

# CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



Universidade  
Federal  
Fluminense



**CNPq** **PROPPi**



## 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 alcalóide 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:

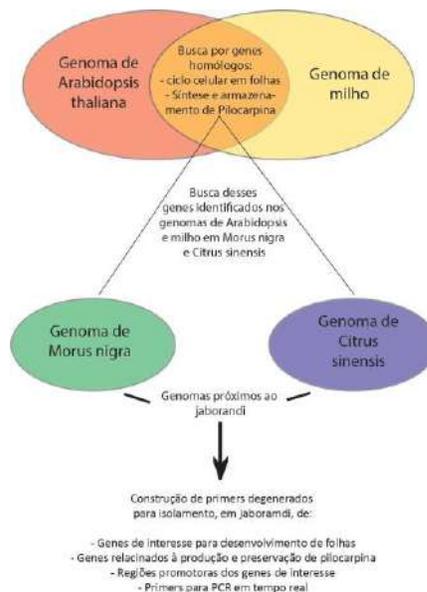
#### BUSCA PELOS MECANISMOS CONHECIDOS PARA A PRODUÇÃO E CONSERVAÇÃO DE PILOCARPINA

Identificamos na literatura os genes importantes para a produção do alcalóide (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.

#### 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

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

de primers

### 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).

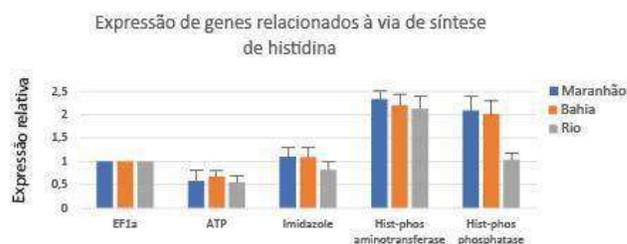


Figura 2. Expressão de genes da via de síntese de histidina nas plantas de três diferentes regiões do Brasil (Maranhão, Bahia e Rio de Janeiro).

### ISOLAMENTO E ANÁLISE DE REGIÕES PROMOTORAS

As análises feitas com as regiões promotoras, identificaram alguns motivos de ligação a fatores de transcrição. Nas duas regiões promotoras analisadas, encontramos a presença de motivos de ligação a fatores de transcrição envolvidos tanto com vias de síntese de citocininas quanto com o controle de numerosas rotas biossintéticas. É possível que esses fatores de transcrição estejam atuando sobre as regiões promotoras dos genes de interesse para regular sua expressão, resultando em um aumento na biossíntese de pilocarpina. No entanto, essa hipótese ainda deve ser melhor investigada.

## **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.

Analizamos a expressão dos genes de interesse e identificamos dois genes com expressão diferencial entre amostras de diferentes partes do Brasil. As análises realizadas nas regiões promotoras dos genes de interesse apontam para mecanismos moleculares atuando na regulação da 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: Ciências Biológicas**

**Título: Efeito antiproliferativo de um modulador alostérico positivo do receptor muscarínico M5 em células da retina de ratos neonatos: envolvimento da p21.**

**Santos, L.C.; Conceição, T.Q.S.; Araujo, E.G.; Santos, A.A.**

**Departamento de Fisiologia e Farmacologia/Instituto**

**Biomédico/Laboratório de Interações Neuroquímicas**

## **INTRODUÇÃO:**

Durante o desenvolvimento do sistema nervoso central (SNC), as células passam pelos processos de proliferação, migração, sinaptogênese e diferenciação. Há uma transição entre os eventos de proliferação e de diferenciação e, uma vez saindo do ciclo celular, as células entram em G<sub>0</sub>, seguindo em seu processo de diferenciação. A fase proliferativa é finamente regulada através da expressão de proteínas que controlam a passagem de uma fase para a outra no ciclo celular. Essas fases compreendem a intérfase (G<sub>1</sub>, S, G<sub>2</sub>) e a mitose (M) e as proteínas responsáveis pela transição entre elas são as ciclinas e as quinases dependentes de ciclinas (CDK). A proteína p21 é um inibidor do ciclo celular capaz de interromper a progressão nas fases G<sub>1</sub>/S e G<sub>2</sub>/M, inibindo os complexos CDK4.6/ciclina-D e CDK2/ciclina-E, respectivamente. A expressão de P21 pode ser induzida de forma dependente ou independente de P53. As células da retina de ratos neonatos apresentam intensa proliferação, pois muitos de seus subtipos celulares ainda não saíram do ciclo celular, havendo, portanto, uma grande camada neuroblástica. Nossos resultados anteriores demonstraram, através da

técnica de incorporação de [<sup>3</sup>H]-timidina, que o tratamento com Vu0238429 (Vu), um modulador alostérico positivo do receptor muscarínico de acetilcolina M5, por 48h, diminui a proliferação de células retina.

O objetivo deste trabalho foi o de avaliar como as proteínas que regulam o ciclo celular, p53 e p21, são alteradas após o tratamento com Vu0238429, em culturas de células de retina de ratos neonatos. Foram realizadas culturas mistas de células da retina de ratos na idade de P2. As culturas foram mantidas em estufa em ambiente de 5% CO<sub>2</sub> e 95% de ar, a 37°C por diferentes períodos. A proliferação celular foi analisada por imunocitoquímica através da marcação de Ki67 e avaliadas em microscópio de fluorescência. Os níveis das proteínas p21 e p53 foram avaliados através da técnica de western blot. Os resultados foram obtidos através do programa Image J e analisados pelo programa GraphPad Prism versão 8.0.2 através do teste T de Student. O projeto foi aprovado pelo comitê de ética local (CEUA/UFF nº 8279181218).

## RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Nossos resultados demonstraram que o tratamento de culturas de células da retina de ratos neonatos com Vu0238429, por 48h, diminuiu a proliferação celular analisada através da marcação de Ki67, por imunocitoquímica (análise qualitativa). As diferentes concentrações de Vu0238429 (0,25 $\mu$ M; 0,5 $\mu$ M; 1,0 $\mu$ M; 1,5 $\mu$ M) promoveram uma diminuição na proliferação celular, sendo semelhante à observada anteriormente pelo método de incorporação de [<sup>3</sup>H]-timidina com a concentração de 0,5 $\mu$ M. Resultados anteriores do nosso grupo haviam demonstrado que o efeito do Vu0238429 não é tóxico às células pois a viabilidade celular foi mantida, em relação ao controle. Observamos que o tratamento com 0,5 $\mu$ M de Vu0238429 aumentou os níveis de P21 após 48h em cultura (CT 0,19 $\pm$ 0,08, Vu 0,5 $\mu$ M 0,55 $\pm$ 0,04, n=5), mas não alterou os níveis de p53 (CT 0,62 $\pm$ 0,1, Vu 0,5 $\mu$ M 0,7 $\pm$ 0,02, n=3). Embora a p53 seja o principal indutor da expressão da p21, outras proteínas podem também exercer esse papel como o fator de transcrição E2F. Nosso próximo passo será o de investigar essa via de sinalização.

## CONCLUSÕES:

Esses resultados sugerem que a ativação do receptor M5 durante o período neonatal em retinas de ratos diminui a proliferação das células, através do aumento dos níveis da p21. A alteração nos níveis da p21 não é dependente

da p53, já que o tratamento com Vu0238429 por 48h não alterou seus níveis.

## AGRADECIMENTOS:

Agradecemos ao apoio técnico de Renan de Souza Lima.

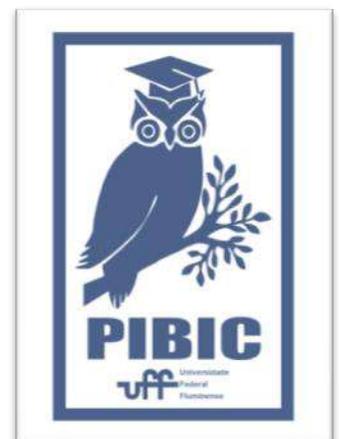


Imagem 1: Imagem PIBIC



## CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

### AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE E ATIVIDADE CONTRA O VÍRUS ZIKA DA ALGA *Kappaphycus alvarezii*

Matheus Ignacio<sup>1</sup>, Priscilla Esteves<sup>1,2</sup>, Max W. L. Gomes<sup>1,2</sup>, Victória Maranhão<sup>1,2</sup>, Kíssila Rabelo<sup>3</sup>, Jorge José de Carvalho<sup>3</sup>, Valéria L. Teixeira<sup>4</sup>, Claudio Cirne-Santos<sup>2</sup>, Izabel Paixão<sup>2</sup> e Caroline Barros<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Departamento de Imunobiologia. Instituto de Biologia, UFF.

<sup>2</sup> Departamento de Biologia Celular e Molecular, Instituto de Biologia, UFF.

<sup>3</sup> Departamento de Histologia e Embriologia, UERJ.

<sup>4</sup> Departamento de Biologia Marinha, Instituto de Biologia, UFF.

#### INTRODUÇÃO:

*Kappaphycus alvarezii* é uma alga vermelha economicamente importante, altamente demandada por seu polissacarídeo de parede celular, é a fonte mais importante de kappa carragena <sup>(1)</sup>.

O Zika vírus (ZIKV) é um arbovírus da família Flaviviridae<sup>(2)</sup>. Esse vírus foi isolado pela primeira vez em 1947 na região da floresta de Zika, em Uganda<sup>(3)</sup>.

Em 2022 foram registrados 9.204 casos prováveis de Zika e entre 2015 e 2022<sup>(4)</sup> foram notificados 21.196 casos suspeitos de síndrome congênita associada à infecção pelo vírus Zika<sup>(5)</sup>. A manifestação clínica da doença em adultos geralmente envolve erupção cutânea, febre, conjuntivite, mialgia, artralgia, mal-estar e dor de cabeça<sup>(6)</sup>. Isso, associado à ausência de vacinas e de tratamento<sup>(6)</sup>, torna necessária a pesquisa por substâncias com atividade antiviral contra o ZIKV.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antiviral contra o ZIKV do

extrato etanólico da alga vermelha *Kappaphycus alvarezii*, *in vitro* e *in vivo* e avaliar seu sinergismo com a ribavirina.

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO:

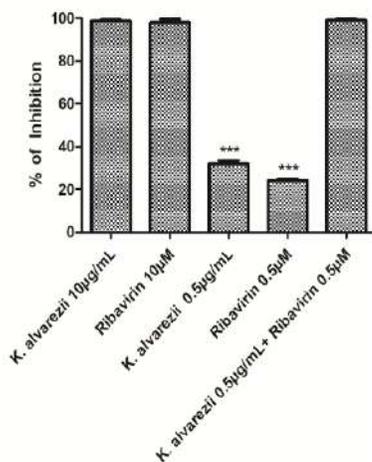
Inicialmente foram realizados ensaios *in vitro* para avaliar o efeito citotóxico e a atividade antiviral do extrato bruto de *K. alvarezii* contra o ZIKV (Tabela 1). Os resultados obtidos demonstram que o extrato possui uma baixa citotoxicidade e potente atividade antiviral contra o ZIKV, resultando em um índice de seletividade de 651.

**Tabela 1:** Tabela comparando a concentração de substância necessária para causar 50% de morte celular (CC<sub>50</sub>), a concentração para causar 50% de inibição do efeito viral (EC<sub>50</sub>) e o índice de seletividade (SI).

Produto	CC <sub>50</sub> µg	EC <sub>50</sub>	SI
<i>K. alvarezii</i>	423 ± 19,4 µg/mL	0,65 ± 0,1 µg/mL	651
Ribavirina	338 ± 4,5 µM	2,2 ± 0,6 µM	154

Em seguida, foram realizados testes para avaliar o sinergismo do extrato de *K. alvarezii* em combinação com a ribavirina. Células Vero foram expostas ao ZIKV (MOI 0,1) e depois tratadas com o extrato ou com a Ribavirina nas concentrações que inibem a replicação viral em mais de 90% e em concentrações subótimas que inibem a replicação viral em cerca de 20%.

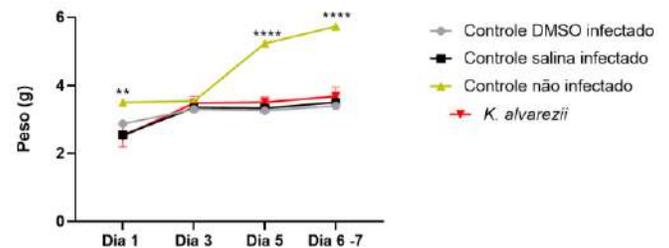
Quando as concentrações subótimas de extrato *K. alvarezii* e Ribavirina foram combinadas, elas mostraram alta atividade sinérgica, inibindo a replicação viral em aproximadamente 100% (Figura 1).



**Figura 1:** Porcentagem de inibição de diferentes concentrações do extrato e da ribavirina separadamente e em concentrações subótimas de ambas em conjunto.

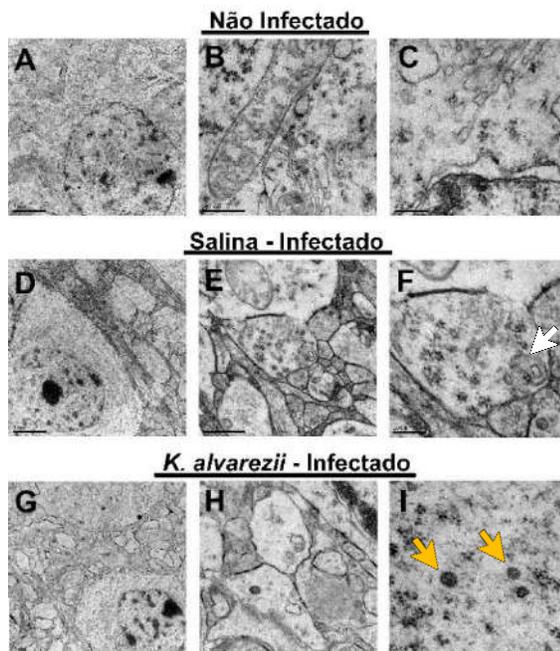
Para o experimento de eficácia terapêutica, camundongos Swiss com 3 dias

foram infectados com 10µL ZIKV a 10<sup>4</sup> PFU por via intraperitoneal, com exceção do grupo controle não infectado. Os animais infectados foram tratados com salina, DMSO 1% e com o extrato de *K. alvarezii*. O peso dos animais foi acompanhado ao longo de 7 dias (Figura 2).



**Figura 3:** Evolução ponderal dos animais no experimento de eficácia terapêutica ao longo de 7 dias de camundongos Swiss não infectados (controle) e infectados tratados com salina, DMSO 1% ou com o extrato de *K. alvarezii*.

A análise ultraestrutural do tecido cerebral mostra uma possível diminuição da quantidade de partículas virais nos animais infectados tratados com o extrato de *K. alvarezii* em comparação com o grupo infectado tratado com salina (Figura 4).



**Figura 4:** Ultraestrutura dos cérebros de camundongos Swiss não infectados A, B e C, camundongos infectados com ZIKV tratados com salina D, E e F, e camundongos infectados com ZIKV tratados com o extrato bruto de *K. alvarezii* (aumento 8.000x, 40.000x e 80.000x respectivamente). Seta branca = Possíveis “clusters” virais. Setas amarelas = Possíveis partículas virais.

## CONCLUSÕES:

O extrato bruto da alga vermelha *Kappaphycus alvarezii* mostrou-se promissor contra o ZIKV, apresentando atividade antiviral *in vitro* e *in vivo*. Avaliações histopatológicas, imuno-histoquímicas e de quantificação do RNA viral dos animais do experimento de eficácia terapêutica estão em andamento. No entanto, mais experimentos são necessários para avaliar o sinergismo com a ribavirina *in vivo* e avaliar o efeito antiviral de frações desse extrato.

## REFERÊNCIAS:

(1) Hayashi L, Reis RP. 2012. Revista Brasileira de Farmacognosia. 22(4):748-752.

(2) Gatherer D, Kohl A. Journal of General Virology. 2015.

(3) Dick G, Kitchen S, Haddock A. 1952. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 46(5):509-520.

(4) BRASIL. Boletim epidemiológico Vol. 54 n°1, 2023.

(5) BRASIL. Boletim epidemiológico Vol. 54 n°5, 2023.

(6) WHO. Zika vírus. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/zika-virus>.

## AGRADECIMENTOS:

Os autores deste trabalho agradecem à FAPERJ, a CAPES, ao CNPq e à PROPPI da UFF.

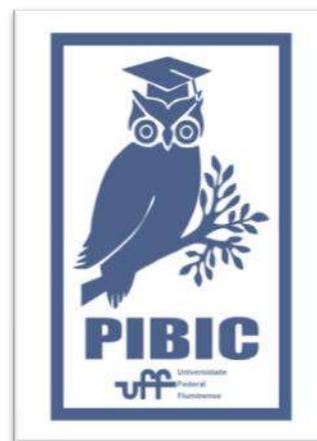


Figura 4: Imagem PIBIC



## CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

### Avaliação *in vitro* do potencial inibitório dos compostos 4-acil-1,2,3-triazóis na inibição da replicação do vírus Chikungunya

Rafael R. S. Batista<sup>1</sup>, Caroline de S. Barros<sup>1</sup>, Max W. L. Gomes<sup>1,2</sup>, Camila D. Buarque<sup>4</sup>, Célia M. Ronconi<sup>3</sup>, Izabel C. N. de P. Paixão<sup>2</sup>, Claudio C. Cirne-Santos<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Immunovirologia, Departamento de Immunobiologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Brazil;

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

<sup>3</sup> Instituto de Química, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Brazil;

<sup>4</sup>Departamento de Química Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-Rio), Rio de Janeiro, Brazil..

### INTRODUÇÃO:

O vírus Chikungunya (CHIKV) é um arbovirus da família Flaviviridae, e nos últimos anos sofreu ampla expansão geográfica, representando um importante desafio para a saúde pública. Foi isolado pela primeira vez por Lumdsen e colaboradores durante um surto na costa sul da Tanzânia em 1952-1953<sup>1</sup>

Disseminação de doenças, Relatos de infecção por CHIKV foram obtidos em vários países até o momento. Mostra que, em agosto de 2015, a transmissão autóctone foi descoberta em 33 países do continente americano com cerca de um milhão de casos notificados na América Latina.<sup>2</sup>

Manifestações graves da infecção do CHIKV parecem estar associadas a algumas doenças, falência de múltiplos órgãos, hepatite, meningite, nefrite, encefalite, dermatite bolhosa,

miocardite e arritmias cardíacas. Embora raras, exceto

pela artralgia grave. A taxa de mortalidade por essas complicações permanece alta.<sup>2</sup>

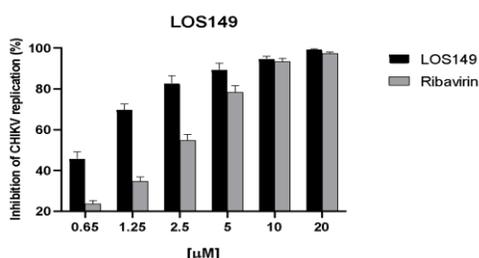
O presente trabalho teve o objetivo de avaliar a toxicidade e a atividade antiviral dos produtos sintéticos de 4-acil-1,2,3-triazóis *in vitro* contra o CHIKV.

### RESULTADO E DISCUSSÃO:

Inicialmente foram realizados ensaios para avaliar a citotoxicidade e a inibição viral do CHIKV utilizando a cultura de células VERO. Os compostos testados foram adicionados em diferentes concentrações e incubados em estufa de 5% de CO<sub>2</sub>, por até 48 horas e em seguida avaliados por MTT. Os resultados da citotoxicidade (CC<sub>50</sub>) dos compostos foram satisfatórios, demonstrando baixa toxicidade.

Para início dos estudos antivirais, células Vero foram infectadas com o CHIKV e posteriormente tratadas em uma concentração fixa de 20  $\mu\text{M}$  dos compostos e alguns apresentaram uma inibição da replicação viral em valores superiores a 99%. Destes a LOS149 foi eleita para as análise do mecanismo de ação.

**Figura 1. Avaliação do potencial inibitório do triazol.**



Efeito sobre o CHIKV. A suspensão viral CHIKV foi incubada com LOS149 e ribavirina nas concentrações de 0,65, 1,25, 2,5, 5, 10 e 20  $\mu\text{M}$  por 2 h e depois adicionada a células VERO. O efeito citopático viral foi avaliado após 72 h de incubação.

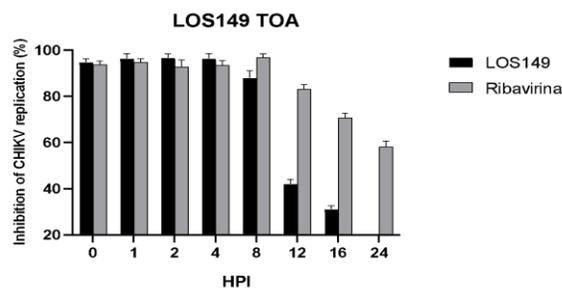
O ensaio de atividade virucida foi conduzido usando células Vero para investigar se a inativação da partícula viral é um dos mecanismos de ação dos produtos analisados. Foi observada uma inibição da replicação do CHIKV de forma dependente da dose. Notavelmente, os compostos apresentaram potencial inibitório de maneira dose-dependente inibindo acima de 99% em baixas concentrações.

Tabela 1.

CHIKV			
Composto	CC <sub>50</sub> <sup>a</sup> ( $\mu\text{M}$ )	EC <sub>50</sub> <sup>b</sup> ( $\mu\text{M}$ )	SI <sup>c</sup>
LOS149	343 $\pm$ 5.29	0.77 $\pm$ 0.03	445
Ribavirina	297 $\pm$ 6.19	2.42 $\pm$ 0.29	122

Os valores médios  $\pm$  desvios padrão são representativos de três experimentos independentes. <sup>a</sup>Concentração que reduziu em 50% a concentração citotóxica quando comparada aos controles não tratados. <sup>b</sup>Concentração que reduziu em 50% a replicação do CHIKV quando comparada aos controles infectados. <sup>c</sup>O índice de seletividade foi definido como a razão entre CC50 e EC50 e representa a segurança para ensaios in vitro.

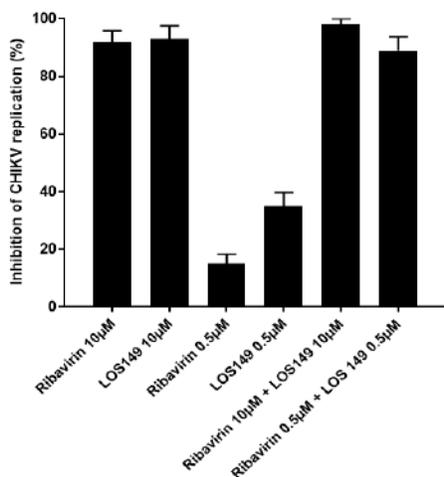
Para iniciarmos o estudo do mecanismo de ação dos compostos, realizamos o TOA (Tempo de adição da Droga). Células foram infectadas e tratadas em diferentes tempos, com concentração fixa de 10  $\mu\text{M}$  de LOS149. Neste estudo observamos que o composto foi capaz de inibir a replicação viral mesmo se adicionado 8 horas após a infecção, declinando progressivamente nos tempos posteriores.



**Figura 2. Time of Addition**

Para avaliação do efeito sinérgico, os compostos, LOS149 e Ribavirina foram testados separadamente em subdose (0,5  $\mu$ M) apresentaram inibição viral de 35% e 15%, respectivamente. Ao combiná-los ambos na concentração de 0,5  $\mu$ M, observamos um efeito inibitório superior a 90% o que caracteriza um potente efeito sinérgico.

Figura 3. Avaliação do efeito sinérgico



A busca por compostos promissores torna-se essencial devido à crescente necessidade de novos medicamentos antivirais para combater o vírus chikungunya (CHIKV) em escala mundial.<sup>3</sup>

### Conclusão:

Os resultados *in vitro* fornecem sinais encorajadores, indicando que esses compostos têm potencial como candidatos seguros e eficazes para testes *in vivo*. A observação de sua eficácia na inibição do CHIKV indica alto nível de eficácia e fornece perspectivas motivadoras para a realização de pesquisas avançadas.

### Referência:

1;2;3

<sup>1</sup> BETTIS, A. A.; *et al.* **PLoS Negl Trop Dis**, 16, n. 1, p. e0010069, Jan 2022.

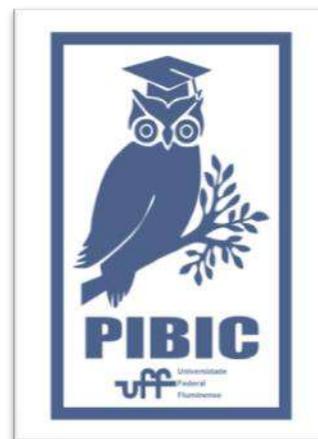
<sup>2</sup> CIRNE-SANTOS, C. C.; *et al.* **Sci Rep**, 10, n. 1, p. 8263, May 19 2020.

<sup>3</sup> TROOST, B.; *et al.* **Sci Rep**, 10, n. 1, p. 6364, Apr 14 2020.

### Agradecimento:

Nosso grupo agradece as instituições CNPq, CAPES, FAPERJ, UFF (PROPI) pelo apoio financeiro.

Figura 4: Imagem PIBIC





**Grande área do conhecimento Ciências Biológicas**

**Título do Projeto: Proteína precursora amilóide no sistema visual de ratos em modelo de isolamento social e enriquecimento ambiental**

**Autores: Amanda Costa da Silva Leão, Raquel Cavalcanti Figueiredo e Adriana da Cunha Faria Melibeu**

**Departamento/Unidade/Laboratório: GNE/IB/Laboratório Neurobiologia do Desenvolvimento**

## **INTRODUÇÃO**

A proteína precursora amilóide (APP), uma glicoproteína transmembrana do tipo I, encontra-se associada à doença de Alzheimer (DA), formando placas amiloides e emaranhados neurofibrilares. Contudo, ela 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 (alfa, beta e gama) através de duas vias. Na via não-amiloidogênica, a clivagem pelas alfa-secretase e gama-secretase leva à liberação da sAPP $\alpha$ , fragmento solúvel que possui efeitos neurotróficos. Já na via amiloidogênica, a clivagem da APP pelas beta-secretase e gama-secretase culmina na formação da sAPP $\beta$  e do peptídeo A-beta. Deste modo, a APP pode desempenhar um papel importante na fisiologia sináptica normal, bem como nos processos patológicos que levam à DA. Dados do nosso grupo já demonstraram por diferentes estratégias: tanto farmacológicas quanto por modelos de reorganização axonal induzida por

enucleação monocular, mudanças no processamento da APP, estimulando a via não amiloidogênica, e desempenhando um papel importante na plasticidade cerebral. Foi visto na literatura que a doença de Alzheimer está relacionada a distúrbios na função visual, podendo representar os primeiros sintomas da doença. Além disso, exames de pacientes portadores da DA revelam déficits no campo visual e dificuldades visuoespaciais. Estudos recentes mostram que jovens adultos que foram socialmente isolados apresentaram maiores sentimentos de solidão e eram mais propensos a ter que lidar com a depressão. Além disso, com o início da pandemia de COVID-19 em 2020, a sociedade teve que praticar o isolamento social (IS) para evitar a disseminação do vírus, algo que também levou 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. Em suma, pode-se definir o isolamento social em si como um estado no qual as conexões sociais são limitadas ou ausentes. A solidão, entretanto, é um sentimento subjetivo de aflição, que surge quando essas conexões são consideradas insatisfatórias.

Sendo assim, muitos buscam 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 diversos déficits cognitivos, onde estudos com animais mostram que o EA pode promover a reversão de déficits de memória declarativa e social. Mediante isso, considerando que tanto o isolamento social quanto o enriquecimento ambiental 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 alterações nessas vias causadas pelo enriquecimento ambiental e isolamento social no cóliculo superior, através da técnica de western blotting. Ratos Lister Hooded na idade P21 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 (GC), Isolado Controle (IC), Grupo Enriquecido (GE) e Isolado Enriquecido (IE).

## **RESULTADOS**

Tendo em vista a relação da APP em processos de neuroplasticidade, o próximo passo foi analisar seu conteúdo proteico na área de interesse: o cóliculo superior, um dos alvos subcorticais dos axônios retinianos. Foi feita a análise através da técnica de Western Blot em

todos os grupos. Observamos uma diminuição no conteúdo da APP total nos animais do grupo isolado enriquecido, quando comparados aos animais do grupo controle. Essa diminuição também pôde ser vista quando comparados os animais do grupo isolado enriquecido com os animais do grupo enriquecido.

## **DISCUSSÃO**

Mediante os resultados apresentados, sugerimos que a diminuição do conteúdo proteico da APP total nos animais grupo isolado enriquecido, quando comparados aos animais do grupo controle, possa estar ocorrendo por conta do processamento da APP. Porém, ainda não sabemos se esta diminuição estaria ocorrendo pela via amiloidogênica ou pela não amiloidogênica. Desta forma, ainda é necessário avaliar o conteúdo proteico das secretases envolvidas, assim como dos principais produtos, como a sAPP $\alpha$  e o Abeta.

## **CONCLUSÃO**

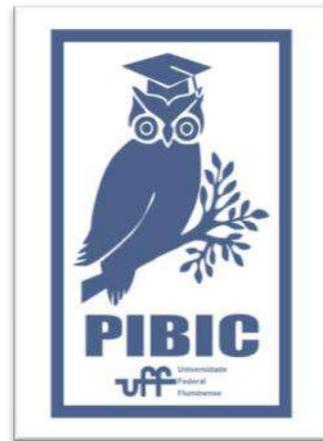
Esses achados sugerem que tanto o IS quanto o EA poderiam modular tanto a via não amiloidogênica quanto a amiloidogênica da APP neste modelo animal, porém são indicados mais estudos com o objetivo de entender quais possíveis vias que estariam modulando tanto a APP como seus metabólitos.

## **AGRADECIMENTOS:**

Aos alunos do Laboratório Neurobiologia do Desenvolvimento: Rodrigo Colaço das Neves, João Arthur Silva Cunha e Gian Lucca Curty Mórias pelos ensinamentos na bancada e aos

professores e alunos dos laboratórios  
plasticidade neural e neuroplasticidade pela  
parceria.

