroforese em gel de poliacrilamida verificou-se diferenças nos perfis proteico dos dois extratos e ambos apresentaram uma banda majoritária de aproximadamente 36kDa. Inicialmente foi avaliado o efeito da administração de 1mg/kg do EBsal sobre número de leucócitos do sangue periférico e na

recuperação de células do baço e da medula óssea. Nas amostras de sangue foi observado que no 4º dia ocorreu uma significativa redução no número de leucócitos ($p < 0.001$), seguido de um aumento transitório no 8º dia ($p < 0.05$) e retornando ao nível basal no 12º dia. No baço, após a administração do Ebsal foi observado uma diminuição gradativa total de células recuperadas atingindo o máximo de redução no 8º dia ($p < 0.01$), e retornando ao número normal no 12º dia. Já com relação ao número de células obtidas do fêmur observou um aumento gradativo de células medulares entre o 4º e 8º dia ($p < 0.01$) com retorno ao número normal no 12º dia. Em seguida foi avaliado o efeito da administração dos EBPC na resposta imunológica de camundongos imunizados com ovoalbumina de galinha (OVA) para testar uma possível ação imunomoduladora das respostas imunológica humoral e celular. Os resultados demonstram que na resposta imunológica secundária a administração dos EBPC associada a OVA reduziram significativamente a produção de anticorpos IgG anti-OVA ($p < 0.01$) sem alteração dos níveis de IgM. Os resultados obtidos demonstram que os animais que receberam nas imunizações primária e secundária OVA associada aos EBPC ou OVA na imunização primária e OVA associada aos EBPC não desenvolveram numa resposta imunológica secundária clássica, isto é, com aumento exponencial dos níveis de anticorpos. Esses dados são bastante sugestivos de que os EBPC anularam a(s) atividade(s) das células linfóides anti-OVA previamente sensibilizadas na imunização primária. Foi avaliado o efeito da administração intraperitoneal dos EBPC na

intensidade do processo de dermatite não alérgica de inflamação induzida pela aplicação de óleo de cróton (OC) no pavilhão auricular dos camundongos. Neste modelo, a avaliação da intensidade inflamatória foi avaliada pela mensuração da espessura da orelha. Verificou-se novamente que os EBPC reduziram significativamente o número de leucócitos circulantes do sangue periférico. No entanto, o processo inflamatório da orelha, induzido pelo OC, foi mais intenso nos animais que receberam Ebsal, ao contrário dos animais que foram tratados com EBbor. Além disso, ao analisarmos algumas características das populações celulares dissociadas das orelhas inflamadas e analisadas por citometria de fluxo, tais tamanho versus granulosidade. Os resultados indicam que o Ebsal diferentemente do EBbor diminui a população celular de menor tamanho. Análise fenotípica dessas populações celulares ainda estão em andamento no laboratório. O conjunto dos dados obtidos até o presente, encorajam no isolamento, caracterização química e o no estudo da(s) função(ões) biológica(s) dos componentes do extrato bruto de *P. caimito* e verificar sua possível aplicação na área médica como agente anti-inflamatório e imunomodulador.

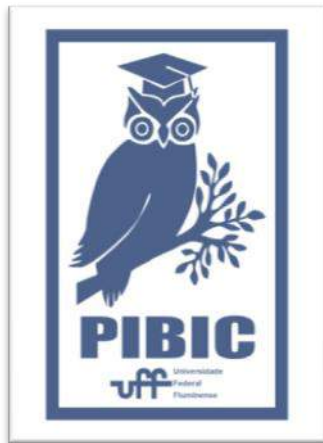
CONCLUSÕES:

Os estudos realizados até o momento mostram que a administração intraperitoneal dos EBPC apresenta redução transitória do número de leucócitos do sangue periférico, do baço e aumento transitório das células da medula óssea. Além disso, os resultados também demonstram que a associação do EBPC com

OVA reduz a resposta humoral secundária anti-OVA. No modelo murino de dermatite não alérgica induzido pelo óleo de cróton verificamos que a administração de Ebsal aumenta a intensidade da inflamação do pavilhão auricular.

AGRADECIMENTOS:

Ao meu orientador, Prof. Mauricio A. Vericimo.
À minha coorientadora, Renata de Almeida. A toda a equipe do Laboratório de Imunologia das Doenças Infeciosas e Granulomatosa (LIDIG). À PROPPi/UFF, pelo apoio financeiro.





Ciências Biológicas

PARTICIPAÇÃO DOS RECEPTORES ENDOCANABINOIDES NA EMOCIONALIDADE E NA CAPTAÇÃO DE GABA EM UM MODELO ANIMAL DO TRANSTORNO DE DÉFICIT DE ATENÇÃO E HIPERATIVIDADE

Costa, S.G.¹, Penna D.B.S.¹, Carvalho, M.F.¹, Guiso, M.¹, Martins, R.S.², Martins, V.³, Marques, R.³, Rodrigues, M.C.⁴, Kubrusly, R.², dos Santos-Rodrigues, A.¹, Pandolfo, P.¹

¹ Departamento de Neurobiologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ

² Departamento de Fisiologia e Farmacologia Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ

³ Laboratório de Biologia Estrutural, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro-RJ

⁴ Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro-RJ.

INTRODUÇÃO:

O transtorno de déficit de atenção e hiperatividade apresenta-se pelos sintomas de desatenção, hiperatividade, impulsividade e está frequentemente associado a comorbidades, como ansiedade e comportamentos de risco. A principal hipótese do TDAH é a hipofunção do sistema dopaminérgico em circuitos frontoestriatais.

