

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



Universidade
Federal
Fluminense



CNPq **PROPPi**



Ciências Biológicas

HIPOTIREOIDISMO E INFERTILIDADE: CARACTERIZAÇÃO DOS MECANISMOS

ENVOLVIDOS

Livia Neri de Carvalho, Roberta da Fonseca Coutinho Pontes, Juliana Santos Romão, José Antônio Silva Ribas, Karen de Jesus Oliveira

Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Laboratório de Fisiologia Endócrina E Metabologia (LaFEM)

INTRODUÇÃO:

Estudos mostram um índice elevado de infertilidade masculina, sendo considerado um problema de saúde pública global.^{1,2} Assim, é essencial pesquisas que investiguem a causa e os mecanismos relacionados à problemática. Nesse sentido, sabe-se que para a fecundação, os espermatozoides precisam passar por etapas dependentes do suprimento energético adequado.³ Ademais, a metabolização de substratos energéticos pelos testículos é crucial para a qualidade espermática⁴, sendo a glicose um desses principais substratos⁵. A captação da glicose pelas células da linhagem espermática, células de Sertoli e Leyding é facilitada por transportadores de membrana e é fundamental para a produção de ATP, influenciando a diferenciação espermática, motilidade e a capacidade de fertilização^{5,6}. Assim sendo, a baixa produção energética é associada a astenospèria e ao declínio da fertilidade masculina, porém os mecanismos de controle energético no testículo ainda são pouco descritos na literatura científica.^{4,7,8}

Ademais, os hormônios tireoidianos (HT), desempenham um papel crucial na homeostasia energética do corpo, o gasto energético total

reduz com o hipotireoidismo. Devido a mecanismos como a metabolização da glicose, a sensibilização à insulina e à autofagia⁹. O controle da homeostase da glicose é importante para a reprodução humana e essencial para a vida, dentre os fatores que controlam esse processo encontram-se os HT, como já está bem descrito na literatura¹⁰, porém como estes afetam a homeostase da glicose no testículo não está claro. Pesquisas indicam a associação entre o hipotireoidismo e à resistência à insulina e a intolerância à glicose¹⁰, mas não se sabe se isso é observado no testículo. Nesse contexto, é válido ressaltar que a regulação do HT é complexa e o desequilíbrio na concentração de tais hormônios, leva a quadros de hipotireoidismo ou hipertireoidismo, afetando a homeostasia energética.⁹. Dado a importância da homeostasia energética na reprodução, o projeto visa estudar a sinalização da insulina no testículo em modelo animal de hipotireoidismo, área ainda pouco explorada. O objetivo é avaliar como o hipotireoidismo influencia na sensibilidade à insulina no testículo, o que afeta o balanço energético e causa alterações morfofuncionais já descritas na literatura.

Com esse fim, dividiu-se ratos machos Wistar em dois grupos: eutireoideo e hipotireoideo. O

hipotireoidismo foi induzido com metimazol (0,03%) diluído na água de beber por 21 dias. Após a eutanásia, os espermatozóides foram coletados da cauda do epidídimo para análises espermáticas, e os testículos foram retirados, pesados e armazenados para análises moleculares das proteínas que compõem a via de sinalização de insulina, Receptor de Insulina (IR), o Substrato 1 do Receptor de Insulina (IRS-1), a Proteína Quinase B (AKT), Proteína Quinase B fosforilada (p-AKT) e Proteína Tirosina Fosfatase (PTP1B), por Western Blotting. O sangue foi coletado para análises da glicemia e das concentrações de T4 livre e total. O protocolo experimental foi aprovado pelo CEUA/UFF nº 2488110221.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Os resultados encontrados indicam uma relação significativa entre o hipotireoidismo, o metabolismo energético e a infertilidade masculina.

Observou-se uma queda significativa nas concentrações séricas do T4 total e T4 livre, comprovando a indução do hipotireoidismo e validando o modelo experimental.

O grupo hipotireoideo demonstrou redução na concentração da glicemia, indicando a importância do HT no controle da glicose, à medida que o nível desse hormônio decai com a queda do HT. Confirmando a associação já esperada e descrita na literatura entre o HT e a metabolização da glicose, sendo de extrema importância nesse estudo, visto que a glicose é um substrato importante

para o controle da homeostasia energética testicular.

Os ratos hipotireoideos apresentaram uma diminuição significativa nos parâmetros de qualidade espermática: número de espermatozoides, da motilidade total, do vigor e da reatividade ao meio hostil. Em relação a morfologia do espermatozoide, os ratos hipotireoideos tiveram um aumento no número de espermatozoides defeituosos. Corroborando dados da literatura, que mostram redução da quantidade e qualidade espermática no hipotireoidismo.

Em relação aos níveis das proteínas da via de sinalização de insulina, (IR, IRS-1, AKT, p-AKT e PTP-1B) observou-se nos ratos hipotireoideos um aumento significativo na expressão da IR β total e pIR β e uma diminuição significativa da AKTtotal. Já a expressão de pIRS, pAKT e PTP-1B não foram alteradas com o hipotireoidismo. Apesar da expressão aumentada da fosforilação do receptor da insulina, a AKT, proteína efetora posterior na cascata de sinalização, não tem sua fosforilação aumentada, sugerindo que o sinal gerado pela insulina não se propagou de forma eficaz. Esse dado, possivelmente, indica que o hipotireoidismo gera um distúrbio na sinalização da insulínica, afetando o metabolismo energético no testículo e, interferindo na fertilidade masculina.

CONCLUSÕES:

Os resultados mostraram a influência do hipotireoidismo sobre o metabolismo energético e a qualidade espermática,

apresentando um impacto negativo e sustentando a hipótese de que a diminuição de HT compromete o balanço energético no testículo e impulsiona a infertilidade masculina.

AGRADECIMENTOS:

A minha professora orientadora, Karen de Jesus Oliveira, pelas orientações e pela oportunidade de participar desse projeto.

A todas as integrantes do laboratório LaFEM, pelo apoio e amizade.

RERERÊNCIA:

- 1- Hagai L, *et al.* *Human Reproduction Update*. 2023.
- 2- Vander BM, Wyns C. *Clin Biochem*. 2018
- 3- Stival C, *et al.* *Adv Anat Embryol Cell Biol*. 2016
- 4- Dias TR, *et al.* *Mol Cell Endocrinol*. 2014
- 5- September N, *et al.* *Biology of Reproduction*. 2022 .
- 6- Bucci D, *et al.* *J Androl*. 2011
- 7- Nowicka-Bauer K, *et al.* *J Physiol Pharmacol*. 2018
- 8- Benkhalifa M, *et al.* *J Biochem Cell Biol*. 2014
- 9- McAninch EA, Bianco AC. *Ann N Y Acad Sci*. 2014
- 10- Eom YS, Wilson JR, Bernet VJ. *Links between Diabetes Metab J*. 2022





Ciências Biológicas

TÍTULO DO PROJETO: INDUÇÃO DE OBESIDADE E DIABETES MELLITUS TIPO 2 EM FÊMEAS DA LINHAGEM SWISS PARA ESTUDOS CORRELACIONADOS A CITOCINAS INFLAMATÓRIAS

**Autores: Rute Ferreira Carvalho, José Francisco Oliveira Santos, Ana Beatriz
Campanário e Carla Eponina Carvalho Pinto**

**Departamento de Imunobiologia,
Instituto de Biologia, Laboratório de
Patologia Experimental (LAPE).**

INTRODUÇÃO:

A obesidade (Ob) tem como decorrente a Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2), doenças crônicas multifatoriais. Mas, os fatores desencadeantes para o desenvolvimento dessas doenças podem ser de origem genética e ou ambientais. Este segundo, apresenta-se predominantemente através da adoção de hábitos alimentares não saudáveis, como a ingestão de alimentos altamente calóricos e de um estilo de vida sedentário (1). Segundo o Atlas Mundial de Obesidade, 2024 os dados para o Brasil foram que os adultos, o crescimento será de 2,8% por ano, enquanto nas crianças o crescimento anual será de 4,4% até 2035 (2). A literatura científica vem enfatizando que o tecido adiposo, considerado um órgão metabólico, sofre uma disfunção durante o progresso da Ob. Os adipócitos alterados provocam um desequilíbrio na homeostase metabólica, aumentando a produção de adipocinas pró-inflamatórias

reduzindo a produção de adipocinas anti-inflamatórias, culminando na inflamação crônica de baixa intensidade (3 e 4). Com o compilado de estudos sobre Ob e suas consequências fisio metabólicas no tecido adiposo, a adoção de dietas hipercalóricas vem sendo utilizada como modelo de indução da Ob em animais devido à sua semelhança com a gênese e às respostas metabólicas decorrentes dessa doença em humanos (5).

METODOLOGIA:

A indução experimental de Ob iniciou com 10 camundongos fêmeas da linhagem SWISS divididos em dois grupos: G1 com água suplementada, G2 sem suplementação durante 32 semanas. Semanalmente eram avaliados o consumo residual de água e ração, quinzenalmente verificado o peso até a 32ª semana, mensalmente a glicemia até a 28ª semana. Ao final da 31ª semana foi realizado a gavagem com glicose para verificar a

resistência insulínica. Na última semana, foi feita a coleta de sangue para avaliação das concentrações lipídicas e eutanásia dos animais. Na necrópsia, foi coletado baço, rins, pâncreas e fígado. Também os diferentes tecidos adiposos, gonadal, abdominal, cervical e subcutâneo. Estes foram, após a fixação, processados, cortados a 5 μ , corados por H&E para análise histopatológica com registro fotográfico. Todos os dados foram analisados no programa de estatística GraphPad Prism@v.8.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foi possível observar o ganho de peso no G1 desde a semana 0 à semana 32, com aumento aproximado de 106%. Sendo perceptível a diferença de peso entre os grupos nas 12 primeiras semanas. O mesmo ocorreu em relação a glicemia dos grupos respectivamente até a 28ª semana. Quanto à curva glicêmica, observou-se que o G1, após ingerir o concentrado de glicose, teve um pico de glicemia de 400 mg/dl. A estabilização glicêmica do G1 ocorreu de forma lenta, pois ao final dos 120 minutos tinha animais com valores glicêmicos acima de 190 mg/dl. Em contrapartida, o grupo G2 não registrou um pico glicêmico alto comparado ao G1. Sua estabilização foi rápida e, ao final dos 120 minutos, havia valores abaixo de 100 mg/dl. Tais resultados indicam que o grupo experimental, G1, provavelmente não estava respondendo de forma adequada à ação da insulina em seu organismo, enquanto o G2 permanece estável. Na histopatologia foi observado os danos causados, por exemplo, nos fígados dos

animais do grupo G1, esteatose hepática, quando o comparamos os do controle, G2, fígado saudável. Os resultados obtidos são de acordo com os publicados para alterações em Ob (STOLARCZYK, 2017) (6). Portanto, nosso laboratório tem para continuação dos estudos um modelo animal Ob/DM2.

CONCLUSÕES:

O biomodelo desenvolvido para Ob/DM2 em camundongos fêmea SWISS apresentou resultados similares as doenças que acometem milhares de pessoas em todo o mundo. Além do mais, este modelo animal irá permitir um avanço nos estudos do processo inflamatório correspondente à Obesidade/DM2.

AGRADECIMENTOS:

À toda equipe do LAPE. À pró-reitoria de Pesquisa e Inovação (PROPI), UFF, pela oportunidade da iniciação científica.

REFERÊNCIAS:

1. BOVOLINI, A. et al. Metabolic syndrome pathophysiology and predisposing factors. *International Journal of Sports Medicine*, v. 42, n. 3, p. 199–214, 2021.
2. WORLD OBESITY. World obesity day atlases. *Obesity Atlas 2024*. Disponível em: <<https://www.worldobesityday.org/obesity-atlas>>.
3. KAWAI, T.; AUTIERI, M. V.; SCALIA, R. Adipose tissue inflammation and metabolic dysfunction in obesity. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, v. 320, n. 3, p. C375–C391, 2021.
4. SAKERS, A. et al. Adipose-tissue plasticity in health and disease. *Cell*, v. 185, n. 3, p. 419–446, 2022.
5. SILVA, T. M. DA et al. Uso de modelos animais na indução da obesidade e alterações fisiológicas. *Brazilian Journal of Development*, v. 6, n. 9, p. 66278–66286, 2020.
6. STOLARCZYK, E. Adipose tissue inflammation in obesity: a metabolic or immune response? *Current Opinion in Pharmacology*, v. 37, p. 35–40, dez. 2017.





Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas

TÍTULO DO PROJETO: ECOLOGIA POPULACIONAL AO LONGO DAS LAGOAS COSTEIRAS DO RIO DE JANEIRO: UM MODELO PARA O ESTUDO DA INTERAÇÃO ENTRE PROCESSOS ECOLÓGICOS E EVOLUTIVOS

Autores: Sophia Manhães Galição Augusto, Washington Vasconcelos da Rocha Joaquim, Lucas Rodrigues da Silva, Victor Corrêa Seixas

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

INTRODUÇÃO:

As lagoas costeiras representam uma zona de transição entre os ambientes terrestre e marinho, sendo caracterizadas pela baixa profundidade e por funcionarem como depósito natural de matéria orgânica e inorgânica, o que pode ser acentuado devido a ação antrópica. No sudeste do Brasil estima-se que as lagoas costeiras atuais surgiram a cerca de 5-7 mil anos atrás devido a flutuações do nível do mar, embora a ação de ondas e marés também possa contribuir. As lagoas costeiras são marcadas por flutuações constantes das condições físico-químicas em um curto período, o que proporciona elevado grau de estresse fisiológico. A variação dos fatores ambientais ao longo do tempo pode afetar os aspectos da história de vida e da dinâmica populacional de uma espécie, já que diferentes regimes de seleção podem resultar em diferentes estratégias de vida por parte das coortes de uma população. Apesar de muitos estudos de dinâmica populacional demonstrarem isso em relação sazonalidade poucos buscam compreender as diferenças na história de vida entre populações distintas, ou seja, consideram a variação temporal, mas não a variação

espacial. No estado do Rio de Janeiro há uma série de sistemas lagunares que formam uma paisagem descontínua para populações de invertebrados bentônicos. Dentro desse contexto, o poliqueta *Laeonereis acuta* se destaca por ser uma espécie dominante ao longo das diferentes lagoas costeiras do estado e importante fonte de nutrientes para espécies de crustáceos e peixes. Sendo assim, este trabalho deve como objetivo analisar a dinâmica populacional da espécie *L. acuta* em seis lagoas costeiras com diferentes níveis de estruturação geográfica. Para isso foi descrita a flutuação da densidade populacional e do tamanho dos indivíduos através de acompanhamento mensal por um período de dois anos.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Ao final das coletas mensais no período de 24 meses foram analisadas um total de 720 amostras. Ao longo de todo o estudo foram coletados 11801 indivíduos. A Lagoa de Guarapina foi a que teve maior abundância total (6235 ind.), seguida de Jacaré (2966 ind.), Maricá (1857 ind.), Saquarema (517 ind.), Itaipu (225 ind.) e Piratininga (1 ind.). De modo geral a variação temporal da abundância seguiu um padrão parecido em todas as lagoas, com

exceção de Piratininga e Itaipu. Foi possível observar que o inverno e a primavera foram as estações que tiveram as maiores abundâncias em todas as lagoas. Por outro lado, o verão foi a estação com a menor quantidade de indivíduos amostrados. Os meses de inverno e primavera de 2022 foram marcados por um aumento populacional, que foi bastante acentuado na lagoa de Guarapina. O verão de 2023 foi marcada por declínio populacional, também bem-marcado na Lagoa de Guarapina. Diferente da primavera de 2022, a de 2023 foi caracterizada por uma redução da abundância em todas as lagoas. Após essa redução as populações se mantiveram constantes durante os dois primeiros meses do outono 2024, com exceção da Lagoa de Guarapina que apresentou um aumento populacional. redução essa que se manteve no verão 2024. Em relação ao tamanho dos indivíduos, a população de Maricá foi a que teve os maiores indivíduos, seguido das Lagoas de Guarapina, Jaconé e Saquarema. Durante o segundo ano de estudo, o tamanho dos indivíduos foi maior do que o primeiro ano, embora a abundância no primeiro ano tenha sido maior. Na Lagoa de Maricá, considerando a mediana, durante o inverno de 2022 (ano 1) houve uma redução do tamanho, seguido de aumento gradual ao longo dos meses da primavera, verão (2023) e outono (2023). O padrão observado no primeiro ano de estudo se repetiu no segundo ano. Em Guarapina, durante o inverno (2022) houve uma leve redução do tamanho seguido de aumento durante a primavera (2022) e nova redução no verão (2023). Após tal redução, o tamanho dos indivíduos se manteve constante ao longo do

segundo ano de estudo. Em Jaconé, a mediana do tamanho se manteve constante ao longo das estações do primeiro ano de estudo. No segundo ano, houve um aumento no tamanho em relação ao primeiro ano. Na Lagoa de Saquarema, durante o primeiro ano, os indivíduos no geral apresentaram maiores tamanhos nos meses de inverno (2022). Na primavera (2022) houve uma leve redução do tamanho que se manteve constante até o último mês do outono (2023). Após esse período, o tamanho se manteve relativamente constante.