Imagem 1: Imagem PIBIC





**Ciências Biológicas**

**Avaliação do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos em cepas de *Escherichia coli* potencialmente produtoras de ESBL isoladas de ambientes marinhos em Niterói, RJ**

**Maria Theresa Xavier dos Santos<sup>1</sup>; Ana Carolinna de Araujo**

**Jardim Pereira<sup>1</sup>; Aloysio de Mello Figueiredo Cerqueira<sup>1</sup>; Júlia Peixoto de Albuquerque<sup>1</sup>**  
**Departamento de Microbiologia e Parasitologia - MIP/Instituto Biomédico/Laboratório de Enteropatógenos, Microbiologia Veterinária, Ambiental e de Alimentos**

### **INTRODUÇÃO:**

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), doenças causadas por bactérias resistentes serão a causa de morte de cerca de 10 milhões de pessoas por ano até o ano de 2050. Dentre os patógenos que mais são preocupantes para a OMS, Enterobacteriaceae produtora de carbapenemases são prioridade crítica para a produção e desenvolvimento de novos antimicrobianos. Em decorrência da disseminação de bactérias resistentes, a OMS criou o “Tricycle protocol”, um programa de vigilância global de *Escherichia coli* produtora de  $\beta$ -lactamase de Espectro Estendido (ESBL-Ec) que utiliza a abordagem “One Health” para fazer o monitoramento multissetorial de ESBL-Ec entre humanos, animais e o ambiente. Sabe-se que o ambiente atua como reservatório tanto para cepas de *E. coli*, quanto para genes de resistência aos antimicrobianos. Assim, a detecção *E. coli* resistente

aos antimicrobianos e produtora de ESBL faz-se essencial para a vigilância ecoepidemiológica no sentido da Saúde Única. O objetivo deste estudo foi avaliar o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos de cepas de *E. coli* isoladas de águas marinhas da região costeira de Niterói/ RJ (região oceânica e interna da Baía de Guanabara), no período de julho a outubro de 2022, e detectar a expressão fenotípica e/ou genotípica de ESBL. Amostras de água oriundas das praias de Icaraí, Piratininga e Jurujuba (Niterói, RJ) foram filtradas utilizando um filtro de membrana de 0,22  $\mu$ m (MF-Millipore®) e, posteriormente, as membranas foram incubadas em Caldo Triptona de Soja (TSB) para cultivo. A solução polimicrobiana proveniente do TSB foi inoculada em ágar MacConkey, EMB e CLED. As colônias com morfologia presuntiva de fermentadoras de lactose foram isoladas e identificadas como *E. coli* por meio de provas bioquímicas (Tríplice Açúcar Ferro -

TSI, Ágar Lisina - LIA, Ágar Sulfeto Indol Motilidade - SIM e Ágar Citrato) e/ou MALDI-TOF MS (Bruker, Daltonics). As cepas identificadas foram triadas para a produção de ESBL em CHROMagar™ ESBL. As estirpes positivas foram avaliadas quanto ao perfil de sensibilidade a 18 antimicrobianos de diferentes classes pelo método Kirby-Bauer e, destas, as que se apresentaram resistentes a mais de 2 antimicrobianos da classe dos  $\beta$ -lactâmicos foram avaliadas quanto à expressão fenotípica de ESBL pelo teste de sinergismos de disco duplo (TSDD). Em seguida, foi realizada Reação em Cadeia da Polimerase para confirmação dos genótipos de *bla*<sub>CTX-M-2</sub> e *bla*<sub>CTX-M-8</sub> dentre os isolados. .

## RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram avaliadas quanto ao perfil de sensibilidade aos antimicrobianos 40 cepas positivas para a produção de ESBL no meio CHROMagar™ ESBL. Dentre os antimicrobianos testados, a gentamicina apresentou a maior taxa de resistência, com 20,0% das cepas sendo resistentes (n= 8). Cefepima e ampicilina também mostraram altas de resistência, ambas com 17,5% (n=7). Enquanto isso, ertapenem, cefazolina e ceftazidima demonstraram uma taxa de resistência de 12,5% (n= 5).

Entretanto, imipenem, meropenem, aztreonam e amicacina registraram as menores taxas de resistência, todas com 2,5% (n= 1). Sulfametoxazol-trimetoprim foi testado em 38 amostras e apenas 2,6% (n= 1) apresentaram resistência. O crescimento de *E. coli* resistente a ampicilina, ceftazidima, ciprofloxacino, sulfametoxazol-trimetoprim, imipenem, meropenem e ertapenem de amostras de origem da comunidade, hospitais e de origem desconhecida já foi reportado pela OMS. Em Icarai foi isolada uma cepa multirresistente, apresentando resistência a cefazolina, ceftazidima, ciprofloxacino e gentamicina, simultaneamente. O crescimento da disseminação de bactérias resistentes aos antimicrobianos no ambiente pode ser resultado da pressão seletiva imposta pelo uso massivo, e muitas vezes indiscriminado, de antimicrobianos na saúde humana e animal. Apesar de não ter sido confirmada a produção fenotípica de ESBL ou carbapenemases dentre as cepas analisadas, o contínuo monitoramento se faz importante e é extremamente necessário, visto que um estudo anterior já identificou ESBL-Ec em ambientes marinhos da Baía de Guanabara e da região oceânica próxima a ela. Além disso, as bactérias presentes na água podem adquirir diferentes genes de

resistência a partir do resistoma marinho, tanto pelas amostras naturalmente resistentes, quanto devido à pressão seletiva dos antimicrobianos.

## **CONCLUSÕES:**

Este trabalho realizou a triagem e identificação de cepas resistentes e multirresistentes de *E. coli* a partir de amostras ambientais oriundas de ecossistema marinho. Os resultados encontrados mostram que a vigilância ambiental para a presença de genes que codificam  $\beta$ -lactamases, como preconizado pelo Protocolo Triciclo, é de extrema importância para manutenção da Saúde Única.

## **AGRADECIMENTOS:**

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) pelo fomento.



**Grande área do conhecimento: CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**  
**Título do projeto: POTENCIAL INIBITÓRIO DE**  
**MOLÉCULAS OBTIDAS POR SÍNTESE ORGÂNICA EM**  
**ATIVIDADES CAUSADAS PELO VENENO DA SERPENTE**  
***Bothrops jararacussu***

**Autores:** <sup>1</sup>Andresa Noberto de Lima Silva; <sup>1</sup>Brenda Bairral Queiroz Ornellas; <sup>2</sup>Eladio Flores Sanchez; <sup>3</sup>Vitor Francisco Ferreira; <sup>3</sup>Fernando de Carvalho da Silva; <sup>3</sup>Ruan Carlos Busquet Ribeiro; <sup>1</sup>André Lopes Fuly

<sup>1</sup>Laboratorio de Venenos e Toxinas de Animais e Avaliação de Inibidores, UFF, Niterói, Brasil; <sup>2</sup>Fundação Ezequiel Dias, Belo Horizonte, MG, Brasil; <sup>3</sup>Laboratorio de Síntese Orgânica Aplicada, UFF, Niterói, Brasil.

• **INTRODUÇÃO**

Os acidentes por serpentes peçonhentas são considerados pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como doença tropical negligenciada. No Brasil, existem duas Famílias de importância médica; a Elapidae, com o gênero *Micrurus*, e a família Viperidae, representada pelos gêneros *Bothrops*, *Crotalus* e *Lachesis*, responsáveis por 99 % dos acidentes ofídicos no país. A peçonha é uma mistura complexa de componentes tóxicos, dos quais, 90% do seu peso seco são proteínas, que causam efeitos tóxicos sistêmicos, como hemólise, hemorragia e distúrbios de coagulação; e locais, dermonecrose, destruição tecidual, reação inflamatória e dor. A OMS preconiza como tratamento o uso do soro antiveneno. Entretanto, o mesmo apresenta desvantagens, como: febre, choque anafilático, processo de produção e estocagem custosos e, principalmente ineficácia na neutralização dos efeitos locais, que pode levar a deformidade do membro acometido necrose e amputação. Sendo assim, a procura por tratamento alternativo e/ou complementar à soroterapia vem sendo investigada através do uso de fontes naturais, como plantas e algas. Mas, a investigação por moléculas obtidas por síntese orgânica é escassa. Com isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade de 12 derivados sintéticos designados RC29 a RC40 na

neutralização de certas atividades tóxicas *in vitro* (coagulante e proteolítica) causadas pelo veneno de *B. jararacussu*, que é uma serpente que causa várias enfermidades na vítima.

**RESULTADOS e DISCUSSÃO**

Os derivados sintéticos (moléculas inéditas quimicamente híbridos triazolicos e naftoquinonas) foram sintetizados pelo grupo dos Profs. Fernando de Carvalho e Vitor Francisco Ferreira do Instituto de Química da UFF, na qual a determinação da estrutura e parâmetros físico-químicos fora realizada por Infravermelho e Ressonância Magnética Nuclear. Os derivados foram designados de RC29, RC30, RC31, RC32, RC33, RC34, RD35, RC36, RC37, RC38, RC39 e RC40 e dissolvidos em dimetilsulfóxido (DMSO) e utilizados nos ensaios tóxicos.

A atividade coagulante do veneno de *B. jararacussu* foi realizada utilizando-se "pool" de plasma humano citratado proveniente do Hospital Universitário da UFF, Antônio Pedro de doadores sadios, utilizando um coagulômetro multicanal digital (Amelung KC4A). O veneno de *B. jararacussu* foi capaz de coagular o plasma de maneira concentração-dependente (20-60 µg/mL), e a concentração capaz de coagular o plasma em cerca de 60 segundos foi designada como concentração mínima coagulante (CMC). Os

derivados sintéticos (200 µg/mL) foram incubados com 1 CMC (50 µg/mL) por 30 min. a 37 °C, e, em seguida, uma alíquota desta mistura foi adicionada ao plasma e o tempo de coagulação foi monitorado no coagulômetro por turbidimetria e comparado com o tempo obtido no controle positivo, que continha veneno incubado com salina ou DMSO. Como observado na Figura 1A, os derivados foram capazes de prolongar o tempo de coagulação, e isso, demonstra a capacidade de inibição destas moléculas. O derivado RC29 e RC31 não foram capazes de inibir a coagulação causada pelo veneno.

A atividade proteolítica do veneno de *B. jararacussu* foi determinada usando-se azocaseína como substrato. Diferentes concentrações do veneno de *B. jararacussu* (10-80 µg/mL) foram incubadas com 0,2 % azocaseína (p/v) em tampão 200 mM Tris-HCl, 20 mM CaCl<sub>2</sub>, pH 8,8 por 90 min a 37°C. Após, a atividade enzimática foi interrompida pela adição de 0,4 mL TCA 10%. Os tubos foram centrifugados a 12.000 rpm por 5 min, e ao sobrenadante foi adicionado 0,5 mL NaOH 2N. A atividade proteolítica do veneno foi quantificada em espectrofotômetro em Absorbância (A) em 420 nm. A quantidade de veneno capaz de produzir uma variação de 0,20 em A 420 nm (que representa 70-80% da atividade máxima) foi designada como concentração efetiva (CE). Uma CE do veneno de *B. jararacussu* (50 µg/mL) foi incubada com 200 µg/mL dos derivados sintéticos ou com solventes por 30 min. a 37 °C, e em seguida a atividade proteolítica realizada. Como observado na figura 1B, os derivados sintéticos RC29 a RC40 foram capazes de inibir a atividade proteolítica do veneno, com percentuais de inibição diferentes. Os derivados RC30 a RC36 e RC38 a RC40 inibiram cerca de 80 % a proteólise. Os derivados RC29 e RC37 inibiram cerca de 50% a proteólise.

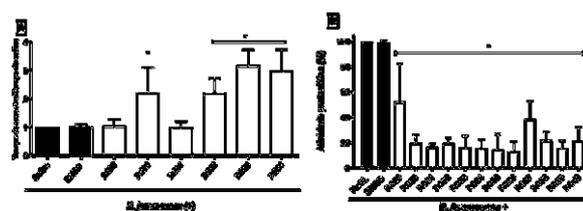


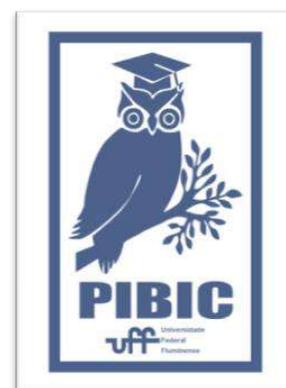
FIGURA 1. Efeito dos derivados sintéticos na atividade coagulante (A) e proteolítica (B) causada pelo veneno de *B. jararacussu*.

O veneno de *B. jararacussu* (50 µg/mL) foi incubado com os derivados sintéticos (200 µg/mL) ou com salina ou DMSO por 30 min. a 25 °C. Em seguida as atividades proteolítica (A) e coagulante (B) foram realizadas como descrita. Os resultados expressam a média DP ± (n=6). \* p<0,05, em relação ao controle veneno + salina ou veneno + DMSO.

## CONCLUSÕES

Este trabalho evidenciou a síntese de moléculas inéditas capazes de inibir as atividades coagulante e proteolítica do veneno de *B. jararacussu*, evidenciando o promissor potencial antiveneno desta classe de moléculas. Ressalta-se que tais atividades avaliadas neste estudo refletem muito dos efeitos tóxicos causados por esta espécie, como coagulação, necrose tecidual e hemorragias.

**Suporte Financeiro/Agradecimentos:**  
CAPES/CNPq/UFF-PROPPi/FAPERJ.





## **Ciências Biológicas Comparação dos perfis de resistência aos antimicrobianos entre amostras de *Enterococcus* spp. de origem canina, suína e bovina**

**Hellen dos Santos Sabino, Luciana dos Santos Medeiros, Renata Fernandes Rabello**

**Departamento de Microbiologia e Parasitologia/Instituto Biomédico/Laboratório de Cocos Gram-positivos**

### **Introdução:**

Várias espécies de *Enterococcus* fazem parte da microbiota intestinal humana e animal. Todavia, são responsáveis por infecções principalmente relacionadas aos cuidados à saúde. Muitas vezes, as cepas são multirresistentes o que dificulta o tratamento. Glicopeptídeos, aminoglicosídeos e beta-lactâmicos são importantes no tratamento de enterococcias graves. Desta forma, a resistência a estes fármacos em especial é altamente relevante. Cepas resistentes isoladas de animais e ambiente têm sido cada vez mais relatadas. Assim, a relação entre humanos, animais e meio ambiente tem sido sugerida como um fator importante na disseminação de resistência. O contato próximo e o consumo de alimentos de origem animal podem favorecer a transmissão de bactérias resistentes para humanos. Em virtude do potencial de reservatórios não humanos na disseminação de bactérias resistentes, o presente estudo teve como objetivos investigar o perfil fenotípico de resistência aos antimicrobianos e genes de resistência a antimicrobianos de primeira linha para tratamento de enterococcias de *Enterococcus* isolados de cães, suínos e bovinos.

### **Resultados e Discussão:**

Das 556 amostras de *Enterococcus* spp. estudadas, 330 foram isoladas de cães, 60 de suínos e 166 de bovinos leiteiros. As amostras de cães foram coletadas em três unidades de saúde veterinária nos municípios do Rio de Janeiro e Niterói, de 05/2015 a 02/2017. As amostras de suíno foram coletadas em seis granjas no RJ, de 01/2014 a 07/2016. Já as amostras de bovinos foram coletadas em 16 propriedades leiteiras no AC, de 06/2018 a 03/2019. Swab retal e, também, de leite de bovinos, coletado em tanques de refrigeração, foram semeados em caldo Enterococosele para isolamento bacteriano. Por meio do MALDI-TOF, foram identificadas 252 amostras de *E. faecalis* (cães – n: 191; suínos – n: 19; bovinos – n: 42), 86 amostras de *E. faecium* (cães – n: 24; suínos – n: 41; bovinos – n: 21) e 218 amostras de outras espécies (cães – n: 115; bovinos – n: 103). Dentre as outras espécies, foram analisadas: *E. gallinarum* (n: 92), *E. casseliflavus* (n: 72), *E. hirae* (n: 17), *E. avium* (n: 14), *E. canintestini* (n: 9), *E. raffinosus* (n: 9), *E. durans* (n: 2), *E. mundtii* (n: 2) e *E. canis* (n: 1). Pelo método de disco difusão, foi determinado o perfil de resistência aos antimicrobianos. A

resistência à tetraciclina foi a de maior frequência entre as amostras de cães (n: 135, 40,9%) e suínos (n: 20, 33,3%) enquanto à ciprofloxacina (n: 51, 30,7%) entre as de bovinos. Resistência para os oito antimicrobianos testados foi observada entre as amostras caninas. Resistência aos beta-lactâmicos foi observada entre amostras caninas (ampicilina – n: 7, 2,1%; penicilina – n: 26, 7,9%), suínas (penicilina – n: 4, 6,7%) e bovinas (ampicilina – n: 2, 1,2%; penicilina – n: 18, 10,8%). Também foram identificadas amostras com altos níveis de resistência aos aminoglicosídeos (HLR-A) das três origens, sendo a resistência à estreptomina (cães – n: 46, 13,9%; suínos – n: 6, 10%; bovinos – n: 58, 34,9%) mais frequente do que à gentamicina (cães – n: 8, 2,4%; suínos – n: 3, 5%; bovinos n: 11, 6,6%). Apenas uma amostra resistente à vancomicina (VRE) foi identificada, sendo *E. gallinarum* e isolada de cão (0,3%) (Tabelas 1, 2 e 3). Dentre as amostras com HLR-A e de VRE foram pesquisados quatro genes de resistência a aminoglicosídeos (codificadores de EMAs – enzimas modificadoras de aminoglicosídeos) e de resistência à vancomicina *vanA* e *vanB* pela reação em cadeia da polimerase (PCR), respectivamente. Foram detectados os genes *aac(6')-Ie+aph(2'')-Ia* e *(ant-6)-Ia* entre amostras de cães e suínos. Na amostra de VRE, não foi detectado nenhum dos dois genes de resistência à vancomicina pesquisados. A espécie *E. gallinarum* possui baixa resistência intrínseca para vancomicina. Entretanto, a amostra apresentou alta concentração mínima inibitória (CMI  $\geq$  512  $\mu$ g/mL) para vancomicina pelo Teste-E. Amostras multirresistentes (resistentes a  $\geq$  3 classes de antimicrobianos) foram observadas entre amostras de cães (n: 34, 10,3%) e bovinos (n: 10, 6,0%). Amostras multirresistentes foram

mais frequentes para *E. faecium* (cão – n: 4, 16,7%; bovino – n: 7, 33,3%), porém com uma frequência maior entre amostras bovinas. Todavia, para bovinos foram analisadas amostras bacterianas isoladas de fezes e leite o que pode estar considerando amostras sobrepostas.

Tabela 1. Resistência antimicrobiana de *Enterococcus* spp. de origem canina.

Antimicrobiano	Amostra de cão (n: 330)			
	EFS	EFM	Outros	Total
Ampicilina	0	2	5	7
Ciprofloxacina	5	7	3	15
Estreptomina	36	3	7	46
Gentamicina	6	2	0	8
Nitrofurantoína	0	0	5	5
Penicilina	7	7	12	26
Tetraciclina	93	12	30	135
Vancomicina	0	0	1	1
MDR	14	4	16	34

EFS: *E. faecalis*; EFM: *E. faecium*

Tabela 2. Resistência antimicrobiana de *Enterococcus* spp. de origem suína.

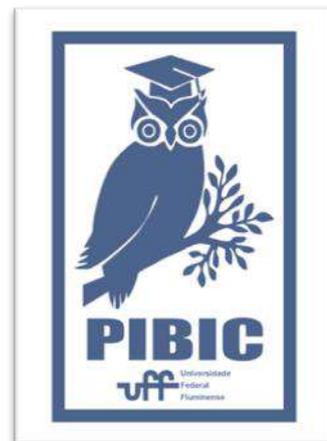
Antimicrobiano	Amostra de suíno (n: 60)		
	EFS	EFM	Total
Ampicilina	0	0	0
Ciprofloxacina	1	1	2
Estreptomina	6	0	6
Gentamicina	3	0	3
Nitrofurantoína	0	0	0
Penicilina	1	3	4
Tetraciclina	10	10	20
Vancomicina	0	0	0
MDR	0	0	0

EFS: *E. faecalis*; EFM: *E. faecium*

Tabela 3. Resistência antimicrobiana de *Enterococcus* spp. de origem bovina.

Antimicrobiano	Amostra de bovino (n: 166)			
	EFS	EFM	Outros	Total
Ampicilina	0	2	0	2
Ciprofloxacina	21	12	18	51
Estreptomicina	4	0	2	6
Gentamicina	0	0	0	0
Nitrofurantoína	5	2	4	11
Penicilina	2	13	3	18
Tetraciclina	7	3	3	13
Vancomicina	0	0	0	0
MDR	1	7	2	10

EFS: *E. faecalis*; EFM: *E. faecium*



## CONCLUSÕES:

Amostras resistentes a vários antimicrobianos utilizados no tratamento de infecções em humanos, incluindo antimicrobianos de 1ª linha para enterococcias, como aminoglicosídeos, beta-lactâmicos e glicopeptídeos, foram isoladas de animais de companhia e produção de alimentos. Os genes de EMAs pesquisados não foram detectados para todas as amostras com HLR-A. A amostra de VRE é carreadora de um gene *van*, mas não *vanA* nem *vanB*, que confere alta resistência ao glicopeptídeo vancomicina. Portanto, atenção deve ser dispensada para o uso de antimicrobianos em animais e monitoramento contínuo de amostras bacterianas desta origem deve ser realizado.

## AGRADECIMENTOS:

FAPERJ.



## **Ciências biológicas**

**Investigação de colonização por *Staphylococcus aureus* multirresistentes de gestantes e neonatos atendidos em maternidade-escola no Rio de Janeiro**

**Raquel Takahashi Dias, Joana Tavares Talim, Hellen dos Santos Sabino, Renata Fernandes Rabello**

**Departamento de Microbiologia e Parasitologia/Instituto Biomédico/Laboratório de Cocos Gram-positivos**

### **INTRODUÇÃO:**

*Staphylococcus aureus* é um importante patógeno responsável por infecções relacionadas aos cuidados à saúde e comunitárias, que também se comporta como comensal em indivíduos saudáveis, principalmente colonizando as narinas anteriores. Indivíduos colonizados são potenciais fontes de transmissão desta bactéria, podendo levar à infecção em indivíduos predisponentes. A transmissão de MRSA (*methicillin-resistant S. aureus*), cepas multirresistentes, na área de cuidados de saúde tem sido frequentemente documentada entre populações de alto risco, mas também podem ocorrer na comunidade. Em pacientes pediátricos, os fatores de risco para colonização ou infecção por MRSA incluem hospitalização prévia, parto prematuro ou baixo peso ao nascer, doenças subjacentes crônicas, exposição prolongada ou recorrente a antibióticos e procedimentos invasivos ou cirúrgicos. Os neonatos, especialmente aqueles que nascem prematuramente e aqueles que necessitam de cuidados especializados, são, portanto, altamente suscetíveis à infecção por este microrganismo. Por esta razão, surtos de MRSA têm sido

rotineiramente relatados em unidades de cuidados intensivos neonatais (ANVISA, 2017; Matok et al, 2021). Gestantes podem estar colonizadas por esta bactéria e ser a fonte de infecção dos neonatos. Estudos em diferentes países têm isolado MRSA desta população o que se leva a crer no seu papel na transmissão. Desta forma, o estudo teve como objetivos pesquisar a ocorrência de colonização por *S. aureus* em gestantes e neonatos, determinar o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos e identificar potencial transmissão entre mãe e respectivo neonato.

### **RESULTADOS E DISCUSSÕES:**

*Swabs* de diferentes sítios foram coletados de 597 gestantes e de 36 neonatos em um hospital maternidade-escola no município do Rio de Janeiro, entre setembro de 2021 e maio de 2023 e entre maio de 2021 e fevereiro de 2023, respectivamente, incluindo doze binômios de mãe-bebê. Foram isolados *S. aureus* de 48 gestantes, mas não de neonatos. As gestantes tinham idade que variava de 14 a 45 anos, com média de 29,5 anos, a maioria se declarou parda

ou negra (n: 36; 75%) e não era a primeira gestação (n: 31; 64,6%).

O isolamento bacteriano foi realizado em meio cromogênico e a identificação por testes convencionais (coloração de Gram, teste da catalase e da coagulase em tubo) e MALDI-TOF. Amostras de *S. aureus* de 28 das 48 gestantes foram analisadas em relação ao perfil de susceptibilidade. Apenas uma amostra foi susceptível aos 12 antimicrobianos testados. Pelo método de disco difusão, foi observada resistência para os seguintes fármacos: penicilina (n: 24; 85,7%), clindamicina (n: 12; 42,9%), eritromicina (n: 19; 67,9%), gentamicina (n: 8; 28,6%), ciprofloxacina (n: 1; 3,6%), linezolida (n: 1; 3,6%); rifampicina (n: 1; 3,6%) e sulfazotrim (n: 1; 3,6%) (Fig. 1). A partir do disco de cefoxitina, foram identificadas 6 amostras de MRSA (21,4%), com metade apresentando perfil de cepa comunitária. A resistência à clindamicina foi a induzida, detectada pelo teste D.



Figura 1. Frequência de amostras de *S. aureus* resistentes a antimicrobianos isoladas de gestantes. Cef: cefoxitina, Cli: clindamicina, Clo: cloranfenicol, Cip: ciprofloxacina, Eri: eritromicina, Gen: gentamicina, Lin: linezolida, Nit: nitrofurantoína, Pen: penicilina; Rif: rifampicina, Sut: sulfazotrim; Tet: tetraciclina. Resistência à cefoxitina identifica MRSA.

A maioria das amostras (n: 16; 57,1%) eram multirresistentes, ou seja, resistentes a três ou mais classes de antimicrobianos. Uma amostra apresentou resistência a cinco classes de antimicrobianos (Fig. 2).

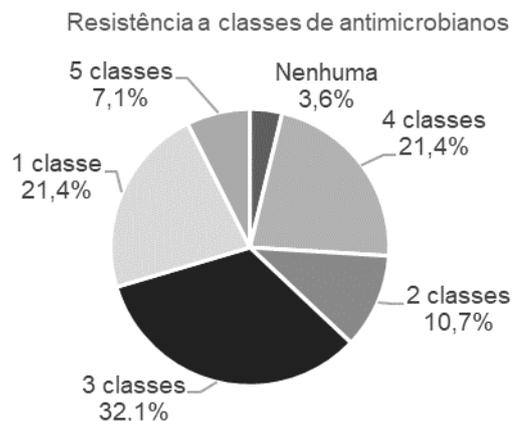


Figura 2. Frequência de amostras resistentes em relação ao número de classes de antimicrobianos.

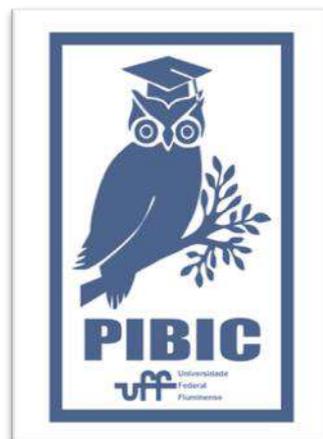
Das seis gestantes colonizadas por MRSA, apenas uma relatou o uso de antimicrobiano para tratamento de infecção durante a gestação. A nitrofurantoína foi utilizada por seis gestantes para tratamento de infecção urinária, mas nenhuma das amostras apresentou resistência a este antimicrobiano.

## CONCLUSÕES:

Amostras de *S. aureus* multirresistentes se apresentaram como maioria entre as gestantes colonizadas, tendo entre elas MRSA. Dentre os binômios mãe-bebê, não foi detectada colonização por esta bactéria. Entretanto, as cepas multirresistentes que colonizavam as gestantes caso causem infecção, o tratamento pode ser um desafio.

**AGRADECIMENTOS:**

FAPERJ.





## **CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

### **INGESTÃO DE MICROPLÁSTICOS POR PEIXES DO BAIXO RIO POMBA, RIO DE JANEIRO, BRASIL**

**ELIANA DA SILVA PINHEIRO AMARO 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**

Rios e mares são os ambientes com intenso descarte de resíduos plásticos, os quais podem ter origem de embarcações pesqueiras, enchentes, descarte incorreto no continente, aterros sanitários e esgoto fabril (NEVES, 2013). O ambiente dulcícola ainda possui poucos estudos quando comparado ao ambiente marinho, sendo este o ambiente que apresenta maior contato com as áreas metropolitanas, que são fontes pontuais de liberação de MPs (SILVA, 2021).

Os MPs podem ser acumulados no intestino ou nas brânquias dos organismos aquáticos, interferindo em processos biológicos importantes como a alimentação, crescimento e reprodução (Chae e An, 2017). MPs foram encontrados no trato gastrointestinal de peixes, ocasionando uma falsa sensação de saciedade, e consequentemente promovem a morte por desnutrição (SHEAVLY, 2007, apud., NEVES 2013).

Dessa forma, o presente projeto foi elaborado com vistas a suprir lacunas do conhecimento sobre o impacto do MP sobre a ictiofauna de um sistema fluvial da Mata Atlântica, em uma importante bacia do sudeste brasileiro. Neste estudo, objetivamos realizar a análise quali-quantitativa de MPs ingeridos por peixes que habitam o trecho baixo da bacia do rio Pomba.

Os peixes foram coletados em janeiro de 2023 (período chuvoso e de maior vazão do rio) em dois pontos do trecho baixo da bacia do rio Pomba, mais especificamente no município de Santo Antônio de Pádua.

As espécies amostradas foram categorizadas de acordo com a dieta como carnívoras, onívoras, piscívoros, insetívoras, insetívoras, herbívoras e detritívoras; e de acordo com a posição na coluna d'água como bentônicos ou bentopelágicos, através do uso de referências bibliográficas específicas.

Em todos os indivíduos analisados, foi medido o comprimento padrão (cm) com auxílio de paquímetro digital (precisão de 0,01

mm). Os tratos gastrointestinais e brânquias foram dissecados e o tecido foi inserido em tubos de ensaio individuais limpos. Os órgãos foram digeridos por submersão (3:1; reagente:volume da amostra) com peróxido úmido (30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) a 75°C por 48h em tubos de vidro. Os filtros foram posteriormente observados em um estereomicroscópio para identificação e quantificação dos MPs retidos (Wang et al., 2017).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 101 peixes analisados, 97 (96%) apresentaram MPs em pelo menos um dos órgãos. Das 20 espécies de peixes coletadas no rio Pomba, 13 incluíram indivíduos com pelo menos um MP nos órgãos analisados. Um total de 234 (2.9 ± 2.5; média ± desvio padrão) partículas de plástico foi observado, 144 nos tratos digestivos (3.0 ± 2.7) e 90 MPs nas brânquias (2.7 ± 2.4). Cada indivíduo ingeriu em média 2.0 ± 2.5 MPs.

A espécie onívora *Astyanax aff. bimaculatus* (39 MPs; 3.5 ± 3.3) apresentou a maior abundância de MPs, seguido pelo detritívoro *Satanoperca pappaterra* (Heckel, 1840) (37 MPs; 2.4 ± 2.9), o onívoro *Loricariichthys castaneus* (Castelnau, 1855) (36 MPs; 2.1 ± 2.5), o onívoro *Pimelodus maculatus* Lacepède, 1803 (32 MPs; 1.3 ± 1.6) e o invertívoro *Pachyurus adpersus* Steindachner, 1879 (31 MPs, 1.9 ± 1.6).

Dentre os peixes amostrados no rio Pomba, predominaram os MPs azuis (55%), seguidos pelos de cores preta (34%), vermelha (3%) e branca (2%). Apenas duas formas de MP (fragmentos e fibras) foram observadas. As fibras MP representaram 91% do total de MPs (Fig. 1B). A maioria das MPs tinha tamanho entre 2 e 3 mm (27%),

seguidas por aquelas entre 1 e 2 mm (18%) e menores que 1 mm (18%). Cinco tipos de polímeros plásticos foram detectados nos peixes: polietileno tereftalato (PET), polipropileno (PP), poliamida (PA), cloreto de polivinilideno "Nylon" (PVDC) e polietileno de alta densidade (HDPE). PET foi o polímero predominante (32%), seguido por PA (21%) e PP (20%).