O sistema endocanabinoide modula as sinapses excitatórias e inibitórias e está extensamente expresso nas vias dopaminérgicas, portanto, pode estar relacionado com a neurobiologia do transtorno.

Em vista disso, o objetivo do trabalho foi investigar a ativação ou o antagonismo dos receptores endocanabinoides (CBR) no comportamento de risco e comportamento hiperativo de ratos modelo animal de TDAH, na

captação de GABA em fatias de córtex e estriado e o conteúdo proteico de CB1 e CB2 em amostras de hipocampo desses animais.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

No Campo Aberto, SHR apresentaram maior atividade locomotora que WKY (WKY 17351 ± 1102 cm; SHR 31569 ± 1870 cm; $p < 0.005$) e maior comportamento de risco, registrados como porcentagem de entradas no centro (WKY 46,14 ± 0,6620%; SHR 78,76 ± 0,2104%; $p < 0,005$). Quando tratados com AM, os animais, independentemente de linhagem e sexo, entraram menos no centro do aparato (veículo 47,63 ± 0,3884%; WIN 47,26 ± 0,6656%; AM 43,33 ± 2,249%; $p < 0,005$), portanto, tiveram menor comportamento de risco. No Labirinto em Cruz Elevado, fêmeas e machos SHR apresentaram maior número de entradas nos

braços fechados (atividade locomotora) (Fêmeas: WKY $7,33 \pm 1,14$; SHR $8,50 \pm 0,50$; Machos: WKY $4,42 \pm 0,71$; SHR $6,55 \pm 0,29$ $p < 0,05$)) comparados com seus respectivos sexos WKY. WKY apresentam maior porcentagem de tempo na plataforma central que SHR (respectivamente: $25,22 \pm 2,01\%$; $19,09 \pm 1,62\%$. $p < 0,05$), área relacionada com avaliação de risco. Fêmeas e SHR apresentaram maior número de entradas nos braços abertos (Fêmeas: $7,72 \pm 0,46$; Machos $4,94 \pm 0,40$ $p < 0,05$; WKY: $5,34 \pm 0,46$; SHR $7,33 \pm 0,40$). Nenhuma diferença significativa foi observada no conteúdo proteico de CB1 e CB2. Fêmeas SHR apresentaram menor captação de GABA, no CTX e no EST, o que pode explicar a diferença comportamental encontrada entre esses animais. WIN e AM reduziram a captação de GABA no CTX (EST: WKY fêmea $0,1669 \pm 0,03258$ pmol/mg/hora; SHR fêmea $0,1579 \pm 0,004508$ pmol/mg/hora. CTX: WKY fêmea $0,06056 \pm 0,0104\%$; SHR fêmea $0,1669 \pm 0,03258\%$; $p < 0,005$) nessas fêmeas. A captação de GABA no EST foi reduzida após administração de WIN e AM (DA/CON $1,466 \pm 0,09815\%$; WIN+DA/WIN $0,7937 \pm 0,1623\%$; AM+DA/AM $0,8959 \pm 0,0975\%$; $p < 0,005$), após desafio com DA. Além das fêmeas parecerem mais suscetíveis aos efeitos dos canabinoides, o efeito semelhante encontrado entre o agonista não seletivo (WIN) e o antagonista de CB1 (AM251) pode indicar uma possível atuação de outro receptor canabinoide, como CB2.

CONCLUSÕES:

O estudo demonstrou que a linhagem SHR apresenta perfil hiperativo e de comportamento de risco, em comparação à WKY, achado que corrobora com a literatura. De maneira inédita, vimos que o antagonismo dos receptores CB₁ diminui o comportamento de risco, independente de linhagem e sexo, nesses animais. Ademais, a transmissão GABAérgica em circuitos frontoestriatais parece estar envolvida nas diferenças comportamentais observadas entre machos e fêmeas tratados com ligantes endocanabinoides, bem como, evidencia uma maior suscetibilidade dessas aos efeitos dos canabinoides.

AGRADECIMENTOS:

Ao meu orientador, Pablo Pandolfo, agradeço pela confiança e a incansável paciência. Agradeço à equipe do Laboratório de Neurobiologia do Comportamento Animal, sempre disposta a contribuir com o meu crescimento acadêmico. Em especial ao Daniel Penna, Milena Guiso e Marcellus Carvalho, que igualmente executaram esse trabalho. Às parcerias e os auxílios financeiros (UFF, CNPq, CAPES, FAPERJ) que tornaram esse trabalho possível.

Por fim, agradeço aos meus pais e amigos que me incentivam e me ensinam todos os dias.





Grande área do conhecimento: Ciências biológicas

Título do Projeto: RELAÇÕES EVOLUTIVAS ENTRE ESPÉCIES E EVOLUÇÃO DOS TIPOS DE INFLORESCÊNCIA EM *Hornschurchia* Nees (ANNONACEAE)

Autores: Adriana Quintella Lobão e Larissa de Araujo Costa e Castro Teixeira

Departamento/Unidade/Laboratório: Departamento de Biologia Geral/UFF Instituto de Biologia/LaSBiv

INTRODUÇÃO:

Annonaceae é representada no Brasil por 29 gêneros, incluindo *Hornschurchia*, e 378 espécies. O gênero possui pertence à tribo Bocageae e é bastante similar à *Trigynaea*. São escassos, também, estudos sobre morfologia e evolução da diversidade de inflorescências do gênero.