CONCLUSÕES:

Os meses do inverno e primavera foram aqueles com a maior quantidade de indivíduos de *L. acuta*, enquanto no verão as populações apresentaram a menor quantidade de indivíduos, o que sugere uma baixa taxa de recrutamento e/ou alta mortalidade no final da primavera/ início do verão. Tal resultado sugere uma forte relação com a temperatura da água. Além disso, houve uma relação inversa entre a abundância e tamanho dos indivíduos ao longo dos dois ciclos anuais. Enquanto no primeiro ano as populações, em geral, apresentaram maiores abundâncias em relação ao segundo ano, os indivíduos amostrados no segundo ano foram maiores do que aqueles coletados no primeiro ano. Tal resultado sugere um trade-off entre taxa de crescimento individual e fecundidade, contudo essa questão precisa ser melhor investigada.

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

**PRODUTOS NATURAIS DE *DICTYOTA PINNATIFIDA*
(PHAEOPHYCEAE) E SUA IMPORTÂNCIA PARA O**

AUTISMO

**Clara Lopes, Johana Marcela Obando, Thalísia Cunha
dos Santos, Diana Negrão Cavalcanti, Valéria**

Laneuville Teixeira

**Instituto de Biologia-UFF/ Departamento de Biologia
Marinha/Laboratório de Produtos Naturais de Algas**

Marinhas (ALGAMAR)

INTRODUÇÃO:

As algas pardas são o grupo taxonômico mais conhecido em relação à química de produtos naturais e destacam-se espécies da família Dictyotaceae têm sido estudadas por suas propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes e neuroprotetoras, demonstrando o potencial deste grupo para o tratamento de doenças neurológicas (WU *et al.*, 2021; QI *et al.*, 2023; MARTIC *et al.*, 2023). Diante do aumento dos casos de Autismo e o crescente interesse científico, é urgente investigar como compostos de algas da família Dictyotaceae podem contribuir no desenvolvimento de novas terapias, especialmente, para inflamação e estresse oxidativo associados ao transtorno (COURY *et al.*, 2020; MATTA *et al.*, 2019).

Sendo assim, o objetivo deste trabalho é explorar o perfil químico de populações de *Dictyota pinnatifida*, visando auxiliar a obtenção sustentável dos seus produtos naturais para

avaliação de atividade antioxidante envolvida no Autismo.

Para isso, foram coletadas quatro populações de *D. pinnatifida* no Nordeste brasileiro em 2015 e 2016 que, posteriormente, foram submetidas a triagem, secagem e extração com diclorometano. Os extratos foram analisados por cromatografia em camada delgada (CCD) com revelação por luz ultravioleta e solução de sulfato cérico, além de avaliação da atividade antioxidante com DPPH. Técnicas adicionais de análise química incluíram ressonância magnética nuclear (^1H RMN) e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-MS), com análise de redes moleculares via GNPS. Produtos de interesse foram isolados por cromatografia em camada fina preparativa (TLC) e cromatografia em coluna.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Ao total, foram obtidos 12 extratos orgânicos de *D. pinnatifida*. Nas análises de

CCD destas amostras, foram observadas entre 5-6 bandas, revelando uma alta mistura de compostos de média polaridade nestas amostras. A partir da revelação com DPPH, pode-se observar que os três extratos da população 1 apresentaram maior número de bandas com potencial antioxidante (Figura 1).

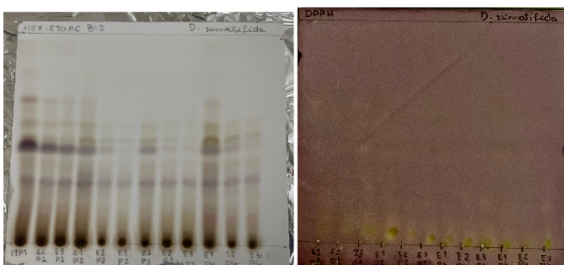


Figura 1: Cromatoplaça dos extratos de *D. pinnatifida* revelada com solução ácida (a direita) e DPPH (a esquerda).

Através dos resultados da análise de ^1H RMN foi possível identificar alguns deslocamentos químicos de diterpenos do tipo guaiano prenilado (Figura 2). Além disso, foi difícil encontrar nas amostras analisadas padrões semelhantes aos dos espectros descritos na literatura para *D. pinnatifida* (RUBIANO-BUITRAGO *et al.*, 2019).

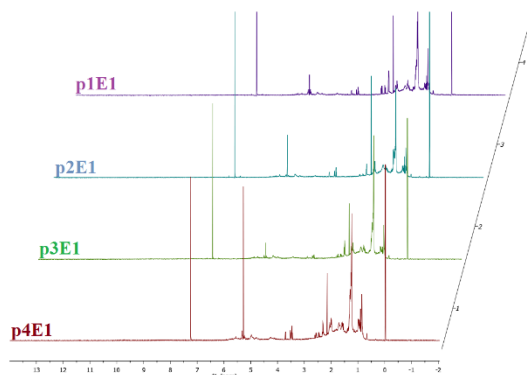


Figura 2: Comparação dos espectros RMN ^1H da extração inicial em diclorometânico da alga *D.*

pinnatifida. (P1: Flecheiros, P2: Areia Vermelha, P3: Praia da penha, P4: Ponta grossa).

De modo geral, a análise química usando CG-MS revelou um perfil lipídico interessante composto principalmente por ácidos graxos e esteróis. As análises realizadas por CG-MS, utilizando a plataforma GNPS, sugerem a presença dos ácidos graxos linoléico e oléico e dos esteróis colesterol e campesterol. Além disso, também foram sugeridas a presença de xantofilas, glicerolipídios e de outros compostos com esqueleto diterpênico.

A TLC preparativa permitiu o isolamento de 8 substâncias. Já com a técnica de cromatografia em coluna, ao total, foram obtidas 35 frações (15 da primeira coluna e 20 da segunda coluna) que, então, foram analisadas por CDD e reunidas em seis frações (R1-R6) de acordo com a similaridade das bandas a fim de obter uma maior biomassa. Após a análise por CDD-DPPH das frações (Figura 3), foi possível perceber que as substâncias não separaram de forma desejada, embora apresentaram potencial atividade antioxidante.

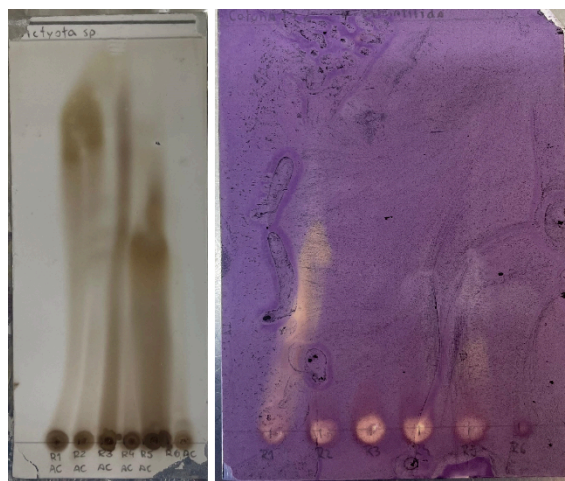


Figura 3: Cromatoplaça das frações de *D. pinnatifida*

revelada com solução ácida (a direita) e DPPH (a esquerda).

CONCLUSÕES:

As análises de CCD-DPPH revelaram extratos e frações com potencial atividade antioxidante, especialmente a população de Ponta Grossa e fração R1, que se mostram importantes para o tratamento de indivíduos com Transtorno do Espectro Autista.

Através das análises dos espectros de RMN, foi possível observar a presença de diterpenos do tipo guaiano prenilado, contudo, ainda é necessário que processos de isolamento e purificação sejam feitos para comprovação. A partir da comparação dos espectros de RMN com aqueles presentes na literatura de *D. pinnatifida* percebemos que o perfil químico não corresponde à espécie da alga, estes dados foram corroborados com análises de CG-MS utilizando a plataforma GNPS. Esta última análise não encontrou nenhuma substância biomarcadora de *D. pinnatifida* descrita na literatura e detectou a presença, principalmente, de ácidos graxos o que pode estar relacionado ao longo tempo e condições de armazenamento da alga.

Possivelmente, devido ao tempo e consequente oxidação e degradação de moléculas que poderiam estar presentes nas algas, o fracionamento dos extratos pela técnica de cromatografia em coluna não foi efetivo para isolar um produto natural. Sendo assim, ainda é

necessário estudos adicionais sobre as possíveis bioatividades e monitoramento químico dessa alga.

AGRADECIMENTOS:

Ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Tecnológico e Científico e a Universidade Federal Fluminense.





Ciências Biológicas II

Gabriel Cardoso Machado, Milena Carvalho Escaleira da Silva, Valéria Pereira Ferrer

MUCINAS ANCORADAS À MEMBRANA PLASMÁTICA COMO POSSÍVEIS ALVOS DIAGNÓSTICOS E PROGNÓSTICOS EM GLIOBLASTOMAS

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

INTRODUÇÃO:

Os tumores gliais são os tumores cerebrais primários mais comuns do sistema nervoso central (SNC) (OSTROM et al., 2021). Entre eles, o glioblastoma (GBM) é considerado o tumor mais frequente e devido as suas características histopatológicas, moleculares e clínicas, apresenta um prognóstico desfavorável (SILANTYEV et al., 2019). Apesar dos consideráveis avanços nas terapias para tumores cerebrais (SHAH; KOCHAR, 2018; YU; QUAIL, 2021), a doença permanece incurável, demonstra alta resistência ao tratamento e propensão à recorrência (SINGH et al., 2021; WEN et al., 2020).

Os gliomas são atualmente agrupados em GBM IDH tipo selvagem, que representa a forma mais agressiva do glioma difuso e astrocitomas IDH mutado e o oligodendroglioma IDH mutado e 1p/19q codeletado, que compreendem tumores menos agressivos (BERZERO et al., 2021; LOUIS et al., 2021). Esses tumores serão por nós chamados de gliomas não-GBM. Um dos fatores que contribui para essa maior agressividade e natureza infiltrativa do GBM é a matriz extracelular (MEC).

As mucinas são componentes da matriz e são subdivididas em mucinas secretadas e mucinas ancoradas na membrana (BROCKHAUSEN; MELAMED, 2021). O estudo dos genes e transcritos dessas mucinas como possíveis marcadores para auxílio no diagnóstico em gliomas é uma questão recente. Portanto, este trabalho tem como objetivo explorar as mucinas ancoradas à membrana MUC17, MUC1, MUC4 e MUC16 como possíveis alvos diagnósticos em GBM.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Verificamos a expressão dos genes das mucinas e observamos que houve um aumento de expressão de MUC1 nos gliomas. No GBM, a expressão foi maior em comparação aos não-GBM. Com relação à frequência de mutação dos genes das mucinas nos gliomas em amostras de GBM IDH tipo selvagem e de não-GBM IDH mutado, foi possível notar que com exceção de MUC1, todas as mucinas analisadas apresentaram maior frequência de mutação no GBM.

Analisando mutações individuais em amostras de pacientes do *The Cancer Genome*

Atlas (TCGA) e o número de mutações para cada gene, vimos que MUC17 está entre os genes significativamente mutados nos pacientes com glioma. A maioria dos pacientes com essas mutações é classificada como não-GBM, grau 4 da OMS e apresentam um pior prognóstico do que seus equivalentes do tipo selvagem.

A metilação do gene MUC17, por sua vez, foi correlacionada ao estadiamento dos gliomas e está aumentada em pacientes com GBM e em gliomas de grau 4.

Mutações em MUC17 também demonstraram ter significância clínica em pacientes com glioma. Pacientes com o MUC17 mutado apresentam a segunda pior sobrevida global se comparados aos genes mais frequentemente mutados no grupo não-GBM. Ademais, observando o perfil de mutações de MUC17 em pacientes com GBM, vimos que a maioria apresentou uma mutação missense

A partir desses dados referentes às mutações em MUC17 dos pacientes de GBM, iniciamos a busca por estas em modelos *in vitro*. Amplificamos então as regiões potencialmente mutadas em MUC17 utilizando o DNA de linhagem celular de GBM. Todas as regiões foram devidamente amplificadas, exceto para MUT1.

Com o intuito de otimizar as reações de PCR, cinco temperaturas distintas (50°C, 52°C, 54°C, 56°C e 58°C) foram testadas para os primers de MUC17; estabelecendo como temperaturas ideais 50°C (MUT2.1), 54°C (MUT2.4) e 58°C (MUT1, MUT2.2, MUT2.3). Uma análise comparativa também foi realizada através do teste de DNA da linhagem de glioblastoma U87 e o DNA contido em amostras

de amígdala embebidas em blocos de parafinas. Os resultados dos sequenciamentos confirmaram que todas as seqüências correspondem a MUC17, sendo do tipo selvagem. Com isso, foi possível comprovar a eficiência da amplificação dos primers tanto em DNA de linhagens celulares quanto em amostras de parafina.

CONCLUSÕES:

Através desse trabalho, observamos que o gene MUC17 compõe o burden mutacional dos gliomas e quando mutado, está associado a uma menor sobrevida. Além disso, suas mutações apresentam relevância clínica comparável a genes amplamente reconhecidos. Em gliomas não-GBM e em GBM, demonstram um valor prognóstico importante.

Em adição, a metilação de MUC17 apresenta uma correlação proporcional ao aumento do grau de malignidade dos gliomas.

Por fim, constatamos também que os *primers* desenvolvidos para detectar essas mutações em gliomas foram eficazes na amplificação das regiões alvo, tanto em amostras de DNA de linhagens celulares quanto em amostras de parafina e apresentam grande potencial para usos futuros.

Futuras perspectivas do projeto incluem continuar estudando outras mucinas ancoradas a membrana e seus possíveis usos diagnósticos para GBM.

REFERÊNCIAS:

Machado GC, Ferrer VP. MUC17 mutations and methylation are associated with poor prognosis

in adult-type diffuse glioma patients. J Neurol Sci. 2023 Sep 15;452:120762. doi: 10.1016/j.jns.2023.120762.

AGRADECIMENTOS:

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





Grande área do conhecimento: Zoologia aplicada

TÍTULO DO PROJETO: ESTABELECIMENTO E MANUTENÇÃO DE COLÔNIA DE EUSCHISTUS HEROS (FABRICIUS), INSETO PRAGA DE SOJA (GLYCINE MAX (L) MERILL) CULTIVADA NO BRASIL.

Autores: Joshua Lima Fernandes e Suzete A. O. Gomes

Departamento/Unidade/Laboratório: Departamento de Biologia Geral (GBG)/ Laboratório de Biodiversidade de Insetos e Patógenos

INTRODUÇÃO:

Os percevejos Pentatomídeos *Euschistus heros* (Fabricius, 1798) são atualmente a praga entomológica mais importante da cultura da soja [*Glycine max* (L) Merrill] no Brasil, tendo presença também em outras culturas como do milho (*Zea mays* L.), amendoim (*Arachis hypogae* L.) e algodão (*Gossypium hirsutum* L.). Sendo antes considerado uma praga de caráter secundário, a partir dos anos 1970, as suas populações cresceram continuamente devido a fatores ainda pouco compreendidos. A criação de colônias de insetos em laboratório é um passo importante para o estudo de espécimes praga, tanto para a compreensão de sua biologia geral como para a realização de testes de produtos biotecnológicos e metodologias de controle.