## CONCLUSÕES

Esta é a primeira evidência de MPs no trato gastrointestinal e brânquias de peixes associada ao tipo de habitat e à guilda trófica das espécies em uma importante bacia Neotropical, com dados alarmantes (96% dos peixes coletados contaminados). A variedade de MPs no rio Pomba tem origem nos materiais plásticos mais produzidos e consumidos e pode ser oriunda de diversas fontes, como redes de pesca, má gestão de resíduos sólidos urbanos, hidrologia local e descargas de esgoto doméstico e industrial ao longo da bacia. A exposição das espécies de peixes aos MPs foi associada principalmente ao tamanho e aspectos espécie-específicos, a despeito de traços ecológicos. Como 55% das espécies de peixes estudadas são para consumo humano, se faz necessária a realização de estudos sobre o possível impacto da ingestão de MPs na saúde humana, e até que ponto podemos estar consumindo tanto partículas plásticas quanto contaminantes adsorvidos aos MPs.



**Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas**

**Título do Projeto: Avaliação do potencial de *Clusia lanceolata* (clusiaceae) frente aos efeitos causados por acidentes ofídicos**

**Autores: Nayara de Almeida Rodrigues Venancio, Adriana Quintella Lobão, Roberto da Costa Gonçalves, Arthur Souza de Carvalho, Camila Castro-Pinheiro, Eladio Flores Sanchez, André Lopes Fuly, Selma Ribeiro de Paiva.**

**Departamento/Unidade/Laboratório: Departamento de Biologia Geral e Departamento de Biologia Celular e Molecular / Instituto de Biologia/ Laboratório de Botânica Estrutural e Funcional e Laboratório de Venenos e Toxinas de animais e Avaliação de Inibidores**

### **INTRODUÇÃO:**

Os acidentes ofídicos, assim como os causados por outros animais peçonhentos, foram, pela Organização Mundial de Saúde (OMS), incluídos na lista das doenças tropicais negligenciadas. Apesar de reverter com bastante eficácia os efeitos sistêmicos do veneno no organismo da vítima, a soroterapia se mostra pouco eficaz contra os efeitos locais, que na maioria das vezes, são responsáveis pela morbidade observada nos acidentados. *Clusia lanceolata* Cambess é uma espécie de porte arbustivo amplamente empregada no paisagismo e apresenta propriedades medicinais descritas na literatura, como cicatrizante no tratamento de doenças da pele e no tratamento de reumatismo. Trabalhos do grupo já apontam resultados promissores de extratos de outras espécies de *Clusia* frente aos efeitos causados pelo veneno de serpentes (PIETROLUONGO *et al.*, 2021). Nesse sentido, a espécie do presente estudo apresenta potencial como fonte promissora de extratos e substâncias capazes de prevenir ou diminuir os efeitos causados por acidentes ofídicos, de forma a complementar o tratamento já atualmente realizado através da soroterapia.

Portanto, o presente projeto visou o estudo de extratos e frações de *Clusia lanceolata* com potencial atividade antiofídica.

### **RESULTADOS E DISCUSSÕES:**

Como trata-se de uma espécie dióica, partes vegetativas e reprodutivas, de indivíduos estaminados e pistilados foram coletados no Parque Municipal de Marapendi e em Nova Friburgo, estado do Rio de Janeiro. O material foi submetido à extração por maceração estática a frio, na proporção 1:5 (planta:solvente), com solventes de diferentes polaridades, hexano, acetato de etila e etanol, com trocas a cada 48h. A fração hexânica do extrato etanólico de caules de indivíduos pistilados (1A) e o extrato etanólico dos caules de indivíduos pistilados de *C. lanceolata* (2A) foram testados frente à atividade proteolítica no Laboratório de Venenos e Toxinas de Animais e Avaliação de Inibidores utilizando o veneno bruto da serpente *Bothrops jararaca*. A fração 1A apresentou inibição de  $78,56 \pm 0,18\%$ , enquanto o extrato 2A apresentou inibição de  $98,45 \pm 0,35\%$  da atividade proteolítica do veneno. Esses resultados, evidenciam o potencial antiofídico da espécie, principalmente na neutralização de efeitos locais

como a necrose tecidual, que em muitos casos deixam sequelas nas vítimas de envenenamento ofídico.

O extrato hexânico das folhas (1B) e dos caules (2B) de indivíduos estaminados de *C. lanceolata* foram separados para o fracionamento por cromatografia em coluna com gel de sílica utilizando sistema de eluentes com hexano, acetato de etila e metanol, em gradiente crescente de polaridade. Para o fracionamento do 1B utilizou-se 2,0g de extrato, resultando em um total de 223 frações. Para 2B, utilizou-se 1,5g de extrato, resultando em um total de 134 frações. As frações foram reunidas após avaliação do perfil químico por cromatografia em camada delgada e foram recristalizadas conforme a necessidade. As frações 2F, 3F, 38-39F, 40-42F, 50-59F se apresentaram na forma sólida cristalina e foram analisadas por cromatografia com fase gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG-MS).

A análise da fração 2F evidenciou a presença de uma mistura de hidrocarbonetos, com 3 majoritários com tempos de retenção de 24,33; 26.37 e 29.14 min, correspondendo ao nonacosano, hentriacontano e tritriacontano, respectivamente. A fração 3F apresentou a mesma mistura de hidrocarbonetos, em diferentes proporções. As frações 38-39F e 40-42F correspondem a uma substância pura, com tempo de retenção em 34.70 min, com fragmentação característica de terpeno de esqueleto friedelano. A análise da fração 50-59F evidenciou a presença da mistura de triterpenos identificados como  $\alpha$ - e  $\beta$ -amirina, com tempos de retenção de 31.96 e 31.01 min, respectivamente. Na literatura, os terpenoides

identificados já são descritos e exibem atividade anti-inflamatória e anti-ofídica (DE OLIVEIRA, 2014). Para a elucidação final das estruturas serão realizadas análises de ressonância magnética nuclear (RMN) de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ .

## CONCLUSÕES:

Os estudos evidenciaram a rica produção de terpenoides por *C. lanceolata*, além do potencial de extratos e frações frente à neutralização dos efeitos causados por acidentes ofídicos.

## AGRADECIMENTOS:

À UFF, ao PIBIC/CNPq e à Plataforma Tecnológica da FIOCRUZ.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

PIETROLUONGO, M., *et al.* Potencial de extratos aquosos dos frutos de *Clusia fluminensis* em neutralizar efeitos locais causados por veneno de *Bothrops jararaca*. Revista Virtual de Química, v. 13, n.5, p. 1156-1164, 2021.

DE OLIVEIRA, M. L. G. Avaliação in silico do potencial farmacológico e toxicológico de friedelanos, lupanos e derivados. Tese de doutorado, Universidade Federal de Minas Gerais. 2014





**GRANDE ÁREA DO CONHECIMENTO: CIÊNCIAS BIOLÓGICAS,  
MORFOLOGIA**

**TÍTULO DO PROJETO: IMPACTO DOS MODULADORES DO  
SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA NA MORFOLOGIA E  
METABOLISMO MUSCULAR DE ANIMAIS OBESOS**

**AUTORES: LUIZA DA FRANÇA LOSITO, ANA BEATRIZ PROENÇA, JAIME ALEX M. S.  
FILHO, BEATRIZ ALEXANDRE-SANTOS, GUILHERME SANTOS REIS, D'ANGELO  
MAGLIANO, ANTONIO CLAUDIO LUCAS NÓBREGA, ELIETE DALLA CORTE FRANTZ**

**DEPARTAMENTO DE MORFOLOGIA (MMO), LABORATÓRIO DE CIÊNCIAS DO  
EXERCÍCIO (LACE) E NÚCLEO DE PESQUISA EM MORFOLOGIA E METABOLISMO  
(NUPEMM)**

#### **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) e receptor de angiotensina tipo 1 (AT1R)] em detrimento ao eixo protetor [ECA2 e receptor Mas (MasR)]. Assim como, o sistema caliceína-cinina na obesidade apresenta maior ligação da bradicinina ao receptor do tipo 1 (B1R) em detrimento do tipo 2 (B2R) (2). Este desequilíbrio pode prejudicar a biossíntese proteica e favorecer a degradação muscular, culminando na disfunção do músculo

esquelético em obesos. Portanto, a modulação dos eixos do SRA, farmacológica ou não, pode ser uma opção terapêutica contra a obesidade (3,4).

O objetivo do estudo foi comparar o efeito do treinamento aeróbio e do enalapril na modulação do SRA no músculo esquelético em modelo de obesidade induzida por dieta hiperlipídica.

Para tanto, camundongos C57BL/6 foram alimentados com dieta controle (SC) ou hiperlipídica (HF), por 16 semanas. Na oitava semana, os animais alimentados com dieta HF foram divididos em 4 grupos (n=10): grupo sedentário (HF), HF tratado com enalapril (HF-E), HF com protocolo de treinamento aeróbico (HF-T), e grupo submetido às intervenções combinadas (HF-ET). Depois de 8 semanas de tratamento, foram avaliados: composição

corporal, morfologia e marcadores dos componentes do SRA, biossíntese e degradação muscular. A análise estatística foi realizada por *one-way* ANOVA, com pós teste de Holm-Sidak. Aprovação do CEUA/UFF 2504060718.

### **RESULTADOS E DISCUSSÕES:**

Os animais alimentados com dieta HF apresentaram maior ganho de massa corporal, aumento no percentual de gordura, diminuição na massa magra e aumento da pressão arterial sistólica em relação ao grupo SC. Ambas as intervenções promoveram menor ganho de massa corporal e percentual de gordura, e redução da pressão arterial para níveis semelhantes ao grupo controle. 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.

Os animais obesos apresentaram danos musculares, evidenciados pela redução no diâmetro médio e área seccional das miofibras, desorganização da histoarquitetura do músculo esquelético, ativação proteica do eixo clássico do SRA, aumento de B1R e caspase 3, e aumentada razão proteica de Bax/Bcl2, mecanismos de degradação muscular. Ambas as intervenções deslocaram o eixo do SRA a favor do eixo protetor e B2R.

O tratamento com enalapril parece exercer um efeito intermediário sobre a morfologia muscular, aumento da expressão de PGC-1 $\alpha$ , redução da expressão proteica de caspase 3 e da razão Bax/Bcl2.

Somente o treinamento aeróbio promoveu ganho de massa muscular, comprovado pela hipertrofia (aumento de diâmetro e volume, redução da densidade numérica) das miofibras em relação ao grupo HF. O treinamento promoveu aumento da expressão de marcadores de biossíntese (mTOR, p70, AMPK e PGC-1 $\alpha$ ) e diminuição da degradação muscular (Atrogin, Murf-1) e apoptose (Bax/Bcl2 e caspase 3), revertendo os danos teciduais promovidos pela obesidade.

### **CONCLUSÕES:**

Os efeitos mais eficazes contra obesidade foram alcançados pelo treinamento aeróbio, evidenciado pelo aumento de massa muscular e hipertrofia das miofibras por mecanismos que envolvem a ativação da biossíntese e inibição da degradação e apoptose no músculo esquelético. Ambas as intervenções deslocaram o equilíbrio do SRA muscular em direção ao eixo contrarregulador, favorecendo a expressão de B2R. As intervenções combinadas não exerceram efeito sinérgico contra o remodelamento muscular induzido pela obesidade.

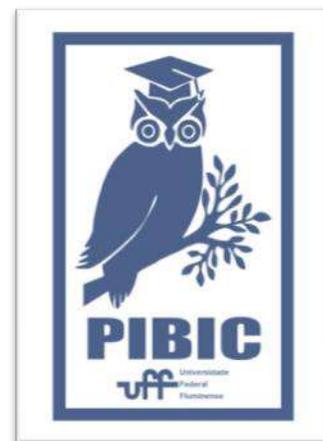
### **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:**

- 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;
- 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*. 2018;

- 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;
- 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*. 2021;

**AGRADECIMENTOS:**

Agências de fomento (CAPES, CNPq, FAPERJ) pelo apoio financeiro. À UFF pela infraestrutura física e apoio financeiro (FOPESQ). A PROPPI pela bolsa e incentivo à pesquisa. A equipe do laboratório de pesquisa.





**Grande área do conhecimento:** Ciências Biológicas

**Título do Projeto:** BUSCA DE NOVOS INIBIDORES DE PROTEÍNA ONCOGÊNICA PIRUVATO QUINASE M2 (PKM2) COMO POTENCIAIS SUBSTÂNCIAS ANTITUMORAIS CONTRA O CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS DE BOCA (OSCC)

**Autores:** Lucas Rubini Dias, Bruno Kaufmann Robbs

**Departamento/Unidade/Laboratório:** 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 (OSCC) é um tumor maligno de células epiteliais da cavidade oral. Fatores como tabagismo e etilismo são as principais causas pelo surgimento da malignidade, mas também pode estar associada à infecção por papiloma vírus humano. No Brasil é o quinto mais incidente em homens. O diagnóstico tardio costuma ser recorrente, gerando um pior prognóstico. O tratamento é feito por cirurgia e/ou quimioterapia, cujos medicamentos costumam apresentar efeitos adversos. Dessa forma, a pesquisa por novos compostos bioativos se faz fundamental na tentativa de desenvolver novos tratamentos que assegurem maior chance de cura e um melhor prognóstico. Células tumorais apresentam adaptações metabólicas que comportam o fenótipo proliferativo, motivado pela ativação de oncogenes, pela perda da regulação por genes supressores tumorais, ou ainda, mais comumente pelo acúmulo de

mutações em ambos conforme o tumor progride. Uma adaptação muito estudada é o efeito Warburg, com desvio do metabolismo energético para a glicólise mesmo em presença de oxigênio. Dentro desse contexto, a proteína piruvato kinase 2 (PKM2) apresenta papel fundamental em alguns tumores em sua forma dimérica, seja na produção de ATP e pelo acúmulo de metabólitos que podem ser desviados para a produção de Building blocks, ou ainda capaz de atuar como cofator de transcrição, aumentando o potencial oncogênico de células transformadas. Dessa forma, PKM2 se mostra como alvo interessante de novos fármacos, dificultando a progressão tumoral. Cumarinas são metabólitos secundários de espécies vegetais, que podem exercer diversas ações biológicas. Um bom exemplo é a Varfarina, mas também existem antimicrobianos e moléculas antitumorais, todas com base cumarínica. Esses efeitos já documentados fazem da estrutura cumarínica um excelente alvo de estudos. De forma geral, o objetivo do trabalho é identificar e caracterizar novos

compostos com ação em PKM2, e por meio deste, evidenciar ação citotóxica em células tumorais de forma seletiva

## RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Por meio do ensaio de MTT, avaliamos a viabilidade celular da linhagem de OSCC OSCC9 de 9 moléculas inéditas baseadas na estrutura cumarínica (CUME1-9). Shikonina e lapachol, já com ação reportada de inibição de PKM2, além da carboplatina, medicamento empregado no tratamento do OSCC, foram utilizadas como controle positivo. Ao comparar a concentração inibitória de 50% da viabilidade celular ( $IC_{50}$ ) de cada substância, a CUME1 ( $IC_{50}=62,76 \mu M$ ), CUME6 ( $IC_{50}=28,29 \mu M$ ) e CUME7 ( $IC_{50}=30,22 \mu M$ ) se mostraram a mais citotóxicas. Então, os três compostos foram testados frente a outras linhagens de OSCC (OSCC4 e OSCC25), além de fibroblasto normal para aferição da seletividade. A CUME6 se mostrou a mais seletiva, e foi selecionada para testes posteriores. Ainda pelo ensaio de MTT, avaliamos a citotoxicidade em linhagens de melanoma murino (B16F10), hepatocarcinoma (HEPG2), e carcinoma de cólon (HT29). A CUME6 se mostrou citotóxica e seletiva.

Utilizando o servidor SwissADME, fizemos uma caracterização *in silico* da CUME6. A molécula apresentou apenas uma violação nas regras de Lipinski, e não foi considerada substrato de glicoproteína P, um dos mecanismos de resistência tumoral contra fármacos.

Partimos para ensaios de toxicidade aguda, avaliando aplicabilidade terapêutica. Iniciando pela hemólise *in vitro*, a CUME6 não apresentou hemólise significativa, similar ao controle

negativo (> 5%). Aprovado pelo CEUA, observamos alterações *in vivo* mediante aplicações da CUME6 em camundongos C57BL/6. A aplicação de 25 mg/kg não apresentou efeitos macroscópicos de toxicidade. Óbitos foram observados a partir de 62,5 mg/kg em 75% (N=4), com redução da mobilidade e respiração profunda. Alterações macroscópicas nos pulmões, coração, baço e órgãos da parede abdominal foram observados.

Células tratadas com 2x  $IC_{50}$  da CUME6 foram analisadas em citometria para caracterização do mecanismo de morte celular, não exibindo evidências de morte apoptótica. Em outro experimento, a morte por produção de espécies reativas de oxigênio também foi descartada, quando comparada com o controle positivo. Por fim, em microscopia de fluorescência evidenciamos a ocorrência de morte por autofagia, que poderia estar relacionada com PKM2.

Novamente *in silico*, por meio de docking molecular observamos afinidade considerável entre PKM2 e a CUME6, com energia livre de -9,9 kcal/Mol. Os controles positivos Lapachol e Shikonina obtiveram os valores -6,8 e -7,1 kcal/Mol respectivamente.

Por meio de um ensaio enzimático-colorimétrico utilizando PKM2, evidenciamos disrupção da função enzimática quando tratada com a CUME6, caracterizando um potencial inibidor. Lapachol foi utilizado como controle positivo.

Por meio de qPCR, analisamos a expressão gênica de PKM1 e PKM2. Ou seja, para afirmar nossa hipótese de toxicidade da CUME6, quanto mais o metabolismo celular dependesse de PKM2, menor o  $IC_{50}$ . Em resultados

preliminares observamos certa tendência, mas ainda sem robustez.

## CONCLUSÕES:

A CUME6 se mostrou citotóxica e seletiva, capaz de induzir autofagia *in vitro*. Por meio dos experimentos realizados, acreditamos tratar-se de um inibidor da função de PKM2 de fato, o que vai de encontro com o nosso objetivo, na busca de um alvo molecular específico ao combate de tumores dos mais diversos. Dessa forma, mais estudos são necessários para uma caracterização mais robusta dos presentes indícios experimentais.

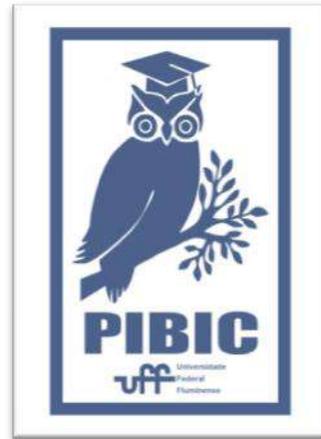


Imagem 1: PIBIC



**Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas**

**Título do Projeto: Modulação do transporte de GABA após tratamento com cafeína e canabinóides em retinas de embrião de galinha**

**Autores: Beatriz dos Reis Machado, Vladimir Pedro Peralva Borges Martins, Regina Célia Cussa Kubrusly**

**Departamento/Unidade/Laboratório: MFL/ Instituto Biomédico/ Laboratório de Neurofarmacologia**

## **INTRODUÇÃO:**

A retina é um fino tecido nervoso responsável pela interpretação da imagem, formando o sentido da visão. A retina embrionária é usada como modelo de desenvolvimento e de sinalização neuroquímica, uma vez que é um tecido de fácil acesso para analisar as porções nucleares e sinápticas.

A cafeína é um estimulante do Sistema Nervoso Central (SNC) que tem como principal mecanismo de ação modulação do sistema purinérgico, atuando como antagonista não seletivo dos receptores  $A_1$  e  $A_{2A}$  de adenosina. A adenosina atua como neuromodulador tendo seus receptores amplamente expressos no SNC incluindo a retina já em fases iniciais do desenvolvimento e a ativação deles pela adenosina desencadeiam funções fisiológicas como modulação do sono ou vigília, neuroproteção, modulação da liberação de neurotransmissores e desenvolvimento sináptico. A adenosina exerce suas funções através da ativação de quatro subtipos de receptores metabotrópicos que são acoplados à proteína G, sendo eles:  $A_1$ ,  $A_{2A}$ ,  $A_{2B}$  e  $A_3$ . Os

receptores  $A_1$  e  $A_3$  se ligam à proteína  $G_o/G_i$ , que desempenham o papel de inibição da via do AMPc; os receptores  $A_{2A}$  e  $A_{2B}$  são acoplados à proteína  $G_s$ , que estimulam a produção do AMPc e consequentemente ativação da proteína cinase A (PKA).

O papel neuromodulador da adenosina através da ativação de seus receptores está relacionado com a regulação da captação e liberação de diversos neurotransmissores, como acetilcolina, dopamina, glutamato, serotonina e GABA. Essa regulação está relacionada com a inibição da liberação pré sináptica dos neurotransmissores em algumas regiões do SNC.

Outro sistema expresso na retina é o endocanabinóide que está envolvido em processos fisiológicos do SNC e sistema nervoso periférico, regulando funções cognitivas, homeostáticas e imunológicas. Esse sistema é composto pelos canabinóides, que são substâncias classificadas como: endocanabinóides, fitocanabinóides e canabinóides sintéticos.

Os endocanabinóides agem nos receptores  $CB_1$  e  $CB_2$  chamados de alvos intracelulares. Seus ligantes endógenos funcionam como mensageiros

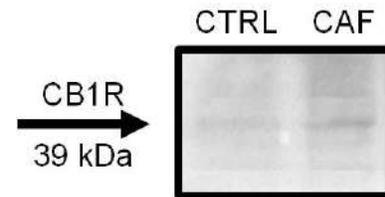
extracelulares retrógrados, sendo sintetizados no neurônio pós-sinápticos e ativando os receptores CB<sub>1</sub> e CB<sub>2</sub> pré-sinápticos. Esses receptores são acoplados à proteína G<sub>i</sub>/G<sub>o</sub>, possuindo ação inibitória na via do AMPc. Simultaneamente, esse sistema também regula a liberação de outros neurotransmissores, como o GABA, e essa função é semelhante ao observado no sistema adenosinérgico havendo uma interação desses dois sistemas em algumas regiões do SNC.

O GABA é o principal neurotransmissor inibitório do SNC maduro e possui um importante papel na regulação da atividade neuronal e da plasticidade sináptica. Esse neurotransmissor também é encontrado em retinas de vertebrados. Uma vez liberado na fenda sináptica, o GABA é recaptado através de transportadores específicos expressos pelos neurônios e astrócitos, os quais regulam a concentração extracelular desse neurotransmissor em condições basais. O GAT-1 é o principal transportador envolvido na liberação e captação de GABA, que ocorre através do processo de reversão do transportador. Sua função pode ser regulada pela injeção crônica de cafeína, alterando o transporte de GABA como a sua liberação também pode ser controlada pela exposição ao agonista canabinoide WIN em culturas mistas de retina de galinha.

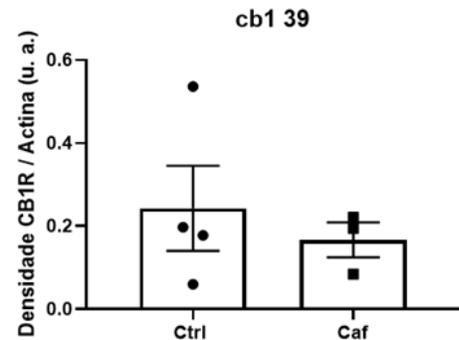
## RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Como resultado do Western blot em retinas de embriões de galinha na idade de E15, foi avaliado na imagem A e B, uma possível diminuição da densidade do receptor CB1 após a exposição à cafeína em retinas na idade de E15.

**A**

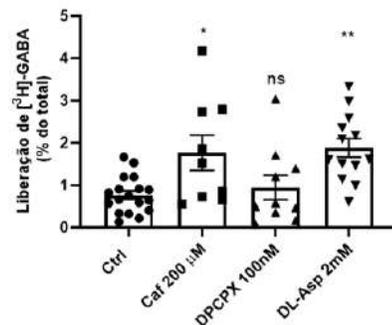


**B**



No gráfico da imagem C, nós quisemos avaliar se a exposição à cafeína a 30mg/kg, ao antagonista seletivo dos receptores de adenosina A1 (DPCPX) e ao DL- Aspartato (controle positivo) poderia alterar a modulação da liberação de [<sup>3</sup>H]-GABA em retinas na idade de 15 dias quando comparado ao grupo controle. Foi observado que a cafeína aumentou os níveis da liberação de [<sup>3</sup>H]

**C**



**[<sup>3</sup>H]-GABA quando comparado ao grupo controle. No entanto, a exposição ao DPCPX não demonstrou diferenças significativas em relação ao grupo controle**

#### **CONCLUSÕES:**

A cafeína possui como mecanismo de ação antagonista não seletivo dos receptores de adenosina A<sub>1</sub> e A<sub>2A</sub> distribuídos em diversas camadas da retina. O bloqueio de seus receptores pela cafeína provoca uma desregulação da sinalização GABAérgica e de outros sistemas, como o endocanabinóide. Nesse projeto, foi possível observar que o tratamento com a cafeína, foi capaz de provocar alterações no transporte de [<sup>3</sup>H]-GABA e na expressão de receptores canabinóides em retinas de embrião de galinha.

#### **AGRADECIMENTOS:**

Agradeço à professora Regina Célia Cussa Kubrusly pelos ensinamentos, ajuda e parceria.

Aos meus colegas do Laboratório de Neurofarmacologia da UFF por me auxiliarem e estarem sempre dispostos a me instruir.





## Ciências Biológicas

### A PARTICIPAÇÃO DO RECEPTOR ASSOCIADO A TRAÇOS DE AMINAS DO TIPO 1 NO COMPORTAMENTO COMPULSIVO.

Costa, S.<sup>a</sup>, Penna, D.<sup>a</sup>, Pandolfo, P.<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas: Fisiologia e Farmacologia. UFF, Niterói/RJ.; <sup>b</sup>Programa de Pós

Graduação em Neurociências. UFF, Niterói/RJ.

#### INTRODUÇÃO:

O comportamento compulsivo está presente em transtornos psiquiátricos e doenças neurodegenerativas. O TOC é frequentemente caracterizado pelo aparecimento de pensamentos intrusivos (obsessões) e comportamentos repetitivos (compulsões), que parecem estar relacionados com alterações no eixo cortico-estriado-tálamo-cortical responsáveis por déficits nas funções executivas. O sistema monoaminérgico fronto-estriatais é importante no comportamento compulsivo; porém, a neurobiologia do transtorno permanece desconhecida. Os receptores associados a traços de aminas do tipo 1 (TAAR1) modulam a transmissão monoaminérgica nessas áreas e demonstram efeitos importantes no abuso de substância e transtornos associados à compulsão. O presente projeto tem como objetivo investigar o papel dos receptores TAAR1 no comportamento compulsivo de ratos isogênicos modelo do TDAH.

#### RESULTADOS E DISCUSSÕES:

**Animais SHR exibem maior atividade locomotora que os WKY e as fêmeas**

**caminham mais que os machos, independente de tratamento.** No parâmetro de distância total no Campo Aberto, ANOVA de três vias (sexo x linhagem x tratamento) indicou um efeito significativo de linhagem ( $F(1,81)=155,7$ ) e sexo ( $F(1,81)= 14,1$ ). Análise post-hoc Newman Keuls indicou que, de maneira independente de tratamento, animais SHR exibiram hiperlocomoção em comparação com os WKY e as fêmeas, no geral, caminharam mais que os respectivos machos (WKY Macho=  $9,79 \pm 0,91$  m; WKY Fêmea=  $13,19 \pm 1,67$  m; SHR Macho=  $22,80 \pm 1,02$  m; SHR Fêmea=  $27,83 \pm 0,81$  m). **Animais SHR exibem menor comportamento do tipo-ansioso que os WKY, independente de tratamento.** No parâmetro de número de entradas no centro do Campo Aberto, ANOVA de três vias (linhagem x sexo x tratamento) indicou um efeito significativo de linhagem ( $F(1,81)= 145,1$ ) e sexo ( $F(1,81)=6,7$ ). Post-hoc Newman Keuls indicou que, independentemente de tratamento, animais SHR entraram mais na área central que WKY e WKY fêmeas entraram mais que WKY machos. (WKY Macho=  $4,50 \pm 0,76$ ; WKY Fêmea=  $7,75 \pm 1,51$ ; SHR Macho=  $17,86 \pm 1,08$ ; SHR Fêmea=  $20,57 \pm 0,86$ ). No parâmetro de tempo no centro do Campo Aberto, ANOVA de três vias indicou efeito significativo de linhagem

( $F(1,81)= 24,20$ ). Post-hoc Newman Keuls indicou que animais SHR passam maior tempo no centro que WKY, independente de tratamento. (WKY=  $44,30 \pm 5,01$ s; SHR=  $74,21 \pm 3,33$  s). No parâmetro de distância do centro, ANOVA de três vias indicou efeito significativo de linhagem ( $F(1,81)= 138,6$ ) e sexo ( $F(1,81)=8,1$ ). Post-hoc indicou que linhagem SHR caminha maior distância no centro que WKY, em que fêmeas SHR caminham mais no centro que os machos SHR, independentemente de tratamento (WKY Macho=  $0,99 \pm 0,17$  m; WKY Fêmea=  $1,63 \pm 0,32$  m; SHR Macho=  $3,63 \pm 0,20$  m; SHR Fêmea=  $4,36 \pm 0,19$  m). **Modulação do receptor TAAR1 diminuiu o comportamento compulsivo.** No parâmetro de número de bolinhas enterradas no teste Enterramento de bolinhas, ANOVA 3 vias (linhagem x sexo x tratamento) indicou um efeito significativo de linhagem ( $F(1,81)= 27,27$ ) e tratamento ( $F(1,81)= 6,27$ ). Post-hoc Newman Keuls indicou que animais SHR enterram mais bolinhas que WKY e que animais SHR tratados com EPPTB e RO5166017 exibiram diminuição no comportamento de enterramento de bolinhas quando comparados com aqueles tratados com veículo. O tratamento com EPPTB também diminuiu o número de bolinhas enterradas dos WKY, quando comparados com os tratados com veículo (WKY Veículo=  $4,83 \pm 1,16$ ; WKY RO=  $2,54 \pm 0,68$ ; WKY EPPTB=  $1,54 \pm 0,74$ ; SHR Veículo=  $9,42 \pm 0,82$ ; SHR RO=  $6,10 \pm 0,97$ ; SHR EPPTB=  $6,10 \pm 1,04$ ).

## CONCLUSÕES:

Foi possível observar o perfil hiperativo dos animais SHR quando comparados com os WKY

e um menor comportamento do tipo-ansioso destes animais. Esse último pode estar relacionado não com um perfil ansiolítico, mas com uma tendência destes animais a se arriscarem mais em áreas potencialmente aversivas, uma vez que, a avaliação de risco pode estar prejudicada devido aos déficits nas funções executivas, característicos do modelo. De maneira inédita, foi possível demonstrar que os animais SHR exibem comportamento compulsivo quando comparados com os WKY, corroborando a hipótese de que os déficits nas circuitarias frontoestriatais desses animais poderia estar associado, além do TDAH, com sintomas envolvidos na compulsão. Como já mencionado, disfunções executivas, principalmente no controle inibitório, podem estar por trás do enterramento perseverante nesses animais. Também foi possível observar diferença de sexo entre os fenótipos compulsivos e hiperativos, o que se repete na literatura dos transtornos psiquiátricos.

Surpreendentemente, foi demonstrado que a modulação do TAAR1 influencia o comportamento compulsivo, sem afetar locomoção e outros aspectos da emocionalidade. Observou-se que o tratamento tanto com agonista total RO5166017 e o antagonista EPPT diminui o comportamento compulsivo exibido pelos animais SHR. Na literatura, a modulação de TAAR1 aparece também com efeitos biológicos complexos, muitas vezes paradoxais, uma vez que o receptor está envolvido com processos de manutenção da homeostase.