Hornschurchia possui 12 espécies, *H. lianarum* D. M. Johnson, *H. citriodora* D. M. Johnson, *H. myrtillus* Nees, *H. alba* (A.St-Hil.) R.E.Fr, *H. cauliflora* Maas & Setten, *H. obliqua* Maas & Setten, *H. bryotrophe* Nees, *H. polyantha* Maas, *H. santosi* D. M. Johnson, *H. leptandra* D. M. Johnson (Lopes & Mello-Silva 2020), *H. mediterranea* Mello-Silva & D.M. Johnson e *H. mellosilvae* L. Vilela & J.C.Lopes, recentemente descritas (Mello-Silva *et al.* 2021 e Lopes *et al.* 2021).

Um caráter marcante e diverso em *Hornschurchia* é a inflorescência. O gênero possui diferentes tipos de cauliflora, trunciflora, ramiflora e flageliflora (Schatz & Wendt 2004). A flageliflora, tipo especial de inflorescência que se desenvolve geralmente na base do tronco e cresce horizontalmente no solo podendo atingir

até dois metros de comprimento, também é encontrada em outros gêneros de Annonaceae, como em *Trigynaea* (Lobão 2017).

Sendo assim, o objetivo do presente projeto é realizar análise filogenética do gênero *Hornschurchia* baseada em dados morfológicos e avaliar a evolução dos diferentes tipos de inflorescências do gênero. Para isso, foi realizada uma excursão para Armação de Búzios (RJ), onde foram encontradas e coletadas espécimes de *Hornschurchia alba*, posteriormente herborizadas e armazenadas no herbário RB e NIT, situado na Universidade Federal Fluminense (UFF), além de visitas aos herbários R e RB. Apesar das dificuldades apresentadas devido à pandemia, foi possível apresentar uma chave de identificação para as espécies do gênero, confeccionar uma matriz através de bibliografia disponível e obter uma árvore filogenética.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foi proposta uma chave de identificação incluindo a espécie *H. mediterranea* Mello-Silva & D.M. Johnson e *H. mellosilvae* L. Vilela & J.C. Lopes, com adaptações realizadas a partir de

Johnson & Murray (1995). Para a análise filogenética, foi confeccionada uma matriz a partir de 13 caracteres vegetativos e 31 reprodutivos, totalizando 44 caracteres potencialmente informativos. Todas as espécies de *Hornschuchia* foram inseridas na análise, exceto *H. mellosilvae* L. Vilela & J.C. Lopes, pela ausência de informações de 11 caracteres.

A partir dessa matriz, foi realizada análise filogenética através do critério da máxima parcimônia, utilizando-se do programa PAUP (Swofford 2002). Três árvores mais parcimoniosas foram obtidas e a árvore de consenso estrito foi obtida com 124 passos (figura 1), apresentando índice de retenção (IR) = 0,5122 e índice de consistência (IC) = 0,6774.

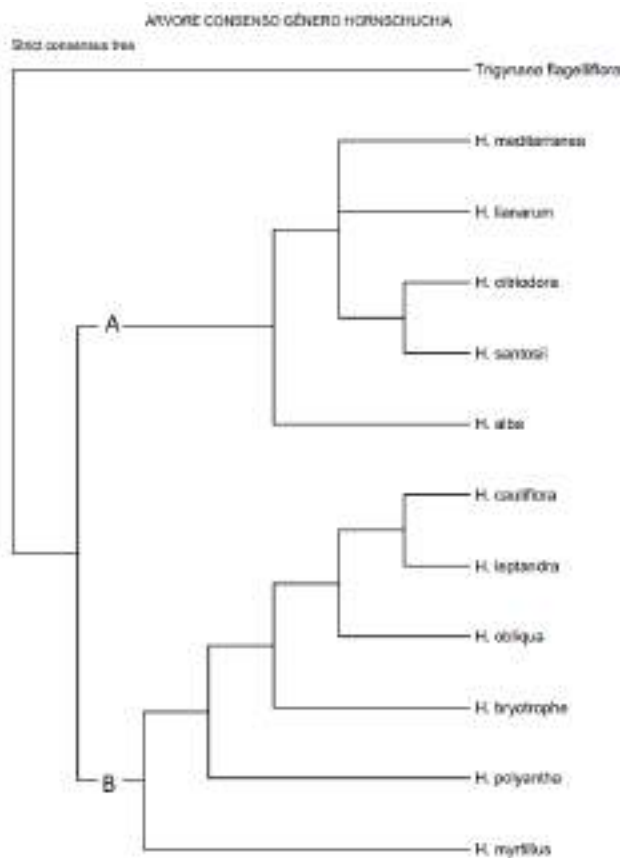


Figura 1: árvore consenso de *Hornschuchia*.

Como resultados, O gênero *Hornschuchia* emerge monofilético, e *Trigynaea* como seu ancestral comum.

Tradicionalmente, no gênero *Hornschuchia*, a principal sinapomorfia é a ausência de lobos no cálice. O cálice se mostrava um caráter importante em relação à sua forma, já que todas as espécies do gênero apresentam cálice cupuliforme, forma distinta de e *Trigynaea*, que possuem cálice triangular. Outro caráter importante do gênero é a redução do número de estames, incomum na família, que geralmente apresenta muitos estames. *Trigynaea* também apresenta menos estames variando de 50 a 60 estames, números mais elevados que em *Hornschuchia*.