O objetivo desse trabalho foi o estabelecimento da criação destes hemimetábolos pragas em um ambiente de baixo controle ambiental. A análise da saúde da colônia foi feita a partir de

experimentos de séries compostas grupos reprodutivos formados por machos e fêmeas (figura 1) em situação de maior ou menor atividade sexual, com réplicas em períodos distintos do ano. A umidade e a temperatura do ambiente foram medidas continuamente durante a realização das séries, visando-se averiguar quaisquer relações entre as variáveis ambientais e os parâmetros observados nas séries. A longevidade média dos adultos e a fecundidade foram comparadas entre as replicatas utilizando-se o teste T-Student bicaudal homoedático.



Figura 1: Principal característica para a sexagem: último segmento do abdômen dos machos é diferenciado. Imagem retirada de Borges et al (2006).

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

As quatro séries foram realizadas de um período que se estendeu 23/06/2023 até o dia 14/05/2024, durante quase um ano completo. Dos 43 insetos que fizeram parte do experimento, foram 20 machos e 23 fêmeas. A média total do tempo de vida dos machos foi maior que a das fêmeas (50,25+/-36,5 M: 47,91+/-20,66 F) entretanto o coeficiente de variação dos machos foi muito alto devido à grande amplitude de tempos de vida registrados, enquanto o das fêmeas foi consideravelmente menor (72,64% X 43,12%). Tais diferenças nas médias não foram significativas ($p = 0,7941$).

Foram realizados teste T-Student entre as populações de machos, fêmeas e as populações totais das séries experimentais, comparando todas entre si. Quanto ao tempo de vida, apenas a diferença entre o tempo de vida das fêmeas da série TA e TB foi estatisticamente significativa (p -valor $\leq 0,05$), indicando que o tempo de vida dos adultos não foi um parâmetro adequado para avaliar a diferença entre os tratamentos. Também não houve resultados significativos entre o tempo de vida dos indivíduos por grupo reprodutivo.

Por outro lado, a comparação dos valores referentes à fecundidade das fêmeas nas séries experimentais apresentou valores significativos, principalmente em relação a comparação entre os outros grupos com o grupo TD, onde houve

mudanças drásticas na temperatura e umidade durante o período da série experimental.

A equivalência entre o tempo de vida de machos e fêmeas foi congruente com o trabalho de Costa e Borges (1998), do qual esse modelo experimental foi extraído. Outro trabalho que chega a resultados semelhantes é o de Cividanes e Parra (1994), onde os autores também avaliaram a longevidade de machos e fêmeas em diferentes temperaturas e constataram que a variação, considerando ambos separadamente, não era significativa.

No total foram registrados 1783 ovos durante toda a série experimental, dentre esses, cerca de 85% pertenciam às séries experimentais TB e TC. Tal padrão provavelmente foi associado às temperaturas estáveis na faixa de 26°C registradas durante a duração destas séries. Essa faixa de temperatura foi identificada no trabalho de Cividanes e Parra (1998), como a ótima para a fecundidade da espécie. Este resultado indica uma hipótese que a temperatura apresentou um maior efeito sobre a ovoposição das fêmeas do que o fotoperíodo irregular e outras condições variáveis presentes no experimento TA. Este dado corrobora com os trabalhos de Barrufaldi *et al.* (2023) e Cividanis e Parra (1994), nos quais há a constatação da baixa performance reprodutiva dos insetos em temperaturas mais baixas, similares as condições encontradas no experimento TD (<20°C na maior parte de sua duração).

CONCLUSÕES:

A criação de *E. heros* em um ambiente de condições não controladas apresenta desafios significativos.

O tempo de vida dos insetos adultos não se demonstrou um parâmetro significativo para avaliar diferenças entre as séries, os grupos reprodutivos e os sexos.

A frequência de ovoposição e a fecundidade foram parâmetros Significativos, principalmente entre as séries experimentais.

REFERÊNCIAS:

BARRUFALDI, A. et al. (2023). Trade-Offs between Temperature and Fitness in *Euschistus heros* (Fabricius) (Hemiptera: Pentatomidae): Implications for Mass Rearing and Field Management. *Insects*, v. 14, n. 5, p. 448–448.

BORGES, M. LAUMAN, R. A.; ALVES DA SILVA, C. C.; MORAES, M. C. B.; MOREIRA DOS SANTOS, H.; RIBERIO, D. T. (2006). Metodologias de criação e manejo de colônias de percevejos da soja (Hemiptera: Pentatomidae) para estudos de comportamento e ecologia química. Embrapa recursos genéticos e tecnologia, [s. l.], Documento técnico.

CIVIDANES. F, J; PARRA. J, R. (1994). Biologia em diferentes temperaturas e exigências térmicas de percevejos pragas da soja. II. *Euschistus heros* (Fabr.) (Heteroptera: Pentatomidae). *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*. v. 29, n. 12, p. 1841–1846.

COSTA, L.M.M.; BORGES, M.; VILELA, E. F. (1998). ECOLOGIA, COMPORTAMENTO E BINOMIA: Biologia Reprodutiva de *Euschistus heros* (F.) (Heteroptera: Pentatomidae). *An. Soc. Entomol. Brasil*, [s. l.], v. 27, n. 4.

AGRADECIMENTOS:

Agradeço a minha orientadora Suzete Araujo Oliveira Gomes pelo direcionamento, apoio e incentivo na realização dessa pesquisa.

Agradeço as agências de financiamento, CNPQ e Proppi pelo apoio financeiro necessário para a elaboração desta pesquisa.

Agradeço a UFF pelo apoio institucional e estrutural para a realização da pesquisa.





Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas

TÍTULO DO PROJETO: AVALIAÇÃO DO IMPACTO DO USO EXCESSIVO DE AZITROMICINA DURANTE A PANDEMIA DE COVID-19 NA POPULAÇÃO CIRCULANTE DE *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE*

Autores: Mariana Tavares Martins, Clarissa Campos Barros, Rosana Rocha Barros

Departamento/Unidade/Laboratório: Departamento de Microbiologia e Parasitologia/

Instituto Biomédico UFF/ Laboratório de Estreptococos Beta-Hemolíticos

INTRODUÇÃO:

Streptococcus agalactiae ou estreptococos do grupo B (EGB), é um coco Gram-positivo que coloniza os tratos intestinal e geniturinário e pode causar infecções graves, especialmente em neonatos.

Seu principal fator de virulência e marcador epidemiológico é a cápsula polissacarídica. De acordo com a sua diversidade antigênica são conhecidos 10 sorotipos capsulares (Ia, Ib, II a IX).

As infecções neonatais podem ser de início precoce, quando se manifestam na primeira semana, ou tardio, com manifestações adquiridas um total de entre 7 dias e 3 meses de idade. Para evitar essas infecções, é recomendado a antibioticoprofilaxia no trabalho de parto, para mulheres colonizadas pelo EGB. Os antibióticos preconizados são a penicilina, ampicilina, cefazolina, e clindamicina como alternativa para gestantes alérgicas a beta-lactâmicos.

Durante a pandemia de COVID-19, a azitromicina, um antibiótico da classe dos macrolídeos, foi usada excessivamente. Como o uso de macrolídeos induz o aumento da resistência, e esta pode se manifestar também para a clindamicina, o estudo visa investigar um possível impacto na população de *S. agalactiae* circulante. Os objetivos específicos são determinar a prevalência de tipos capsulares, o comportamento frente aos antimicrobianos e os fenótipos e genótipos de resistência a macrolídeos.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram estudadas 204 amostras bacterianas, isoladas no período de janeiro de 2019 a julho de 2024, provenientes de secreção vaginal (123) e urina (81) de gestantes atendidas nos serviços de pré-natal do Hospital Universitário Antônio Pedro e do Instituto Fernandes Figueira.

Todas as amostras tiveram sua identificação confirmada pelos testes de hidrólise do hipurato de sódio e de CAMP.

Um total de 194 amostras foi submetido à tipificação capsular. Os tipos capsulares prevalentes foram Ia (35,1%), III (21,1%), V (18%) e II (14,9%). Esses resultados estão de acordo com estudos prévios que demonstraram a prevalência destes sorotipos no Brasil (Palmeiro et al., 2010; Dutra et al., 2014).

Em relação ao comportamento frente aos antimicrobianos, as 204 amostras foram sensíveis a penicilina e a vancomicina. O MIC de penicilina variou entre 0,012 e 0,064 µg/ml. Apesar da sensibilidade observada, amostras resistentes têm sido reportadas ao redor do mundo (Kimura et al., 2018).

Foi observada resistência à clindamicina (4,4%), tetraciclina (77,4%) e levofloxacina (2,4%). Estas taxas estão de acordo com estudos prévios.

Em relação aos macrolídeos, 25% das amostras foram não suscetíveis. Entre estas, o fenótipo de resistência M foi predominante (82,3%), acompanhado do gene *mef/A*. Esta taxa de resistência encontra-se entre as mais altas já relatadas no país.

O estudo identificou nove amostras multirresistentes (MDR), ou seja, resistência a três ou mais classes de antimicrobianos. As amostras MDR foram resistentes à clindamicina e eritromicina, além de tetraciclina e/ou levofloxacina. Esse fenômeno de multirresistência é preocupante, pois limita as opções de tratamento e aumenta o risco de complicações e mortalidade. Desde 2014, a OMS considera a multirresistência uma ameaça global, e o EGB foi incluído na lista de bactérias de prioridade média tanto pelo CDC em 2019

quanto pela OMS em 2024 devido ao aumento da resistência.

Embora não se possa estabelecer uma relação direta entre o uso excessivo de azitromicina e o aumento da resistência, é crucial intensificar a pesquisa, monitoramento e coleta de dados sobre as amostras de *S. agalactiae*, considerando-se sua importância como patógeno humano e a tendência de resistência crescente.

CONCLUSÕES:

- O tipo capsular Ia foi prevalente, seguido dos tipos III, V e II.
- Todas as amostras foram sensíveis a penicilina e a vancomicina. Foi encontrada elevada taxa de resistência à tetraciclina e baixa taxa à levofloxacina.
- Um total de 25% das amostras não foi suscetível à eritromicina. Entre estas, o fenótipo M de resistência aos macrolídeos foi predominante.
- A resistência à eritromicina observada não confere resistência cruzada à clindamicina, o que, em teoria, garante a eficácia deste último quando administrado em pacientes alérgicas à penicilina.
- Amostras MDR foram detectadas, o que demanda contínuo monitoramento do perfil de suscetibilidade de amostras de *S. agalactiae* circulantes em nosso meio.

BIBLIOGRAFIA:

- Palmeiro et al. J Clin Microbiol. 48: 4397-4403. 2010.
- Dutra et al. BMC Infect Dis. 14:323. 2014

Kimura et al. Antimicrob Agents Chemother.
52:2890-2897. 2008.

Santana et al. World J Clin Cases 8:3988-3998.
2020.

AGRADECIMENTOS:

Agradeço ao PIBIC/CNPQ e a Universidade
Federal Fluminense pelo apoio financeiro.





CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

INFECÇÃO PELO PARVOVÍRUS HUMANO B19 EM PACIENTES COM MALÁRIA VIVAX NO BRASIL

¹THAYS GOMES DA SILVA RABELO, ^{1,2}ESTER DOS SANTOS
MOTTA, ²RICARDO DANTAS MACHADO, ¹RITA DE CÁSSIA
NASSER CUBEL GARCIA

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA E PARASITOLOGIA,
INSTITUTO BIOMÉDICO, UFF. ¹NÚCLEO DE PESQUISA DE
VIROLOGIA – UFF, ² CENTRO DE INVESTIGAÇÃO DE
MICROORGANISMOS.

INTRODUÇÃO:

O Parvovírus Humano B19 (B19V) é classificado no gênero *Erythroparvovirus* da família *Parvoviridae*. A infecção pelo B19V é comum e apresenta um padrão epidemiológico cíclico a cada 4-5 anos, definido por um aumento de casos de eritema infeccioso, uma doença exantemática aguda da infância. Como o B19V tem tropismo por células progenitoras de eritrócitos na medula óssea, a infecção causa uma parada transitória da eritropoese (3-7 dias) e consequente anemia grave (Hb<5g/dL) em pacientes com anemias constitucionais. A malária continua sendo a parasitose de maior relevância no mundo e vários estudos demonstram que a anemia grave é comum em crianças em regiões onde a malária causada pelo *Plasmodium falciparum* é endêmica. No Brasil, aproximadamente 99% da transmissão da malária ocorre na região da Amazônia Legal, com uma prevalência de infecções causadas por *P. vivax*. Sabe-se que a presença de outras infecções aumenta a incidência de complicações por esta

espécie. Portanto, é importante investigar o efeito da infecção pelo B19V na população residente em área endêmica de malária. No período de outubro/2014 a novembro/2015, o Prof. Dr. Ricardo Machado (MIP/CMB/UFF) coordenou um projeto em que se coletaram amostras de sangue de indivíduos residentes no município de Oiapoque, Amapá. Os soros dos pacientes com confirmação laboratorial de infecção pelo *P. vivax* foram testados, e foi possível confirmar a infecção aguda por B19V em aproximadamente 60% (84/148) dos pacientes. Para podermos avaliar se a infecção por B19V é mais significativa na população infectada por *P. vivax*, há necessidade de realizar a investigação laboratorial da infecção em indivíduos residentes na mesma região, cujos soros foram coletados no mesmo período e que testaram negativos para o parasito.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Os soros de 152 pacientes, com confirmação laboratorial do diagnóstico de malária, foram inicialmente testados para a presença de

anticorpos anti-B19V IgM e anti-B19V IgG utilizando o ensaio imunoenzimático (EIE) comercial (Serion, Brasil), conforme instruções do fabricante. Os anticorpos IgM anti-B19V foram detectados em 35% (53/152) das amostras, sendo 45 IgG positivas, 7 IgG negativas e 1 IgG inconclusiva. Em 43% (65/152) das amostras, somente anticorpos IgG anti-B19V foram detectados. A seguir, os 152 soros foram testados para a presença do genoma viral tanto pela reação em cadeia da polimerase convencional (cPCR) como quantitativa (qPCR), sendo que 10 amostras testaram positivas por cPCR e 32 por qPCR. O DNA-B19V foi detectado por qPCR em 17/53 (32,1%) amostras IgM positivas, em 13/88 (14,7%) das IgM negativas. A carga viral variou de $4,2 \times 10^3$ a $4,6 \times 10^6$ UI/mL, mas não houve diferença na média da carga viral entre amostras IgM positivas (média: $4,6 \times 10^5$ UI/mL) e IgM negativas (média: $1,55 \times 10^5$ UI/mL). Como até o momento não existe um teste considerado “padrão ouro” para discriminar entre infecção recente e/ou passada pelo B19V, existe um consenso de que mais de uma metodologia pode ser necessária para estabelecer o diagnóstico. Utilizando ambas as metodologias (sorológica e molecular), a infecção recente por B19V, definida pela detecção de IgM anti-B19V e/ou DNA-B19V, pode ser confirmada para 38,2% (58/152) dos indivíduos. A infecção passada foi determinada para 48,7% (74/152) dos indivíduos que testaram IgG positivo e IgM negativo/inconclusivo, na ausência do DNA-B19V ou com carga viral $< 10^4$ UI/mL. Cerca de 13% (19/152) das amostras testaram negativas para ambos os marcadores, e, portanto, estes indivíduos foram considerados suscetíveis à infecção. Ainda assim, o status da infecção não pode ser estabelecido para um indivíduo. Apesar da maioria

das amostras terem sido coletadas de jovens adultos, a infecção recente por B19V foi confirmada em aproximadamente 40% dos indivíduos. Existem evidências que 2014-2015 foi um ano epidêmico de B19V no Brasil, conforme também observado em outros estudos. Neste estudo, pode-se observar um aumento de casos de B19V em abril e no período de agosto a outubro, coincidindo com a sazonalidade da infecção em outras regiões do país. Entre os 58 pacientes com infecção aguda, 32,7% (19/58) apresentaram anemia branda e moderada de acordo com os níveis de hemoglobina, variando de 9,4 a 11,9g/dL para o sexo feminino e, 10,7 a 12,5g/dL para o sexo masculino; nenhum paciente desenvolveu anemia grave. Pode-se observar que mais de 60% (39/58) não estavam anêmicos. Ao comparar o desenvolvimento de anemia com o status da infecção por B19V, recente ou passada, não foi observado diferença significativa (Teste Qui-quadrado, $p=0,2948$). Uma das limitações deste estudo foi que a maioria das amostras testadas era de jovens adultos, e os estudos de coinfeção *P. falciparum*/B19V foram realizados principalmente na África, com crianças até 6 anos de idade, onde a ocorrência de anemia grave nesta faixa etária é comum e multifatorial.