## **AGRADECIMENTOS:**

Agradeço à equipe do Laboratório de Neurobiologia do Comportamento Animal que, juntamente com o orientador Pablo Pandolfo, tornou essa pesquisa possível. Por fim, às parcerias e os auxílios financeiros (UFF, CNPq, CAPES, FAPERJ)

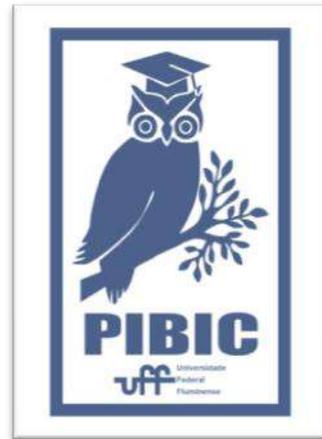


Imagem 1: Imagem PIBIC



Grande área do conhecimento: **Ciências Biológicas**

Título do Projeto: **Produtos naturais de *Dictyota mertensii* (PHAEOPHYCEAE) para avaliação em modelos biológicos de autismo**

Autores: **Victor Hugo Cordeiro Vianna, Johana Marcela Concha Obando, Diana Negrão Cavalcanti**

Departamento/Unidade/Laboratório: **Instituto de Biologia-UFF/ Departamento de Biologia Marinha/Laboratório de Produtos Naturais de Algas Marinhas (ALGAMAR); Núcleo de Estudos e Pesquisa em Autismo (NEPA)**

## **INTRODUÇÃO:**

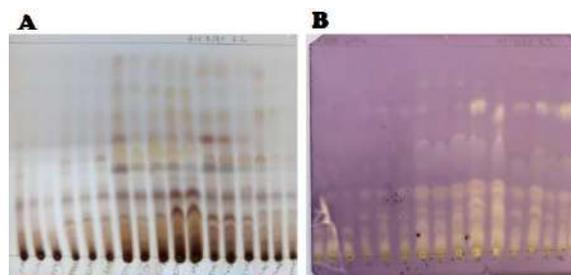
Os oceanos são um reservatório rico e relativamente inexplorado de novos produtos naturais (MOREIRA et al, 2014). O Brasil, devido a grandeza de seu litoral, possui imenso potencial na área de produtos naturais marinhos. Entretanto, é uma das áreas menos exploradas no país. As pesquisas nesta área tiveram início na década de 60, e a comunidade científica tem demonstrado interesse em compostos biologicamente ativos derivados de recursos naturais marinhos, como extratos e moléculas isoladas. As algas pardas são o grupo taxonômico mais conhecido, em relação à química de produtos naturais e são caracterizados por diversos tipos de esteróis, carotenóides, presença de polifenóis (florotaninos), de hidrocarbonetos voláteis e síntese de terpenos exclusivos com diversas atividades biológicas (CUNHA, 2022, TEIXEIRA, 2013, CAVALCANTI et al, 2011; DOMINGOS et al, 2012; ROCHA et al 2007; PEREIRA et al, 2004). Algas da família Dictyotaceae (Phaeophyceae) vêm sendo obtidos com sucesso e suas correspondentes bioatividades

tais como antiviral (CIRNE-SANTOS, et al 2020), antioxidante (QI, et al 2023) e anti-inflamatória (BARBALACE et al, 2019) continuam sendo investigadas. Neste projeto foi feita uma investigação sobre a composição química de 6 populações da alga marinha *Dictyota mertensii*. As populações de *D. mertensii* coletadas em P1-Ferrilhões, P2-Praia de Cumuruxatiba-BA, P3-Ponta do Corumbal-BA, P4-Praia dos Coqueiros-BA, P5-Parrachos e P6- Placafor-BA estavam armazenadas no Laboratório de Produtos Naturais de Algas Marinhas (ALGAMAR) – UFF. As amostras foram primeiramente pesadas, e maceradas com o auxílio de um pilão e um socador. Para obtenção do extrato bruto (EB) suas biomassas foram submetidas à extração exaustiva em diclorometano, e após 10 dias realizava-se a filtração do extrato. Com este processo obteve-se 17 extratos diclorometânicos. O perfil químico foi analisado por cromatografia de camada delgada (CCD) e Ressonância magnética nuclear de prótons (RMN-<sup>1</sup>H). Adicionalmente, foi monitorado o potencial antioxidante com CCD-DPPH.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Os rendimentos obtidos para cada população foram: Ferrilhões \*R(%)1ra Extração= E1P1 4,148%, \*R(%)2ra Extração= E2P1 1,891%, \*R(%)3ra Extração E3P1 0,6067%).Praia de cumuruxatiba (\*R(%)1ra Extração= E1P2 0,609%, \*R(%)2ra Extração= E2P2 0,300%, \*R(%)3ra Extração E3P2 0,217%). Ponta do Corumbal-BA (\*R(%)1ra Extração= E1P3 0,674%, \*R(%)2ra Extração= E2P3 0,258%, \*R(%)3ra Extração E3P3 0,334%). Praia dos Coqueiros (\*R(%)1ra Extração= E1P4 0,6746%, \*R(%)2ra Extração= E2P4 0,101%.) Parrachos (\*R(%)1ra Extração= E1P5 1,103%, \*R(%)2ra Extração= E2P5 0,385%, \*R(%)3ra Extração E3P5 0,08%). Placafor-BA (\*R(%)1ra Extração= E1P6 0,629%, \*R(%)2ra Extração= E2P6 0,263, \*R(%)3ra Extração E3P6 0,207%).

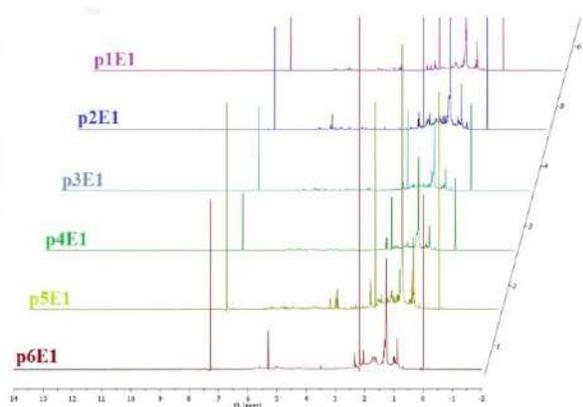
Os extratos foram monitorados com técnicas como CCD para avaliar qualitativamente os perfis cromáticos correspondentes a seu estado químico e taxonômicos (Figura 1A) além, da técnica e CCD-DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) para avaliar o potencial antioxidante da alga (Figura 1B). Após a realização das placas de CCD, pudemos realizar o teste CCD-DPPH para triagem de frações antioxidantes. A cor amarela/branca desenvolvida contra o fundo roxo da superfície do DPPH indica compostos ativos antioxidantes nas amostras. Como podemos observar na (Fig. 1B).



**Figura 1. A.** Resultado da placa de CCD (Hex: EtOAc) com os extratos diclorometânicos de todas as populações de *D. mertensii*. As cores sublinhadas são para diferenciar cada população (Vermelho:Ferrilhões, Verde: Praia de cumuruxatiba, Amarelo: Ponta do Corumbal, Preto: Praia dos coqueiros, Azul: Parrachos, Rosa: Placafor). Foto de autoria própria. **B.** Resultado do teste CCD-DPPH para a triagem de agentes oxidantes na *D. mertensii* foto de autoria própria.

Os resultados do teste CCD-DPPH nos mostram que as populações têm potenciais antioxidantes diferentes entre elas e que as algas das populações da Ponta de Corumbal-BA, Praia dos coqueiros, Parrachos e Placafor possuem um potencial antioxidante maior que as outras populações.

Através do RMN-<sup>1</sup>H conseguimos obter espectros de cada população, e com isso monitoramos a composição química de 6 produtos diterpenoides presentes nestas populações de *D. mertensii*. A comparação dos perfis químicos mostra-se na Figura 2



**Figura 2.** Espectros de RMN-<sup>1</sup>H das seis populações de *D. mertensii*.

Nossos resultados confirmaram a presença dos diterpenos Pachydictyol A, Dictyol B, Dictyol C, Dictyol H, Dictyóxido, Isopachydictyol A e variações qualitativas nos perfis das populações foram identificadas.

Confirmações quimiotaxonômicas, isolamento de produtos associados às amostras e atividades anti-neuro inflamatórias da espécie *D. mertensii* serão os passos seguintes deste projeto.

## CONCLUSÕES:

As técnicas de CCD e CCD–DPPH mostraram a presença de compostos com potencial antioxidantes. As análises químicas de RMN-<sup>1</sup>H confirmaram a composição química de produtos diterpenoides presentes nestas populações. Este projeto, forneceu dados da variabilidade química da alga alvo deste estudo, o qual vai auxiliar de maneira eficiente o fracionamento, isolamento e purificação de substâncias para integrar e ajudar na criação de Banco de substâncias naturais para avaliação em modelos

biológicos de Autismo do Núcleo de Estudos e Pesquisa em Autismo (NEPA).

## AGRADECIMENTOS:

A Fundação de Amparo à Pesquisa Carlos Chagas Filho do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ): Proc.nº E-26/211.069/2019 (DNC); Proc. nº E-26/211.651/2021 (DNC), Proc. nº E-26/205.005/2022 (DNC) e bolsa de Treinamento e Qualificação Técnica TCT-5 (JO). Agradecemos também ao Programa de Bolsas de Iniciação Científica – PIBIC/UFF/CNPq (VHCV).

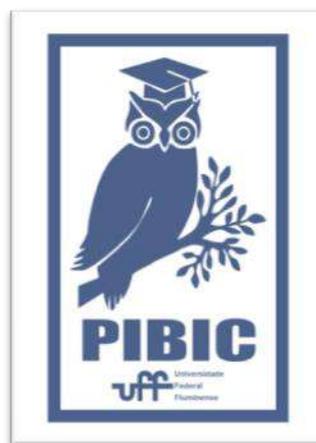


Figura 3: Imagem PIBIC



## **Ciências Biológicas**

### **Dendroecologia de espécies lenhosas estabelecidas após supressão de fogo em áreas de Cerrado**

**Jorge Luiz de Lima Vaccari, 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 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 da espécie *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 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, medição e análise dos anéis de crescimento.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO:**

Foram analisadas 26 árvores e medidas 3753 camadas de crescimento em 100 séries temporais (raios) da espécie *O. corymbosa*. A taxa de incremento radial média dos indivíduos

da espécie foi 1,87 mm/ano. Pode ser notado aumento na taxa de incremento com o aumento da idade (Fig. 1). A partir da análise do incremento radial acumulado, vemos que os indivíduos levaram de 5 – 28 anos para alcançar 20 mm de raio, demonstrando grande variação nas taxas de incremento (Fig. 2).

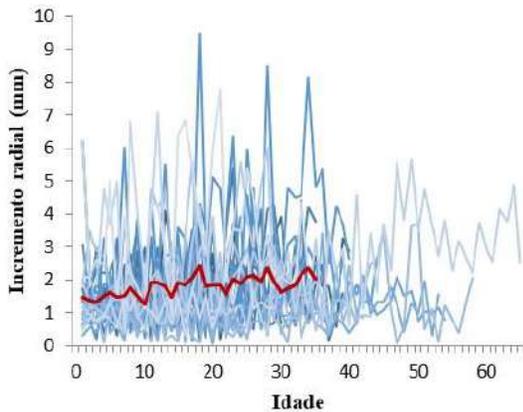


Figura 1: Incremento radial de *O. corymbosa*. Séries (linhas azuis), média das séries (linha vermelha), eixo (x) = idade, eixo (y) = crescimento em mm.

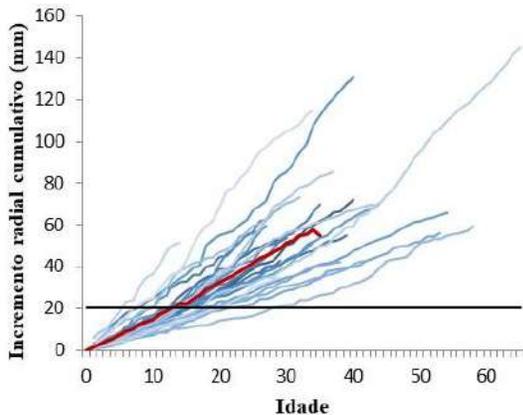


Figura 2: Incremento radial acumulado de *O. corymbosa*. Séries (linha azuis), média das séries (linha vermelha), eixo (x) = idade, eixo (y) = crescimento em mm.

A média incremento de área basal dos indivíduos de *O. corymbosa* foi 417,75 mm<sup>2</sup>/ano.

Pode ser notado aumento no incremento de área basal como o aumento da idade (Fig. 3). Os indivíduos levaram de 8 anos a 40 anos para atingir 3000 mm<sup>2</sup> (Fig. 4), como evidenciado pela análise do incremento de área basal acumulado.

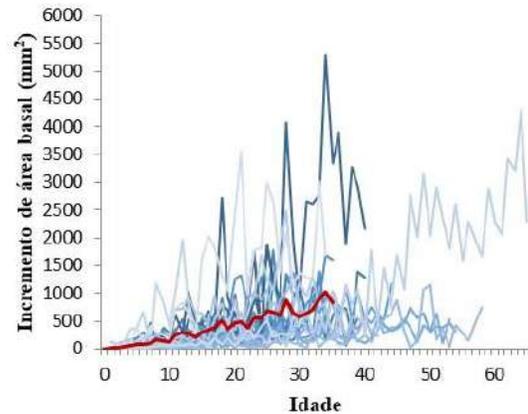


Figura 3: Incremento de área basal de *O. corymbosa*. Séries (linhas azuis), média das séries (linha vermelha), eixo (x) = idade, eixo (y) = crescimento em mm<sup>2</sup>.

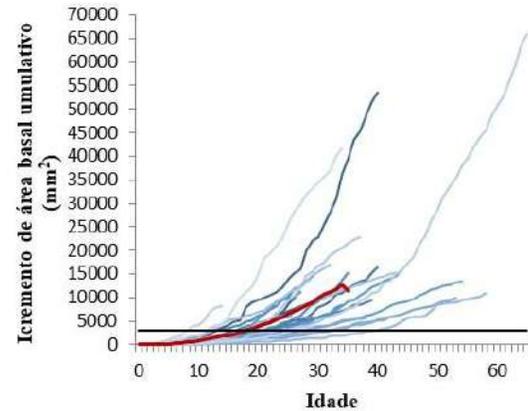


Figura 4: Incremento de área basal acumulado de *O. corymbosa*. Séries (linhas azuis), média das séries (linha vermelha), eixo (x) = idade, eixo (y) = crescimento em mm<sup>2</sup>.

A média de idade dos indivíduos de *O. corymbosa* foi 37 anos, tendo o indivíduo mais

velho 65 anos e o mais novo 14 anos. Estes se estabeleceram nos anos de 1952 e 2003, respectivamente. O maior pulso de estabelecimento ocorreu no período 1978-1997, com árvores entre 21 e 40 anos (Fig. 5). A maioria dos indivíduos se estabeleceu após da ocorrência do último evento de fogo (não experimental) (15 indivíduos). Estudos demonstram os diversos efeitos fisiológicos e estruturais negativos causados pelo fogo nos vegetais, reduzindo o recrutamento. Alguns indivíduos se estabeleceram antes do evento de fogo, provavelmente sobrevivendo por apresentarem porte e características que conferissem resistência quando ocorreu o evento.

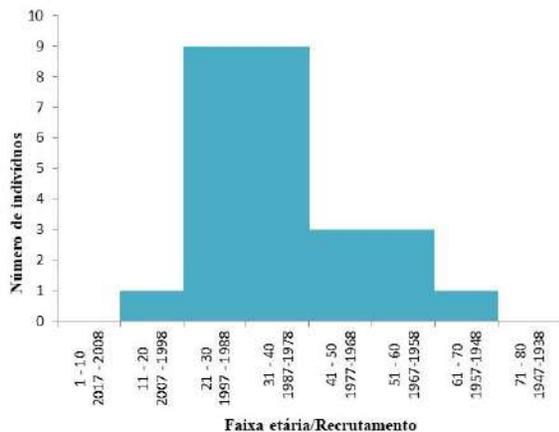


Figura 5: Gráfico da distribuição etária de *O. corymbosa*. Indivíduos agrupados em classes de 10 anos.

## CONCLUSÕES:

Foi possível verificar a idade, o período de recrutamento e a dinâmica de crescimento das árvores de *O. corymbosa* na EECSB em áreas com supressão de fogo nas últimas décadas.

O fogo provavelmente afeta no estabelecimento de indivíduos de espécies arbóreas e na mudança da fisionomia de cerrado para floresta. A maioria dos indivíduos analisados se estabeleceu após o último evento de fogo nas áreas amostrais. Alguns indivíduos haviam se estabelecido nas áreas antes do último evento de fogo. Contudo, hipóteses relacionadas ao tamanho e adaptações ao fogo podem explicar esse estabelecimento.

A taxa de incremento radial aumentou com a idade e incremento acumulado de área basal aumentou exponencialmente, indicando o aumento no estoque de carbono com a mudança da fitofisionomia.

## AGRADECIMENTOS:

Agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a Universidade Federal Fluminense, ao Laboratório de Ecologia Aplicada (UFRRJ), ao Laboratório de Anatomia, Identificação e Densitometria de Raios X em Madeira (USP-ESALQ) e Instituto Florestal de São Paulo.



**Ciências Biológicas**

**ESTUDO DA ATIVAÇÃO DA VIA DA CSK/C-SRC E SEU PAPEL NA VIABILIDADE DE GLIOBLASTOMAS**

**Vanessa de Sousa Melo e Marcelo Cossenza**

**DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA/**

**INSTITUTO BIOMÉDICO/ LABORATÓRIO DE FARMACOLOGIA**

**MOLECULAR**

**INTRODUÇÃO:**

O prognóstico para pacientes com glioblastoma (GB) permanece obscuro, com sobrevida média de 16 a 19 meses. Os GBs, além de apresentarem elevada taxa de proliferação, são caracterizados pela sua alta capacidade de invasão local e resistência as estratégias terapêuticas atuais.

Essa evidente malignidade justifica a necessidade de buscar novas estratégias contra essa doença.

Nesse sentido, é conhecido que a proteína Src está fortemente relacionada ao desenvolvimento, manutenção, progressão e disseminação metastática de vários cânceres humanos e se encontra fortemente ativa em GBs. Assim, sua inibição direta por agentes farmacológicos vem sendo explorada no desenvolvimento de diversos medicamentos anticâncer.

Normalmente, o potencial oncogênico da Src é controlado pela quinase do C-terminal da Src (Csk), que através da fosforilação do seu resíduo de tirosina 527, leva a sua conformação inativa. Apesar disso, até o momento, nenhuma estratégia de ativação da Csk por agentes farmacológicos foi proposta.

Trabalhos anteriores do nosso grupo, revelaram que o ácido 3-O-cafeoilquínico (3-O-CQA) é capaz de ativar a Csk e inibir a atividade Src em células de micróglia<sup>1</sup> e dados ainda não publicados mostraram uma relação concentração dependente na inibição da viabilidade de GB em culturas (células U87), tratadas com esse composto e com o ácido cafeico (CFA)<sup>2</sup>.

O objetivo deste projeto era avaliar se esta via apresenta relevância para a redução da viabilidade de células de GBs tratadas com esses compostos.

**RESULTADOS E DISCUSSÕES:**

Dados anteriores do nosso grupo (GARCIA, 2017, tese de doutorado, dados não publicados) mostraram que o tratamento com CFA e 3-O-CQA tem um efeito bifásico na viabilidade celular de células U87MG *in vitro* em tratamentos de 48h. Na intenção de avaliar os efeitos mais imediatos na viabilidade dessas células, tratamos as mesmas por 24h nas condições de 30, 100, 300, 500 e 1000  $\mu$ M de 3-O-CQA de maneira isolada.

Foi observado um perfil semelhante ao que foi visto previamente: aumento no número de

células de maneira concentração-dependente até 500  $\mu\text{M}$  e diminuição no número de células na concentração de 1000  $\mu\text{M}$  em relação ao grupo controle (Figura 1). Mais repetições deste experimento serão necessárias para confirmar os resultados obtidos.

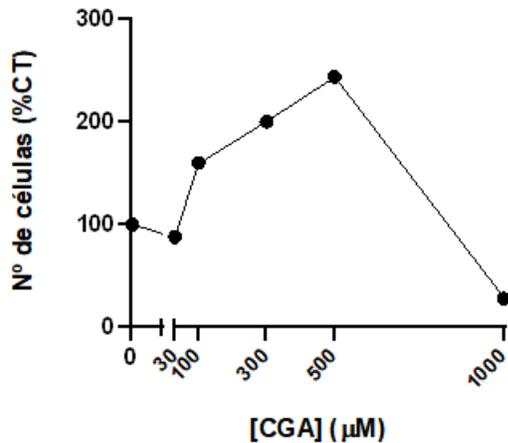


Figura 1. Porcentagem de células em relação ao grupo controle (n=1). Valor absoluto do controle U87MG: 5000  $\pm$  1225 células viáveis por poço (média  $\pm$  SD de 5 replicatas internas).

GARCIA, 2017 também mostrou que o tratamento de 48h com o CFA aumentou os níveis de p-Csk e p-Src Y527. Procuramos avaliar se esse perfil corresponderia ao observado previamente nas células U87MG utilizadas neste trabalho. No resultado preliminar (n=1, Figura 2), observou-se que até a concentração de 300  $\mu\text{M}$  houve um aumento do nível de fosforilação do resíduo inibitório da Src, enquanto na concentração de 500  $\mu\text{M}$  essa fosforilação voltou a níveis próximos ao controle, diferente do observado no trabalho anterior. Apesar disso, o resultado também sugere que o CFA é capaz de suprimir a atividade da Src.

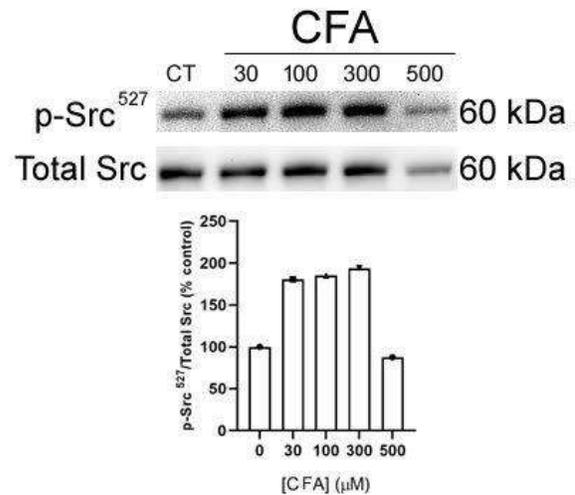


Figura 2. O tratamento com CFA até a concentração de 300  $\mu\text{M}$  sugere a inibição da proteína Src (n=1). Painel superior: imagem de experimento de western blot em relação a p-Src Y527 e Src total; Painel inferior: quantificação do experimento em relação a densidade óptica da proteína p-Src Y527/Src Total.

A mesma via de sinalização não foi analisada para o 3-O-CQA anteriormente. Assim, decidimos investigar se esse composto tem efeito semelhante ao CFA em 48h.

A figura 3 mostra os resultados de dois experimentos independentes. Foi observado uma tendência de aumento da quantidade de Csk total e de diminuição da sua fosforilação em concentrações mais altas (100 e 300  $\mu\text{M}$ ). Não foi possível observar um padrão para a p-Src Y527. No entanto, a dispersão das replicatas foi grande e lamentavelmente não houve tempo hábil para avaliar a Src Total das amostras, portanto os dados ainda são inconclusivos.

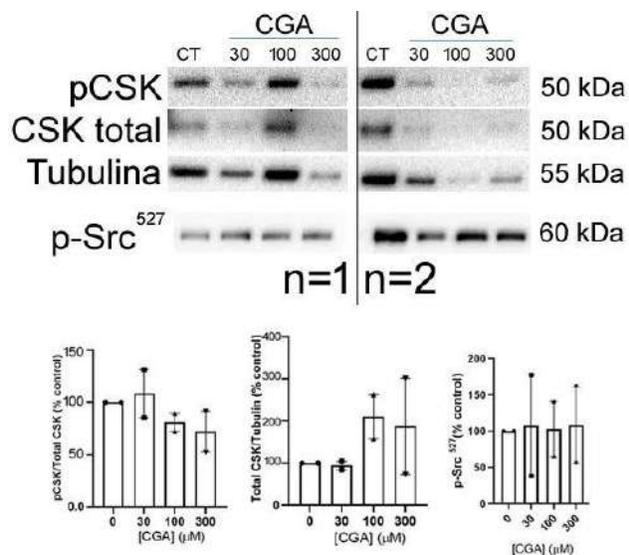


Figura 3. O tratamento com 3-O-CQA tende a modificar os níveis de fosforilação e quantidade das proteínas da via Csk/Src (n=2). Paineis superior: imagem de experimento de western blot em relação pCsk e Csk Total, tubulina e p-Src Y527; Paineis inferior: quantificação dos experimentos independentes em relação a densidade óptica das proteínas pCsk/CskTotal, Total Csk/Tubulina e pSrc Y527. (Média ± SEM)

### CONCLUSÕES:

Devido a fatores externos, não foi possível realizar todos os objetivos específicos pré-estabelecidos para este projeto. No entanto, os resultados obtidos demonstram o provável efeito do 3-O-CQA sobre a viabilidade das células em 24h semelhante ao observado em 48h. Em relação às vias de sinalização Csk/Src, em 48h, apesar dos dados serem inconclusivos e mais experimentos serem necessários, o 3-O-CQA e o CFA parecem impactar nessa via de sinalização e afetar a viabilidade de GBs.

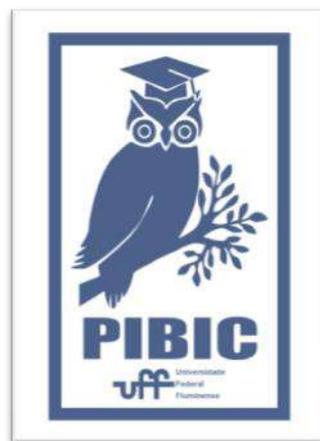
### REFERENCIAS:

1 - Socodato, R. et al. c-Src deactivation by the polyphenol 3-O-caffeoylquinic acid abrogates reactive oxygen species-mediated glutamate release from microglia and neuronal excitotoxicity. *Free Radic. Biol. Med.* 79C, 45–55 (2015)

2 - GARCIA, C.G. Efeitos Do Ácido Cafeico Em Culturas De Glioblastoma Humano. 2017. Tese (Doutorado em Neurociências) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2017.

### AGRADECIMENTOS:

UFF-PROPI, CNPQ-PIBIC





## CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

### AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE E ATIVIDADE CONTRA O VÍRUS ZIKA DE TRIAZÓIS

Guilherme Chaves<sup>1</sup>, Priscilla Esteves<sup>1,2</sup>, Max W. L. Gomes<sup>1,2</sup>, Victória Maranhão<sup>1,2</sup>, Fernanda Macedo<sup>1</sup>, Kíssila Rabelo<sup>3</sup>, Jorge José de Carvalho<sup>3</sup>, Daniel Gonzaga<sup>4</sup>, Carla Eponina<sup>5</sup>, Claudio Cirne-Santos<sup>2</sup>, Izabel Paixão<sup>2</sup> e Caroline Barros<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Imunovirologia, Departamento de Imunobiologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Brazil;

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

<sup>3</sup> Departamento de Química, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, UERJ.

<sup>4</sup> Departamento de Química, UERJ.

<sup>5</sup> Laboratório de Patologia Experimental, Departamento de Imunobiologia, Universidade Federal Fluminense, UFF.

#### 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 da doença é de febre acompanhada de poliartralgia, mialgia, erupção cutânea maculopapular e dor de cabeça (1).

Os arbovírus são transmitidos por artrópodes, mas o ZIKV também pode ser transmitido sexualmente. Em camundongos machos, a infecção pelo ZIKV afeta o sistema reprodutivo (2), danificando os testículos, reduzindo a mobilidade dos espermatozoides e diminuindo os níveis de hormônios sexuais, como a testosterona, o que está relacionado a uma redução na fertilidade (3).

Devido à ausência de tratamentos anti-ZIKV estabelecidos, torna-se de extrema importância o desenvolvimento de agentes antivirais contra o ZIKV (4).

O triazol utilizado no presente projeto possui resultados preliminares de citotoxicidade e atividade antiviral em células Vero. Dessa forma, é de grande importância a continuidade dos testes com essa substância.

O presente trabalho teve o objetivo avaliar as propriedades farmacocinéticas, a toxicidade e a atividade antiviral contra o ZIKV do triazol *in silico*, *in vitro* e em animais experimentais.

#### RESULTADOS E DISCUSSÕES:

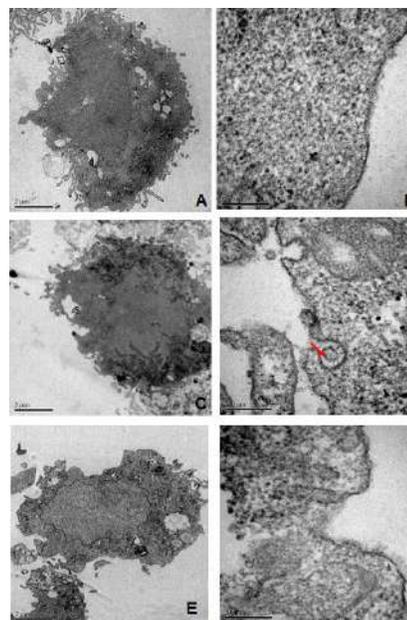
A partir dos experimentos anteriores de citotoxicidade e atividade antiviral *in vitro* a

substância mais promissora, o triazol DP14, foi selecionado para continuidade dos testes. O triazol PD14, foi submetido às análises in silico utilizando o servidor servidor FAF-Drugs4 e admetSAR 2.0.

Os resultados obtidos para o triazol DP14, segundo a análise no servidor admetSAR 2.0, demonstraram média capacidade de penetrar a barreira hematoencefálica, absorção intestinal excelente e segurança média com relação à hepatotoxicidade.

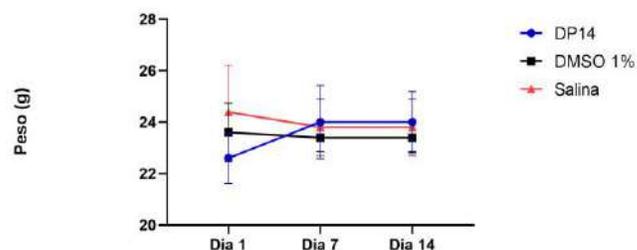
No servidor FAF-Drugs4, a DP14 e a Ribavirina obtiveram um resultado positivo (Bom) para a regra GSK 4\_400. Na regra Pfizer 3\_75, DP14 teve um resultado alarmante devido ao alto LogP ( $\text{LogP} > 3 / \text{LogP} = 3.64$ ), enquanto Ribavirina teve um resultado positivo. Ambas as moléculas não violaram a regra de Lipinski.