Em *Hornschuchia* e *Trigynaea* as inflorescências do tipo ripídio e flageliforme estão presentes, sendo a última ocorrendo também no grupo externo *T. flagelliflora*.

Dois clados principais de espécies de *Hornschuchia* emergem na árvore, representados pelas letras A e B, além *H. myrtilus*. Dentre todas as espécies do gênero *Hornschuchia*, *H. myrtilus* possui tanto inflorescência quanto flor solitária, possibilitando a hipótese de serem duas espécies distintas.

No clado A emergem *H. santosii*, *H. citriodora*, *H. alba*, *H. lianarum* e *H. mediterrânea*, com flores solitárias e apenas seis a 11 nervuras secundárias sendo essas então, possíveis sinapomorfias do clado. *H. lianarum* e *H. mediterranea*, que formam um clado interno, apresentam pecíolo densamente coberto por tricomas, caráter incomum dentro do clado A, onde todas as espécies possuem pecíolos com poucos tricomas.

Já no clado B emergem as espécies *H. polyantha*, *H. bryotrophe*, *H. obliqua*, *H. leptandra* e *H. cauliflora*. Nesse clado todas as espécies possuem flores organizadas em algum tipo de inflorescência não sendo possível avaliar se algum dessas inflorescências emergem como sinapomorfia de algum clado uma vez que nesse clado B há uma enorme politomia na sua base. No clado B também são encontradas todas as espécies com 6 a 17 ou mais nervuras secundárias e folhas grandes, de no mínimo 22 cm de comprimento, com exceção de *H. polyantha*, que pode ter tido uma reversão. A exina do pólen intectada parece ser uma novidade evolutiva do grupo, dado que as espécies do clado A e dos grupos externos possuem exina do pólen tectada. Esse estado dentro do clado é encontrado em apenas em *H. obliqua*, podendo também se tratar de um caso de reversão.

CONCLUSÕES:

Apesar da necessidade de adaptação do projeto original devido ao período enfrentado, o trabalho científico foi realizado, ainda que com limitações. Com a volta das atividades, serão avaliadas novas formas de análise, como Máxima Verossimilhança e Análise Bayesiana para análise da evolução do caráter tipo de inflorescência será utilizado o programa MacClade 4.0 (Maddson & Maddson 2000).

AGRADECIMENTOS:

Gostaria de agradecer a Universidade Federal Fluminense, por continuar promovendo educação de qualidade. Também agradeço à professora Adriana Lobão pelo tempo e

conhecimento disponibilizado, sempre com carinho, atenção e dedicação. E, por fim, ao PIBIC, pela oportunidade de desenvolver projetos oferecida aos alunos.





Ciências Biológicas

FILOGENIA DE HETEROCONCHIA (MOLLUSCA: BIVALVIA) A PARTIR DOS GENES CODIFICANTES DO GENOMA MITOCONDRIAL

Caroline Leonor Ambrozio da Costa e Victor Corrêa Seixas

Departamento de Biologia Marinha/Instituto de

Biologia/Laboratório de Ecologia e Evolução Molecular

INTRODUÇÃO:

A classe Bivalvia se destaca entre as classes de moluscos, tanto pelo número de espécies (~25 mil), perdendo apenas para Gastropoda, quanto pela importância ecológica e econômica. Em termos de abundância e biomassa, os bivalves são um dos principais constituintes do sistema bentônico. Além disso, são uma importante fonte de proteína animal para consumo humano e representam um dos principais grupos de espécies invasoras. Os bivalves são caracterizados por um par de valvas comprimidas lateralmente que são unidos por músculos adutores, com um pé escavador, são, em sua maioria, animais filtradores, ao longo da evolução acabaram perdendo algumas características como cabeça e aparelho bucal. Quanto a sistemática filogenética, os bivalves são divididos em duas subclasses, Protobranchia e Autobranchia. A subclasse Autobranchia se divide em Pteriomorphia e Heteroconchia. Este último inclui Paleoheterodonta e Heterodonta como coortes. O clado Paleoheterodonta incluem duas ordens Trigoniida e Unionida. Já a coorte Heterodonta

se divide em dois grupos Archiheterodonta (com apenas uma ordem de animais vivos sendo os heterodontes primitivos) e Euheterodonta (com quatro ordens de animais vivos). Nos últimos anos a compreensão em diversos clados internos de Bivalvia aumentou devido ao avanço das filogenias moleculares. As propostas filogenéticas de Heteroconchia estão presentes em em filogenias amplas da classe Bivalvia, porém ainda possui algumas incertezas sobre as suas relações. No entanto, quanto as relações dentro de Heteroconchia há uma escassez na quantidade de trabalhos focados somente nessa infraclasse. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo estimar as relações filogenéticas dentro de Heteroconchia a partir de 13 genes codificantes presentes no genoma mitocondrial.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram utilizados 10544 sítios de nucleotídeos e 2971 de aminoácidos. As árvores estimadas a partir de nucleotídeos e aminoácidos usando máxima verossimilhança (MV) e inferência Bayesiana (IB) foram bastante semelhantes, porém com algumas inconsistências. O