CONCLUSÕES:

A infecção por B19V é comum na região amazônica e os nossos resultados corroboram a necessidade de utilizar ambas as metodologias sorológica e molecular para distinguir entre infecção recente e passada, e que 2014-2015 foi um ano epidêmico para B19V no Brasil.

Agradecimentos: Faperj, PROPPI-UF





Ciências Biológicas

PISTAS QUÍMICAS DE MANGUE UTILIZADAS PELO *MINUCA RAPAX* (Smith, 1870) NO MANGUEZAL DE ITAIPU, NITERÓI, RIO DE JANEIRO

Ágatha F. Pinheiro, Renato C. Pereira, Carlos Souza, Felipe V. Ribeiro

Universidade Federal Fluminense/Instituto de Biologia/Departamento de Biologia
Marinha/Laboratório de Ecologia Química Marinha

INTRODUÇÃO:

Manguezais são ecossistemas de transição de zonas úmidas tropicais e subtropicais que fornecem bens e serviços valiosos. Atuam como berçário para diversas espécies terrestres e marinhas e são caracterizados pela alta produtividade primária.

Os caranguejos braquiúros são considerados um dos grupos mais importantes das espécies bentônicas que compõem o manguezal. São responsáveis pela transformação da matéria orgânica, aumento da produtividade, oxigenação e drenagem do solo.

A distribuição da comunidade bentônica dos manguezais está ligada às variáveis ambientais, à distribuição de matéria orgânica no substrato e à vegetação, porque proporciona estrutura e proteção para o habitat.

Os caranguejos *Minuca rapax* são crustáceos decápodes semiterrestres, que habitam substratos sombreados de florestas de mangue ou planícies de maré ensolaradas adjacentes a elas e apresentam alta densidade de indivíduos. A capacidade de perceber e identificar compostos químicos no ambiente condiciona a sobrevivência, a reprodução e a persistência de

muitos seres vivos. O uso desses compostos como pistas químicas influencia o comportamento dos organismos e a forma como eles se relacionam uns com os outros e com o ambiente que os cerca. Os caranguejos (*Brachyura*) são modelos eficazes no uso de sinais e pistas químicas, e alguns deles possuem papel-chave no funcionamento de manguezais.

Uma calha de escolha de duas correntes foi utilizada para avaliar a preferência desses crustáceos ou não a uma fonte de água contendo pistas químicas de *Rhizophora mangle*, *Laguncularia racemosa*, *Avicennia schaueriana* e *Coespecíficos*.

Neste trabalho foi investigada a utilização de pistas químicas oriundas de espécies vegetais de mangue e de indivíduos da mesma espécie (coespecíficos) pelo caranguejo *Minuca rapax* da Lagoa de Itaipu, Niterói, RJ.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Os caranguejos *M. rapax* foram indiferentes aos exsudados de *R. mangle* e *A. schaueriana*, e repelidos pelos de *L. racemosa*. A neutralidade

é esperada visto que são organismos altamente generalistas e até pioneiros no habitat, indicando que não necessitam da presença de plantas específicas para seu assentamento e construção de suas galerias no solo do manguezal. Sob essa perspectiva, é pertinente considerar que o adensamento de galerias no entorno dessas plantas se deva a outros fatores, possivelmente abióticos. O efeito repelente de exsudatos de *L. racemosa* sobre *M. rapax* foi corroborado por censos visuais que constataram números de galerias menores no entorno desta espécie comparados àqueles ao redor das outras plantas e no controle. Estes resultados sugerem um possível papel-chave da mediação química na estruturação de manguezais brasileiros, com zonação caracterizada por maior abundância de *L. racemosa* no supralitoral, um estrato de solo mais firme, enquanto que *M. rapax* é mais abundante em áreas mais alagadas do meso e do infralitoral.

Além disso, por apresentar comportamento gregário, *M. rapax* demonstrou atração pelas pistas químicas de coespecíficos e os resultados também corroboram com o comportamento observado no campo.

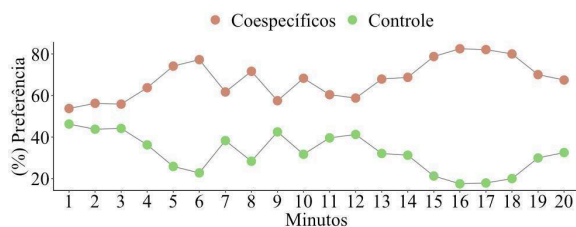


Figura 1. Gráfico representativo da escolha de *Minuca rapax* entre o controle (água a 20 PSU) e a pista (água a 20 PSU com Coespecíficos).

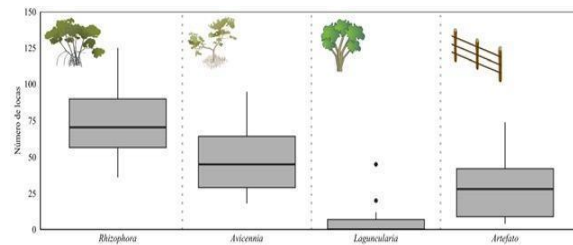


Figura 2. Boxplot representativo da quantidade de galerias de *Minuca rapax* ao redor das 3 espécies de árvores testadas e ao redor de artefatos.

CONCLUSÕES:

De acordo com os resultados obtidos, a mediação química provavelmente exerce um papel-chave na estruturação do manguezal. *Minuca rapax* pode ser considerado uma espécie generalista por não utilizar pistas de atração oriundas de espécies vegetais e por ser atraído por indivíduos da mesma espécie, o que explica o seu papel pioneiro em sistemas semi-ou recém estruturados como o manguezal da Lagoa de Itaipu.

AGRADECIMENTOS:

Agradecemos pelo apoio financeiro da Bolsa IC PIBIC/PROPPI-UFF de AFP, PDR10 de FVR; CNE para RCP.





Ciências Biológicas

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E HISTOLÓGICA DO ESTADO DE SAÚDE DE
PHYLLOGORGIA DILATATA (ESPER, 1806), (CNIDARIA, ANTHOZOA, OCTOCORALLIA),
EM ARRAIAL DO CABO.**

**Bruna M. Saliba , Thayssa S. F. Fagundes , Maurício A. Chagas, Andréa R. S. Baptista,
Renato C. Pereira , Davyson de Lima Moreira, Felipe V. Ribeiro**

**Universidade Federal Fluminense/Instituto de Biologia/Departamento de Biologia
Marinha/Laboratório de Ecologia Química Marinha**

INTRODUÇÃO:

Gorgônias exibem ampla distribuição geográfica e são componentes conspícuos em comunidades bentônicas marinhas. São octocorais caracterizados por produzirem ampla diversidade de metabólitos especializados que as auxiliam na provisão de habitat e manutenção da biodiversidade associada. No Brasil, a gorgônia endêmica *Phyllogorgia dilatata* é quimicamente defendida frente a epibiontes e predadores, mas encontra-se em visível declínio populacional no seu limite sul de ocorrência (Arraial do Cabo, Rio de Janeiro). Além de inúmeras colônias mortas, também foram previamente reportados diversos tipos de lesões e elevada epibiose em colônias remanescentes atualmente. Apesar destas constatações, a causa e a patogênese da mortalidade ainda é pouco compreendida, assim como os diversos efeitos sobre este octocoral. Nesse estudo

investigamos aspectos morfológicos e histopatológicos de colônias de *P. dilatata* sob efeito de poluição costeira, relacionando-os com parâmetros de saúde e diversidade química do metaboloma.

Nesse estudo, objetivou-se investigar os aspectos morfológicos e histopatológicos observados em colônias sob efeito direto da poluição costeira, relacionando os mesmos com parâmetros de saúde e a diversidade do metaboloma.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Colônias de *P. dilatata* vivendo sob impacto antrópico possuíam lesões macroscópicas onde foi identificada perda da integridade tecidual, degradação de escleritos, redução na densidade de foto-simbiontes e perda da diversidade química. Além disso, as lesões frequentemente estavam associadas à anomalia

na coloração, presença de galhas e de diversos morfotipos de fungos circundados por bandas de melanina e amebócitos granulares.

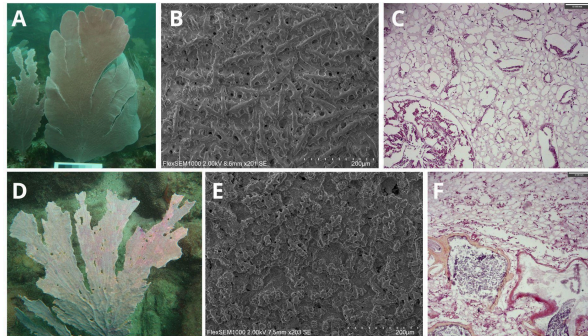


Fig.1. Comparação dos escleritos e tecido entre as categorias. Escleritos(B) e imagem da lâmina(C) do tecido da colônia saudável(A). Escleritos(E) e imagem da lâmina(F) do tecido da colônia roxa(D).

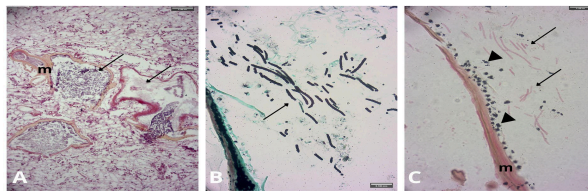


Fig.2. Imagens das lâminas do tecido roxo coradas com HeE(A), Grocott (B) e Fontana-Masson(C). Diferentes hifas (setas) encapsuladas por bandas de melanina(m) e amebócitos granulares (triângulos).

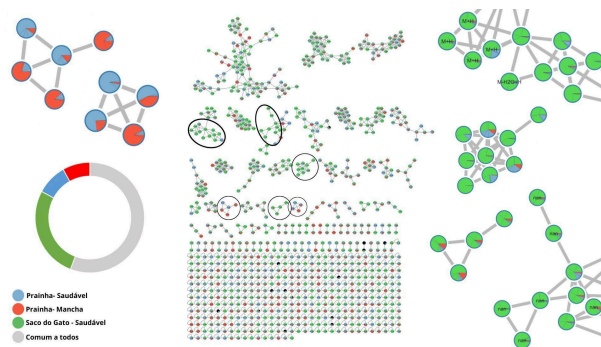


Fig.2. Imagem do GNPS das amostras “Saudável - Saco do Gato”, “Saudável - Prainha” e “Prainha-Dentro da mancha” com destaque das famílias separadas por sítio. O gráfico de pizza mostra a abundância relativa de composto exclusivos e compostos comuns dentro de cada categoria. As diferenças observadas entre as colônias do sítio impactado e do sítio controle, sugerem que

a infecção por fungos está relacionada à condição de estresse fisiológico experimentado pelas gorgônias sob efeito dos efluentes domésticos. Os sinais clínicos relacionados à pigmentação roxa podem ser indicadores de presença de fungos, perda de simbiontes e proteção física, débito energético por redução da assimilação de compostos orgânicos por vias auto e heterotróficas. A produção de metabólitos para a defesa química por sua vez estaria comprometida, tornando *P. dilatata* vulnerável aos seus inimigos naturais.

CONCLUSÕES:

As gorgônias do sítio impactado possuíam menor sinal de vitalidade relacionado com a presença de fungos. As alterações estruturais e a quebra da simbiose nas colônias sob efeito de efluentes podem reduzir a proteção mecânica, a sustentação da colônia e a redução da obtenção de energia por meio da fotossíntese. Este déficit de nutrientes pode significar menos energia disponível para a produção de química defensiva. De acordo com o modelo do estresse ambiental para alocação de recursos, há uma produção menor de metabólitos especializados sob estresse fisiológico e, em condições extremas, o nível de defesas químicas seria menor e, por isso, os organismos estariam mais vulneráveis à predação, bioincrustação e patógenos.

AGRADECIMENTOS:

Agradecemos ao Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro por ceder espaço para a realização desta pesquisa e apoio financeiro Bolsa PDR10/FAPERJ de FVR; PIBIC/Proppi UFF de BMS, CNE/FAPERJ de DLM e RCP, PQ/CNPQ de DLM._





Ciências Biológicas

DETECÇÃO DE *STAPHYLOCOCCUS* RESISTENTES À METICILINA (MRS) EM ÁGUA DO MAR E MARISCOS DE PRAIAS DE NITERÓI, RIO DE JANEIRO

Bernardo Rodrigues Xavier, Renata Fernandes Rabello

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

INTRODUÇÃO:

O gênero *Staphylococcus* é constituído por bactérias Gram-positivas que fazem parte da microbiota da pele e de mucosas de humanos e animais, são encontradas no ambiente e muitas causam infecções em diferentes espécies hospedeiras. A capacidade de adquirir resistência aos antimicrobianos tornar estas bactérias um problema de saúde pública, com destaque para as cepas de *Staphylococcus* resistentes à meticilina (MRS). Dentre estas, *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA) que é um importante patógeno em unidades de saúde e na comunidade. MRS são cepas multirresistentes, logo com menos opções de tratamento. Em virtude de *Staphylococcus* spp. poderem ser encontrados no ambiente e contaminar alimentos, faz-se necessário um monitoramento da sua presença em reservatórios ambientais e sua caracterização uma vez que podem ser fontes de infecção para humanos. Alimentos vindos do mar contaminados por *Staphylococcus* spp. podem causar surtos (Silva et al, 2015). Desta forma, o presente estudo teve como objetivos investigar a presença de MRS na água do mar e mariscos de praias de Niterói, Rio de Janeiro.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

A partir de 18 coletas mensais de amostras de água do mar das praias de Icaraí, Jurujuba e Piratininga e de mariscos de Jurujuba, entre 06/2022 e 12/2023, *Staphylococcus* spp. foram isolados de todas as praias e de mariscos e em várias coletas. Do isolamento em Ágar Manitol Salgado e CHROMagar MRSA, 12 espécies foram identificadas por MALDI-TOF (Tabela 1).

Tabela 1. Espécies de *Staphylococcus* isoladas em água do mar e mariscos em praias de Niterói.

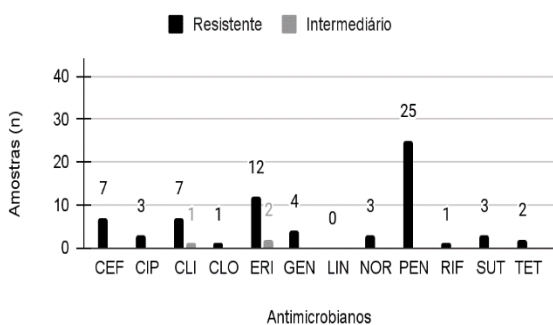
Espécie	Água (n)			Marisc o	Total
	I	P	J		
<i>S. aureus</i>	1		2	1	4
<i>S. caprae</i>	1		1		2
<i>S. captis</i>		2		1	3
<i>S. cohnii</i>				1	1
<i>S. epidermidis</i>		1	1	4	6
<i>S. haemolyticus</i>		1			1
<i>S. kloosi</i>				1	1
<i>S. nepalensis</i>			1		1
<i>S. pasteurii</i>				1	1
<i>S. saprophyticus</i>	1	1		3	5
<i>S. sciuri</i>	1	2			3
<i>S. warneri</i>	4	2	3	4	13

Total 8 9 8 16 41

I: Icaraí, P: Piratininga, J: Jurujuba.