Células Vero foram utilizadas para avaliar a atividade antiviral do triazol DP14 na concentração de 20  $\mu\text{M}$  através de microscopia eletrônica de transmissão. A Análise Ultraestrutural demonstrou a presença de partículas virais nas células infectadas com ZIKV e não tratadas. Porém, não foram encontradas partículas virais nas células infectadas com ZIKV e tratadas com o triazol (Figura 1).



**Figura 1:** Análise Ultraestrutural de células VERO - A) e B) Controle de célula em 8000x e 100000x; C) e D) Controle de vírus, 8000x e 100000x; E) e F) Célula infectada com vírus e tratada com DP14, 8000x e 100000x.

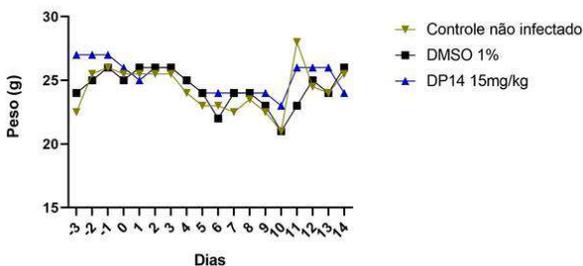
A substância DP14 foi selecionada para a realização do experimento de toxicidade aguda em camundongos BALB/c. Os camundongos foram tratados com 550mg/kg da droga e não apresentaram alteração significativa em seu peso e comportamento (figura 2).



**Figura 2:** 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 a avaliação da eficácia terapêutica foram utilizados camundongos

imunossuprimidos com dexametasona infectados com ZIKV. Foram formados três grupos de animais (n=5): grupo DP14 (15mg/kg) infectado, grupo DMSO1% (veículo) infectado e Grupo não infectado. A evolução ponderal dos animais dos diferentes grupos não demonstrou diferença significativa. Porém, a análise histopatológica dos testículos dos animais mostrou que os animais infectados e tratados com o triazol não apresentaram alterações nesse tecido, assim como os animais do grupo não infectado. No grupo de animais infectados com ZIKV e tratados apenas com o veículo (DMSO 1%) a análise histopatológica dos túbulos seminíferos revelou alterações no desenvolvimento das células típicas da espermatogênese. Corroborando com a literatura que indica a alteração dos testículos em animais infectados por ZIKV (3).



**Figura 3:** Evolução ponderal dos animais tratados imunossuprimidos com dexametasona. A análise estatística foi realizada utilizando o teste 2 WAY ANOVA com pós teste de Dunnett 's, onde foram realizadas comparações múltiplas onde não foram encontradas diferenças entre os grupos (p>0,05).

**CONCLUSÕES:**

De acordo com os resultados obtidos a partir do servidor admetSAR 2.0 e FAF-Drugs4, a DP14 apresentou resultados satisfatórios.

Em ensaios com animais experimentais, o triazol apresentou baixa toxicidade. O ensaio da

eficácia terapêutica do triazol em camundongos imunossuprimidos com dexametasona mostrou que o triazol foi capaz de manter a celularidade e a arquitetura dos testículos preservada.

Dessa forma, é importante continuar os testes para avaliar a toxicidade e eficácia terapêutica do triazol contra o ZIKV em animais infectados.

Tais resultados mostram que o triazol pode ser promissor para 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. Wang, H.-W., et al. Journal of Biomedical Science, 2023. 30(1): p. 1-16.
3. Govero, J., et al., Zika virus infection damages the testes in mice. 2016. 438-442.
4. Qiu HY, et al. Chemical biology & drug design. 2018;91(3):681-90.

**AGRADECIMENTOS:**

Os autores deste trabalho agradecem à FAPERJ, a CAPES, ao CNPq e à PROPPI.

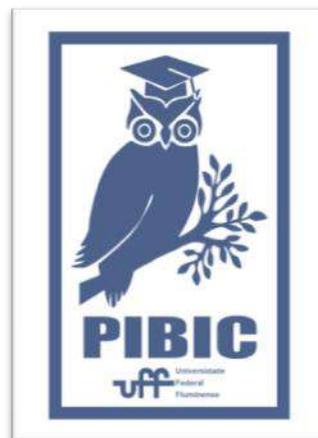


Figura 4: Imagem PIBIC



## CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Caracterização de *Streptococcus agalactiae* isolados de gestantes assistidas no Rio de Janeiro

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 de estreptococo beta-hemolítico, classificada em 10 sorotipos, baseado na diversidade de sua cápsula. A cápsula é o principal fator de virulência e marcador epidemiológico. O EGB é um importante agente de infecções em neonatos. Desde a década de 1970, a espécie é associada a sepse, pneumonia e meningite neonatais. 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<sup>a</sup>-37<sup>a</sup> semanas de gestação e a antibioticoprofilaxia intraparto (API) com penicilina ou alternativas, em parturientes colonizadas por EGB ou que apresentassem fatores de risco. Recomendações posteriores, enfatizam a eficácia dos protocolos de API, baseados na pesquisa de colonização, cujo padrão-ouro é a coleta de secreção vaginal/retal, enriquecimento, cultura em ágar sangue, identificação e antibiograma. No Brasil, tais recomendações não são adotadas de forma universal e há escassez de dados epidemiológicos consolidados. Embora a classe

dos macrolídeos não seja recomendada para a API, cabe destacar que EGB resistentes aos macrolídeos podem apresentar resistência constitutiva ou induzida à clindamicina. Além disso, fluoroquinolonas podem ser usadas no tratamento de infecções por EGB. De maneira geral, *S. agalactiae* se mantém sensível aos antimicrobianos recomendados na terapia e na API, entretanto, ao longo dos anos, tem-se observado redução de sensibilidade ou resistência a certas classes de antimicrobianos, o que lhe confere uma vantagem evolutiva e causa preocupação no meio médico. Considerando tal cenário, o presente estudo teve como objetivo geral a caracterização de amostras bacterianas isoladas de gestantes atendidas em dois hospitais públicos do Rio de Janeiro que prestam assistência ao pré-natal. Os objetivos específicos foram: determinar os tipos capsulares de EGB por abordagem molecular, avaliar o comportamento das amostras frente aos antimicrobianos e investigar os fenótipos e genótipos de resistência aos macrolídeos e lincosamídeos.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Cento e vinte e oito amostras foram identificadas como *S. agalactiae*, a maioria (59,3%) oriunda de secreção vaginal. A identificação da espécie se deu pelos testes de hidrólise do hipurato de sódio e CAMP. Outros testes que também podem ser utilizados são a coloração de Gram e a grupagem sorológica. Neste estudo, a tipificação capsular foi realizada por PCR multiplex e observou-se que os sorotipos Ia (48; 37,5%), III (25; 19,5%), V (23; 17,9%), foram prevalentes (Figura 1). Estudos recentes demonstram que os sorotipos mais frequentes mundialmente são: Ia, Ib, II, III e V.

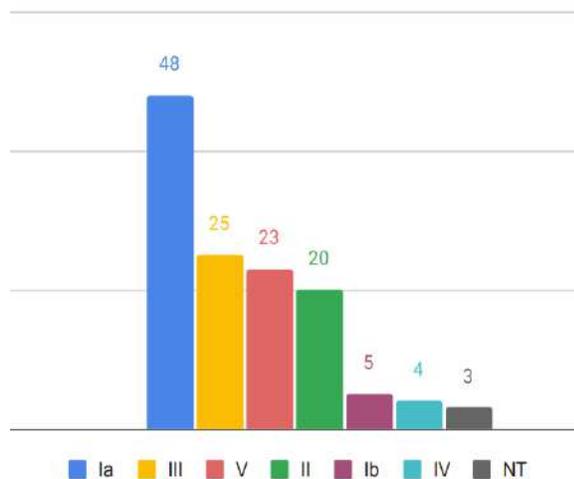


Figura 1: Distribuição dos tipos capsulares predominantes nas amostras de gestantes no período

O perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos foi investigado pelo método de disco-difusão em ágar, de acordo com os critérios estabelecidos pelo CLSI (2023). Todas as amostras foram sensíveis à penicilina e vancomicina. Quatro amostras foram resistentes à levofloxacina e apesar de pouco frequente, a resistência às fluoroquinolonas tem sido descrita por estudos anteriores. Foi encontrada resistência à tetraciclina em 98 (76,5%) amostras. Um total de 33 (25,7%) amostras foram consideradas não-suscetíveis à eritromicina, dentre as quais 8 foram resistentes e 25 intermediárias. Entre estas amostras, 27 (81,8%) apresentaram o fenótipo M, 4 (12,1%) o fenótipo MLSBi e 2 (6,1%) o fenótipo MLSBc. Observou-se que 25 amostras com o fenótipo M apresentaram o produto de amplificação compatível com o gene *mef/A*, enquanto que o gene *ermA* foi detectado em quatro amostras correspondentes ao fenótipo MLSBi e o gene *ermB* foi encontrado em duas amostras correspondentes ao fenótipo MLSBc. Entre a espécie de EGB, o aumento da resistência aos lincosamídeos e macrolídeos tem se mostrado significativo, como observado por vários estudos. Recentemente, EGB foi incluído na lista do CDC de ameaças atuais de resistência aos antibióticos devido a um aumento na detecção resistência à eritromicina e à clindamicina.

## CONCLUSÕES:

- Um total de 128 amostras provenientes de gestantes atendidas nos Serviços de Pré-Natal do HUAP e do IFF, no período entre 2019 e

junho de 2023, foram identificadas de forma presuntiva como *S. agalactiae*.

- Os tipos capsulares mais frequentes encontrados foram: Ia (48; 37,5%), III (25; 19,5%) e V (23; 17,9%), o que se assemelha à distribuição encontrada por estudos anteriores.

- Todas as amostras submetidas ao TSA pelo método de disco-difusão foram uniformemente sensíveis à penicilina e à vancomicina.

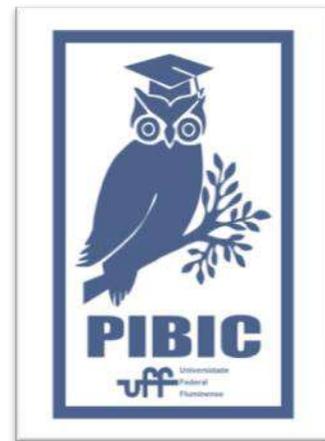
- A resistência à tetraciclina foi observada na maioria das amostras (76,5%) e resistência à levofloxacina foi observada em quatro amostras.

- Um total de 33 (25,7%) amostras não foi suscetível à eritromicina. Foram detectados os seguintes fenótipos de resistência aos macrolídeos: fenótipo M (81,8%), MLS<sub>Bi</sub> (12,1%) e MLS<sub>Bc</sub> (6,1%). Os genes de resistência aos macrolídeos foram associados aos fenótipos detectados.

- A caracterização de amostras de EGB em todo o país, possui relevante papel como forma de auxiliar na elucidação da realidade nacional quanto a colonização materna e a infecção estreptocócica neonatal, contribuindo também para a sua prevenção e tratamento.

## **AGRADECIMENTOS:**

Ao PIBIC/CNPQ pela bolsa de iniciação científica. À FAPERJ, pelo apoio financeiro (Projeto APQ1 211.681).





**Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas**

**TÍTULO DO TRABALHO: BAIXA COBERTURA VACINAL ENTRE ALUNOS DA ÁREA DA SAÚDE DA UFF: ANÁLISE DE POSSÍVEIS FATORES ASSOCIADOS**

**PROJETO: ATITUDES E CONHECIMENTO SOBRE VACINAÇÃO E COBERTURA VACINAL ENTRE ALUNOS DE CURSOS DA ÁREA DA SAÚDE DE UMA INSTITUIÇÃO PÚBLICA DE ENSINO**

Autores: Pedro Barbosa Gomes<sup>1</sup>, Camila Costa dos Santos<sup>1</sup>, Eliza da Costa Pinto<sup>1</sup>, Leonardo Motta de Abreu<sup>1</sup>, Samuel Stoliar de Vilhena Machado<sup>1</sup>, Ana Lorena Lima Ferreira<sup>2</sup>, Gina Peres Lima dos Santos<sup>3</sup>, Silvia Maria Baeta Cavalcanti<sup>3</sup>, Claudia Lamarca Vitral<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Medicina, <sup>2</sup>Instituto de Saúde Coletiva, <sup>3</sup>Departamento de Microbiologia e Parasitologia/Instituto Biomédico/Laboratório de Virologia, Universidade Federal Fluminense

### **INTRODUÇÃO:**

De acordo com a OMS, a hesitação vacinal é uma das maiores ameaças globais à saúde. Esse problema também pode existir entre os profissionais da área da saúde (PAS). Estudos prévios realizados no Brasil mostraram uma baixa cobertura vacinal entre graduandos de cursos das áreas da saúde. Como futuros PAS e modelos a serem seguidos pela população, avaliar seus status vacinais e compreensão sobre as possíveis causas da baixa adesão à vacinação é de suma importância, principalmente durante seus anos de graduação. O objetivo foi avaliar possíveis fatores associados à hesitação vacinal e a baixa cobertura vacinal entre estudantes da área da saúde. Um estudo transversal foi conduzido de julho/2021 a novembro/2022. Em posse do documento vacinal, um total de 645 estudantes, majoritariamente dos 2 primeiros anos de todos os cursos da área da saúde da Universidade Federal Fluminense (UFF), responderam a um questionário com perguntas relacionadas a vacinas e hesitação vacinal. Os registros

vacinais foram checados para as vacinas do adulto (dT, tríplice viral, hepatite B e febre amarela) e para aquelas indicadas para PAS (influenza, hepatite A, varicela e meningocócica). Para investigar a associação entre fatores de hesitação vacinal com a completude das cadernetas de vacinação, foram utilizados testes Qui-quadrado e Exato de Fisher ( $p < 0,05$ ).

### **RESULTADOS E DISCUSSÃO:**

A mediana de idade dos participantes foi de 21 anos e 70,2% era do sexo feminino. Mais de 95% dos estudantes confiam nos benefícios da vacinação, acreditam que as vacinas protegem contra doenças sérias e têm certeza da necessidade de se vacinar. No entanto, apenas 6,7% têm o esquema vacinal recomendado para PAS completo, sem diferença entre os cursos. Este percentual aumenta para 57,2% quando consideradas apenas as vacinas do adulto. Estudantes de medicina apresentaram a maior cobertura vacinal para o esquema do adulto (65,3%), em contraste aos de nutrição (41,5%,  $p = 0,023$ ). Ter dúvidas sobre a necessidade de

se vacinar ( $p=0,024$ ) e o custo das vacinas ( $p=0,024$ ) foi associado com a incompletude do esquema vacinal do adulto. Além disso, não saber como as vacinas são produzidas esteve associado com a incompletude dos esquemas de PAS ( $p=0,001$ ) e do adulto ( $p=0,05$ ). Não foi encontrada nenhuma associação entre a completude das vacinas do PAS e a desconfiança nas vacinas ou o custo delas. A tendência se repete nos dois esquemas vacinais tanto para gênero, quanto para os seguintes fatores: confiança nos benefícios, proteção contra doenças sérias e acesso às vacinas.

### **CONCLUSÕES:**

Estudantes dos cursos da área da saúde apresentam atitudes muito positivas em relação às vacinas. No entanto, seu conhecimento e comprometimento com a vacinação demonstram certas lacunas que devem ser discutidas ao longo de sua formação. 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 têm contato durante a graduação. Fica claro que novas estratégias precisam ser implementadas visando reverter este cenário, a exemplo da solicitação da carteira de vacinação como um dos documentos de matrícula no ingresso da universidade, juntamente com a devida orientação sobre as vacinas que devem possuir. Atividades educativas como as implementadas por este projeto, são essenciais 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





**Grande área do conhecimento:** Ciências Biológicas

**Título do Projeto:** Evolução da família criptocromo/fotoliase em Mollusca: fotorreativação, exposição solar e a adaptação a diferentes hábitos de vida no ambiente marinho

**Autores:** Sophia Manhães Galição Augusto, João Alberto da Luz

Coelho, Victor Corrêa Seixas

**Departamento/Unidade/Laboratório:** Departamento de Biologia Marinha – Instituto de Biologia – Laboratório de Ecologia e Evolução Molecular

## INTRODUÇÃO:

A radiação ultravioleta oriunda da luz solar é um agente mutagênico que leva a formação de dímeros de pirimidina, que podem resultar na alteração de bases e no bloqueio da replicação ou transcrição. A ação direta das fotoliasas é responsável por reparar tais danos, processo conhecido por fotorreativação. Estas proteínas pertencem a família criptocromo/fotoliase, um grupo de flavoproteínas capazes de catalisar reações na presença da luz visível. Filogeneticamente a família pode ser dividida em quatro grupos principais de proteínas: CPD fotoliase classe II, CPD fotoliase classe I/CRY-planta, CRY-DASH, (6-4) fotoliase/CRY- animal. Embora estejam presentes na maioria dos táxons dos diferentes domínios da vida, pouco se sabe sobre o papel destas na evolução dos organismos e seus habitats. Um melhor entendimento nesse campo poderá ajudar a esclarecer por que certas espécies vivem expostas a luz solar, enquanto outras preferem um lugar a sombra. O projeto focou no grupo

Mollusca, um grupo de invertebrados predominantemente marinhos.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Para isso, os seis genes da família criptocromo/fotoliase presentes em metazoários (6-4 PHR, CRY2, CRY1, CRY-DASH, p-like CRY e CPD) foram anotados a partir de genomas disponíveis no NCBI para 34 espécies de Mollusca (10 Bivalvia, 12 Gastropoda e 12 Cephalopoda). As buscas pelos genes foram feitas a partir dos programas *blastn* e *tblastn*, sendo utilizado como isca as sequências dos seis genes já conhecidas para as espécies *Crassostrea gigas* (Bivalve), *Platynereis dumerilii* (Annelida), *Drosophila melanogaster* (Diptera) e *Danio rerio* (Actinopteri). A partir da análise dos resultados dos alinhamentos feitos pelo tBLASTn e pelo GeneWise foi possível inferir o número de cópias de cada um dos genes (6-4 fotoliase, CRY 2, CRY1, CRY-DASH, p-likeCRY, CPD fotoliase) utilizados como isca. Esses dados foram organizados em tabelas 1, 2 e 3. É possível notar que há

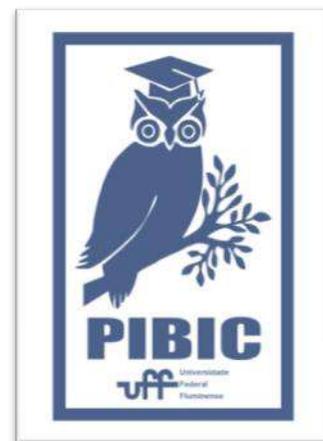
diferença em relação ao número de cópias para os genes quando as três classes de moluscos são comparadas entre si. Outrossim, é possível perceber que parece haver um maior distanciamento dos Cefalópodes em relação a Bivalves e Gastrópodes, estes dois mais similares entre si quanto a presença das diferentes proteínas da família Criptocromo/Fotoliase. Essa constatação vai de encontro ao que se poderia esperar considerando a filogenia que se tem para Mollusca.

### **CONCLUSÕES:**

Foi possível, conforme os resultados apresentados, obter e selecionar genomas de moluscos bivalves, gastrópodes e cefalópodes e anotar a presença dos genes da família criptocromo/fotoliase para as espécies obtidas. Para finalizar o que se propôs, contudo, resta ainda realizar a predição de domínios, estrutura secundária e atividade enzimática; resta também fazer a análise filogenética da família de proteínas; além de verificar a ocorrência de mutações, e descobrir se estão relacionadas aos diferentes hábitos de vida das espécies estudadas.

### **AGRADECIMENTOS:**

Agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Universidade Federal Fluminense (UFF) pela bolsa de Iniciação Científica concedida através do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC).





## Ciências Biológicas

### INDUÇÃO DE OBESIDADE (Ob) E DM2 EM ROEDORES PARA ESTUDOS CORRELACIONADOS A CITOCINAS INFLAMATÓRIAS

Mariana Silva Cytrangulo; Rute Ferreira Carvalho e Carla Eponina de Carvalho Pinto<sup>1</sup>.

1 - Laboratório de Patologia Experimental, LAPE, Dept. de Imunobiologia, Instituto de Biologia - UFF.

#### INTRODUÇÃO

A Ob e a Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) são doenças crônicas multifatoriais que geralmente estão correlacionadas. Os fatores que podem desencadear o desenvolvimento dessas doenças são genéticos e ambientais. O último, apresenta-se predominantemente através de ingestão de alimentos calóricos e estilo de vida sedentário. O Atlas Mundial de Obesidade (2023) cita que o Brasil terá em adultos com um crescimento de 2,8% por ano, e em crianças com o crescimento anual de 4,4%. Clinicamente a DM2 é heterogênea e pode estar associada ao grau de Ob. O tecido adiposo é principalmente composto por dois tipos, branco e marrom. Stolarczyk (2017) diz que ambos apresentam morfologia e funções específicas, sendo o primeiro relacionado ao armazenamento energético e produção de citocinas, enquanto o segundo está essencialmente envolvido com termogênese. Esses tecidos obtêm um papel importante

dentro do quadro de Ob e DM2. O microambiente de um organismo afetado pela Ob e DM2, apresentam a hipertrofia e hiperplasia dos adipócitos, provocando um desequilíbrio na homeostase metabólica do tecido adiposo, aumentando a produção de adipocinas pró- inflamatórias, como o fator de necrose tumoral-alfa (TNF-alfa) e reduzindo a produção de adipocinas anti-inflamatórias, como interleucina-10 (IL-10). Por conseguinte, culminando no processo inflamatório crônico de baixa intensidade. As adoções de dietas hipercalóricas vêm sendo utilizada na indução de Ob e DM2 em animais (SILVA et al., 2020), com similaridades às respostas metabólicas decorrentes dessas doenças em humanos. Portanto, duas linhagens de camundongo C57BL/6 e Swiss têm sido usadas pelo LAPE para a indução experimental. A Ob e DM2 estão sendo relacionadas ao consumo exagerado de carboidratos maléficos à saúde, entre eles o açúcar. Deste modo através da suplementação com açúcar tem sido possível estudar o papel de citocinas no processo inflamatório desenvolvido característico destas doenças.

#### METODOLOGIA

A indução da Ob e DM2 se realiza por 32 semanas. São 15 camundongos fêmeas C57BL/6 e 15 Swiss divididos em 3 grupos: G1, suplementados com açúcar comum, G2, açúcar demerara orgânico, G3, sem suplementação, grupo controle. Considerado dia 0 ou semana 0, o início dos testes. Semanalmente avalia-se o consumo de ração e água quinzenalmente o ganho de peso e mensalmente, a glicemia. Na 31ª semana é realizado gavagem com solução de glicose para elaboração da curva glicêmica.

Na 32ª semana, coleta-se sangue através da veia sub-mandibular para lipidograma. Seguido a eutanasia, realiza-se a necropsia para a retirada de órgãos como, intestinos, pâncreas, baço, linfonodos cervicais, fígado, rins e tecidos adiposos, gonadal, abdominal, cervical e subcutâneo. Estes fixados em formalina 5% e criopreservados no OCT a -80°C. Os fixados em formalina são processados para inclusão em parafina e cortados a 5µ são corados por Hematoxilina-Eosina, Picrossirius Red. Os congelados a -80°C são corados por Sudan Black ou Red. Todos os dados são tabelados e analisados pelo Excel 2023.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O monitoramento quinzenal do peso dos camundongos fêmeas C5BL/6 e Swiss, demonstraram ganho de peso significativo nos grupos G1 e G2, principalmente os das Swiss, quando foram comparados com o grupo G3, provavelmente por serem animais de linhagem heterogênea. Além de, entre os dois açúcares usados, comum e demerara, a diferença do ganho de peso não foi significativo.

Quanto à glicemia, foi notado maior aumento nos três primeiros meses do G1 de ambas as linhagens. Já no grupo G2 da linhagem C5BL/6 observou-se um pequeno aumento no terceiro mês e, logo após, tendeu a diminuir. Nas Swiss o grupo G1 aumentou no decorrer e com algumas variações para mais ou para menos na glicemia. O grupo G2 teve valores mais baixos da glicemia comparados com G1, sugerindo que o açúcar comum é mais hiperglicêmico que o demerara orgânico, mas demonstrou ser também hiperglicêmico. O grupo G3 das fêmeas C57BL/6 mostrou que os animais iniciaram o experimento com índices glicêmicos em torno de 150mg/ml, dia 0, variando nesta média no decorrer dos 8 meses. A linhagem tem como característica ser mais estressada, e

a manipulação no biotério, mudança de técnico, dias nas quais saiam da sala de criação para irem aos procedimentos, contribuiu para alterações no comportamento. As Swiss tinham no dia 0 valores abaixo de 100mg/ml, índice considerado normal, sendo que, no decorrer dos meses de teste, mantiveram uma constância na variação, quando comparadas com o grupo G3. O açúcar, muito utilizado pela indústria de alimentos, é uma fonte de carboidrato de relevante importância para o desenvolvimento de Ob e DM2, o mesmo foi possível de observar nos modelos experimentalmente gerados.

## CONCLUSÕES

Nas fêmeas de camundongos C57BL/6 e Swiss foi demonstrado que os açúcares testados desenvolveram a Ob e uma tendência dos animais a DM2. Portanto, os biomodelos obtidos irão permitir um avanço nos estudos experimentais do processo inflamatório correspondente a díade Obesidade/DM2.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos o apoio financeiro ao CNPq, e a PROPPI-UFF.

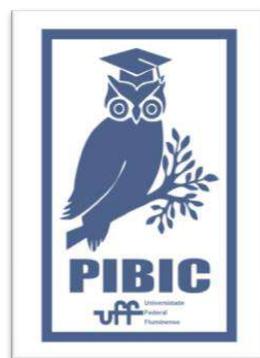


Imagem 1: Imagem PIB





**Grande área do conhecimento:** Ciências Biológicas

**Título do Projeto:** TOXOPLASMOSE E NEOSPOROSE NA CAPRINOCULTURA: DIAGNÓSTICO, EPIDEMIOLOGIA E PREVENÇÃO NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO.

**Autores:** Fernanda da Silva Lopes, Igor Falco Arruda, Maria Regina Reis Amendoeira, Patrícia Riddell Millar

**Departamento/Unidade/Laboratório:** Departamento de Microbiologia e Parasitologia/Instituto Biomédico/Laboratório de Imunoparasitologia do Instituto Biomédico

### INTRODUÇÃO

:

A toxoplasmose é uma zoonose de grande importância em saúde pública. Seu agente etiológico, o protozoário *Toxoplasma gondii*, tem como hospedeiros definitivos os felídeos e hospedeiros intermediários as aves e os mamíferos em geral, incluindo o ser humano. O protozoário *Neospora caninum* é um parasito globalmente distribuído, filogeneticamente próximo à *T. gondii*, que tem o cão doméstico e outros canídeos como hospedeiros definitivos e os mamíferos e aves como hospedeiros intermediários. Diferentemente da toxoplasmose, a neosporose não é considerada uma zoonose embora estudos indiquem a exposição humana ao protozoário. Os caprinos cabras estão dentre as espécies domésticas mais sensíveis à infecção toxoplásmica. Além dos danos causados à saúde animal, a infecção por *T. gondii* em rebanhos caprinos pode causar significativos impactos econômicos para os produtores. Já *N. caninum* é um agente primário de aborto e outros distúrbios reprodutivos em bovinos e pode determinar sinais e sintomas

neuromusculares em cães. Em caprinos, o protozoário pode ser transmitido verticalmente, causando lesões placentárias e episódios de aborto em fêmeas naturalmente infectadas. No estado do Rio de Janeiro o cenário da toxoplasmose e da neosporose em caprinos leiteiros é desconhecido e poucos estudos falam da infecção nesses animais. Desta forma, objetiva-se detectar a infecção por *T. gondii* e *N. caninum* em caprinos leiteiros oriundos de municípios do estado do Rio de Janeiro por meio de técnicas sorológicas, bem como analisar fatores associados.

### RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Entre outubro de 2020 e dezembro de 2022, foram coletadas 460 amostras de sangue em propriedades localizadas nos municípios de Niterói (1), Nova Friburgo (3), Sapucaia (1), Tanguá (1), Valença (1) e Vassouras (1). As amostras de soro obtidas foram submetidas a pesquisa de IgG anti- *T. gondii*, por meio da reação de imunofluorescência indireta (RIFI), e IgG anti- *N. caninum*, por meio do imunoenensaio enzimático (ELISA). Do total de caprinos amostrados, 24.1% (111/460) apresentaram

anticorpos IgG anti- *T. gondii* detectados pela RIFI. Anticorpos contra *N. caninum* foram detectados em 28% (129/460) das amostras de soro dos caprinos por meio do ELISA. Dentre as propriedades, as frequências das infecções variaram de 80.4% a 2.1% para *T. gondii*, e 81.1% a 12.5% para *N. caninum*. Propriedade, sexo, sistema de criação e presença de cães/gatos foram associados à exposição aos coccídios avaliados. Em relação à infecção por *T. gondii*, a associação entre o grupo etário e a maior positividade entre caprinos adultos foi observada.

#### **CONCLUSÕES:**

A soroprevalência da infecção por *N. caninum* (28%) foi discretamente superior à da infecção por *T. gondii* (24.1%) entre caprinos leiteiros criados no estado do Rio de Janeiro. Sexo, propriedade de criação e presença de cães/gatos foram associados à exposição para ambos coccídios estudados. Para reduzir a exposição dos animais aos parasitos causadores da toxoplasmose e neosporose o controle do acesso de animais de companhia às instalações, recintos e/ou áreas de pastagem dos caprinos são potenciais medidas profiláticas para reduzir as taxas de infecção observadas nas propriedades de caprinocultura fluminenses.

#### **AGRADECIMENTOS:**

À equipe técnica do Laboratório de Protozoologia do Instituto Oswaldo Cruz, aos produtores de cabras leiteiras, ao Conselho





**Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas**  
**Título do projeto: Avaliação da atividade antiviral de derivados de enaminoésteres contra o vírus Mayaro**  
**Autores: Thaíssa Fernandes Motta; Natasha Cristina da Rocha; Leonardo dos Santos Corrêa Amorim; Vitor Won-Held Rabelo; Aurea Echevarria Aznar Neves Lima; Izabel Christina Nunes de Palmer Paixão**  
**Departamento/Unidade/Laboratório: Departamento de Biologia Celular e Molecular/Instituto de Biologia/Laboratório de Virologia Molecular e Biotecnologia Marinha**

## INTRODUÇÃO

As arboviroses são doenças causadas por arbovírus que transmitidos por artrópodes. Dentre eles, o vírus Mayaro (MAYV) é transmitido pelos mosquitos *Haemagogus janthinomys*, porém, o vírus também utiliza outros mosquitos como vetores, como os do gênero *Aedes*. Por conta da colonização de áreas urbanizadas pelo *Aedes aegypti*, existe uma ameaça significativa de uma epidemia por esse vírus (DIAGNE et al., 2020).

As manifestações clínicas mais comuns da infecção pelo MAYV são brandas e inespecíficas, porém, casos mais graves já foram relatados, com a ocorrência de complicações neurológicas, miocardite e persistência de artralgia e mialgia, o que afeta drasticamente a qualidade de vida dos pacientes (SAATKAMP et al., 2021; PASCHOALINO M., et al, 2023).

Atualmente, ainda não há vacinas ou fármacos antivirais específicos para o tratamento e prevenção dessa virose, tornando a busca por novos fármacos altamente

necessária (MELLO et al., 2020). Neste contexto, os derivados enaminoésteres são substâncias de grande relevância, considerando que podem apresentar diferentes atividades biológicas, como antitumoral e antiviral (MADKOUR et al., 2010).