monofiletismo de Paleoheterodonta foi recuperado com alto suporte nas quatro filogenias (MV nucleotídeo = 100; MV aminoácido = 100; IB nucleotídeo = 1; IB aminoácido = 1), enquanto o monofiletismo de Heterodonta só foi recuperado na IB com nucleotídeos. O monofiletismo de Paleoheterodonta e Heterodonta encontrado na IB para nucleotídeos também foi observado em outros trabalhos. Na IB para aminoácido e MV, uma parte do clado de Heteroconchia teve maior proximidade com Paleoheterodonta, porém com valor de suporte relativamente baixo. Nessas filogenias o clado Heterodonta foi parafilético, o que não condiz com resultados da literatura. Considerando as relações dentro de Paleoheterodonta a única espécie da ordem Trioniida aparece como grupo-irmão de Unionida (100; 100; 1; 1). A ordem Unionida foi monofilética, e em todas as filogenias as famílias Unionidae e Margaritiferidae formaram clado bem suportado (100; 97; 1; 1). A família Hyriidae foi recuperada como grupo-irmão do clado Unionidae + Margaritiferidae (92; -; 1; 0,99), exceto na filogenia de MV aminoácidos, onde Mutelidae formou um clado com Unionidae e Margaritiferidae (63). As relações de Palaeoheterodonta foram sempre consistentes. Quanto a Heterodonta, somente Euheterodonta foi representado nas filogenias, visto que não há sequências de Archiheterodonta. O monofiletismo de Euheterodonta e Imparidentia só foram recuperados na IB aminoácidos (pp = 1). Nas outras árvores, Euheterodonta foi parafilético visto que Anomalodesmata formou grupo-irmão com Paleoheterodonta (66; 72; -; 0,51) e

Lucinida foi recuperada como grupo-irmão do clado Paleoheterodonta + Anomalodesmata, todos os casos o suporte foi baixo em comparação a outros valores encontrados (67; 76; -; 0,51). Dentro de Heterodonta, somente a IB para nucleotídeo recuperou o clado Imparidentia + Anomalodesmata, como encontrado em outros trabalhos. Nas outras filogenias Anomalodesmata foi mais aparentada a Paleoheterodonta (baixo suporte). Anomalodesmata foi monofilético em todas as filogenias, com exceção de Lucinida. Todas as demais ordens de Imparidentia formaram grupo monofilético com suporte máximo. A posição de Adapedonta variou em relação aos dados de nucleotídeo e aminoácidos. Com Adapedonta aparece como grupo-irmão do clado contendo Venerida, Myida e Cardiida (100; -; 1; -) e a ordem Cardiida aparece como grupo-irmão de Myida e Venerida (64; -; 0,85; -). Nas análises com aminoácidos, Adapedonta foi recuperada como grupo-irmão do clado contendo Myida e Venerida, porém com valores de suporte inferiores (-; 91; -; 0,87). Cardiida aparece como grupo-irmão de Adapetonda, Myida e Venerida (-; 100; -; 1). A relação entre as espécies dentro das ordens foi igual para as quatro filogenias.

CONCLUSÕES:

As análises moleculares mostraram ser uma ferramenta que pode ajudar a entender as relações evolutivas do grupo. No entanto as incertezas encontradas nos resultados, quanto a divergências de alguns clados das árvores podem ser resolvidos a partir de outras abordagens, mais estudos e de maneira mais

ampla, assim como a interação com outros tipos de análise. Dentre o estudo realizado, mostrando que o genoma mitocondrial pode ajudar nas estimativas filogenéticas entre os grupos, pois foi reconstruído hipóteses relativamente estáveis, os ramos no geral apresentaram valores de suporte satisfatórios.

AGRADECIMENTOS:

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de Iniciação Científica concedida através do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC).





CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ESTUDO TAXONÔMICO DE *AGLYPTINUS* COCKERELL (COLEOPTERA: LEIODIDAE)

SULAMITA CAMPOS MURRAY E CAIO ANTUNES DE CARVALHO

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA GERAL, INSTITUTO DE BIOLOGIA, LABORATÓRIO DE BIODIVERSIDADE DE INSETOS E PATÓGENOS

INTRODUÇÃO:

Leiodidae é uma família de besouros com representantes em terras tropicais e temperadas de todo o mundo e mais de 4200 espécies descritas. Seus representantes, geralmente membros discretos da fauna de insetos que vivem em serapilheira, são capazes de explorar uma grande variedade de habitats e fontes alimentares. De forma geral, esses besouros habitam áreas florestais e são considerados saprófagos, alimentando-se de material vegetal ou animal em decomposição (e.g., serapilheira, carniça, fezes) ou podem ser micófitos, associando-se a diferentes grupos de fungos.

O gênero *Aglyptinus* Cockerell, foco desta pesquisa, reúne 41 espécies viventes e uma fóssil. O gênero é caracterizado pelo pequeno tamanho corpóreo - comprimento de cerca de 1,0 a 2,0 mm - com formato corporal uniformemente oval e convexo; superfície dorsal sem estrias ou pontuações proeminentes; antenas longas e finas; e coloração marrom escura ou avermelhada, com as margens laterais do pronoto geralmente mais claras que o restante do corpo. A maioria das espécies está distribuída pela região Neotropical. Adultos e larvas são encontrados em fungos epígeos,

geralmente Polyporaceae, do qual se alimentam. A biologia desses besouros, entretanto, ainda é pobremente conhecida.