Dentre 12 antimicrobianos testados pelo disco difusão, 29 de 41 (70,7%) amostras de *Staphylococcus spp.* apresentaram resistência a pelo menos uma classe de antimicrobiano. Não foi observada resistência apenas para linezolida. Resistência foi mais frequente para penicilina (n = 25) e eritromicina (n = 13) (Figura 1). Dez amostras (24,4%) eram multirresistentes, ou seja, exibiram resistência a três ou mais classes de antimicrobianos ou eram MRS (n = 4). Das MRS, duas *S. aureus* (MRSA) foram identificadas pelo disco difusão e pela PCR para o gene *mecA*. A genotipificação do SCCmec das MRS identificou os tipos IVa e V. As MRS foram isoladas da água do mar de Piratininga e Jurujuba e de mariscos de Jurujuba.

Resistência aos antimicrobianos



CEF: Cefoxitina, CIP: Ciprofloxacina, CLI: Clindamicina, CLO: Cloranfenicol, ERI: Eritromicina, GEN: Gentamicina, LIN: Linezolida, NOR: Norfloxacin, PEN: Penicilina, RIF: Rifampicina, SUT: Sulfazotrim, TET: Tetraciclina.

Figura 2. Frequência de amostras de *Staphylococcus spp.* resistentes a antimicrobianos isoladas de água de mar e mariscos.

MRSA é uma bactéria multirresistente que causa principalmente infecções associadas a unidades de saúde, mas também podem acometer indivíduos na comunidade. Já foi detectada anteriormente em mariscos em praia do município de Niterói (Andrade et al. 2022).

Os dados do presente estudo refletem as interações entre a comunidade e o ambiente na região. Portanto, a detecção destas bactérias deve ser considerada como um alerta para estimular a investigação de potenciais fontes de contaminação e ações para evitar o aumento destes microrganismos nas praias da região.

CONCLUSÕES:

Foram detectados MRS e outras cepas multirresistentes nas águas do mar e mariscos de praias do município de Niterói, sendo algumas espécies envolvidas em infecções em humanos como MRSA. Monitorar bactéria multirresistentes em reservatórios ambientais é importante, pois pode alertar quanto a necessidade de adoção de medidas para evitar sua disseminação e aos riscos à saúde da população.

REFERÊNCIAS:

- Silva, J. P. et al. 2015. *Staphylococcus spp.*: incidência e surtos. Brasília, DF: Embrapa.
 - Andrade, N. M. et al. Food Sci. Technol., 42: e107421, 2022.
- <https://doi.org/10.1590/fst.107421>

AGRADECIMENTOS: ALMARJ, PDPA,
UFF





Ciências biológicas

**CARACTERIZAÇÃO GENOTÍPICA DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*
MULTIRRESISTENTES ISOLADOS DE GESTANTES COLONIZADAS ATENDIDAS EM
MATERNIDADE-ESCOLA NO RIO DE JANEIRO**

Raquel T. Dias, Geilson C. da Silva, Renata F. Rabello

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

INTRODUÇÃO:

A colonização de gestantes por bactérias multirresistentes pode representar um risco para o desenvolvimento de uma infecção de difícil tratamento na própria gestante ou, a partir da sua transmissão, para seu neonato. *Staphylococcus aureus* é um agente comumente responsável tanto por infecções relacionadas aos cuidados à saúde quanto por infecções comunitárias. Esta bactéria frequentemente exibe resistência a vários antimicrobianos, reduzindo assim as opções de tratamento. MRSA (*methicillin-resistant S. aureus*) é uma cepa multirresistente caracterizada pela resistência a todos os beta-lactâmicos, exceto às cefalosporinas de 5ª geração. Esta resistência é codificada pelo gene *mecA*, o qual é carregado pela ilha genômica *SCCmec*, sendo descritos diferentes tipos. Além do *mecA*, vários outros genes de resistência aos antimicrobianos têm sido descritos em *S. aureus*, com alguns deles também conferindo resistência cruzada a diferentes antimicrobianos. Macrolídeos, lincosamídeos e aminoglicosídeos são opções para tratamento de estafilococcias. Diferentes mecanismos e

genes de resistência têm sido descritos para eles, como modificação do alvo do antimicrobiano (*ermA-C* – resistência aos macrolídeos, lincosamídeos e estreptograminas B – fenótipo MLS_B); bombas de efluxo (*msrA-B* – resistência a macrolídeos e estreptograminas B – fenótipo MS_B), enzimas inativadoras de antimicrobianos (*linA* – resistência a lincosamídeos) e enzimas modificadoras de antimicrobianos (*aac(6)-Ie-aph(2'')*-*Ia*, *aph(3')-IIIa* e *ant(4')-Ia* – resistência aos aminoglicosídeos).

Surtos de MRSA têm sido reportados em unidades de cuidados intensivos neonatais. O isolamento de MRSA de gestantes tem sugerido o seu envolvimento na transmissão para neonatos. Portanto, os objetivos do estudo foram pesquisar a ocorrência de colonização por *S. aureus* em gestantes e neonatos, determinar o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos, identificar genes de resistência e investigar a potencial transmissão de gestantes para neonatos.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

De 597 gestantes e 36 neonatos, apenas 39 gestantes (6,5%) estavam colonizadas por *S. aureus*. Espécimes foram coletados em um hospital maternidade-escola no município do Rio de Janeiro, entre 09/2021 e 05/2023. As 39 amostras de *S. aureus* foram testadas por disco difusão, sendo observadas as seguintes frequências de não susceptibilidade (resistentes e intermediárias): penicilina (87%), eritromicina (62%), clindamicina (41%), gentamicina (25%), cefoxitina (23%), ciprofloxacina (8%), sulfazotrim (5%), cloranfenicol (2%), linezolida (2%), nitrofurantoína (2%), tetraciclina (2%) e rifampicina (0%).

A maioria das cepas (n = 18, 46%) eram multirresistentes, sendo metade cepas de MRSA segundo disco de cefoxitina. Foram observadas cepas resistentes a até cinco classes de antimicrobianos (Figura 1).

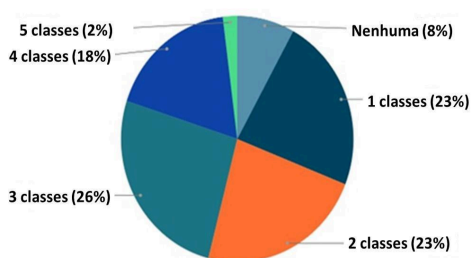


Figura 1. Frequência de cepas em relação ao número de classes de antimicrobianos aos quais apresentaram resistência.

Pelo teste D, foram observadas 16 cepas com fenótipo MLS_B (de forma indutiva, exceto uma) e seis com fenótipo MS_B . Uma cepa de MRSA exibiu fenótipo MLS_B e uma fenótipo MS_B .

Em relação aos genes de resistência aos antimicrobianos pesquisados por PCR, foram detectados *mecA* em 8 das 9 cepas resistentes à cefoxitina, sendo que na cepa *mecA* negativa foi detectada a ilha *SCCmec*. Variantes de *mecA* são raramente encontrados e pode ser este o motivo do fenótipo MRSA e não detecção do *mecA* nesta cepa. Os tipos de *SCCmec* identificados foram IVa e V, mas não em todas as cepas. Neste estudo, pesquisamos as ilhas dos tipos I a V, as quais são as mais frequentes. Entretanto, há outros tipos descritos na literatura (Tabela 1).

Tabela 1. Perfil de resistência, presença de *mecA* e tipo de *SCCmec* de cepas de MRSA.

Cepa	Resistência	<i>mecA</i>	<i>SCCmec</i>
1485 7	Cef, Pen	+	
1497 7	Cef, Eri*, Pen	+	
1529 2	Cef, Eri*, Pen	+	IVa
1530 2	Cef, Cli, Eri, Pen, Tet	-	V
1530 6	Cef, Cip, Eri, Pen	+	IVa
1534 3	Cef, Pen	+	
1536 9	Cef, Pen	+	
1537 5	Cef, Pen	+	IVa
1537 7	Cef, Pen	+	

Cef: cefoxitina; Cip: ciprofloxacina; Cli: clindamicina; Eri: eritromicina; Pen: penicilina; Tet: tetraciclina; *Intermediária.

Entre as 17 cepas com fenótipo MLS_B , em nove foram detectados os genes *ermC*. No caso das sete cepas com fenótipo MS_B , três apresentavam *mrsA* e *mrsB* e uma apenas *mrsB*. As três cepas de MRSA exibiram os genes de acordo com seu fenótipo. As cepas

resistentes negativas para os genes investigados podem carrear outros que não foram testados neste estudo. Todas as onze cepas não susceptíveis à gentamicina (aminoglicosídeo) apresentaram o gene *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia*, mas não os outros dois genes pesquisados. Nenhuma cepa de MRSA exibiu resistência para gentamicina.



CONCLUSÕES:

Cepas de *S. aureus* multirresistentes foram frequentes entre as gestantes colonizadas, incluindo MRSA, semelhante ao observado em estudos em outros países. Os perfis fenotípicos de resistência das amostras foram confirmados pelos perfis genotípicos na maioria das cepas, sendo detectados os genes *mecA* (MRSA, SCC*mec* IVa e V), *ermC* (MLSB), *msrA* e *msrB* (MSB) e *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia* (resistência à gentamicina). O número limitado de neonatos não permitiu investigar a potencial transmissão de *S. aureus* multirresistentes de gestantes para neonatos. Portanto, estudos com maior amostragem devem ser realizados. Todavia, a colonização de gestantes por cepas multirresistentes é um alerta, pois tratar uma infecção causada por estas cepas pode ser um desafio.

AGRADECIMENTOS:

UFF, FAPERJ



Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas
TÍTULO DO PROJETO: INTERAÇÃO ENTRE OS SISTEMAS
ENDOCANABINÓIDE E COLINÉRGICO EM RETINA EMBRIONÁRIA
DE AVES: MODULAÇÃO DO TRANSPORTE DE GABA
Autores: Vitória Barbosa Rodrigues de Carvalho; Livia Pinto
Pinheiro; Regina Célia Cussa Kubrusly
Departamento/Unidade/Laboratório: Departamento de Fisiologia e
Farmacologia/Instituto Biomédico/Laboratório de
Neurofarmacologia

INTRODUÇÃO

A retina é um tecido laminar pertencente ao Sistema Nervoso Central (SNC) que está envolvido no processo de fototransdução. Por apresentar diferentes circuitarias neuroquímicas, fácil acessibilidade e estrutura organizada em camadas, a retina configura um modelo vantajoso e importante para estudos de circuitos neurais.

O sistema colinérgico desempenha um papel crucial na regulação da liberação e ativação de neurotransmissores. Esse sistema é encontrado em períodos iniciais do desenvolvimento da retina, e têm atuação de destaque durante a sinaptogênese.

As células amácrinas *starburst*, principais células colinérgicas, além de expressarem maquinaria colinérgica, participam da sinalização do GABA, principal neurotransmissor inibitório do SNC de vertebrados. O GABA exibe um perfil excitatório em estágios iniciais do desenvolvimento da retina. Porém, em estágios maduros, assume sua função clássica de inibição, modulando a excitabilidade dos circuitos locais.

Na retina, a liberação de GABA na fenda sináptica ocorre predominantemente de forma não-vesicular, sendo mediada pelos

transportadores GATs. Na retina das aves, o GAT-1 é o principal responsável pelo processo de captação e liberação de GABA, desempenhando um papel crítico na homeostase sináptica.

O sistema endocanabinóide também está presente na retina, com seus receptores CB₁ e CB₂ expressos desde os estágios iniciais do desenvolvimento em aves. A ativação deste sistema está relacionada, por exemplo, à hiperpolarização neuronal e à redução da liberação pré-sináptica de GABA e glutamato.

Estudos têm mostrado que agonistas de receptores colinérgicos e endocanabinóides são capazes de modular o transporte de GABA. Analisar como essas maquinarias se relacionam e como isso modula a sinalização excitatória-inibitória colabora para o entendimento do microambiente da retina em circunstâncias basais e fisiopatológicas.

Desta forma, esse trabalho tem como objetivo avaliar o transporte de GABA em modelo *ex vivo* de retina de aves durante o período embrionário (E15), mediante ativação dos sistemas endocanabinóide e colinérgico.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente foi realizada uma caracterização da presença de alguns dos transportadores/receptores alvos do presente estudo ao longo do desenvolvimento da retina embrionária de aves, também sendo avaliada sua funcionalidade. Desta forma, retinas de E8 até E18, foram submetidas a ensaio de Western blot para avaliação da densidade de GAT-1 e a ensaios de captação de [³H]-GABA, para avaliação da funcionalidade do transportador.

Da mesma forma, a caracterização da maquinaria endocanabinoide foi realizada através da ontogênese do receptor CB₁ (CB₁R) por meio de Western blot, abrangendo o mesmo período embrionário.

Uma vez que ambas as circuitarias estão expressas e funcionais ao longo do desenvolvimento, foram realizados ensaios neuroquímicos após tratamento com nicotina e/ou WIN (50µM e 100nM, respectivamente) para investigar a possibilidade de uma interação entre receptores endocanabinóides e colinérgicos, e se tal afetaria o transporte de GABA. Conforme dados prévios do grupo, em E12 a nicotina reduziu de forma significativa a captação de GABA, enquanto WIN não promoveu alteração. Porém, quando desafiamos inicialmente o sistema com WIN esse efeito redutor é prevenido, indicando que pode estar ocorrendo alguma interação entre esses sistemas e isso estar interferindo no transporte GABAérgico. Tendo em vista que os resultados da ontogênese da captação de GABA indicavam uma maior atividade do GAT-1 ao longo do desenvolvimento, o mesmo experimento foi realizado na idade de E15. E embora não tenha sido observada diferença

significativa, a tendência de redução da captação pela nicotina e reversão desse efeito pelo desafio prévio com WIN se mantém.

Para avaliar se o efeito da nicotina no transporte de GABA seria causado por uma alteração na densidade de GAT-1, realizamos ontogênese desse transportador após a exposição aguda à nicotina (50µM). Aparentemente, a exposição aguda à nicotina não afeta a densidade de GAT-1, sugerindo que a redução na captação causada por esse fármaco pode ser decorrente de uma alteração na funcionalidade desse transportador.

CONCLUSÕES

A caracterização da retina de aves mostrou que GAT-1 e CB₁R estão expressos durante a ontogênese (E8 a E18), com GAT-1 funcional e apresentando aumento de atividade ao longo do desenvolvimento. Em retinas E12, desafio prévio com agonista canabinoide WIN 55,212-2 preveniu a redução na captação causada pela nicotina, sugerindo possível interação entre esses sistemas. Embora não tenham sido registradas alterações significativas na idade de E15, existe forte tendência ao mesmo perfil de modulação no transporte de GABA após os estímulos com nicotina e/ou WIN 55,212-2. A exposição aguda à nicotina não pareceu afetar a densidade de GAT-1, o que sugere que seu efeito ocorra por meio de uma alteração na funcionalidade desse transportador.