Portanto, o objetivo desse trabalho foi avaliar a atividade antiviral de seis derivados de enaminoésteres sintéticos (A-F) frente ao MAYV e prever as propriedades toxicológicas dessas substâncias.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente, para analisar o perfil teórico de segurança dos derivados estudados, estudos *in silico* foram empregados para prever os efeitos mutagênicos, irritantes, carcinogênicos ou sobre o sistema reprodutivo.

Todos os derivados apresentaram baixo risco tóxico para os efeitos analisados, exceto para efeitos reprodutivos. Entretanto, quando comparados com a suramina, fármaco com atividade anti-MAYV *in vitro* utilizado como controle, os derivados de enaminoésteres

apresentaram um perfil toxicológico mais seguro, visto que o fármaco apresentou alto risco mutagênico, irritante e tumorigênico.

Dessa forma, os estudos teóricos indicam que os derivados enaminoésteres apresentam propriedades toxicológicas teóricas melhores em comparação com um fármaco com atividade antiviral *in vitro* contra o MAYV que já está no mercado, mesmo que para outras finalidades terapêuticas, estimulando a continuação dos estudos com esses derivados.

Em seguida, a citotoxicidade dos derivados enaminoésteres foi analisada em células Vero utilizando o método de MTT. Notou-se que, com exceção da substância **F**, todas as outras apresentaram um valor de concentração necessária para reduzir a viabilidade celular em 50% ( $CC_{50}$ ) maior do que 1.000  $\mu\text{M}$ , o que indica que a citotoxicidade é baixa.

Então, a atividade antiviral desses derivados foi avaliada frente à multiplicação do MAYV utilizando uma concentração de 50  $\mu\text{M}$ . Dois derivados de enaminoésteres apresentaram atividade antiviral interessante frente ao MAYV. A substância **B** foi a que apresentou a maior atividade anti-MAYV, apresentando atividade inibitória de 83,33%, seguida pela substância **D** com percentual de inibição de 77,53%, enquanto a suramina inibiu a multiplicação viral em 99,43%. As outras substâncias não apresentaram um percentual inibitório satisfatório, com percentual inferior a 70%.

Por isso, a atividade antiviral das substâncias mais ativas (**B** e **D**) foi analisada em diferentes concentrações para determinar a

concentração necessária para inibir 50% da produção de partículas virais ( $EC_{50}$ ). Os valores de  $EC_{50}$  de **B** e **D** foram de 18,92  $\mu\text{M}$  e 14,52  $\mu\text{M}$ , respectivamente. Comparado com a suramina, estes apresentaram maior atividade, sendo aproximadamente duas vezes mais potentes, visto seu valor de  $EC_{50}$  de 38,97  $\mu\text{M}$ . Da mesma forma, foi calculado o índice de seletividade (IS), onde os valores para as substâncias **B** e **D** foram >52,85 e >68,87, respectivamente. De modo interessante, esses derivados apresentaram maior seletividade e segurança que a suramina (IS > 25,66).

## CONCLUSÕES

Neste trabalho, o potencial antiviral de derivados de enaminoésteres frente ao vírus MAYV foi avaliado utilizando métodos *in silico* e *in vitro*. As substâncias apresentaram perfil teórico de segurança melhor que o fármaco controle. Além disso, os enaminoésteres, especialmente os derivados **B** e **D**, inibiram a multiplicação do MAYV significativamente, além de possuírem uma citotoxicidade baixa e elevada seletividade. Desta forma, esses derivados demonstraram resultados promissores, possuindo potencial como candidatos a fármacos antivirais contra o MAYV.

## AGRADECIMENTOS

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

## REFERÊNCIAS

DIAGNE, C. T. et al. Mayaro Virus Pathogenesis and Transmission Mechanisms. *International Journal of Pathogens*, v. 9, n. 738, p. 1-23, 2020.

MELLO, M.V. P., et al. Antiviral Drug Discovery and Development for Mayaro Fev-r - What do we have so far?. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, v. 20, n. 10, p. 921-928. 2020.

MADKOUR, H. M. F et al. Synthetic utility of enaminoester moiety in heterocyclic synthesis. *European Journal of Chemistry*, v. 1. n. 4, p. 352-359, 2010.

PASCHOALINO M., et al. An update on the development of antiviral against Mayaro virus: from molecules to potential viral targets. *Archives of Microbiology*, *Archives of Microbiology*, v. 205, n. 106. 2023.

SAATKAMP, C. J. et al. Mayaro virus detection in the western region of Pará state, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 54, e0055-2020, 2021.



**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: Diana da Silva Alves; 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 pode ocorrer através da ingestão de frutos do mar contaminados com TBT e/ou através de verduras, legumes ou frutas onde se usam biocidas à base de TBT. Sobre este composto, é sabido que ele inibe a aromatase responsável pela transformação da testosterona em estrogênio em gastrópodes fêmeas, atuando como um desregulador endócrino. Diversos outros 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.

A fim de realizar uma avaliação sobre 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. 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.

Os animais foram eutanasiados no 31º dia para coleta das amostras e realização dos ensaios funcionais. Como anestésico foram utilizados quetamina (100mg/Kg) e xilazina (10mg/Kg).

Após a eutanásia, os tecidos dos animais foram pesados. 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 através do método de Bradford, utilizando um kit (Bio-Rad

Laboratories® Hercules, CA) (Bradford, 1976). Foram utilizados anticorpos anti-NFκ-B, anti-iNOS e anti-SOD, anti-catalase, anti-GPx. (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 foram observadas diferenças significativas no consumo alimentar dos animais tratados com TBT durante o período de 30 dias. Contudo, foi possível observar uma diminuição do peso relativo do coração no grupo TBT ( $0,00277 \pm 0,0003$ ) quando comparado ao grupo controle ( $0,00293 \pm 0,0003$ ). Por sua vez, o grupo TBT mostrou um aumento da gordura epididimária ( $0,01720 \pm 0,0006$ ) quando comparado ao grupo

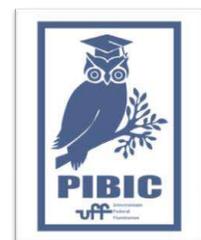
controle ( $0,01531 \pm 0,0005$ ). Em contrapartida, foram observados aumento da expressão das seguintes proteínas no grupo tratado com TBT quando comparado ao grupo controle: NFκB ( $1,494 \pm 0,1126$ ;  $1,949 \pm 0,1079$ ), iNOS ( $1,472 \pm 0,08762$ ;  $2,587 \pm 0,3351$ ), catalase ( $0,6605 \pm 0,2988$ ;  $1,687 \pm 0,1981$ ), respectivamente. Não foram observadas diferenças significativas na expressão das proteínas GPx ( $0,7172 \pm 0,08332$ ;  $0,6101 \pm 0,06530$ ) e SOD ( $1,159 \pm 0,08167$ ;  $1,076 \pm 0,06250$ ).

## 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 da expressão de proteínas relacionadas à inflamação (iNOS), das enzimas antioxidantes (catalase) e de proteínas relacionadas à disfunção cardíaca, como NFκB, SERCA e Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup> ATPase, que podem estar relacionadas a atividades compensatórias do organismo, frente a agressão recebida.

## AGRADECIMENTOS:

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





**Grande área do conhecimento: CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**Título do Projeto: Produtos de pirólise branda no controle de insetos pragas da produção avícola**

**Autores: Samantha Nossar Galiza, Lucca Correa Viana de Oliveira, Alexander Ferreira Ventura de Souza, Gilberto A. Romeiro e Evelize Folly das Chagas**

**Departamento/Unidade/Laboratório: GCM / IB/ LEPP**

**INTRODUÇÃO:** Há muito tempo a produção de alimentos desempenha um papel de grande importância no cenário da economia nacional. O aumento da produção de alimentos está diretamente relacionado a estudos e pesquisas direcionadas ao seguimento em questão.

Um dos grandes problemas deste setor é o controle de parasitas (pragas). O investimento nesse controle junto aos prejuízos causados pelos parasitas gira em torno de bilhões de dólares por ano somente no Brasil. A indústria química vem lançando produtos cada vez mais eficientes e com maior poder residual, que tem levado a danos em ecossistemas e desenvolvimento de resistência de artrópodes. Assim nosso grupo vem buscando novas alternativas no controle de parasitas de acordo com os preceitos da Química Verde e do Desenvolvimento Limpo. E neste ano tivemos a concessão pelo INPI da primeira Patente Verde da UFF (CARTA PATENTE Nº BR 102019007434-5). Onde já mostramos o grande potencial dos produtos de pirólise no controle de insetos.

Neste projeto buscamos de novos produtos para o controle da praga conhecida como

casculinho de importância econômica na produção avícola. Utilizando resíduos de biomassa, convertidos em processo térmico, conhecido como pirólise.

O casculinho *Alphitobius diaperinus* é um inseto que causam grandes prejuízos na produção avícola. É um tenébrio cosmopolita originalmente uma praga secundária de grãos armazenados, é frequentemente associado como a maior praga da avicultura industrial e encontrou nesse habitat – a cama das aves – condições favoráveis ao seu desenvolvimento. Esses besouros afetam o crescimento das aves e são vetores de bactérias, vírus e helmintos de importância sanitária.

Desta forma neste projeto avaliamos a atividade inseticida de derivados de pirólise branda. Traçando assim, novas possibilidades no controle de pragas agropecuárias, com um novo rumo para o futuro desenvolvimento de estratégias mais específicas e eficazes.

## **RESULTADOS E DISCUSSÕES:**

Manutenção da colônia de *A. diaperinus*, foi realizada, conseguindo produzir uma colônia

massal para produzir insetos adultos. Esses adultos então foram utilizados para produção de gerações F1. Essa etapa é fundamental, pois a geração F1, tem o mesmo tempo de vida, permitindo que os experimentos sejam com insetos de mesma idade.

Fizemos conversão térmica da biomassa de licuri (PLI), obtendo 5 frações aquosa, 1 fração oleosa e carvão. Este último não utilizamos em nossos testes. Entretanto não conseguimos quantidade de insetos para teste das frações novas.

Entretanto, avaliamos a eficácia de uma pirólise de licuri com cerca de 2 anos, com o objetivo de observar a mortalidade de *Alphitobius diaperinus* via um teste de contato por papel filtro e comparar com outros resultados. Para a realização do teste foram utilizadas as seis frações aquosas (A1, A2, A3, A4, A5 e A6) e oleosa disponíveis de PLI convertida em abril de 2022. Como modelo, 60 adultos de *A. diaperinus* foram expostos separadamente a cada uma das frações e a observação da mortalidade ocorreu após 24, 48, 72 e 96h após o tratamento. Antes, é importante ressaltar que os aspectos físico-químicos, como pH, densidade e coloração se mantiveram sem diferenças significativas dentro desse período, a conservação foi na geladeira a 4°C. Os parâmetros medidos são: pH = 2,5 ~ 2,9; densidade = 1,1 ~ 1,2 g/mL e a coloração se

mantveu um degrade de marrom avermelhado, conforme a fração vai se aproximando mais da parte oleosa, vai se tornando mais escuro. Na tabela 1 abaixo, observa-se uma mortalidade elevada ao longo de todo o período do teste. As frações intermediárias (A2, A3, A4 e A5) e terminais (A6 e OL) apresentaram um perfil inseticida elevado, superior a 90% de mortalidade

Após esse teste, começamos um novo teste com uma biomassa diferente, a CDB, testes estes realizados com as larvas de *A. diaperinus*. A manutenção da colônia dos insetos e o método de aplicação foram o mesmo dos testes com o licuri para manter o padrão. A pirólise do CDB originou 4 frações 3 aquosas (CDB 1, CDB 2, CDB 3) e 1 oleosa (CDB OL).

Os testes com o CDB foram realizados com a concentração de 30%, que é a maior concentração padrão para produtos de pirólise. Sendo que não demonstraram uma mortalidade alta, com o máximo de mortalidade atingido pelo tratamento com a CDB 1 que apresentou 30,0% após 96 horas.

**CONCLUSÕES:** A biomassa PLI apresentou resultados excelentes contra o *Alphitobius diaperinus*, com cinco das seis frações totais apresentando mortalidade acima de 90%, mostrando que trata-se de uma biomassa com

muito potencial inseticida contra pragas agrícolas.

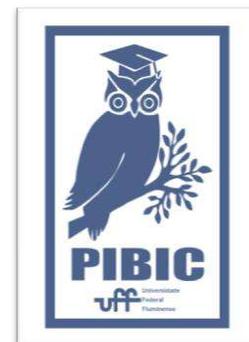
Por outro lado, a biomassa CDB apresentou resultados muito abaixo do esperado, com a maior mortalidade sendo de 30%, o que a descarta para o uso no controle de pragas.

Mais testes com diferentes matérias orgânicas se fazem necessários, pois podemos observar que existem potenciais produtos interessantes para o objetivo final deste projeto, mas que variam de acordo com o material utilizado.

A biomassa CDB foi fornecida pela empresa parceira FUMEL LTDA. Estamos padronizando a conversão dessa biomassa de acordo com a carta patente do grupo (Folly et al, 2021). Os primeiros testes com o cascudinho resolvemos fazer com as larvas, pois é uma fase muito resistente do ciclo de vida dessa praga. Infelizmente os resultados não foram bons, visto que uma mortalidade perto de 30%, não chega aos parâmetros mínimos exigidos para desenvolvimento de inseticidas.

**AGRADECIMENTOS:** Os autores agradecem FAPERJ, CAPES, FOPESQ-UFF, pelo apoio financeiro.

E apoio no desenvolvimento deste trabalho da empresa FUMEL Ltda.





**Ciências Biológicas**

**CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO PROTEICA E SUA INFLUÊNCIA NA RESPOSTA INFLAMATÓRIA INTESTINAL ANTÍGENO ESPECÍFICA EXPERIMENTAL**

**Luiza Espindola Serrano, João Ricardo Almeida Soares, Bárbara Oliveira Marmello, Sônia Kristy Pinto Melo Rodrigues, Gerlinde Agate Platais Brasil Teixeira**

**Departamento de Imunobiologia/ Instituto de Biologia/  
Laboratório do Grupo de Imunologia Gastrointestinal**

**INTRODUÇÃO:**

Durante a passagem pelo trato gastrointestinal o alimento é processado em diversas condições de pH e enzimas digestórias gerando moléculas cada vez menores de modo que possam ser absorvidas. Essa absorção, que ocorre sobretudo no sistema gastrointestinal – ambiente mais rico em linfócitos do organismo – impacta as células que o compõe. Como consequência observamos reações imunomediadas diametralmente opostas, com ou sem inflamação, denominadas respectivamente de alergia alimentar e de tolerância de mucosa. Assim, conhecer fatores que influenciam a extração das proteínas alimentares, seu grau de antigenicidade e seus impactos na mucosa intestinal são importantes. A nossa hipótese científica é que a indução experimental da alergia alimentar ao amendoim é influenciada pelo perfil proteico do respectivo extrato. O objetivo deste trabalho foi analisar a influência das condições de extração proteica de amendoim no perfil antigênico e de

sensibilização e resposta inflamatória intestinal antígeno específica experimental.

**RESULTADOS E DISCUSSÕES:**

A eficiência na capacidade de extração de cada tampão a partir das sementes do amendoim foi determinada através da técnica de Lowry. As concentrações proteicas obtidas com a utilização dos três tampões de extração são diferentes entre si para o amendoim ( $p < 0,05$ ) excetuando a comparação entre os extratos obtidos com TC e TT/HCl. Entre os três tampões, o TB apresenta a maior capacidade de extração proteica (EBA-TB – 25,77 mg/mL) seguido pelo TT/HCl (EBA-TT/HCl – 12,43 mg/mL). O TC é o que possui menor eficiência entre os três tampões analisados (EBA-TC – 10,03 mg/mL)

Foi efetuada a eletroforese dos 3 extratos para visualizar as bandas proteicas (Figura 4). Os diferentes tampões de extração geraram soluções proteicas distintas também no perfil eletroforético. Há uma semelhança no perfil dos

extratos obtidos com TB e TT/HCl sendo que os dois possuem capacidade de extração dos peptídeos de alto e baixo peso molecular. O perfil das bandas do extrato obtido com TC é o que apresenta menor capacidade de solubilização das bandas.

Na verificação da reatividade dos soros obtidos através das imunizações com os diferentes tipos de extrato pela técnica de ELISA, foi possível notar que o padrão de resposta varia dependendo do tipo de solução tampão usado na confecção do extrato. A primeira análise feita foi a comparação dos títulos de IgG anti-amendoim dos grupos experimentais em relação ao grupo Controle Negativo. Todos os 6 grupos experimentais apresentaram títulos de IgG significativamente maiores em comparação com os títulos de IgG controle negativo, evidenciando assim que os grupos experimentais desenvolveram alergia IgG-mediada como esperado.

Ao analisar o percentual de Linfócitos B CD19+CD21+ em amostras de linfonodo mesentérico e baço em camundongos C57BL/6 e Balb/c, o percentual dessa população varia de acordo com o extrato utilizado na sensibilização. Os camundongos sensibilizados com EBA-TB apresentam maior percentual dessa população em amostras de baço da linhagem C57BL/6 e em amostras de linfonodo mesentérico da linhagem Balb/c e camundongos sensibilizados com EBA-TT/HCl apresentam maior percentual dessa população em amostras de linfonodo mesentérico da linhagem C57BL/6 e amostras de baço da linhagem Balb/c.

Ao analisar o percentual de linfócitos T CD4+CD25+FOXP3+ em amostra de linfonodo

mesentérico e baço de camundongos das linhagens C57BL/6 e Balb/c, os camundongos sensibilizados com EBA-TT/HCl apresentam maior percentual de linfócitos T CD4+CD25+FOXP3+ em relação aos outros grupos sensibilizados nas amostras de linfonodo mesentérico em ambas as linhagens e nas amostras de baço da linhagem C57BL/6. Já nas amostras de baço da linhagem Balb/c, o grupo sensibilizado com EBA-TC apresenta maior percentual dessa população na comparação com os outros grupos sensibilizados. Ao analisar o percentual de linfócitos T CD8+CD25+FOXP3+, os animais sensibilizados com EBA-TC apresentam maior percentual dessa população em relação aos outros grupos sensibilizados nas amostras de linfonodo mesentérico em ambas as linhagens. Já nas amostras de baço, os grupos sensibilizados com EBA-TT/HCl apresentam maior percentual dessa população em relação aos outros grupos sensibilizados.

A partir da observação das lâminas escaneadas, (na avaliação dos parâmetros analisados (número de vilosidades, área das vilosidades, relação altura/largura das vilosidades, relação enterócitos/leucócitos intraepiteliais e relação enterócitos/células caliciformes), não foram verificadas diferenças significativas nas comparações desses parâmetros entre os grupos sensibilizados dentro da mesma linhagem.

Comparando as duas linhagens utilizadas foram identificadas diferenças significativas apenas na comparação da relação enterócitos/leucócitos intraepiteliais entre os grupos sensibilizados com EBA-TC e com EBA-TT/HCl ( $p < 0,05$ ) (Figura 10 D) e na comparação da relação enterócitos/células caliciformes nos grupos sensibilizados com EBA-TB e EBA-TC ( $p < 0,05$ ).

### **CONCLUSÕES:**

O perfil proteico do extrato de amendoim é influenciado pelo pH do tampão de extração que por sua vez influencia na alergenicidade (reatividade humoral testada in vitro) no entanto o perfil linfocitário e o grau de inflamação intestinal não são influenciados pela forma de sensibilização quando o animal se alimenta da semente in natura. Como perspectiva será importante verificar a influência do consumo de extratos proteicos, a exemplo dos leites vegetais, na reatividade biológica.

### **AGRADECIMENTOS:**

Agradeço a minha orientadora Gerlinda Teixeira e a todos do laboratório do GIG-UFF por todo apoio necessário para realização deste trabalho. A Capes, CNPq, FAPERJ e Proppi pelo suporte financeiro.

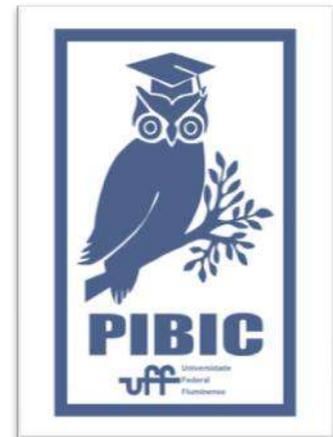


Imagem 1: Imagem PIBIC



**Grande área do conhecimento: CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**Título do Projeto: AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE**

**IMUNOMODULADORA DAS FRAÇÕES DO EXTRATO BRUTO DE SEMENTES DE *POUTERIA CAIMITO* (RUIZ E PAV.)RALDK**

**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* (Ruiz & Pavon) Raldk é uma árvore frutífera da família Sapotaceae, (ALVES-ARAÚJO *et al.*, 2020) nativa da Amazônia Central e da Mata Atlântica costeira do Brasil e, (SOUZA & LORENZI, 2008) é encontrada de Pernambuco ao Rio de Janeiro. Segundo a literatura, o gênero *Pouteria* é eficaz para o tratamento de inúmeras doenças como diabetes, câncer e micróbicas. Diversos estudos demonstram que estas plantas apresentam resultados promissores como imunomoduladores, anti-inflamatório, cicatrizante, neuroprotetor, antioxidante e hepatoprotetora, podendo e merecendo ser melhor investigada quanto a esses potenciais. (ALMEIDA, *et al.*, 2020) Em estudos recentes realizados em nosso laboratório verificamos que o extrato bruto da semente de *Pouteria caimito*, conhecida popularmente como abiu, apresenta atividade hemaglutinante, antifúngica contra

espécies de *Cândida* e ao ser administrada em camundongos por uma única vez, nas concentrações de 1000 a 2000 ug/kg, pela via intraperitoneal, foi capaz de induzir uma leucopenia transitória nos animais testados. Acredita-se que a redução de leucócitos circulantes seja devido a redução da demanda de leucócitos da medula óssea/e ou da circulação periférica. É importante ressaltar que a leucopenia é um efeito adverso, verificado em diversos agentes anti-inflamatórios. O perfil proteico do extrato bruto de semente *P. Caimito* foi analisado por eletroforese revelou a presença de três bandas com peso molecular entre 14 a 60 kDa. Com isso, seria de grande importância o isolamento, caracterização química e o estudo da(s) função(ões) biológica(s) dos componentes do extrato bruto de *Pouteria caimito* (Ruiz & Pavon) Raldk e verificar sua possível aplicação na área médica

como agente anti-inflamatório e imunomodulador.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES:

O extrato total preparado com a farinha de sementes de *Pouteria caimito* foi adicionado à coluna de cromatografia Sephadex<sup>®</sup> G-50 e foram obtidas 55 frações de 3m mL. O conteúdo proteico das frações foi determinado pelo reagente de Bradford e avaliada atividade sobre suspensões de hemácias de camundongo e humanas dos tipos A, B ou O. As frações obtidas após a cromatografia líquida de exclusão molecular foram submetidas a separação eletroforética em gel de poliacrilamida 12% para análise do perfil proteico. As frações portadoras de atividade hemolítica eram majoritariamente frações de média a baixa massa molecular, enquanto, as frações hemaglutinantes continham massa molecular acima de 60 kDa. A atividade hemaglutinante foi das frações foi inibida na concentração inibitória mínima (CIM) de 6,25 mM por D-galactose. Surpreendentemente foi observado que suspensões de hemácia de camundongo previamente sensibilizadas com concentração subaglutinante foram capazes de aderir à superfícies de macrófagos peritoneais de camundongo, sugerindo atuar como opsoninas. Ao avaliar o efeito das frações na imunização de camundongos com ovoalbumina de galinha (OVA) verificou-se que as frações hemolíticas, ao contrário das hemaglutinantes, foram capazes de inibir a produção de anticorpos IgG anti-OVA. O

extrato total preparado com a farinha de sementes de *Pouteria caimito* foi adicionado à coluna de cromatografia Sephadex<sup>®</sup> G-50 e foram obtidas 55 frações de 3m mL. O conteúdo proteico das frações foi determinado pelo reagente de Bradford e avaliada atividade sobre suspensões de hemácias de camundongo e humanas dos tipos A, B ou O. As frações obtidas após a cromatografia líquida de exclusão molecular foram submetidas a separação eletroforética em gel de poliacrilamida 12% para análise do perfil proteico. As frações portadoras de atividade hemolítica eram majoritariamente frações de média a baixa massa molecular, enquanto, as frações hemaglutinantes continham massa molecular acima de 60 kDa. A atividade hemaglutinante foi das frações foi inibida na concentração inibitória mínima (CIM) de 6,25 mM por D-galactose. Surpreendentemente foi observado que suspensões de hemácia de camundongo previamente sensibilizadas com concentração subaglutinante foram capazes de aderir à superfícies de macrófagos peritoneais de camundongo, sugerindo atuar como opsoninas. Ao avaliar o efeito das frações na imunização de camundongos com ovoalbumina de galinha (OVA) verificou-se que as frações hemolíticas, ao contrário das hemaglutinantes, foram capazes de inibir a produção de anticorpos IgG anti-OVA.

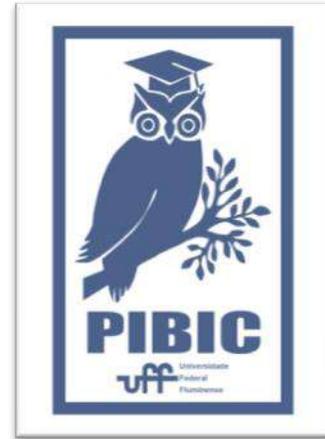
## CONCLUSÕES:

No presente estudo realizamos o fracionamento do extrato bruto de semente de *P.*

*caimito* por cromatografia líquida de exclusão molecular. Obtivemos predominantemente duas frações: hemolítica que apresentava atividade supressora da resposta imunológica humoral e hemaglutinante com capacidade de ligar à superfície de macrófagos peritoneais de camundongo. Estudos complementares estão sendo planejados para avaliar a natureza e o efeito da interação das hemácias à superfície de macrófagos.

#### **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

**Bloqueio da enzima de degradação de anandamida (FAAH) aumenta o número de células positivas para recoverina em modelo murino de retinose pigmentar RD10.**

**Jesus, M. C. S. , Magalhães, C. F. , Fragel-Madeira, L.,**

**Departamento de Neurobiologia, Instituto de Biologia, sala**

**419 - UFF**

### **INTRODUÇÃO:**

A retina, localizada na parte posterior do olho é um tecido altamente especializado, pertencente ao Sistema Nervoso Central (SNC), é na retina que as células fotorreceptoras vão realizar sua função de detectar a luz e transformá-la em sinais elétricos que são transmitidos ao cérebro. Diversos fatores biológicos, como o envelhecimento, defeitos genéticos e doenças podem comprometer a visão, de maneira que prejudique as atividades cotidianas., sendo responsável pela detecção visual. Nosso estudo apresenta o foco na retinose pigmentar (RP), uma doença neurodegenerativa hereditária, causada pela perda de células fotorreceptoras da retina, levando à perda progressiva da visão. Assim, estudos têm mostrado que o sistema endocanabinoide desempenha um papel importante na regulação da função visual e na proteção da retina contra danos. Esse sistema age como neuromodulador, composto por receptores que são ativados por ligantes endógenos, sendo os mais estudados araquidonoil etanolamida (anandamida) e o 2-araquidonoilglicerol (2-AG). Estes interagem sob demanda, por isso possuem enzimas específicas de síntese e degradação.

Resultados prévios do nosso grupo demonstraram que injeções intraperitoneais diárias de inibidor da hidrolase de amida de ácido graxo (FAAH), URB597, na dose de 0,3 mg/kg, iniciando no 14º dia pós-natal (P14) até o P19, aumentaram o número de células fotorreceptoras periféricas, apesar de não alterarem o número dessas células na área central.

Neste estudo, apresentamos o objetivo de analisar se o tratamento agudo com bloqueio *in vivo* da FAAH por meio de injeção intravítrea também pode levar ao efeito neuroprotetor em um modelo murino de retinose pigmentar, o PDE6βrd10/rd10 (RD10).

### **RESULTADOS E DISCUSSÕES:**

Projeto aprovado pelo CEUA-UFF sob o número 1464280219. Camundongos RD10 no 18º dia pós-natal (P18), no início da degeneração dos fotorreceptores, foram anestesiados por meio de injeção intraperitoneal de cetamina e xilazina (75mg/kg e 7,5mg/kg, respectivamente). Foi, então, realizado uma injeção intravítrea de 1µl da diluição do inibidor de FAAH, URB597, nas concentrações de 30 nM e 100 nM. O fármaco foi diluído em 0,1M de PBS:DMSO (0,01%) e o

grupo de controle foi tratado com PBS:DMSO (0,01%). O material histológico foi coletado 24 horas após o tratamento seguido pelo processamento histológico. As retinas foram imunomarcadas e os fotorreceptores positivos para recoverina foram contados a partir de fotomicrografias das regiões central e periférica dessas retinas, através do programa ImageJ. Os ensaios foram realizados em quatro experimentos individuais, e os dados são apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média.

O número de células recoverina-positivas por toda extensão da retina não apresentou diferença significativa entre o controle e os grupos tratados (CTR=  $516.2 \pm 26.99$ ; 30nM=  $602.1 \pm 51.13$ ; 100nM=  $644.8 \pm 52.84$ ). Contudo, quando analisados individualmente, nas áreas de centro e periferia da retina, foi possível observar um aumento de células recoverina positiva na região central na maior concentração de URB597 (CTR=  $470.5 \pm 25.64$ ; 30nM=  $598.6 \pm 49.09$ ; 100nM=  $615.4 \pm 46.28$ ;  $p = 0.05$ ) mas não na região da periferia (CTR=  $522.1 \pm 33.25$ ; 30nM=  $610.3 \pm 76.38$ ; 100nM=  $668.7 \pm 67.93$ ).

Em seguida, analisamos a espessura da CNE, tanto na retina total quanto separando em centro e periferia, para comprovarmos o aumento desses tipos celulares após o tratamento com URB597. Na retina total foi possível aferir uma tendência de aumento da espessura da CNE no tratamento com 100nM de URB597 (CTR:  $25.9 \pm 0.15$ ; 30 nM:  $25.9 \pm 2.00$ ; 100 nM:  $32.2 \pm 8.80$ ). Analisando individualmente cada área da retina, tanto o centro (CTR:  $21.95 \pm 0.05$ ;

30nM:  $25.15 \pm 1.35$ ; 100 nM:  $31.5 \pm 9.00$ ) como a periferia (CTR:  $29.45 \pm 0.85$ ; 30nM:  $26.45 \pm 5.25$ ; 100nM:  $33.05 \pm 8.35$ ), podemos observar uma tendência a aumento da espessura principalmente no grupo de 100 nM URB597 em ambas as regiões da retina. Tais dados reiteram que a ativação do sistema endocanabinoide pode influenciar no atraso da degeneração dos fotorreceptores.

A morte celular programada dos fotorreceptores é uma característica presente nos modelos rd, apesar de ainda não estar muito claro quais as vias apoptóticas de fato levam a degeneração dessas células (COTTET; SCHORDERET, 2015). Como dito anteriormente, em P18-P19 é possível observar o início da degeneração dos fotorreceptores nos animais RD10. Dados prévios do grupo, através do método de citometria de fluxo, mostrou que estes animais, em P19, possuem 26,2% de fotorreceptores em apoptose (MAGALHÃES, 2020). Como foi observado que o tratamento de injeção intravítrea com o URB597 tem uma tendência a aumentar o número de fotorreceptores, investigamos se ocorreu, então, uma diminuição no número de células recoverina-positivas em apoptose.