Diferentes autores têm relatado a existência de diversas espécies não descritas de *Aglyptinus*, refletindo a carência de estudos taxonômicos sobre o gênero. A partir do estudo preliminar da fauna de *Aglyptinus* da Colômbia, uma espécie não descrita (*Aglyptinus* sp.) foi reconhecida. Neste trabalho nós apresentamos suas características diagnósticas baseadas no estudo da morfologia da genitália masculina.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

A seguinte combinação de características morfológicas do edeago diferem *Aglyptinus* sp. das espécies descritas no gênero: lobo mediano com ápice acuminado (em vista dorsal), achatado dorsoventralmente no quinto distal de seu comprimento, e com uma sutil emarginação subapical nas bordas laterais (i.e., no início do quinto distal). A espécie estudada apresenta algumas semelhanças com as espécies *A. hispaniolensis* Peck & Cook, 2014 e *A. kaszabi* Hlisenkovský, 1964 em relação à morfologia do edeago. O lobo mediano da primeira exibe uma curvatura ventral parecida com a de *Aglyptinus*

sp., enquanto o da última parece possuir uma leve reentrância subapical nas margens laterais. Entretanto, o ápice do lobo mediano de *A. hispaniolensis* é arredondado em vista dorsal, achatado dorsoventralmente no terço distal de seu comprimento, e com margens laterais sem reentrâncias, condições que claramente diferem esta espécie de *Aglyptinus* sp.. *Aglyptinus kaszabi*, por sua vez, apresenta o edeago com curvatura ventral mais acentuada que a de *Aglyptinus* sp.. Além disso, o lobo mediano de *A. kaszabi* possui o ápice arredondado, e sua superfície ventral forma uma leve sinuosidade subapical em vista lateral, características que também separam esta espécie de *Aglyptinus* sp..

A morfologia externa geral de *Aglyptinus* é apontada por diversos autores como “homogênea”, geralmente sem variações conspícuas entre seus representantes. Todavia, a documentação da morfologia desses besouros é escassa na literatura; as descrições taxonômicas geralmente incluem apenas ilustrações da morfologia do edeago. Este cenário dificulta comparações de outras características observadas na espécie estudada com aquelas de espécies descritas. Portanto, as características diagnósticas de *Aglyptinus* sp. se basearam até o momento no exame da morfologia do edeago. Futuros estudos comparativos envolvendo outras partes do corpo de *Aglyptinus* poderão indicar novas fontes de informação para a distinção entre espécies.

CONCLUSÕES:

Apresentamos aqui as características diagnósticas de *Aglyptinus* sp., uma espécie reconhecida como nova com base no estudo da morfologia do edeago. Com base na distribuição do gênero conhecida atualmente, a espécie estudada constitui o primeiro registro de *Aglyptinus* para a Colômbia.

AGRADECIMENTOS:

Agradecemos aos professores Abílio Soares, Arno F. N. Brandes, e Fábio Pitombo por terem nos permitido utilizar microscópios de seus laboratórios, e à Stewart Peck (Carleton University, Ottawa, Canada) e François Génier (Canadian Museum of Nature) pela seleção e envio de espécimes de *Aglyptinus*. Agradecemos também a UFF pela bolsa concedida, e à FAPERJ E-26/210.289/2021 pelo auxílio financeiro.





CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO EXTRATO DE CRAJIRU E DO RESVERATROL NA MORTE NEURONAL INDUZIDA POR ESTRESSE OXIDATIVO NA RETINA DE GALINHA

ARMOND PINTO P.; SANTOS-PEREIRA, R.;
PAES-DE-CARVALHO, R.; DOS SANTOS-RODRIGUES, A.

DEPARTAMENTO DE NEUROBIOLOGIA, PROGRAMA DE
PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS, INSTITUTO DE BIOLOGIA, UNIVERSIDADE
FEDERAL FLUMINENSE, NITERÓI – BRASIL.

INTRODUÇÃO:

O resveratrol é um composto vegetal (polifenol) que pode ser encontrado em sementes e películas de uvas. Na literatura ele é descrito por ter um grande potencial para combater radicais livres no organismo humano. Esse estudo se baseia nessa capacidade antioxidante dessa molécula para avaliar o potencial neuroprotetor do resveratrol em cultivos celulares, extraídos da retina de embriões de galinha. Existem estudos que sugerem que a morte neuronal induzida por estresse oxidativo está diretamente ligada com a existência de doenças neurodegenerativas.

O Crajiru é uma planta medicinal com uma ampla distribuição geográfica pelo Brasil, alguns estudos já caracterizaram a presença de antocianinas, tais como a carajurina e a carajurona. Esses pigmentos vegetais também já foram descritos pelo potencial antioxidante, no entanto os mecanismos celulares que induzem esses efeitos ainda não são completamente esclarecidos.

O estresse oxidativo é uma consequência citopatológica comum, decorrente do desequilíbrio da produção de radicais livres, e o

estudo de meios para controlar esse desequilíbrio é de extrema importância médica, possivelmente identificando formas de controlar o desenvolvimento das doenças neurodegenerativas.

Neste estudo, o uso da retina de embriões de galinha foi escolhido como modelo de estudo de interações neuroquímicas do SNC. O objetivo foi avaliar os efeitos intracelulares desencadeados pelo uso de resveratrol associado ou não com extrato de crajiru para modular a morte neuronal induzida pelo peróxido de hidrogênio (H₂O₂) em culturas purificadas de neurônios da retina.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Através de embriões de galinha com oito dias (E 8) foram feitas culturas de neurônios purificadas. Para avaliar o efeito na morte neuronal induzida pelo estresse oxidativo, pré-tratamentos foram feitos com Resveratrol 10µM e 50µM e com extrato de crajiru (1, 10, 30, 100, 300 e 1000 mg/ml) por 6h, 24h e 48h antes do tratamento com H₂O₂ (1µM e 10µM), que foram realizadas por 24h para induzir a morte celular.