AGRADECIMENTOS

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





Biologia Celular e Molecular

ESTUDO DOS EFEITOS DE UVAOL E ÁCIDO OLEANÓLICO, TRITERPENOS DO AZEITE DE OLIVA, EM CULTURA DE EMBRIÃO DE GALINHA SUBMETIDAS A ESTRESSE OXIDATIVO

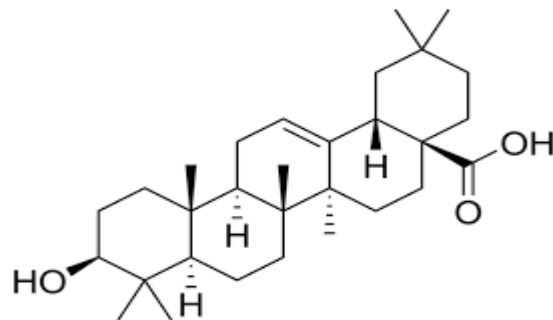
Natan G F dos Santos¹, Vinicius Rodrigues Soares¹², Karin da Costa Calaza²³ e Rafael Brito¹²³

Departamento de Biologia Celular e Molecular¹, Universidade Federal Fluminense;
Departamento de Neurobiologia, Universidade², Programa de Pós-graduação em Neurociências³ Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro

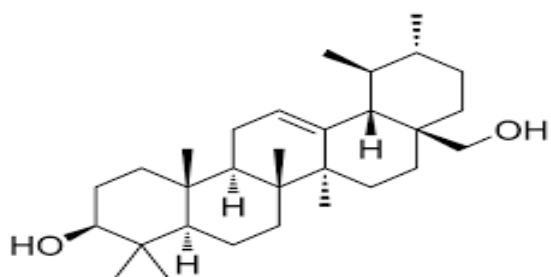
INTRODUÇÃO:

Ácido oleanólico (OA) e UVAOL são triterpenos pentacíclicos encontrados em azeite de oliva extra virgem (*Olea europaea*). Seu consumo é abundante na dieta mediterrânea e relaciona-se à baixa incidência de acidentes cardiovasculares na população que a consome. Os efeitos protetores dessas moléculas incluem ações anti-inflamatórias, anti-tumorais, anti-oxidantes e anti-apoptóticos e já foram descritos em diversos tipos celulares e em diversos modelos experimentais. Há, porém, poucos dados de suas atuações no sistema nervoso central (SNC), sobretudo na retina, um tecido constituinte deste sistema e sensível a espécies reativas de oxigênio (ROS). As ROS são naturalmente formadas em decorrência do metabolismo celular e muitas retinopatologias estão relacionadas ao desbalanço entre a produção de ROS e a capacidade do tecido de aliviar esse estresse. Estas doenças podem acarretar em cegueira em decorrência de um desbalanço oxidativo causando severos prejuízos ao bem estar e interação

social dos indivíduos acometidos. Portanto, o estudo da ação de OA e UVAOL na retina se torna imperativo para a descoberta de novos caminhos de prevenção de dano celular e tecidual. Assim, esse estudo visa testar o efeito neuroprotetor de OA e UVAOL em modelo de cultura de células da retina de embrião de galinha.



molécula de ácido oleanólico



molécula de UVAOL

MATERIAIS E MÉTODOS:

Células da retina de embrião de galinha (*Gallus gallus*) foram dissecadas e plaqueadas em MEM no oitavo dia embrionário (E8). Após 48 horas de cultivo (E8C2), as células foram tratadas com UVL ou OA (0,001 μ M, 0,01 μ M, 0,1 μ M, 0,5 μ M, 1 μ M, 5 μ M, 10 μ M, 20 μ M). Em E8C3 foi feito o ensaio de MTT antes e depois de insulto com 100 μ M H₂O₂ por 2 horas. Análise estatística foi realizada usando teste ANOVA e $p < 0.05$ foi considerado significativo. Os resultados foram apresentados como média +/- erro padrão da média e o controle normalizado para 100%. (CEUA: 8882041120).

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Não foram encontrados alterações significativas na viabilidade celular em culturas de células da retina submetidas ao tratamento com concentrações crescentes de UVAOL (0,001-10 μ M) (UVL 0,001 μ M, 93,67%, $p = 0.990$, $n = 4$; UVL 0,01 μ M, 108,20%, $p = 0.950$, $n = 4$; UVL 0,1 μ M, 102,50%, $p = 0.999$, $n = 5$; UVL 0,5 μ M, 87,71%, $p = 0.652$, $n = 5$; UVL 1 μ M, 99,71%, $p > 0.999$, $n = 4$; UVL 5 μ M, 102,60%, $p = 0.999$, $n = 4$; UVL 10 μ M, 85,59%, $p = 0.544$, $n = 4$) e grupos controle, porém na concentração 20 μ M de UVAOL (64,85%, $p = 0,003$, $n = 4$) a viabilidade celular decresceu

comparada ao controle. Também não foram encontrados alterações significativas na viabilidade celular no tratamento com OA de 0,001 μ M a 10 μ M (OA 0,001 μ M, 96,13%, $p = 0,999$, $n = 4$; OA 0,01 μ M, 87,59%, $p = 0,836$, $n = 4$; OA 0,1 μ M, 85,13%, $p = 0,758$, $n = 3$; OA 0,5 μ M, 103,60%, $p = 0,999$, $n = 4$; OA 1 μ M, 96,34%, $p = 0,999$, $n = 4$; OA 5 μ M, 84,99%, $p = 0,680$, $n = 4$; OA 10 μ M, 98,66%, $p = 0,999$, $n = 4$; OA 20 μ M, 83,87%, $p = 0,607$, $n = 4$) e grupos controle, porém na concentração 40 μ M de OA (% $p = 0,0158$) reduziu a viabilidade celular.

O tratamento com H₂O₂ (74,10%, $n = 5$) reduziu a viabilidade celular em 30% e o pré-tratamento com Uvaol (0,001 μ M, 77,62%, $p = 0.999$, $n = 7$; 0,01 μ M, 76,94%, $p = 0.999$, $n = 7$; 0,1 μ M, 78,65%, $n = 7$, $p = 0.999$; 0,5 μ M, 83,78%, $p = 0.852$, $n = 7$; 1 μ M, 83,68%, $p = 0.859$, $n = 7$; 5 μ M, 80,25%, $p = 0.993$, $n = 7$) e AO (OA 0,001 μ M, 51,93%, $p = 0,999$, $n = 3$; OA 0,01 μ M, 54,55%, $p = 0,999$, $n = 3$; OA 0,1 μ M, 69,28%, $p = 0,983$, $n = 4$; OA 0,5 μ M, 76,82%, $p = 0,657$, $n = 4$; OA 1 μ M, 49,27%, $p = 0,999$, $n = 4$; OA 5 μ M, 37,45%, $p = 0,765$, $n = 4$; OA 10 μ M, 52,19%, $p = 0,999$, $n = 4$; OA 20 μ M, 41,70%, $p = 0,134$, $n = 3$) não reverteu esta morte.

CONCLUSÃO:

O pré-tratamento com UVL por 24 horas em concentrações menores que 10 μ M não foi capaz de diminuir a viabilidade celular. De modo semelhante, o tratamento com OA em concentrações menores que 20 μ M não foram capazes de diminuir a viabilidade celular no mesmo modelo. Porém nenhuma das concentrações utilizadas de ambos os fármacos impediram a morte celular causada por peróxido de forma significativa. Observamos, contudo, uma tendência de

neuroproteção com o pré-tratamento de OA em 0,5 μ M contra o insulto.

AGRADECIMENTOS:

Agradecemos as redes de fomento FAPERJ (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro) e PROPPI (Pró-reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação), CAPES (Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e INNT (Instituto Nacional de Neurociência Translacional).

REFERÊNCIAS:

Mentella, M. C., Scaldaferri, F., Ricci, C., Gasbarrini, A. & Miggiano, G. A. D. Cancer and mediterranean diet: A review. *Nutrients* 11, 1–25 (2019).

Du, S. Y. et al. Anti-inflammatory properties of uvaol on DSS-induced colitis and LPS-stimulated macrophages. *Chinese Med. (United Kingdom)* 15, 1–13 (2020).

Cordova, C. et al. Oleanolic Acid Controls Allergic and Inflammatory Responses in Experimental Allergic Conjunctivitis *PLoS ONE* 9(4): e91282. (2014). doi: 10.1371/journal.pone.0091282





Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas

AVALIAÇÃO DO EFEITO DO EXTRATO DE FRIDERICIA CHICA (BONPL.) L.G. LOHMANN NA EXPRESSÃO DOS COMPONENTES DO SISTEMA GABAÉRGICO

Letícia Gonçalves¹, João Gabriel Restier^{1,2}, Karin da Costa Calaza^{2,3} e Rafael Brito^{1,2,3}

Departamento de Biologia Celular e Molecular¹, Departamento de Neurobiologia², Programa de Pós-graduação em Neurociências³ Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro

INTRODUÇÃO:

A retina é uma estrutura complexa do sistema nervoso central (SNC), composta por várias camadas celulares, incluindo fotorreceptores (bastonetes e cones), células bipolares, amácrinas, horizontais e ganglionares, sendo responsável pela transdução de sinais luminosos para o cérebro. A função normal da retina depende de processos bioquímicos, como a fototransdução e o metabolismo energético, além da comunicação precisa entre células neurais mediada por neurotransmissores, como o GABA. O GABA atua principalmente como neurotransmissor inibitório, regulando a excitabilidade neuronal e desempenhando um papel crítico no desenvolvimento retiniano. Na retina de embrião de galinha, o GABA e seus receptores estão envolvidos na maturação das camadas neurais e na organização funcional da retina. O GABA é sintetizado a partir de ácido glutâmico pela ação da enzima glutamato descarboxilase (GAD), que existe em duas isoformas, GAD65 e GAD67. A retirada do GABA do meio extracelular depende da atividade de seus transportadores GAT-1,

GAT-2, GAT-3 e BGT-1. A modulação da síntese e liberação de GABA é crucial para o equilíbrio entre excitação e inibição no SNC, e disfunções nesse sistema podem estar associadas a condições neurológicas, como epilepsia e esquizofrenia. Células da retina de embrião de galinha possuem, ao longo do seu desenvolvimento embrionário, todos os componentes do sistema GABAérgico, o que inclui suas enzimas de síntese (GAD65/67), seus transportadores (GAT-1 e GAT-3) e o GABA propriamente dito, que é expresso em células horizontais, amácrinas e amácrinas deslocadas. Dados prévios do nosso grupo revelaram que a imunoreatividade para o GABA em células da retina pode ser alterada por agentes exógenos, como cafeína, óxido nítrico, glicose e etanol. Apesar disso, não há muitas informações sobre a ação de produtos naturais em células da retina, o que inclui o extrato de *Fridericia chica* (*F. chica*). *F. chica* é uma planta arbustiva conhecida como “crajiuru” com grande distribuição na América do Sul e utilizada pelo conhecimento popular para o tratamento de diferentes enfermidades. As propriedades medicinais do extrato de *F. chica*

incluem atividades anti-inflamatórias, antioxidantes e cicatrizantes, atribuídas principalmente aos flavonoides presentes nas folhas, como carajurina e carajurona. Embora trabalhos na literatura estejam corroborando as ações benéficas do extrato de *F. chica*, não dá dados relacionando a ação do extrato em células do SNC, o que abrange a retina. Dessa forma, é interessante caracterizar esta ação em células neuronais através da análise do sistema GABAérgico, que é suscetível a intervenções farmacológicas.

METODOLOGIA:

O extrato bruto (EB) aquoso de *F. chica* foi gentilmente cedido pelo prof. Dr. Antônio Luiz Ribeiro Boechat Lopes do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Amazonas. Embriões de galinha da raça White Leghorn com 14 dias de desenvolvimento (E14) foram injetados com diferentes concentrações do extrato de *F. chica* (10 mg/kg, 15 mg/kg e 20 mg/kg). Após dois dias, em E16, as retinas dos embriões foram dissecadas para análise de imunohistoquímica e Western blot. A imunohistoquímica foi utilizada para avaliar a imunorreatividade ao GABA em células retinianas, enquanto o Western blot foi empregado para quantificar o conteúdo das proteínas GAD 65/67 e GAT-3.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Retinas de animais expostos a 10 mg/Kg do extrato de *F. chica* apresentaram uma tendência de aumento nas células horizontais (CTR 10mg: 100 ± 34 ; n= 2; F.C. 10mg: $158,5 \pm 48,9$; n= 2; P= 0,1423), amácrinas (CTR 10mg: 100 ± 23 ;

n= 2; F.C. 10mg: $117,2 \pm 15,56$; n= 2; P= 0,3360) e ganglionares (CTR 10mg: 100 ± 46 ; n= 2; F.C. 10 mg: $153,3 \pm 66,2$; n= 2; P= 0,2878) GABA positivas (GABA+), respectivamente. O extrato de *F. chica* na concentração de 15 e 20 mg/kg aumentou significativamente a expressão de GAT-3 (CTR: 100, n= 7; F.C. 10mg: $115,8 \pm 16,6$ n= 7, P= 0,6937; F.C. 15mg: $146,7 \pm 12,6$ n=6, P= 0,0279; F.C. 20mg: $148,5 \pm 9,3$ n=5, P= 0,0304) e diminuiu a expressão de GAD 65/67 (CTR: 100, n= 6; F.C. 10mg: $76,27 \pm 10,32$ n= 6, P= 0,1418; F.C. 15mg: $61,95 \pm 9,37$ n=5, P= 0,0113; F.C. 20mg: $59,45 \pm 7,90$ n=4, P= 0,0109).

CONCLUSÕES:

Os dados, em conjunto, revelam que o tratamento com 10 e 20 mg/Kg do extrato de *F. chica* é capaz de aumentar o transportador GAT-3 e reduzir as enzimas de síntese GAD65/67, o que pode implicar em uma maior reatividade para células GABA+. Mais experimentos precisam ser realizados para avaliar este aspecto e se os transportadores GAT-1 e sinapses GABAérgicas estão sendo modulados pelo tratamento com o extrato de *F. chica*. De qualquer forma, a pesquisa avança o conhecimento sobre a interação entre substâncias naturais e sistemas neurotransmissores, além de explorar o potencial da *Fridericia chica* como modulador do sistema GABAérgico em tecidos neurais, como a retina. Estes achados poderiam abrir novas perspectivas para o uso de compostos naturais no tratamento de disfunções do SNC e auxiliar no desenvolvimento de novas terapias baseadas em plantas.

AGRADECIMENTOS:

Agradecemos as redes de fomento FAPERJ (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro) e PROPPi (Pró-reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação), CAPES (Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e INNT (Instituto Nacional de Neurociência Translacional).





Ciências Biológicas

**MICROQUIMERISMO E A INFLAMAÇÃO INTESTINAL CRÔNICA
ANTÍGENO ESPECÍFICA**

**Ruan Souza Coimbra Rodrigues, Bárbara Oliveira Marmello,
Gerlinde Agate Platais Brasil Teixeira**

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

INTRODUÇÃO:

Ainda são necessários elucidar sobre os mecanismos da patogênese da alergia alimentar. Esta pode ser classificada de acordo com os mecanismos imunológicos envolvidos. Assim temos reações mediadas por anticorpos (IgE e/ou IgG) e/ou por células (linfócitos). O advento da manipulação genica em células embrionárias abriu caminho para geração de animais geneticamente modificados, e um deles é o camundongo GFP, que é a ferramenta chave para estudo do microquimerismo feto-maternal. No decorrer da gravidez o feto é separado do tecido materno pela barreira placentária. Esta é semipermeável e permite um trânsito bidirecional de células hematopoiéticas e de antígenos solúveis, que podem ser detectados por décadas no sangue e nos tecidos de indivíduos saudáveis. A passagem de células fetais para o organismo materno consiste no chamado microquimerismo fetal. O papel destas células no organismo materno não está totalmente esclarecido, e existem especulações que as células fetais que persistem no pós-parto

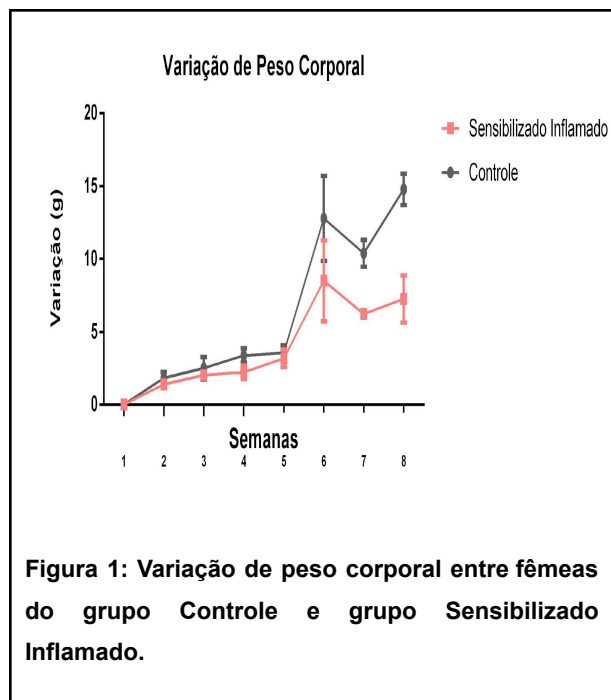
podem estar associadas com o desenvolvimento de diversas desordens imunológicas na mãe. No entanto, alguns trabalhos a associam ao reparo tecidual. Nossa hipótese científica é que o microquimerismo tanto materno-fetal como feto-maternal é capaz de influenciar a resposta imunitária ao amendoim em animais tolerantes ou alérgicos. Nosso objetivo é analisar o status imunológico (tolerância ou alergia) para determinar a influência das células microquiméricas fetais no desenvolvimento de inflamação intestinal crônica em fêmeas Balb/c WT acasaladas com machos C57BL/10-GFP+, bem como o impacto da imunidade materna na prole.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Experimento com as fêmeas

Varição de Peso Corporal

A variação de peso corporal entre o grupo Controle e grupo Sensibilizado foi observado que as fêmeas do grupo Controle ganham mais peso em relação a fêmeas sensibilizadas e desafiadas. (Figura 1)



Os segmentos de intestino foram coletados para histologia. As sangrias para detecção de células GFP e anticorpos IgG e IgE anti amendoim seguem em análise. E, para a técnica de citometria de fluxo, foram utilizados o baço e linfonodo mesentérico para coleta de células e as amostras foram lidas no laboratório da Fundação Oswaldo Cruz que seguem em análise.