Ao quantificarmos as células TUNEL positivas foi visto que o tratamento com 100 nM URB597 apresentou uma possível diminuição de fotorreceptores em apoptose, em toda extensão da retina, quando comparada ao controle, enquanto o grupo 30nM não aparentou diferença (CTR:  $55,15 \pm 0,65$ ; 30nM:  $56,55 \pm 2,45$ ; 100nM:  $3,05 \pm 3,05$ ).

Posteriormente, analisamos as distintas áreas da retina no grupo controle e nos grupos tratados. No centro não foi observado diferença entre o grupo controle e de 30nM URB597. Porém, ao analisarmos o grupo tratado com 100 nM URB597 pode-se inferir uma possível diferença do número de células apoptóticas comparado ao controle nessa região (CTR:  $77,38 \pm 5,65$ ; 30 nM:  $71,40 \pm 2,45$ ; 100nM:  $4,90 \pm 4,90$ ). A área da periferia também segue o mesmo padrão observado no centro, com uma possível diferença entre controle e o grupo tratado com URB597 100nM (CTR:  $48,03 \pm 7,75$ ; 30nM:  $46,80 \pm 7,30$ ; 100 nM:  $1,25 \pm 1,25$ ). Esses dados sugerem que o bloqueio da enzima FAAH, pela injeção intravítrea de URB597 na concentração de 100nM, pode apresentar efeito neuroprotetor na retina total de camundongos RD10, através do bloqueio da apoptose de fotorreceptores na CNE.

Dessa forma, o tratamento com injeção intravítrea diminui a absorção sistêmica e, conseqüentemente, os efeitos sistêmicos que podem ser gerados pela injeção intraperitoneal. Nessa perspectiva, esse método apresenta maior biodisponibilidade do fármaco para o tecido retiniano. Assim, ao realizar a injeção no humor vítreo, foi possível observar uma tendência de ação neuroprotetora no centro, e na periferia da retina.

#### **CONCLUSÕES:**

Portanto, nossos resultados sugerem que o bloqueio da enzima degradação de FAAH, por meio de injeção intravítrea de URB597, apresentou um efeito neuroprotetor na

degeneração dos fotorreceptores no modelo murino de retinose pigmentar.

#### **AGRADECIMENTOS:**

Agradecemos ao apoio financeiro atribuído pelos órgãos CAPES, CNPq, FAPERJ e UFF.



## CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

### AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DE ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE O CONTROLE BIOLÓGICO DE PALEMBUS DERMESTOIDES (FARMAIRE, 1893)

DANDARA PIRES VALLE<sup>1</sup>; MARIA DENISE FEDER<sup>1</sup>

LABORATÓRIO DE BIOLOGIA DE INSETOS (LABI-UFF)<sup>1</sup>

#### INTRODUÇÃO:

Os óleos essenciais são um conjunto de metabólitos secundários produzidos pelas plantas, em todos os seus órgãos: raízes, caules, galhos, folhas, frutos e sementes. Se caracterizam por exercerem determinadas funções que não estão diretamente ligadas aos processos metabólicos, mas que igualmente são determinantes para a sobrevivência

De acordo com PLATA-RUEDA et al. (2020), através do contato, ingestão ou fumigação, além da letalidade ocasionada pela ação inseticida, os insetos podem apresentar mal funcionamento do sistema respiratório e sistema nervoso, repulsão e inibição da alimentação dos insetos. Devido a essa potencialidade, os metabólitos secundários extraídos de plantas podem ser alternativas para controle de insetos. Em comparação aos inseticidas convencionais, não contaminam solos, água e alimentos.

*Ocimum basilicum* (LINNAEUS) pertence à família Lamiaceae e é nativa da Índia. O gênero *Ocimum*, agrupa cerca de 150 espécies. *Ocimum basilicum* habita áreas

tropicais da Ásia, África, América Central e do Sul. É uma planta aromática, cujo óleo essencial é amplamente utilizado (ÖZCAN e CHALCHAT, 2002).

*Syzygium aromaticum* (LINNAEUS) pertence à família Myrtaceae, é uma planta aromática produtora de óleo essencial em suas folhas, caule e botões florais. É nativa da Indonésia, porém também é cultivada na Índia, Paquistão, Madagascar, Zanzibar, Sri Lanka e Tanzânia.

A espécie *Ulomoides dermestoides* (FAIRMAIRE, 1893) pertence a classe Coleoptera, família Tenebrionidae (CRESPO, R. et al. 2011). De acordo com PLATA-RUEDA A. et al. (2020), *U. dermestoides* é um inseto praga de produtos armazenados, especificamente grãos, como aveia e amendoim.

#### MATERIAIS E MÉTODOS:

Os testes de contato com *O. basilicum* em *U. dermestoides* foram realizados com uso de 24 placas de petri, com 10 insetos cada, destinadas aos diferentes tratamentos em triplicata: controle negativo (sem óleo essencial e sem o diluidor- acetona); solvente (acetona

apenas); óleo essencial (puro); 500 mg/ml; 250 mg/ml; 125 mg/ml; 62,5 mg/ml; 31,25 mg/ml. Os tratamentos nos experimentos com *S. aromaticum* foram: óleo puro, controle positivo e negativo. Foram distribuídos 2µl em 6 pontos das placas, 3 séries de 3, totalizando 18µl de óleo essencial puro, acetona ou diluições, a depender do tratamento. A seleção dos insetos adultos foi realizada de modo aleatório. Para experimento com as larvas utilizando *O. basilicum*, 400 adultos foram separados por 30 dias, a fim de produzir larvas com mesmo estágio larval.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Em relação aos experimentos utilizando *O. basilicum*, os tratamentos com óleo puro, com as concentrações de 500 mg/ml e 250 mg/ml obtiveram mortalidade significativa dos insetos adultos. Ao final do terceiro dia, 100% dos insetos tratados com óleo puro morreram, assim como os tratados com óleo diluído em acetona na concentração de 500 mg/ml. No quarto dia, 100% dos insetos tratados com óleo diluído em acetona na concentração de 250 mg/ml morreram. A porcentagem da mortalidade relativa as placas de concentração de 125 mg/ml alcançaram 60% no nono dia e assim manteve até o final dos 23 dias. Pode-se observar uma queda da mortalidade a partir da concentração de 125 mg/ml.

Os tratamentos que obtiveram maior porcentagem de mortalidade quando realizados com as larvas foram com óleo puro, concentração de 500 mg/ml, 250 mg/ml e 125 mg/ml, alcançando o resultado de 73,33%, 90,00%, 76,67% e 76,67% respectivamente.

O trabalho de Magalhães *et al.* (2015) também demonstrou atividade inseticida de *O. basilicum*, porém sobre *Tribolium castaneum*. *O. basilicum* também causou mortalidade de *Sitophilus zeamais*, observada por Moura *et al.* (2021).

O óleo puro de *S. aromaticum* no teste de contato em adultos de *U. dermestoides* ocasionou uma porcentagem de mortalidade significativa em um curto período de tempo, alcançando 100% no oitavo dia após o tratamento. Os controles negativo e positivo obtiveram baixa porcentagem de mortalidade até o final do experimento, alcançando no oitavo dia 20% e 30% respectivamente.

Esta potencialidade do óleo essencial de cravo já foi observada em outros experimentos em que foram utilizadas outras espécies de insetos, como a *Musca doméstica* L. (MATOS *et al.* 2020)

## CONCLUSÕES:

Ambos os óleos essenciais *O. basilicum* e *S. aromaticum* demonstraram ter potencialidade no controle de *U. dermestoides*. O óleo essencial de manjerição *O. basilicum* demonstrou ser eficiente no controle tanto de adultos quanto larvas quando puro ou em concentrações mais altas. *Syzygium aromaticum* quando puro demonstrou ser eficiente no controle de adultos de *U. dermestoides*. Mais estudos relacionados a esses óleos essenciais e *U. dermestoides* são necessários para ampliar o arcabouço de conhecimento acerca da atividade bioinseticida a fim de possibilitar a utilização no controle de pragas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

Crespo, R. *et al.* (2011). Cytotoxic and genotoxic effects of defence secretion of *Ulomoides dermestoides* on A549 cells. **Journal of Ethnopharmacology**, 136(1), 204-209. doi:10.1016/j.jep.2011.04.056

Magalhães, C. R. I. *et al.* (2015). Potencial inseticida de óleos essenciais sobre *Tribolium castaneum* em milho armazenado. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, 17(4), 1150-1158.

Matos, L. F. *et al.* (2020). Chemical composition and insecticidal effect of essential oils from *Illicium verum* and *Eugenia caryophyllus* on *Callosobruchus maculatus* in cowpea. **Industrial Crops & Products**, 145, 1-7.

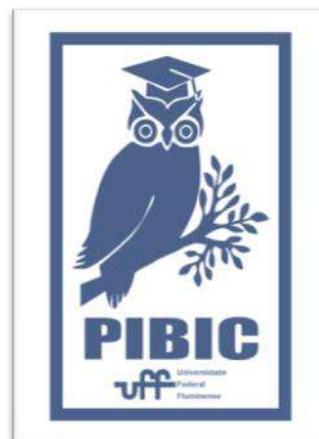
Moura, E. S. *et al.* (2021). Toxicological Stability of *Ocimum basilicum* Essential Oil and Its Major Components in the Control of *Sitophilus zeamais*. **Molecules**, 26, 1-11. <https://doi.org/10.3390/molecules26216483>

Özcan, M.; Chalchat, J.-C. (2002). Essential oil composition of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum minimum* L. in Turkey. **Czech J. Food Sci.**, 20, 223–228.

Plata-Rueda, A. *et al.* (2020). Insecticidal and repellent activities of *Cymbopogon citratus* (Poaceae) essential oil and its terpenoids (citral and geranyl acetate) against *Ulomoides dermestoides*. **Crop Protection**, 137(1), 1-31. doi:10.1016/j.cropro.2020.105299

## AGRADECIMENTOS:

PIBIC/CNPq e PROPPI





## CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

### EFEITO DE DERIVADOS DE POLIGODIAL COM ATIVIDADE ANTICÂNCER EM MODELOS DE GLIOBLASTOMA IN VITRO - NA/K-ATPASE COMO ALVO.

MARINHO, B.A.M.; SANTOS, C. S.; GONÇALVES-DE-ALBUQUERQUE, CF; BURTH, P.

Departamento de Biologia Celular e Molecular/ Instituto de Biologia /Laboratório de Enzimologia e Sinalização Celular

#### INTRODUÇÃO:

No Brasil, o câncer ocupa a segunda posição como principal causa de morte por doença, e é previsto um aumento significativo de casos até 2030, devido ao envelhecimento da população. As mutações genéticas e alterações epigenéticas desempenham um papel crucial na formação do câncer, incluindo os gliomas, que constituem a grande maioria dos tumores que afetam o Sistema Nervoso Central.

Apesar dos tratamentos convencionais, como cirurgia, radioterapia e quimioterapia, a maioria dos gliomas apresenta resistência ao tratamento, resultando em taxas elevadas de mortalidade. O glioblastoma multiforme (GBM), o tipo mais agressivo de astrocitoma, pode ser distinguido pelo seu perfil epigenético. O tratamento desses tumores é desafiador devido à resistência das células cancerosas e à dificuldade dos medicamentos atravessarem a barreira hematoencefálica.

A NKA, para além da sua função primordial no transporte de íons, participa em várias funções celulares, tornando-se um alvo promissor no

tratamento do câncer. Compostos que visam a NKA, como os esteroides cardiotônicos, estão atualmente sob investigação como potenciais agentes anticâncer. A NKA emerge como um alvo terapêutico promissor no tratamento de glioblastomas e de outros tipos de câncer, devido à sua multifuncionalidade celular e à sua relação com a progressão do tumor. O desenvolvimento de compostos específicos direcionados à NKA pode representar uma nova abordagem inovadora no combate ao câncer

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Neste estudo, empregamos células da linhagem U87 de glioblastoma humano para nossa investigação. As células foram cultivadas em um ambiente controlado com meio DMEM-F12, enriquecido com 10% de soro fetal bovino inativado e suplementado com antibióticos. Mantivemos essas culturas em uma estufa a uma temperatura de 37°C e com uma atmosfera composta por 5% de CO<sub>2</sub>.

Com o objetivo de avaliar os efeitos citotóxicos do Poligodial e seus derivados (DR-P10 e DR-P27), realizamos a quantificação da atividade da

enzima lactato desidrogenase (LDH), que é liberada no meio quando ocorre dano celular em cultura tradicional e em matrigel, a qual mimetiza o ambiente *in vivo*..

Os resultados revelaram que, após 24 horas, concentrações superiores a 20  $\mu\text{M}$  de Poligodial e DR-P27, e acima de 50  $\mu\text{M}$  de DR-P10, reduziram a viabilidade das células, sendo o Poligodial o mais citotóxico. Após 48 horas, observou-se um aumento na atividade citotóxica de DR-P27, enquanto em 72 horas, o DR-P27 apresentou maior atividade citotóxica.

Já no cultivo em matrigel observamos que Poligodial e DR-P10 tiveram seus efeitos citotóxicos potencializados, ao passo que DR-P27 perdeu seu efeito citotóxico na presença de Matrigel.

### **CONCLUSÕES:**

Todos os compostos testados demonstraram atividade citotóxica nas células U87, cada uma com um perfil temporal de atividade distintivo.

A complexidade das respostas celulares ao tratamento ressalta a relevância do microambiente tumoral na avaliação da eficácia de agentes citotóxicos. Além disso, a variabilidade nas respostas ao DR-P27 em comparação com Poligodial e DR-P10, dependendo do tempo de exposição e da presença de matrigel, contexto tumoral específico, destaca a necessidade de abordagens terapêuticas personalizadas.

Essas informações iniciais fornecem insights valiosos para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais eficazes no contexto do glioblastoma e incentivam pesquisas adicionais para elucidar os mecanismos subjacentes a

essas variações temporais, bem como para avaliar o potencial clínico desses compostos, contribuindo para avanços significativos.

### **AGRADECIMENTOS:**

PIBIC/CNPQ e PROPPI

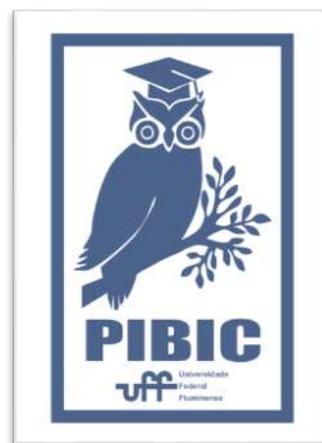


Imagem 1: Imagem PIBIC



Ciências Biológicas

**ANÁLISE MOLECULAR PARA DIAGNÓSTICO DE *Strongylus* sp. EM AMOSTRAS FECAIS DE EQUINOS COM ENFOQUE NA RAÇA PURO SANGUE INGLÊS MANTIDOS EM PROPRIEDADES DE TERESÓPOLIS, RIO DE JANEIRO**

**Aline de Lima Coelho<sup>1</sup>, André Vianna Martins<sup>1</sup>, Laís Lisboa Corrêa<sup>1</sup>, Alynne da Silva Barbosa<sup>1</sup>**

**1. Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Instituto biomédico, Laboratórios de Parasitologia**

**INTRODUÇÃO:**

Os equinos podem se infectar por diferentes helmintos, incluindo os estrôngilos. Estes são subdivididos em pequenos estrôngilos também chamados de ciatostomíneos e grandes estrôngilos. Neste último grupo destaca-se *Strongylus vulgaris* devido ao seu elevado potencial patogênico. Ademais, a elevada carga parasitária de ciatostomíneos geralmente está associada a resistência aos anti-helmínticos e aos quadros clínicos de diarreia e cólica característicos da ciatostominose larvar. Sabe-se que a identificação taxonômica dos estrôngilos é um grande desafio em virtude da similaridade morfológica entre as espécies e ao fato de já terem sido catalogadas mais de 50 espécies de ciatostomíneos. Essa dificuldade acaba desencorajando a pesquisa desses agentes parasitários. No Brasil as informações sobre essa temática ainda são muito escassas, principalmente no estado do Rio de Janeiro, apesar da região serrana fluminense apresentar um elevado contingente de equinos destinados a esporte e lazer. Mediante ao exposto este estudo teve como objetivos detectar *S. vulgaris* por meio do diagnóstico molecular, associar a frequência de *Strongylus vulgaris* com

informações gerais dos animais, bem como com informações dos anti-helmínticos fornecidos aos equinos e por fim comparar a frequência de *Strongylus vulgaris* identificado pela coprocultura e pelo diagnóstico molecular nas amostras fecais de equinos Puro Sangue Inglês que apresentaram valores de OPG  $\geq 500$ , sendo considerada uma infecção com moderada a severa carga parasitária. Ao todo foram incluídos no estudo 35 amostras fecais de equinos Puro Sangue Inglês que apresentaram OPG  $\geq 500$  oriundos de cinco Centros de Treinamento localizados em Teresópolis, Rio de Janeiro. Estas amostras foram submetidas primeiramente a coprocultura na qual se identificou as larvas L3 de acordo com o arranjo de células intestinais e no seu comprimento. Estas foram classificadas em espécie, gênero ou em tipos A a H no caso da Subfamília Cyathostominae. As fezes também foram submetidas a reação em cadeia de polimerase (PCR) com *primers* que amplificam o fragmento de DNA da região ITS2 de *S. vulgaris*, sendo o produto amplificado submetido ao sequenciamento genético.

Ademais, 27 amostras fecais de Pôneis Brasileiros mantidos em haras em Teresópolis também foram submetidas ao diagnóstico de *S. vulgaris* por meio

de ferramentas moleculares independente dos valores de OPG.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Das amostras fecais dos equinos Puro Sangue Inglês foram analisadas 3500 larvas a partir da coprocultura, sendo 100 de cada amostra. A grande maioria foi classificada como pequenos estrôngilos (99,7%), se destacando o tipo A (65,4%) da subfamília Cyathostominae. Além disso, foi observado que a maioria das fezes apresentavam cinco tipos larvares. Formas de grandes estrôngilos similares a *Strongylus vulgaris* corresponderam a apenas 0,2%. Pelo teste de Kruskal - Wallis foi verificado uma variação de tamanho estatisticamente significativa (valor $\leq$ 0,05) das larvas do tipo A a D e G. Essas diferenças de tamanhos e tipos podem estar associadas a elevada diversidade de espécies de estrôngilos que estão circulando na região. Das 35 amostras incluídas, 25 (71,4%) apresentaram produtos de DNA amplificados de *S. vulgaris*. Após o sequenciamento, foi verificado que 11 amostras apresentaram sequências nucleotídicas aptas a interpretação com elevada identidade (98,6% a 100%) ao serem comparadas com as do *Genbank*. A coprocultura e a PCR apresentaram uma baixa concordância (Kappa =0,105) no diagnóstico de *S. vulgaris* com diferença estatística significativa ( $p\leq$ 0,05), uma vez que *S. vulgaris* foi majoritariamente diagnosticado pela PCR.

Das 27 amostras coletadas dos pôneis, 26 (96,3%) apresentaram produtos amplificados de DNA compatíveis com o tamanho esperado para *S. vulgaris*. Após o sequenciamento, verificou-se que 12 amostras apresentaram sequências nucleotídicas aptas a interpretação. A partir da

topografia da árvore filogenética, observou-se que todas as sequências estavam no mesmo cluster de sequências de *S. vulgaris* oriundas de outros países. Os valores de identidade obtidos variaram entre 99,3% a 100% ao se comparar as sequências geradas deste estudo com as de referência do *Genbank*. Cabe ressaltar que tanto para os equinos Puro Sangue Inglês quanto para os Pôneis Brasileiros não foram evidenciadas associações significativas com a frequência de *S. vulgaris* e as informações de sexo e idade dos animais, tipos de fármacos anti-helmínticos e intervalo de fornecimento dos mesmos para os animais ( $p>$ 0,05).

## CONCLUSÕES:

Neste estudo verificou-se a presença de *S. vulgaris* nas fezes dos equinos Puro Sangue Inglês com elevados valores de OPG mantidos em diferentes Centros de Treinamento no Rio de Janeiro, principalmente por meio da PCR que se mostrou uma ferramenta mais adequada para o diagnóstico deste parasito do que a coprocultura que apresentou uma frequência diagnóstica baixa. Além de ser uma técnica demorada e trabalhosa.

O presente trabalho também demonstrou uma grande prevalência de *S. vulgaris* em pôneis, sendo o primeiro estudo realizado no Brasil que confirma por meio da PCR e sequenciamento a presença deste nematoide em fezes de equinos.

A inédita identificação e alta prevalência de *S. vulgaris* nas fezes dos equinos ressalta a possibilidade do uso da PCR como forma de auxiliar no manejo sanitário desses animais, pois o uso de técnicas com diagnóstico precoce pode evitar casos graves da doença e minimizar o uso profilático de antiparasitários, retardando a

ocorrência de resistência aos medicamentos, situação agravante que vem sendo relatada na medicina veterinária.

### **AGRADECIMENTOS:**

Gostaríamos de agradecer a colaboração dos Centros de Treinamento dos equinos Puro Sangue Inglês e dos haras de pôneis localizados em Teresópolis, Rio de Janeiro e a Faperj pelo fomento concedido para a realização desse estudo (Grant no. E-26/010.002748/2019).

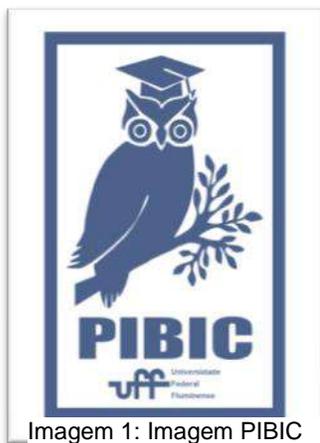


Imagem 1: Imagem PIBIC



## CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

### MEMBROS DA FAMÍLIA *Vibrionaceae* COMO POTENCIAIS RESERVATÓRIOS DO RESISTOMA BACTERIANO EM ECOSISTEMAS COSTEIROS DA CIDADE DE NITERÓI (RJ)

Sabrina Rodrigues Rocha<sup>1</sup>, Anna Luiza Bauer

Canellas<sup>2</sup>, Marinella Silva Laport<sup>2</sup>, Júlia Peixoto de Albuquerque<sup>1</sup>, Bruno Francesco  
Rodrigues de Oliveira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Microbiologia e Parasitologia/ Instituto Biomédico - UFF/ Laboratório de Enteropatógenos, Microbiologia Veterinária, Ambiental e de Alimento <sup>2</sup>Departamento de Microbiologia Médica/ Instituto de Microbiologia Paulo Góes - UFRJ/ Laboratório de Bacteriologia Molecular e Marinha.

#### INTRODUÇÃO:

A resistência antimicrobiana (RAM) é um problema emergente e de ameaça global cujo aumento está intrinsecamente relacionado com a transferência horizontal de genes, com a passagem de genes de resistência a antimicrobianos (GRAs) entre diferentes bactérias e manutenção de um resistoma em diversos habitats. Assim, destacam-se as betalactamases, enzimas envolvidas na degradação de uma das principais classes de fármacos antibacterianos, os betalactâmicos, de uso para o tratamento de uma ampla gama de infecções bacterianas.

Sob o olhar da Saúde Única, os ecossistemas marinhos podem desempenhar um papel fundamental na disseminação de GRAs clinicamente relevantes e, assim, atuar como fonte de GRAs para microrganismos

potencialmente patogênicos. Nesse sentido, os membros da família *Vibrionaceae*, ubíquos em habitats marinhos e estuarinos, são amplamente reconhecidos pela sua plasticidade genômica, e podem constituir modelos eficazes para acompanhamento da dispersão de GRAs nesses ambientes. Ademais, as espécies do gênero *Vibrio*, pertencentes a essa família, podem ser patogênicas para os seres humanos e animais relevantes para a produção de aquicultura e maricultura.

Nesse âmbito, o presente estudo teve como objetivo isolar, identificar e investigar a presença de genes codificadores de betalactamases em cepas da família *Vibrionaceae* oriundas de diferentes ecossistemas marinhos na costa da cidade de Niterói (RJ, Brasil).

#### RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Entre junho de 2022 até maio de 2023, foram coletadas amostras de água do mar superficial de três praias distintas (Icaraí, Jurujuba e Piratininga) juntamente com moluscos bivalves da espécie *Perna perna* provenientes da maricultura de Jurujuba em Niterói. As amostras de águas das praias foram filtradas (100 mL) em membranas de nitrocelulose (diâmetro do 0,22 µm) e incubadas em uma etapa de enriquecimento a 37 °C em tubos contendo caldo triptona soja (TSB). A biomassa dos moluscos (25 g) foi adicionada a 225 mL de água peptonada a 0,1% (m/v) e, em seguida, diluídas de forma seriada para posterior plaqueamento.

O isolamento bacteriano foi realizado no meio seletivo ágar Tiosulfato Citrato Bile Sacarose (TCBS) e a identificação das amostras isoladas foi realizada por meio de MALDI-TOF MS. A detecção genotípica da resistência à betalactamase foi conduzida por reação em cadeia da polimerase (PCR) para os seguintes genes: *bla*<sub>CTX-M-1,2</sub>, *bla*<sub>CTX-M-14</sub>, *bla*<sub>CTX-M-8</sub>, *bla*<sub>GES</sub>, *bla*<sub>SHV</sub>, *bla*<sub>TEM</sub> e *bla*<sub>KPC</sub>.

Dessa forma, um total de 381 unidades formadoras de colônias (UFCs) foram isoladas no ágar TCBS, sendo a maioria delas de Jurujuba ( $n = 126$ , 33,0%), seguida por Piratininga ( $n = 106$ , 27,8%), Icaraí ( $n = 107$ , 28,0%) e os moluscos ( $n = 42$ , 11,0%). Entre as UFCs, um total de 89 foram identificadas como sendo da família *Vibrionaceae*. No entanto, 24 UFCs isoladas a partir da mesma metodologia em outros meios de cultura foram também identificadas como pertencentes a essa família, totalizando 113 amostras. Desse total ( $n = 113$ ), 74 (65,5%) foram identificadas como provável

em relação ao gênero e 39 estirpes (34,5%) com identificação segura em relação ao gênero e provável em relação à espécie, divididas em 2 gêneros da família *Vibrionaceae*: *Photobacterium* e *Vibrio*. Foram identificadas 13 espécies diferentes, as quais as mais predominantes foram *Vibrio alginolyticus* (26,5%), *Vibrio parahaemolyticus* (23,9%), *Vibrio fluvialis* (23,9%), enquanto os 25,6% restantes foram classificados como outras espécies. No rastreamento genotípico, 44 cepas da família *Vibrionaceae* foram analisadas, das quais os genes de resistência à betalactamases foram detectados em 19 amostras. O número total de genes detectados foram 24 e *bla*<sub>SHV</sub> ( $n = 15$ , 78,8%), seguido de *bla*<sub>TEM</sub> ( $n = 3$ , 15,8%), *bla*<sub>CTX-M-1</sub> ( $n = 2$ , 10,5%), *bla*<sub>CTX-M-2</sub> ( $n = 10,5\%$ ) e *bla*<sub>CTX-M-8</sub> ( $n = 10,5\%$ ).

## CONCLUSÕES:

Foi possível isolar bactérias do gênero *Vibrio* e *Photobacterium*, ambos pertencentes à família *Vibrionaceae* das águas costeiras e moluscos bivalves cultivados em mariculturas na cidade de Niterói, sendo a maioria pertencente a espécie *Vibrio alginolyticus*. O rastreio genotípico por PCR revelou a presença de cepas de *Vibrio* carreadoras dos genes de resistência aos antimicrobianos betalactâmicos *bla*<sub>CTX-M-1</sub>, *bla*<sub>CTX-M-2</sub>, *bla*<sub>CTX-M-8</sub>, *bla*<sub>TEM</sub> e *bla*<sub>GES</sub>.

Os resultados deste estudo enfatizam a importância da vigilância de bactérias potencialmente resistentes aos antimicrobianos nesses ecossistemas estuarinos. Portanto, as cepas de *Vibrio* spp. podem estar desempenhando um papel crucial na

manutenção de um resistoma ambiental que pode representar riscos para a saúde pública da população ao consistir em fontes de GRAs para potenciais patógenos microbianos envolvidos com infecções em seres humanos e animais.

A compreensão aprofundada da RAM em contextos não-clínicos, sua disseminação ambiental e a identificação de seus fatores de risco são essenciais para a proteção da saúde pública global. A investigação dos microrganismos marinhos reservatórios desses GRAs, como aqueles pertencentes ao gênero *Vibrio*, pode fornecer informações valiosas para mitigar os futuros efeitos da RAM e contribuir para estratégias eficazes de controle e prevenção da resistência antimicrobiana.

#### **AGRADECIMENTOS:**

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa no âmbito do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC) da UFF.

Aos professores e colegas do Laboratório de Enteropatógenos, Microbiologia Veterinária, Ambiental e de Alimento (LEMA) da UFF. Aos colaboradores do Laboratório de Bacteriologia Molecular e Marinha (LBMM) da UFRJ.

À Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) pelo apoio para desenvolvimento da pesquisa (nº do processo: E-26/211.284/2021).

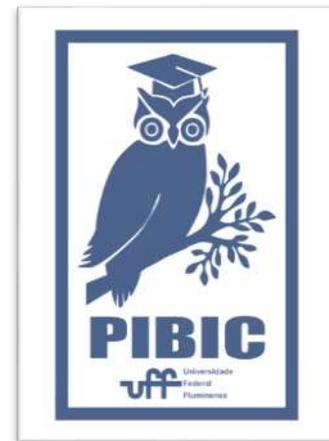


Imagem 1: Imagem PIBIC



**GRANDE ÁREA DO CONHECIMENTO: CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**ANÁLISE DE VARIANTES GENÉTICAS NA ETIOLOGIA DA SÍNDROME DE DOWN**

**Nicole de Oliveira Barbosa, Carolina M. L. Castro, Márcia R. Amorim**

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

### **INTRODUÇÃO:**

A aneuploidia é a anormalidade cromossômica mais comum em humanos e é uma importante causa de abortos espontâneos e defeitos congênitos. A síndrome de Down (SD) é a principal alteração genética relacionada à deficiência intelectual, sendo caracterizada frequentemente por uma falha na divisão celular, levando a trissomia do cromossomo 21. O principal fator de risco para a trissomia 21 é a idade materna avançada na gestação, assim como para todas as outras trissomias autossômicas humanas. O risco está associado à não disjunção dos cromossomos homólogos ou cromátides durante as divisões meióticas no processo de formação dos oócitos, especialmente na meiose I materna.

A família das auroras quinases são proteínas do grupo das serina/treonina quinases, que são reguladoras da mitose, sendo essencial para a segregação precisa do material cromossômico das células-mãe para células filhas. Este projeto tem como objetivos principais analisar a presença de polimorfismos em genes relacionados ao ciclo celular, particularmente os genes de aurora quinase em mães de crianças

com a síndrome de Down e em mães de crianças sem a síndrome (controles) e caracterizar o perfil clínico e epidemiológico das mães e crianças com síndrome de Down; idade materna, pré-natal, hábitos de vida e suplementação vitamínica nos hospitais universitários IPPMG- UFRJ e HUAP- UFF.