Após esses tratamentos, as culturas de neurônios purificadas foram fixadas com glutaraldeído (2,5%) e a viabilidade celular foi quantificada por contagem das células fixadas e os resultados foram avaliados no programa Prism 9.0. 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. 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.

Em relação ao extrato de cajuru, foi observado que o tratamento diminuiu a viabilidade celular de modo dependente de concentração e do tempo de incubação. Em seguida, nós decidimos analisar se o resveratrol seria capaz

de bloquear a morte celular induzida pelo extrato do cajuru. Nossos resultados iniciais demonstraram que o pré-tratamento por 24h com Resveratrol, nas concentrações de 10 e 50 μM, induziu uma proteção celular parcial contra a morte neuronal induzida pelo extrato de cajuru (10mg/ml).

CONCLUSÃO:

Os resultados obtidos indicam que o tratamento com resveratrol pode reduzir a morte neuronal induzida por H₂O₂, indicando uma possível estratégia terapêutica no longo prazo para doenças neurodegenerativas. Por outro lado, os resultados preliminares com o tratamento com cajuru sugerem que ele não possui um papel protetor em culturas de neurônios da retina de galinha.

AGRADECIMENTOS:

PROPPI-UFF e CNPq





CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ETOGRAMA DAS FÊMEAS DE PATO-MERGULHÃO (*MERGUS OCTOSETACEUS*) NO PARQUE NACIONAL DA SERRA DA CANASTRA, MG

GABRIELLA DA SILVA PEREIRA, SÁVIO FREIRE BRUNO.

DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E CLÍNICA

VETERINÁRIA/ FACULDADE DE VETERINÁRIA/ SETOR DE
ANIMAIS SELVAGENS

INTRODUÇÃO:

Mergus octosetaceus Vieillot, 1817, popularmente conhecido como pato-mergulhão, é uma ave aquática que se encontra criticamente ameaçada de extinção no mundo segundo *The IUCN Red List of Threatened Species* (2019) e de acordo com a portaria nº 148 publicada pelo Ministério do Meio Ambiente (2022) também se encontra na mesma categoria de avaliação, sendo assim considerada uma das aves mais raras do mundo. É o único anseriforme representante da tribo Mergini encontrado no hemisfério sul (CAMPOS, 2017; DISCONZI, 2012) e uma das seis espécies pertencentes ao gênero *Mergus*. O pato-mergulhão, um dos animais mais emblemáticos e raros do cerrado, é totalmente dependente das áreas úmidas do bioma (DISCONZI, 2012), mas também habita algumas regiões de floresta subtropical (HUGHES et al, 2006). O estabelecimento de populações da espécie se concentra em ambientes aquáticos de pouca ou nenhuma poluição, como rios caudalosos, ricos em corredeiras de grandes altitudes. Por este motivo, o pato-mergulhão é considerado um bioindicador, ou seja, demonstra que o ambiente

em que está presente possui equilíbrio (ICMBIO, [2020?]).

Uma das principais ameaças à sobrevivência desta espécie é a devastação de seu habitat, que ocorre principalmente através do aumento da turbidez das águas. Estima-se que a população total da espécie seja inferior a 250 indivíduos. Por isso, a sobrevivência do pato-mergulhão depende da conservação de áreas naturais no interior e no entorno do Parque Nacional da Serra da Canastra, local do estudo, pois é onde se encontra população com maior número de indivíduos (BIRDLIFE, 2019; FUNDEP, 2017).

Pautado no princípio de que é necessário conhecer para preservar, o objetivo geral deste trabalho foi a elaboração de um etograma para as fêmeas da espécie *Mergus octosetaceus* Vieillot, 1817 (pato-mergulhão), durante a época reprodutiva, compreendendo o período de abril a outubro. Os objetivos específicos foram: descrição dos atos e categorias comportamentais; estimar a frequência desses atos; quantificar o tempo gasto em cada um dos três substratos (água, solo e rocha).

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram registrados 28 atos distintos realizados pela fêmea de pato-mergulhão, estes foram agrupados em seis categorias comportamentais: “manutenção”, “locomoção”, “descanso”, “social”, “alimentação”, “vigilância”.

Foram assistidos vídeos do ano de 2016 até o ano de 2021. No ano de 2016, foram obtidos 122 minutos de filmagens, sendo a categoria comportamental descanso a mais desempenhada e o ato “dormir em vigília” o mais efetuado. No ano de 2017 foram totalizados 302 minutos, a categoria locomoção consistiu na mais desempenhada, pois a fêmea passou 39,8% do total de tempo obtido nadando. No ano de 2018, o tempo foi de 23 minutos, a categoria comportamental mais desempenhada foi a locomoção, com destaque de ato mais desempenhado para “nadar”, com 52,95%. Em 2019 foram totalizados 64 minutos e, novamente a categoria locomoção foi a que se sobressaiu, com 31,66%, sendo o ato nadar o responsável por 31,02% deste total. No ano de 2021, totalizaram-se 200 minutos e novamente a categoria locomoção tomou a frente com 37,12% de atuação, sendo o ato nadar o mais desempenhado. Ao total, foram contabilizadas aproximadamente 12 horas de filmagens em atos.