O Grupo- Tolerizado- Não Sensibilizado e Tolerizado-Sensibilizado foi realizado a inoculação primária e sangria primária. Em breve será feita a inoculação secundária com posterior sangria secundária das fêmeas e acasalamento com machos C57BL/10 GFP+.

Experimento com os filhotes

Os 56 filhotes provenientes dos acasalamentos das fêmeas dos grupos controle e grupo sensibilizado foram marcados

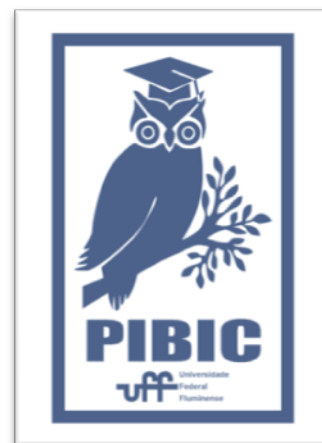
e separados em 11 grupos, subdivididos em machos e fêmeas: Controle-Controle, Controle-Imunizado, Controle-Tolerizado, Sensibilizado-Controle, Sensibilizado-Imunizado, Sensibilizado-Tolerizado. Já foram realizadas a inoculação e sangria primária, e inoculação secundária. Em breve será realizado os ELISA's dos soros coletados.

CONCLUSÕES:

Os dados obtidos até o momento ainda não são suficientes para se obter uma conclusão pois o projeto continua em andamento.

AGRADECIMENTOS:

As organizações de fomento e a UFF que possibilitaram a realização deste projeto. À minha orientadora Gerlinde, coorientadora Bárbara e todos do grupo do GIG pela ajuda e suporte nos experimentos.





Ciências Biológicas

A PARTICIPAÇÃO DO SISTEMA ENDOCANABINOIDE NA HIPERATIVIDADE, COMPORTAMENTO DE RISCO E MEMÓRIA DE TRABALHO EM UM MODELO ANIMAL DE TRANSTORNO DE DÉFICIT DE ATENÇÃO E HIPERATIVIDADE

Pollis, M., Penna, D., Pandolfo, P.

Departamento de Neurobiologia/Instituto de Biologia/Laboratório da Neurobiologia do Comportamento Animal

INTRODUÇÃO

O Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH) é um transtorno do neurodesenvolvimento caracterizado por desatenção, hiperatividade e impulsividade. Sua apresentação varia conforme a idade, sexo e comorbidades como autismo, esquizofrenia e depressão (1). A prevalência global é de cerca de 7,6% em crianças e 5,6% em adolescentes (2). O TDAH tem uma natureza multifatorial com causas associadas a fatores genéticos, ambientais e epigenéticos (3,4). As características comportamentais do TDAH incluem déficits na memória de trabalho, planejamento, controle inibitório e avaliação de risco (3,5). Esses déficits refletem disfunções estruturais e funcionais que comprometem a interconectividade entre áreas corticais e subcorticais, afetando o processamento das funções executivas (6).

Os sistemas dopaminérgico e noradrenérgico regulam funções relacionadas à atenção, memória, aprendizagem, controle motor e motivação por recompensa. Esses processos são controlados pela ativação dos circuitos mesolímbico, mesocortical e nigroestriatal (7). As principais hipóteses sobre a neurobiologia do TDAH sugerem que o transtorno está associado a um desequilíbrio

nesses sistemas, com ênfase na hipofunção dopaminérgica (8,9).

O sistema endocanabinóide, que inclui os receptores CB1 e CB2 e enzimas de degradação (FAAH e MAGL), pode desempenhar um papel crucial na neurobiologia do transtorno, especialmente no circuito fronto-estriatal (10). Por exemplo, a modulação de FAAH e MAGL, responsáveis pela degradação dos endocanabinóides Anandamida e 2-AG, pode alterar o desempenho de processos relacionados à atenção e memória (11,12). Os endocanabinóides também inibem a captação sináptica de dopamina em áreas do cérebro associadas ao TDAH (13). Além disso, estudos prévios do nosso grupo de pesquisa mostraram que a ativação aguda dos receptores CB1 e CB2 aumentam a hiperatividade (14), impulsividade (15) e motivação (16).

O presente estudo teve como objetivo investigar os efeitos da modulação crônica dos receptores CB1 e CB2 na hiperatividade, comportamento de risco e memória de trabalho em um modelo validado do TDAH (17). Além disso, foram analisadas as diferenças no conteúdo proteico dos receptores CB1 e CB2 e das enzimas FAAH e

MAGL no córtex pré-frontal e estriado dos animais das linhagens WKY e SHR.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A atividade locomotora foi registrada pela análise da distância total percorrida no Campo Aberto (CA), número de entradas nos braços fechados do Labirinto em Cruz Elevado (LCE) e o total de entradas nos braços do Labirinto em Y. Os dados mostraram que, independentemente do tratamento farmacológico, os ratos SHR apresentaram um fenótipo hiperativo em comparação aos WKY. Além disso, as fêmeas foram mais hiperativas do que os machos em ambas as linhagens.

O comportamento de risco foi analisado pelo número, entradas e tempo gasto nas zonas centrais (CA) e nos braços abertos (LCE). Os animais da linhagem SHR se arriscaram mais do que os da linhagem WKY. Além disso, as fêmeas apresentaram um comportamento exploratório e de risco mais acentuado do que os machos.

O fenótipo dos animais SHR pode estar ligado a prejuízos no controle inibitório e nas funções executivas, levando-os a se arriscar mais e avaliar o risco de forma inadequada.

A avaliação da memória de trabalho e da tomada de decisão foi feita pelos parâmetros de alternâncias espontâneas e totais no Labirinto em Y. Os resultados mostraram que ratos da linhagem SHR têm um déficit na memória de trabalho comparados aos ratos WKY. Além disso, as fêmeas tiveram um número total de alternâncias maior do que os machos, indicando um melhor desempenho na tomada de decisões.

O tratamento (ip) crônico com o agonista WIN (0,25 mg/kg) ou com os antagonistas AM251 (1 mg/kg) e AM630 (3 mg/kg) não alterou os parâmetros comportamentais avaliados.

Em geral, os dados moleculares indicam que ratos SHR apresentam níveis elevados de receptores CB1 no córtex pré-frontal e da MAGL no estriado.

CONCLUSÕES

Os resultados sugerem que o endocanabinoide 2-AG e o receptor CB1 podem estar envolvidos na neurobiologia do TDAH, além de encorajar a realização de estudos adicionais para investigar como cada parte do sistema endocanabinoide influencia as características comportamentais de homens e mulheres.

AGRADECIMENTOS

CAPES; CNPq; FAPERJ; PROPPI/UFF.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Katzman, M. A. et al. (2017).
<https://doi.org/10.1186/s12888-017-1463-3>
2. Salari, N. et al. (2023).
<https://doi.org/10.1186/s13052-023-01456-1>
3. Faraone, S. V. (2015).
<https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.20>
4. Thapar, A. et al. (2013).
<https://doi.org/10.1111/j.1469-7610.2012.02611.x>
5. Shoham, R. et al. (2016).
<https://doi.org/10.1038/srep34833>
6. Norman, L. J. et al. (2016).
<https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2016.0700>

7. Stanford, S. C.; Heal, D. J. (2019).
<https://doi.org/10.1177%2F2398212818810682>
8. Faraone, S. V. et al. (2024).
<https://doi.org/10.1038/s41572-024-00495-0>
9. Sharma, A., & Couture, J (2014).
<https://doi.org/10.1177/1060028013510699>
10. Peters, K. Z. & Naneix, F. (2022).
<https://doi.org/10.3389%2Fncir.2022.939235>
11. Contarini, G. et al. (2019).
<https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00787>
12. Griebel, G. et al. (2015).
<https://doi.org/10.1038/srep07642>.
13. Pandolfo, P. et al. (2011).
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2011.01.013>
14. Pandolfo, P. et al. (2007).
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2007.02.013>
15. Leffa, D. T et al. (2019).
<https://doi.org/10.1111/ejn.14348>
16. Pandolfo, et al. (2009).
<https://doi.org/10.1007/s00213-009-1542-3>
17. Sagvolden, T. et al. (2005).
<https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2005.02.002>





Biomedicina

MENSURANDO AS EMOÇÕES EM LABORATÓRIO: VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA APLICADA AO SISTEMA INTERNACIONAL DE IMAGENS AFETIVAS PARA A POPULAÇÃO BRASILEIRA

Livia Ferreira de Sousa, Isabel de Paula Antunes David, Mirtes Garcia Pereira

Departamento de Fisiologia e Farmacologia/ Instituto Biomédico/ Laboratório de Neurofisiologia do Comportamento.

INTRODUÇÃO

A emoção pode ser definida como uma condição complexa que surge em experiências de caráter afetivo, provocando alterações em várias áreas do funcionamento psicológico e fisiológico, preparando o indivíduo para a ação. Compreende-se a emoção como um processo que envolve múltiplas variáveis. Sabe-se que é possível mensurar a ativação dos sistemas motivacionais que são modulados por emoções, utilizando padrões comportamentais e mudanças fisiológicas mediadas pelo sistema somático e autonômico (Bradley et al., 2001). O termo “Resposta Afetiva” é utilizado para determinar qual emoção é gerada em um indivíduo quando ele visualiza uma imagem específica. Porém, para ser possível trabalhar com a emoção em laboratório, é necessário a manipulação de estímulos ambientais, tais como, fotos, desenhos, filmes, músicas, dentre outros. As fotografias afetivas possuem uma capacidade de representar características importantes dos valores culturais, além de possuir uma diversidade de estados afetivos. Sendo assim, a identificação de emoções por meio de fotos é uma das formas mais utilizadas em laboratório para

medir a emoção. O catálogo internacional de imagens afetivas (International Affective Picture System, IAPS, Lang et al. 2008) e a escala pictórica não verbal de auto-avaliação (Self-Assessment Manikin Scale, SAM, Bradley e Lang, 1994) são ferramentas importantes para evocar e mensurar as emoções em ambientes de laboratório, respectivamente. Uma característica fundamental das imagens afetivas padronizadas contidas no catálogo IAPS é a evocação de respostas emocionais semelhantes entre diferentes grupos de indivíduos e culturas, permitindo a comparação dos resultados em diferentes laboratórios em todo o mundo.

OBJETIVO

O objetivo do presente estudo foi avaliar a replicabilidade dos resultados obtidos através da metodologia IAPS quando aplicada a uma amostra brasileira.

METODOLOGIA

Para participar do experimento foram selecionados cerca de 244 voluntários, sendo esses, estudantes de graduação da UFF (Universidade Federal Fluminense). O

experimento foi realizado em diferentes sessões experimentais, com uma média de 30 voluntários distintos em cada sessão, e em dias diferentes. Foram avaliadas 133 fotos do catálogo do IAPS. Essas imagens compreendiam sentimentos afetivos distintos em categorias, incluindo aquelas normalmente classificadas como agradáveis (natureza, família, cachorros, esportes, aventura e imagens eróticas), neutras (objetos, pessoas e paisagens) e desagradáveis (poluição, doença, perdas, acidentes, contaminação, ataque a animais, ataque a humanos e mutilações corporais). Depois de ver cada imagem, os participantes a avaliavam em duas dimensões básicas da emoção usando a escala SAM: valência hedônica e ativação. Cada imagem foi plotada em termos de suas classificações médias de valência e ativação em um plano cartesiano, resultando em um espaço afetivo. Foi realizada uma média dos valores de valência e ativação para cada imagem e estes valores foram plotados em um plano cartesiano tendo a ativação no eixo x e a valência no eixo y. Ao plotar os valores de valência e ativação das várias imagens em um plano cartesiano, deve-se obter uma distribuição de classificação no espaço afetivo bidimensional em formato de bumerangue, como já relatado por Bradley e Lang (2004). Foram realizadas correlações de *Spearman* entre as pontuações dos relatos de valência e ativação dos participantes brasileiros e das pontuações de valência e ativação dos participantes norte-americanos. O p adotado para significância foi $p < 0,05$.

RESULTADOS

Primeiramente foi possível verificar que, a distribuição de classificação no espaço afetivo

bidimensional (valência hedônica-ativação emocional) apresentou o formato de bumerangue esperado. As imagens agradáveis do IAPS ficaram na metade superior do gráfico, enquanto fotos desagradáveis do IAPS ficaram na metade inferior do gráfico. As imagens neutras do IAPS (objetos) ficaram posicionadas no centro do gráfico. Encontramos ainda uma forte correlação entre as classificações das imagens do IAPS obtidas em nossa amostra e aquelas relatadas por participantes norte-americanos, tanto para a valência ($\rho = 0,95$, $p < 0,001$) quanto para a ativação ($\rho = 0,90$, $p < 0,001$).

CONCLUSÃO

Encontramos o padrão esperado de distribuição das figuras do IAPS no espaço afetivo em uma amostra brasileira. A replicabilidade dos resultados da aplicação da metodologia IAPS para a população brasileira implica na validação de uma importante ferramenta para o estudo da emoção em laboratório no Brasil.

REFERÊNCIAS

1. BRADLEY, M. M., CODISPOTI, M., CUTHBERT, B. N., & LANG, P. J. Emotion and motivation I: Defensive and appetitive reactions in picture processing. *Emotion*, 1(3), 276–298, 2001.
2. LANG, P. J.; BRADLEY, M. M.; CUTHBERT, B. N. International affective picture system (IAPS): Affective ratings of pictures and instruction manual. Technical Report A-8. University of Florida, Gainesville, FL, 2008.

3. BRADLEY, MM; LANG, PJ.Measuring emotion: the Self-Assessment Manikin and the Semantic Differential. *J Behav Ther Exp Psychiatry*, v. 25, n. 1, p, 49-59, 1994.





Ciências Biológicas

ÓXIDO NÍTRICO REGULA A EXPRESSÃO DOS RECEPTORES A1 DE ADENOSINA EM CÉLULAS DA RETINA

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

1Laboratório de Sinalização Química do Sistema Nervoso, Programa de Pós-graduação em

Neurociências, UFF, Niterói.