### **RESULTADOS E DISCUSSÕES:**

Células do epitélio bucal foram coletadas e a genotipagem da variante rs60244836 da aurora quinase A em mães de crianças com síndrome de Down e em mães controles está em andamento, sendo utilizado o sistema de sondas marcadas TaqMan® SNP Genotyping Assays, da Applied Biosystems. Os grupos caso e controle responderam a uma entrevista, que permitiu a obtenção de dados clínicos e epidemiológicos; informações relativas à idade materna gestacional, morbimortalidade dos pacientes, pré-natal, uso de medicamentos durante a gravidez, suplementação vitamínica e hábitos de vida. Cerca de 56% das mães de crianças com SD apresentavam na gestação

idades entre 35 e 49 anos, enquanto apenas 12% (n=233) das mães controle tiveram gestações nessa faixa etária. Aproximadamente 88% de todas as gestações das mães controle (n=218) ocorreram com menos de 35 anos. A maioria das entrevistadas relatou não ter consumido medicamentos, cigarro ou bebidas alcoólicas. Apesar da maioria das gestantes terem iniciado o pré-natal no 1º trimestre da gestação, houve atraso no diagnóstico da SD e 47% não conhecia a importância do uso do ácido fólico no período periconcepcional. As crianças SD incluídas neste trabalho realizaram teste de cariótipo para confirmação de diagnóstico e identificação da etiologia da anomalia. Dos pacientes em atendimento no HUAP, houve uma prevalência de 82% de trissomia livre, 6% de translocações e 12% de mosaicismos. A prevalência para cardiopatias congênitas foi de 59%, além de distúrbios oculares e hipotireoidismo. Recentes estudos apontam a tendência no aumento da idade gestacional das mulheres, podendo estar relacionada, em especial, ao aumento gradativo da inserção da mulher no mercado de trabalho nas últimas décadas. Conseqüentemente, a gravidez é adiada para uma idade mais tardia, quando em geral, será mais difícil ter filhos naturalmente. É necessário melhorar a qualidade da assistência médica pré-natal visando o diagnóstico prévio de SD, a fim de realizar os cuidados necessários à uma criança SD, indicando exames e tratamentos específicos.

## **CONCLUSÕES:**

O avanço da idade materna na gestação é um fator de risco consolidado para ocorrência de aneuploidias. O aconselhamento genético desempenha um papel importante na prevenção de distúrbios genéticos e nas estimativas de risco de eventos perinatais adversos.

## **AGRADECIMENTOS:**

Aos os membros do Laboratório de Genética Humana e às agências de fomento, CNPq e Proppi/UFF





## **Ciências Biológicas**

### **VÍRUS COMO INDICADORES DE CONTAMINAÇÃO DE FÔMITES DE BANHEIROS DE INSTITUIÇÃO DE ENSINO DE NITERÓI, RIO DE JANEIRO, BRASIL**

**Letícia de Medeiros Manchein, Cinthia Melo de Medeiros,  
Luiza Gomes Bandão, Carmen Baur Vieira**

**Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Instituto  
Biomédico, Núcleo de Pesquisa de Virologia**

#### **INTRODUÇÃO:**

Fômites têm sido descritos como uma via importante na transmissão de agentes infecciosos em vários estabelecimentos, com disseminação intensificada pelo compartilhamento de equipamentos e espaços e diante de limpezas inadequadas. Para avaliar e controlar o risco de infecção, o monitoramento ambiental da contaminação microbiana representa uma ferramenta útil na determinação das vias de transmissão e adoção de medidas preventivas eficazes. No entanto, esse monitoramento é geralmente limitado a indicadores bacterianos, apesar da ausência de correlação entre estes e os vírus. Os vírus entéricos compreendem um grupo de microrganismos presentes no trato gastrointestinal humano que, após transmissão fecal-oral, podem causar infecções em indivíduos susceptíveis. Os adenovírus humanos (HAdV) são vírus entéricos associados a quadros gastroentéricos, respiratórios e oculares. Esses vírus DNA têm sido apontados como indicadores virais de contaminação ambiental por serem resistentes às condições ambientais, causarem infecções ao longo de todo o ano e serem excretados em grandes

concentrações em secreções respiratórias, fezes e vômitos de indivíduos

infectados. Como muitos episódios de excreções ocorrem nos banheiros, os HAdV podem acumular nas diferentes superfícies e objetos desses ambientes. Além disso, superfícies podem ser contaminadas pelo contato das mãos de indivíduos infectados. Assim, fômites contaminados em banheiros compartilhados são fontes de exposição, especialmente quando não são adotadas práticas de higiene e utilizados protocolos adequados de limpeza. O objetivo deste trabalho é avaliar a disseminação de HAdV em fômites de banheiros de unidades de ensino e saúde da cidade de Niterói, Rio de Janeiro.

#### **RESULTADOS E DISCUSSÕES:**

Esse trabalho foi realizado em dois banheiros do Instituto Biomédico, uma unidade da Universidade Federal Fluminense (UFF) que promove atividades de ensino, pesquisa e extensão, e na qual circulam mais de 2.000 pessoas, incluindo docentes, técnicos administrativos, alunos de graduação e pós-graduação, funcionários terceirizados e população e outros profissionais que acessam

serviços de atendimento e participam de eventos. As coletas foram realizadas mensalmente em banheiro feminino de um bloco de ensino e um masculino do setor de atendimento de saúde no período de julho a dezembro de 2022. Com o auxílio de um *swab* embebido em meio DMEM, foram obtidas amostras de assento sanitário, descarga, parede lateral, maçanetas interna e externa da porta, torneira e dispenser de sabão. Elas foram obtidas antes e depois da limpeza no Bloco de ensino e antes da limpeza do Bloco de atendimento. O material genético foi extraído com o kit comercial PureLink Viral RNA/DNA Mini Kit (Invitrogen) e os HAdV detectados por qPCR. Foram obtidas 88 amostras e o HAdV foi detectado em 31,8% (28/88) destas, sendo 21 (36,2%) do banheiro do bloco de ensino (8 antes da limpeza e 13 após a limpeza) e 7 (23,3%) do de atendimento. Esses dados comprovam a contaminação do ambiente e possíveis riscos de transmissão de vírus. A maior contaminação na unidade de ensino pode estar associada ao maior fluxo de pessoas no local. Amostras que apresentaram resultados positivos pelo qPCR foram cultivadas em célula para avaliar a infecciosidade viral e apresentaram efeito citopático. No entanto, ainda não houve avaliação por qPCR após cultura. A superfície mais contaminada no banheiro do bloco de ensino foi a torneira da pia (41,7%), enquanto o dispenser de sabão foi o mais contaminado no de atendimento (60%), o que pode estar relacionado a contaminação das mãos dos frequentadores. Contaminações virais foram encontradas antes e após a limpeza e em todas as superfícies dos banheiros, exceto maçaneta externa da porta do banheiro do bloco de

atendimento. Isso indica que os protocolos de limpeza não estão eficazes. No entanto, não podemos afirmar se isto está associado ao desinfetante e outros materiais utilizados ou aos procedimentos aplicados pelos responsáveis pela limpeza. As concentrações de HAdV nos fômites variaram de  $2,4E+02$  a  $2,3E+04$  cópias genômicas (CG)/fômite. Maiores concentrações foram observadas na parede lateral antes da limpeza do banheiro do bloco de ensino, que recebe grande quantidade de aerossóis gerados pela ativação da descarga, e no dispenser de sabão do bloco de atendimento.

## **CONCLUSÕES:**

Há contaminação viral em fômites de banheiros compartilhados do Instituto e os protocolos de limpeza não removem completamente partículas virais desses ambientes.

## **AGRADECIMENTOS:**

À FAPERJ (E-26/211.267/2019 [251730] e E-26/210.253/2018 [242045]) e ao FOPESQ UFF pelo financiamento e ao PIBIC UFF pela concessão da bolsa.







**Ciências Biológicas**

**INVESTIGAÇÃO DO EFEITO DE PRODUTOS NATURAIS DE ALGAS MARINHAS SOBRE O METABOLISMO ENERGÉTICO E O ESTADO REDOX EM CEPAS DE *C. elegans* UTILIZADAS COMO MODELO DE ESTUDO DO TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA**

**Pedro Henrique de Sousa Silveira, Letícia da Silva Inácio, Júlia de Lacerda Ruiz, Samara Varela Sant'ana, Cauã Belato da Silva Siqueira, Manuel Gustavo Leitão Ribeiro**

**Departamento de Biologia Celular e Molecular / Instituto de Biologia**

**INTRODUÇÃO:**

O Transtorno de Espectro Autista vem ganhando mais espaço nos dias atuais tanto em seu aumento de casos como também pelo entendimento maior do transtorno como um espectro, criando complexidade sobre a questão. Diversos fatores externos como álcool, metilmercúrio e internos como o sexo do indivíduo e até seu metabolismo podem interferir no TEA.

O metabolismo dos indivíduos se relaciona direta e indiretamente com os respectivos sistemas e genes, que faz com que uma mudança no metabolismo e seus reguladores influenciem nas doenças, algo que também ocorre na TEA. Especificamente se tratando do transtorno, é visto uma relação com o estresse oxidativo por meio de crianças com TEA apresentando níveis elevados de peroxidação lipídica, elevada disfunção mitocondrial e pequenas razões GSH/glutathiona oxidada. Este descontrole é causado por espécies reativas de oxigênio (ROS), que caso não sejam reguladas por mecanismos enzimáticos como a superóxido dismutase e não

enzimáticos, como a vitamina E, para que não se ataque outros compostos celulares, acabam gerando danos no material genético e intensificando a sua própria produção de ROS, a exemplo das mitocôndrias disfuncionais.

Com a relação entre o TEA e o processo oxidativo já correlacionados, diversos fármacos com a ação antioxidante foram pensados para combater esta ação antioxidante. É o caso do resveratrol e da hesperidina que, pela artificialidade presente nas medicações, apresentaram uma gama de complicações que os tornaram menos promissores. Abriu-se assim a possibilidade de se pensar em antioxidantes naturais que, abundantes na natureza, apresentaram resultados positivos em laboratório, se tornando assim uma opção mais promissora e viável a se considerar.

Outro ponto relevante a ser levantado é o modelo de estudo para TEA, onde o nematódeo *Caenorhabditis elegans* (Figura 1) pode ser destacado. Além de apresentar um pequeno tamanho (1mm), ser de vida livre e fácil manuseio, ter curto ciclo de vida e corpo transparente (testes fluorescentes), o que o já

torna atrativo de modo geral como modelo, possui o DNA completamente sequenciado e com grandes quantidades de regiões conservadas. Isso torna possível a comparação com mamíferos e passível de edição genética, permitindo o estudo de genes de interesse para o pesquisador. A sua rede neural é completamente descrita, permitindo o estudo de transtornos que impactam o sistema nervoso, como é o caso do TEA.



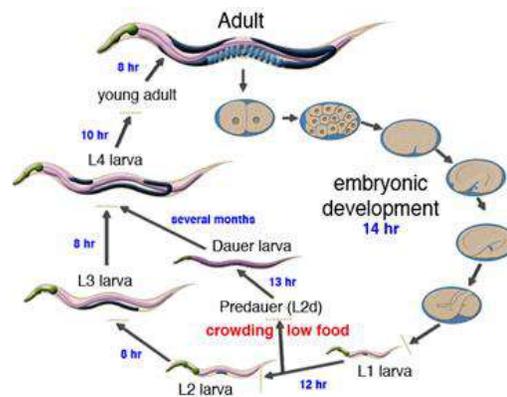
Fig. 1: *C.elegans* em meio de cultura.  
Fonte: Autor

Considerando o Transtorno de Espectro Autista, a relação com o estresse oxidativo e o uso de antioxidantes naturais, junto da utilização do modelo do *C. elegans*, o projeto tem como objetivo estudar mudanças no comportamento e em suas reações bioquímicas nas cepas com genes ligados ao TEA, que são: *nlg-1*, *nrx-1* e *shn-1* de *C. elegans* e a resposta ao tratamento com produtos naturais extraídos de algas marinhas.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Não foi possível realizar experimentos com as cepas mutadas pois o processo de importação dos animais junto ao Caenorhabditis Genetics Center da Universidade de Minnesota (EUA) ainda não foi concluído. No entanto,

foram realizados os experimentos de estudo do estresse oxidativo com a cepa selvagem. Os animais foram cultivados a 20°C em meio NGM. Para transferência (repique), um pequeno pedaço de ágar de uma placa era retirado com uso de uma espátula ou pipeta estéril e transferido para uma nova. Para obter-se a população de nematódeos na mesma fase do ciclo de vida (Figura 2), foi realizado o procedimento de sincronização que, resumidamente, consiste em tratar os animais com uma solução contendo hipoclorito e NaOH 10M. Os ovos resistentes ao tratamento foram transferidos para placas com NGM e bactéria.



Quadro 1: Resultados do desafio do oxidativo

Decorridas 48h, os animais atingiram a fase L4 e foram utilizados nos experimentos.

Para o desafio do estresse oxidativo, 5 a 8 nematódeos em fase L4 foram transferidos da placa para poços de uma placa de 96 poços de fundo chato, contendo soluções de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> nas concentrações de 0,06 mM, 0,12 mM, 0,3 mM, 0,6 mM, 1,2 mM, 3,0 mM, 6,0 mM e 20mM. Anotou-se o horário do início de cada teste e os

nematódeos foram observados em lupa a cada 1h (Quadro 1).

Quadro 1: Resultados do desafio do estresse oxidativo

H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (mM)	N° de animais vivos (início)	N° de animais vivos (fim)	Horas	% vivos (fim)
0	3	3	6	100
0,12	5	5	5	80
0,6	5	4	5	80
3,0	6	5	3	83,3
6,0	5	0	1	0
20	5	0	0,2	0

## CONCLUSÕES:

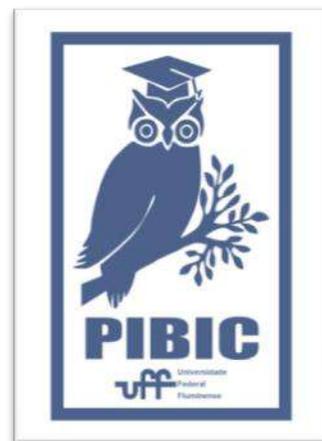
Durante o período, diversas observações foram realizadas para otimização dos experimentos. Os resultados mostram que a padronização da metodologia de análise do estresse oxidativo foi satisfatória, o que permitirá a realização dos experimentos posteriores, previstos no projeto inicial. Concentrações intermediárias de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> podem ser utilizadas para a análise de substâncias com possível ação antioxidante, como é o caso de produtos naturais extraídos de algas marinhas.

Devido à complexidade do cérebro de vertebrados e as limitações de modelos mamíferos, métodos alternativos como o uso de modelos invertebrados têm sido cada vez mais utilizados por permitir abordagens experimentais que não são possíveis em modelos mamíferos, como por exemplo, a identificação de genes, os papéis destes em processos celulares específicos e o estudo de sua interação com

outros genes em diferentes vias. Sendo assim, estudar as modificações comportamentais e bioquímicas em cepas de *C. elegans* apresenta um grande potencial acadêmico e farmacológico. A padronização da metodologia de estudo do estresse oxidativo com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> representa um grande passo em direção a estes objetivos.

## AGRADECIMENTOS:

Os autores agradecem ao CNPq e à UFF pela oferta da bolsa e ao professor Félix Alexandre Antunes Soares, da UFSM, por ceder a cepa selvagem.





## Ciências Biológicas

### DIVERSIDADE DE LEIODIDAE (COLEOPTERA: STAPHYLINOIDEA) DA MATA ATLÂNTICA FLUMINENSE

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 hábitats e fontes alimentares.

Apesar do bioma Mata Atlântica ser um dos mais diversos do mundo, o conhecimento acerca dos besouros da família Leiodidae ainda é considerado incipiente na área em questão, especificamente no estado do Rio de Janeiro.

Com o objetivo de contribuir para o maior conhecimento a respeito da fauna de leiodídeos na Mata Atlântica fluminense, apresentamos aqui uma lista de espécies de Leiodidae de duas unidades de conservação no Estado do Rio de Janeiro: Parque Nacional da Serra dos Órgãos (PARNASO) e Parque Estadual dos Três Picos (PETP).

#### RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Os resultados apresentados abaixo foram obtidos a partir de coletas em datas selecionadas

nos meses de agosto, outubro a dezembro de 2022 e maio de 2023, na sede Teresópolis, e em fevereiro de 2023 na sede Guapimirim do PARNASO. As coletas no PETP ocorreram em datas selecionadas entre os meses de fevereiro e maio de 2023, nas sedes de Cachoeira de Macacu e Teresópolis.

Foram coletados 355 espécimes de Leiodidae, distribuídos em 23 espécies, cinco gêneros, quatro tribos e duas subfamílias: *Adelopsis aspera* Jeannel, 1936, *Adelopsis* cf. *benardi*, *Adelopsis* gr. *benardi* sp. 1, *Adelopsis* gr. *benardi* sp. 2, *Adelopsis luculenta* Szymczakowski, 1963, *Adelopsis* cf. *szymczakowskii*, *Adelopsis triangulifer* Szymczakowski, 1961, *Paulipalpina claudicans* (Szymczakowski, 1980) (Cholevinae: Ptomaphagini), *Dissochaetus ketschko* Reitter, 1884, *Dissochaetus maculatus* Portevin, 1903, *Dissochaetus murrayi* Reitter, 1884, *Dissochaetus* sp.1, *Dissochaetus* sp.2, *Dissochaetus vanini* Gnaspini, 1991 (Cholevinae: Anemadini), *Eucatops* sp. 1, *Eucatops* sp. 2, *Eucatops* sp. 3, *Eucatops* sp. 4 (Cholevinae: Eucatopini), *Aglyptinus* sp. 1, *Aglyptinus* sp. 2, *Aglyptinus* sp. 3, *Aglyptinus* sp. 4, *Aglyptinus* sp. 5 (Leiodinae: Scotocryptini).

Os dados aqui apresentados constituem a primeira lista de espécies de besouros Leiodidae

do PARNASO e do PETP. Os gêneros *Aglyptinus* e *Eucatops* foram registrados pela primeira vez no estado do Rio de Janeiro, assim como as espécies *A. aspera*, *A. luculenta*, *A. triangulifer* e *D. vanini*.

A fauna de leiodídeos conhecidos no Brasil restringe-se a 55 espécies, com seis delas registradas no estado do Rio de Janeiro, distribuídas em quatro gêneros: *Adelopsis benardi* (Portevin, 1923), *D. hetschkoi*, *D. maculatus*, *D. murrayi*, *P. claudicans* e *Scotocryptus melitophilus* (Reitter, 1881). Com base nos dados aqui obtidos, os registros de Leiodidae para o estado são elevados ao número de 10 espécies e seis gêneros descritos.

Grande parte dos trabalhos taxonômicos sobre os Leiodidae neotropicais carecem de documentações detalhadas da morfologia da genitália masculina, as quais fornecem informações essenciais para a identificação das espécies. Essa situação tem dificultado o reconhecimento a nível específico. Futuros esforços serão necessários para revelar a identidade de táxons não identificados a nível específico no presente trabalho, ou mesmo se são espécies não descritas.

## **CONCLUSÕES:**

Apresentamos aqui um novo cenário sobre a diversidade e distribuição dos Leiodidae na Mata Atlântica fluminense, elevando de 6 para 10 o número de espécies descritas no estado do Rio de Janeiro, sendo esse dado futuramente atualizado com o reconhecimento das espécies que ainda não puderam ser identificadas nesse trabalho. Esses números mostram que cerca de

90% das espécies de leiodídeos que ocorrem no estado do Rio de Janeiro estão, portanto, protegidas pelo PARNASO e PETP. Além disso, nossos resultados evidenciam a carência histórica de levantamentos de Leiodidae na mata atlântica. Diante disso, mais trabalhos taxonômicos direcionados ao grupo, assim como maiores esforços amostrais, poderão gerar novos desdobramentos sobre o conhecimento da família no Brasil.

## **AGRADECIMENTOS:**

Agradecemos ao PIBIC-CNPq, PROPPI-UFF, e a FAPERJ (processo E-26/010.002705/2019) pelo apoio financeiro para realização desta pesquisa.



## **Grande área do conhecimento**

# **AVALIAÇÃO DO SISTEMA ADENOSINÉRGICO NOS EFEITOS DO RESVERATROL CONTRA MORTE INDUZIDA POR EXTRESSE OXIDATIVO EM NEURÔNIOS DA RETINA DE GALINHA**

**Vieira, Ana L. F., Santos-Pereira, R., Armond Pinto, P., Brito, R,**

**Paes-de-Carvalho, R e dos Santos-Rodrigues, A.**

**Departamento de Neurobiologia/Instituto de Biologia/Laboratório de Neurobiologia das Interações Celulares**

## **INTRODUÇÃO:**

O estresse oxidativo é uma consequência citopatológica do desequilíbrio entre a produção de radicais livres e o sistema intracelular antioxidante, que pode ocasionar danos ao DNA, peroxidação lipídica, oxidação proteica e resultar em morte celular. Muitos estudos sugerem que a morte neuronal induzida pelo estresse oxidativo desempenha um papel importante no desenvolvimento de doenças neurodegenerativas.

O resveratrol é um composto polifenólico presente na pele e sementes de mais de 70 espécies de plantas diferentes, incluindo uvas, bagas, chá, grãos e amendoim. Muitos estudos relataram que o resveratrol (10-100uM) possui propriedades antioxidantes e neuroprotetoras, contudo o mecanismo pelo qual ele exerce essa proteção ainda não é bem compreendido.

A adenosina (Ado) é um importante nucleosídeo neuromodulador pertencente ao sistema purinérgico e é amplamente distribuída pelo corpo, podendo ser encontrada em

diversas áreas do Sistema Nervoso Central (SNC). Seus efeitos são mediados majoritariamente por receptores de adenosina, os quais fazem parte da família de receptores acoplados à proteína G e são classificados em A1, A2a, A2b e A3. Esse nucleosídeo atua regulando a transmissão e plasticidade sináptica, proliferação e diferenciação celular, processos de reparo celular e neuroproteção, podendo também bloquear a excitotoxicidade mediada por glutamato.

Ainda se sabe pouco sobre o efeito do resveratrol no sistema adenosinérgico. Estudos recentes demonstraram a capacidade do resveratrol de modular a expressão dos genes de alguns receptores de adenosina, assim como a via de transdução mediada por receptores expressos na membrana plasmática. Além disso, o resveratrol também se mostrou capaz de reverter a perda dos receptores de adenosina A1 e suas correspondentes vias de sinalização e de dessensibilizar a sinalização mediada pelos receptores A2a. O aumento dos níveis de receptores A1 e suas correspondentes vias de sinalização ocasionado pelo resveratrol pode melhorar o efeito neuroprotetor desse

composto por meio da inibição da liberação de glutamato e conseqüentemente, a redução da excitotoxicidade mediada por altas concentrações desse neurotransmissor, que é um efeito clássico na neurodegeneração.

## **RESULTADOS E DISCUSSÕES:**

Culturas purificadas de neurônios foram obtidas a partir da retina de embriões de galinha com 8 dias. As células foram tratadas em C2 com resveratrol na presença ou ausência de antagonistas de receptores A1 (DPCPX) ou A2a (ZM 241285), e em C3 com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Em C4 foi realizado o teste de viabilidade celular segundo o protocolo do MTT.

Em primeiro lugar, avaliamos o potencial neuroprotetor do Resveratrol contra o estresse oxidativo. Foi observado que as células pré-tratadas com o resveratrol apresentaram menor perda da viabilidade, quando comparadas com o grupo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10uM.

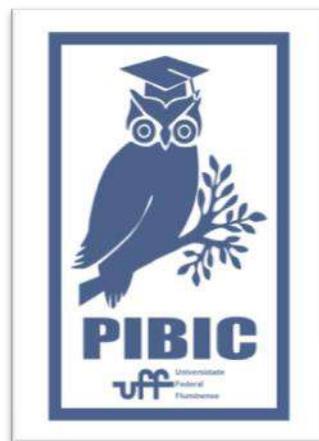
Posteriormente, avaliamos se o sistema adenosinérgico, através de seus receptores A1 e A2a, participava da neuroproteção promovida pelo resveratrol. Os resultados obtidos mostraram que a viabilidade não foi alterada no grupo tratado com o antagonista do receptor estudado, quando comparada com o grupo que recebeu apenas o pré-tratamento com o resveratrol, indicando que os dois receptores de adenosina estudados não participam da neuroproteção promovida pelo resveratrol.

## **CONCLUSÕES:**

Os resultados indicam que o tratamento com o resveratrol tem um efeito neuroprotetor contra a morte neuronal induzida por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, evidenciando que esse composto pode ser um potencial agente no tratamento de doenças neurodegenerativas. No entanto, a ação neuroprotetora do resveratrol não parece ser mediada pelos receptores A1 ou A2a de adenosina.

## **AGRADECIMENTOS:**

PROPPI-UFF e CNPq





**Grande área do conhecimento Ciências Biológicas**

**Título do Projeto: Estudo da proteína precursora do amiloide e seus metabólitos em modelos de isolamento social e enriquecimento ambiental**

**Autores: Matheus Quelhas Condeixa da Costa, Raquel Cavalcanti Figueiredo e Adriana da Cunha Faria Melibeu**

**Departamento/Unidade/Laboratório: GNE/IB/Laboratório Neurobiologia do Desenvolvimento**

### **INTRODUÇÃO:**

A proteína precursora de amiloide (APP) é uma glicoproteína transmembranar do tipo I conhecida por estar envolvida na fisiopatologia da doença de Alzheimer (DA) como fonte da substância  $\beta$ -amiloide ( $A\beta$ ), que forma placas senis e contribui para a neurodegeneração na doença. No entanto, a APP também desempenha papéis fisiológicos, predominantemente encontrados em locais sinápticos e envolvidos em vários eventos celulares, como adesão celular, crescimento de neuritos, sinaptogênese e plasticidade sináptica. O metabolismo da APP envolve a clivagem proteolítica por secretases ( $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ ) através das vias amiloidogênica e não amiloidogênica. Na via não amiloidogênica, a clivagem sequencial por  $\alpha$ -secretase e  $\gamma$ -secretase leva à liberação de sAPP $\alpha$ , um fragmento solúvel com efeitos neurotróficos. Na via amiloidogênica, a clivagem da APP por  $\beta$ -secretase e  $\gamma$ -secretase leva à formação de sAPP $\beta$  e do peptídeo neurotóxico  $A\beta$ . Assim, a APP pode desempenhar um papel importante tanto na fisiologia sináptica normal quanto nos processos patológicos que levam à DA. Os efeitos da solidão são considerados

problemas de saúde pública, pois foram associados à depressão em diversos estudos e são um fator de risco para a DA. Um dos modelos usados para simular os efeitos da solidão no laboratório é o protocolo de Isolamento Social (IS), um fator ambiental que pode causar várias deficiências cognitivas e emocionais limitando a interação social e isolando animais por um período específico. Outro fator ambiental que pode alterar os resultados neuroquímicos e comportamentais em modelos animais é o Enriquecimento Ambiental (EA), que envolve enriquecer o ambiente do animal com diferentes objetos, proporcionando um efeito de novidade. O EA também foi utilizado como estratégia neuroprotetora no tratamento de déficits cognitivos, com estudos em animais mostrando que o EA pode promover a reversão de déficits de memória declarativa e social. Sendo assim, considerando que tanto o IS quanto o EA são fatores ambientais capazes de alterar a circuitaria neuronal cortical, bem como a de seus alvos subcorticais, e considerando que a proteína APP e seus principais metabólitos desempenham papéis na organização do

sistema nervoso, este estudo visa avaliar (1) se o IS pode modular os níveis de APP e seus principais metabólitos em regiões cerebrais sensíveis ao estresse; (2) se o EA, conhecido por promover várias formas de plasticidade neural e estar envolvido no tratamento de diversas condições médicas, pode modular os níveis de APP e seus principais metabólitos; e (3) se o EA seria capaz de reverter ou atenuar possíveis alterações no comportamento e nos níveis de proteína da APP e seus metabólitos após o modelo de IS no hipocampo, córtex pré-frontal e bulbo olfatório. Para isso, utilizamos ratos Lister-Hooded com idade P21. Eles seguiram o protocolo de IS, onde foram divididos em dois grupos: Isolados e Agrupados. O grupo que foi isolado permaneceu isolado por 30 dias. Após esse período, o protocolo de EA foi implementado por 7 dias, e os animais foram divididos em quatro grupos: Grupo Controle (GC), Grupo Enriquecido(GE), Isolado Controle (IC) e Isolado Enriquecido (IE). Utilizamos o teste de campo aberto para quantificar o tempo gasto explorando diferentes zonas do labirinto. Por último, fizemos análises neuroquímicas utilizando a técnica de Western blotting.

### **RESULTADOS E DISCUSSÕES:**

Nossos resultados demonstram que o enriquecimento ambiental aumentou significativamente o comportamento exploratório nos animais em ambos os grupos que foram enriquecidos, conforme indicado pelo aumento do tempo gasto explorando a zona central do campo aberto (GE - N=10,  $p=0,0439$ ; IE - N=3,  $p=0,0181$ ). Dados neuroquímicos preliminares

sugerem que os efeitos do IS e do EA sobre os níveis da forma solúvel da APP, resultado da clivagem pela via não-amiloidogênica, a sAPP $\alpha$  são expressos de maneira diferente em várias áreas. No hipocampo, houve uma diminuição significativa nos níveis de sAPP $\alpha$  nos animais controle isolados em comparação com o grupo controle (N=5,  $p=0,0152$ ). E, apesar de não haver diferença significativa, os resultados sugerem uma recuperação dos níveis de sAPP $\alpha$  quando os animais isolados passam pelo enriquecimento ambiental. Sendo assim, o IS promoveu uma redução nos níveis de sAPP $\alpha$  quando comparado ao grupo controle. Já o EA, pelo período de uma semana, não foi capaz de promover alterações nos níveis de sAPP $\alpha$  nos animais controle, mas parece ser capaz de reverter a queda desses mesmos níveis nos animais isolados.

### **CONCLUSÕES:**

Esses achados sugerem que tanto o IS quanto o EA parecem ser capazes de modular a via não amiloidogênica nesses dois modelos animais, embora mais experimentos sejam necessários para a compreensão de como o ambiente é capaz de modular tais proteínas, assim como para desvendar o papel da via não amiloidogênica tanto nas respostas emocionais, quanto na Doença de Alzheimer.

**AGRADECIMENTOS:**

Aos alunos do Laboratório Neurobiologia do Desenvolvimento: Rodrigo Colaço das Neves, João Arthur Silva Cunha, Gian Lucca Curty Móras e Amanda Costa da Silva Leão pelos ensinamentos na bancada e aos professores e alunos dos laboratórios plasticidade neural e neuroplasticidade pela parceria.

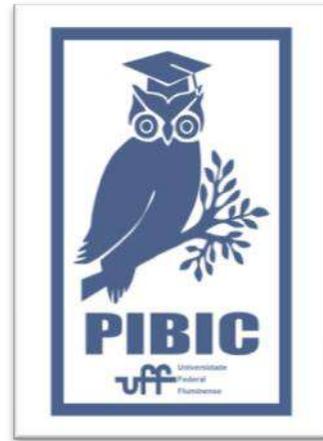


Imagem 1: Imagem PIBIC