Também foi analisado o tipo de substrato mais utilizado durante toda a amostragem de tempo em filmagens, sendo classificados em água, rocha e solo. Os resultados obtidos demonstraram que a água foi o substrato em que foi passado mais que a metade de todo o tempo total, seguido de rocha e por último, solo.

Já se tratando do desempenho de cada ato comportamental, os resultados obtidos evidenciaram que os atos mais desempenhados foram nadar, com 36,09% do total de tempo, seguido de ficar em alerta, com 27,40%.

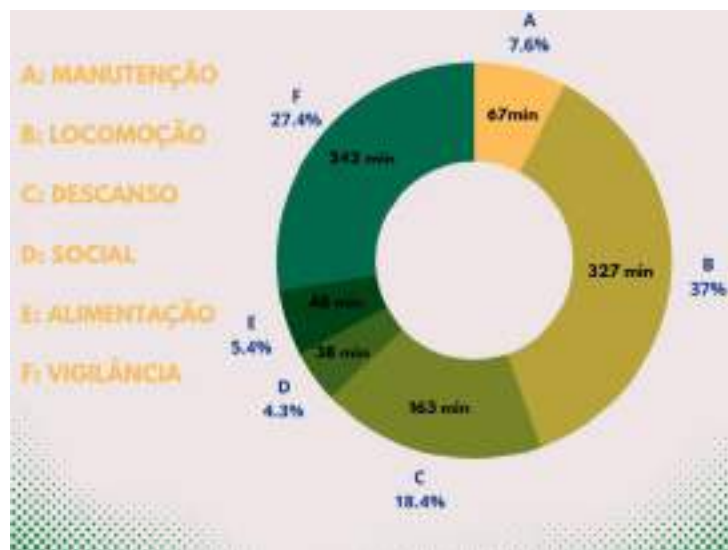


Figura 1: Resultados das categorias comportamentais do somatório de todos os anos de estudo.



Figura 2: Resultados dos substratos mais utilizados pela fêmea de pato-mergulhão durante o período de estudo.

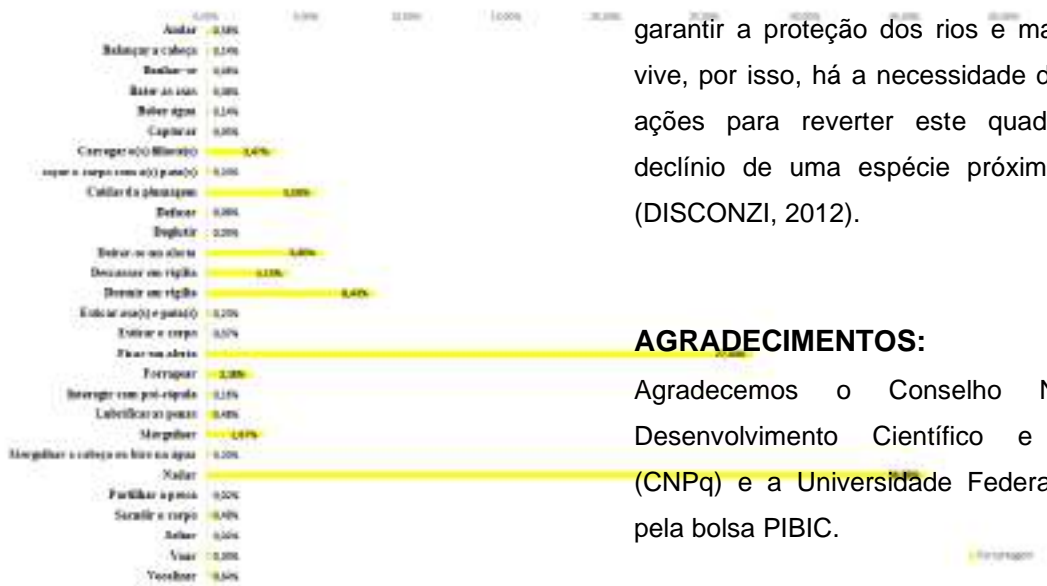


Figura 3: Resultados dos desempenhos de cada ato comportamental pela fêmea de pato-mergulhão durante o período de estudo.

CONCLUSÕES:

Este estudo comportamental é inédito para as fêmeas da espécie, trazendo uma metodologia que não foi encontrada outra na literatura.

Com base na observação e estudo comportamental das fêmeas de pato-mergulhão do Parque Nacional da Serra da Canastra, MG, a partir de filmagens analisadas, pode-se notar que a maior parte do tempo, as fêmeas de pato-mergulhão passaram nadando em alerta, realizando ambos os atos conjuntamente em boa parte do tempo, visto que as categorias mais desempenhadas foram a “locomoção” e “vigilância”, bem como os atos mais desempenhados foram “nadar” e “ficar em alerta”. O substrato em que passam mais tempo, a água, também corrobora com tal afirmação.

Proteger o pato-mergulhão também significa garantir a proteção dos rios e matas onde ele vive, por isso, há a necessidade de se priorizar ações para reverter este quadro grave de declínio de uma espécie próxima à extinção (DISCONZI, 2012).

AGRADECIMENTOS:

Agradecemos o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Universidade Federal Fluminense pela bolsa PIBIC.