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

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

INTRODUÇÃO:

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

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

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

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Culturas mistas de retinas de embriões de 8 dias (E8) foram tratadas no primeiro dia de cultura (C1) com 1 mM de L-arginina até C3. Em seguida, as células foram processadas para experimentos de Western Blot e RT-PCR em tempo real. O tratamento com L-arginina aumentou os níveis proteicos do receptor A1 e este efeito foi bloqueado pelo pré-tratamento

com 7-NI, inibidor da enzima NO sintase neuronal (controle: 99.7 ± 8.1 , L-arginina: 137.0 ± 5.2 , 7-NI: 93.3 ± 19.4 , L-arginina + 7-NI: 97.7 ± 13.3 , $n = 3$; * $p < 0.05$). Também foi observado aumento dos níveis de RNAm do receptor A1 após o tratamento com L-arginina (controle: 1.0 ± 0.1 , L-arginina: 3.5 ± 0.8 , $n = 2$). Para avaliar se o NO produzido pela L-arginina aumenta os níveis do receptor A1 pela via clássica, as culturas mistas foram tratadas com KT5823, inibidor da PKG. Os resultados mostraram que a inibição da PKG reduziu os níveis basais do receptor A1, indicando que esta via de sinalização é importante para a manutenção dos níveis do receptor A1 (controle: $100,0 \pm 14,6$; KT5823: $29,1 \pm 3,1$; $n=3$; ** $p<0,01$).

Para avaliar se esta regulação também ocorre no tecido intacto da retina, 1 mM de L-arginina foi injetado em ovos de E8. Em E10, as retinas foram processadas para experimentos de Western Blot. Nossos dados mostraram que o SNAP, um doador de NO, aumentou a expressão dos receptores A1 também no tecido da retina (controle: $100,0 \pm 7,2$, L-arginina: $169,7 \pm 4,8$; $n=3$; *** $p<0,001$).

Para investigar se o aumento da expressão do receptor A1 está envolvido no efeito neuroprotetor da L-arginina, culturas purificadas de neurônios de retinas de E8 foram tratadas com 1mM de L-arginina por 48h, seguido de tratamento com 200uM de H_2O_2 por 2h para indução de morte neuronal. Foi observada uma tendência de redução do efeito neuroprotetor da L-arginina quando as culturas foram tratadas com DPCPX, antagonista de receptor A1 (controle: $100,0 \pm 3,1$, L-arginina: $94,0 \pm 4,3$, H_2O_2 : $53,7 \pm 2,8$, DPCPX: $91,0 \pm 3,4$, L-arginina

+ H_2O_2 : $103,1 \pm 4,9$, DPCPX + H_2O_2 : $49,8 \pm 3,1$, L-arginina + DPCPX: $91,1 \pm 4,1$, L-arginina + DPCPX + H_2O_2 : $56,3 \pm 4,6$, $n=6$, *** $p<0,001$).

CONCLUSÕES:

Os resultados obtidos neste trabalho sugerem que a L-arginina é convertida em NO através da enzima NO sintase neuronal e aumenta a expressão dos receptores A1 nas culturas mistas de embrião de galinha. Esta regulação também está envolvida na neuroproteção induzida por L-arginina contra a morte por estresse oxidativo. E também foi avaliado se esse efeito é dependente da ativação da via clássica da PKG.

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





Ciências Biológicas

IDADE E CRESCIMENTO DO PEIXE-LEÃO, PTEROIS VOLITANS (LINNAEUS, 1758) (ACTINOPTERYGII: SCORPAENIDAE), CAPTURADO NA FOZ DO RIO AMAZONAS, ENTRE OS ESTADOS DO PARÁ E AMAPÁ, COSTA NORTE DO BRASIL.

Autores: Lívia Marins Rodrigues da Silva, Felipe Douglas Mendonça Cadilho, Carlos Eduardo Leite Ferreira, Marcus Rodrigues da Costa

Departamento de Biologia Marinha/ Instituto de Biologia/ Laboratório de Biologia do Nécton e Ecologia Pesqueira (ECOPESCA)

INTRODUÇÃO:

O peixe-leão (*Pterois volitans* - Linnaeus, 1758) é uma espécie invasora originária do Indo-Pacífico, agora encontrada em várias regiões, incluindo a costa leste dos EUA, Golfo do México, Mar do Caribe e Brasil, podendo ser caracterizada por seus 18 espinhos venenosos. A espécie foi avistada pela primeira vez fora de seu habitat natural na Flórida em 1985 e no Brasil em 2014.

Os recifes de corais, onde o peixe-leão é frequentemente encontrado, são ecossistemas marinhos de alta biodiversidade e importância ecológica, social e econômica. No entanto, esses recifes enfrentam ameaças como poluição, pesca ilegal, turismo não autorizado e espécies invasoras como o peixe-leão. O peixe-leão apresenta ampla plasticidade para povoar novos habitats devido às suas características biológicas tais como: rápido crescimento, altas taxas de reprodução e

capacidade de dispersão de ovos e larvas. No Brasil, a espécie tem sido encontrada em atividades de pesca artesanal e industrial, especialmente na plataforma continental do Pará, Amapá e no Grande Sistema de Recifes Amazônicos. Para controlar a invasão, algumas regiões incentivam o uso do peixe-leão como alimento. Estudos sobre os padrões de idade e crescimento da espécie, utilizando estruturas calcificadas como otólitos e espinhos, são essenciais para a elaboração de estratégias de manejo eficazes. Dessa maneira, nossa pesquisa mostrou-se relevante para determinar os padrões de crescimento do peixe-leão, *Pterois volitans*, provenientes da pesca sobre os bancos de corais na foz do Rio Amazonas através da contagem de anéis etários do espinho de sua nadadeira dorsal.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram coletados 37 peixes-leão, dos quais 32 tinham espinhos analisáveis. Esses 32 indivíduos tinham, em média, 28,37 cm de comprimento total (CT) e 348,3 g de peso. Entre os identificados, 18 eram machos e 15 fêmeas. Os machos tinham, em média, 26 cm de comprimento total e 358,8 g de peso, enquanto as fêmeas tinham 25 cm de CT e 336,9 g.

A idade mais comum foi de 3 anos, com 11 indivíduos, e a menos frequente foi de 1 ano, com apenas um indivíduo. As idades de 2, 4 e 5 anos apresentaram proporções de 25%, 21,8% e 12,5% do total de peixes analisados, respectivamente. As estimativas dos parâmetros de crescimento encontradas com a equação de von Bertalanffy foram: uma taxa de crescimento de 0,67, com um tamanho máximo estimado de 31,7 cm.

Os peixes de 5 anos foram os maiores, com média de CT de 32,5 cm, enquanto os de 4 anos apresentaram uma grande amplitude de CT com média de 28,0 cm, assim os peixes da idade 2 que apresentaram CT médio de 26,6 cm.

A maior idade encontrada entre os peixes-leão da foz do Amazonas foi de 5 anos, com uma média de 3,1 anos, similar a outras regiões colonizadas pela espécie, evidenciando a longevidade da espécie fora de seu habitat natural. A distribuição etária equilibrada sugere uma população saudável e resiliente, com capacidade de se reproduzir e sobreviver em diferentes ambientes de colonização. Embora nosso "N" amostral tenha sido pequeno podemos supor que uma população estabelecida e saudável geralmente apresenta uma estrutura etária bem equilibrada, com

muitos indivíduos maiores e mais velhos. Além disso, a presença de uma ampla gama de idades indica que a população está se reproduzindo e neste ambiente, uma vez que seu tamanho de primeira maturação sexual é variável, ou seja, alguns autores afirmam ser acima de 10 cm enquanto outros atribuem valores de 15, 17,5 e 26,2 cm para início do processo reprodutivo. Neste contexto, dados sobre idade e crescimento são fundamentais para avaliar possíveis mudanças na estrutura populacional do peixe-leão, sendo esses dados cruciais para criar planos de manejo e controle populacional. O peixe-leão, devido ao seu tamanho, é menos suscetível à predação e pode consumir presas maiores, impactando negativamente os ecossistemas locais. A foz do Rio Amazonas cria uma barreira natural que influencia a distribuição de várias espécies marinhas, incluindo esponjas, corais e peixes de águas rasas. Entretanto, diferentemente de regiões como o mar do Caribe, onde a densidade de peixes-leão é maior em recifes de corais entre 10 a 30 metros de profundidade, os peixes-leão já foram registrados em águas rasas brasileiras, indicando uma grande plasticidade da espécie ao ocupar novos ambientes, assim como sua grande capacidade adaptativa.

Outro fator que pode influenciar a capacidade do *P. volitans* de colonizar os recifes do Amazonas são as várias ameaças enfrentadas por esses ecossistemas, as quais podem comprometer sua saúde e biodiversidade. Como, por exemplo, a pressão de pesca, a qual pode causar a remoção dos predadores de topo de cadeia e mudanças nas cadeias tróficas da

região, podendo, assim, tornar os bancos de corais amazônicos suscetíveis à colonização dos peixes-leão.

O monitoramento contínuo das populações de peixe-leão é fundamental para o manejo adequado da espécie e para manter o equilíbrio dos ecossistemas. Embora os espinhos sejam úteis na estimativa de idade e crescimento, em peixes mais velhos, o núcleo ou parte vascularizada pode sofrer reabsorção, o que pode obscurecer ou eliminar os primeiros anéis, resultando na subestimação da idade. Portanto, a análise de otólitos surge como uma alternativa eficaz para validar as estimativas obtidas por meio dos espinhos, proporcionando estimativas mais precisas sempre que possível.

AGRADECIMENTOS:

Agradeço ao professor Marcus Rodrigues da Costa por ter me concedido a oportunidade de desenvolver um projeto de pesquisa, me permitindo vivenciar mais uma experiência enriquecedora para a minha graduação dentro do laboratório. Gostaria também de agradecer a equipe ECOPESCA, a qual sempre calorosamente me estende seu apoio e conhecimento.

Agradeço também ao professor Carlos Eduardo Leite Ferreira pela doação do material e por fazer um intermédio entre os pescadores locais e o laboratório.

Por fim, sou muito grata por todo o processo vivenciado durante esse um ano de Projeto de Iniciação Científica, tendo sido essa uma experiência ímpar na minha formação acadêmica.



Imagem 1: Imagem PIBIC



GRANDE ÁREA DO CONHECIMENTO: CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**ANÁLISE DE VARIANTES NOS GENES DAS AURORAS
QUINASES NA ETIOLOGIA DA SÍNDROME DE DOWN**

**Giovanna L. Montuori, Pablo A. Etcharte, Carolina M. L. Castro,
Márcia R. Amorim**

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

INTRODUÇÃO:

A síndrome de Down (SD) é a aneuploidia com maior incidência, ocorrendo em 1 a cada 700 em recém nascidos. A principal etiologia da SD é a trissomia livre do cromossomo 21 (aproximadamente 95% dos casos), originado a partir de uma falha na segregação durante a divisão meiótica dos cromossomos. 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. Os fatores de risco para a não disjunção meiótica têm sido amplamente investigados e os mecanismos moleculares que atuam neste processo ainda não foram completamente elucidados.

O controle preciso das diversas fases do ciclo celular é feito por um maquinário molecular extremamente complexo, que envolve diferentes tipos de proteínas. A família das auroras quinases são proteínas do grupo das serina/treonina quinases, altamente conservadas que regulam a segregação e o alinhamento cromossômico durante a mitose e a meiose sendo essenciais para a segregação precisa do

material cromossômico. Estas quinases estão envolvidas em múltiplas fases da divisão celular, incluindo a formação do fuso, alinhamento dos cromossomos e citocinese. Erros nesses processos podem resultar em aneuploidia ou em morte celular.

Nosso grupo tem investigado variantes nos genes das auroras quinases A, B e C como fatores de risco para aneuploidia. Neste subprojeto foi avaliada a presença de um polimorfismo no gene da aurora quinase B (*AURKB*) em mães de crianças com a síndrome de Down (MSD) e em mães de crianças sem a síndrome (controles MCT) como fator de risco para o nascimento de uma criança com SD. As amostras foram obtidas no Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira (IPPMG) da Universidade Federal do Rio de Janeiro. O DNA foi extraído de células bucais e as amostras foram genotipadas através da técnica de PCR em tempo real. As análises estatísticas foram realizadas por meio do software MedCalc e foram considerados estatisticamente significativos resultados com P-valor < 0,05.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram analisadas 295 mulheres, sendo 119 MSD e 174 MCT. A média de idade materna foi significativamente maior no grupo MSD (33,7 anos). Houve diferença significativa entre as frequências gênicas e genótípicas em MSD e em MCT para o polimorfismo em *AURKB* (2241909). No grupo controle, a frequência genotípica foi de 0,22 para o genótipo AA, 0,55 para o genótipo AG e 0,23 para o genótipo GG. A frequência alélica observada para o alelo G foi 51%. No grupo caso, a frequência genotípica foi de 0,43 para o genótipo AA, 0,41 para o genótipo AG (apenas um alelo mutado) e 0,16 para o genótipo GG (ambos alelos mutados). A frequência alélica observada para o alelo G foi de 36% neste grupo. Calculou-se o Odds ratio (OR) para verificar a possível associação entre a presença do alelo G e o risco materno para a ocorrência de SD. Foi encontrada associação significativa entre a presença de um ou mais alelos polimórficos; o alelo G confere proteção quando comparado ao alelo A em relação a gerar uma criança com SD ($p = 0,0009$) (OR = 0,57; 95% CI, 0.40 – 0.79). Considerando que a idade materna avançada é um fator de risco para a SD, foram analisadas apenas 211 mulheres com idade igual ou menor a 35 anos durante o período de gestação e as frequências alélicas ($p=0,03$) e genótípicas ($p = 0,02$) entre as mães caso e controle permaneceram significativamente diferentes. Ao serem comparadas com relação a ocorrência de aborto espontâneo entre mulheres que pertencem ao mesmo grupo

(caso ou controle), não houve diferença significativa.

CONCLUSÕES:

Foi observada diferença na média de idade entre mães MSD e MCT, confirmando que a idade materna avançada é fator de risco para a Síndrome de Down. Os resultados sugerem que o polimorfismo *AURKB*:2241909 atua como fator de proteção para síndrome de Down. O genótipo GG indica um menor risco de gerar crianças com a síndrome quando comparado aos demais genótipos. Na análise em mães com idade menor ou igual a 35 anos, os resultados sugerem que, independentemente da idade, o polimorfismo continua associado a proteção de gestações de crianças com SD. O polimorfismo não foi associado a ocorrência de abortos espontâneos. Outros polimorfismos estão sendo pesquisados pelo grupo para avaliar possíveis interações como fatores de risco para a gestação de um filho com a síndrome de Down.

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





Ciências Biológicas

Entomologia de Parasitos e Vetores

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

Lucas Pacheco Chaves (IC)^{1*}, Dandara Pires Vale (IC)¹, Aixa Navarro(IC)¹, Cicero B. M. Neto (PQ)¹ and Marcelo S. Gonzalez¹ (OR)¹

Email: lucas_pacheco@id.uff.br

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

INTRODUÇÃO:

A busca de modelos na natureza para resolver diferentes problemas que afetam ao homem e ao desenvolvimento dele tem usado às plantas como uma das principais fontes de estudo. A grande variação climática e geográfica de um país como o Brasil permite entender a ampla diversidade e as peculiaridades dos insetos e plantas que o país abriga. Essas características e a intensa interação competitiva com o homem, no caso dos insetos, possibilita explicar a ocorrência de muitas espécies que servem como vetores de transmissão para diversas infecções e doenças¹. Com a intenção de controlar as diferentes pragas entomológicas que afetam a saúde do homem, são realizadas pesquisas que envolvem o uso de diferentes metabólitos secundários vegetais². As alterações que esses metabólitos geram na produção normal dos principais hormônios que

atuam no desenvolvimento dos insetos vetores (ecdisona e hormônio juvenil) permitem conhecer a ação inseticida dos mesmos. Nesse sentido, testamos os óleos essenciais de *Ocotea pulchella*, *Ocotea elegans*, *Xylopiia ochranta*, *Myrciaria floribunda* e *Ocotea spixiana*, espécies nativas das restingas da região sudeste do Brasil, contra o inseto *Rhodnius prolixus*, vetor da Doença de Chagas.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram coletas folhas de *O. pulchella*, *O. elegans*, *X. ochranta*, *M. floribunda* e *Ocotea spixiana* no Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba, Rio de Janeiro, Brasil. O material coletado foi submetido à hidrodestilação, obtendo um óleo com uma composição alta em monoterpenos e sesquiterpenos. Para a análise da atividade inseticida do óleo frente aos insetos, grupos de 10 ninfas do 5º estágio foram

separadas e posteriormente foi aplicado 1 µl do óleo sobre o dorso de cada inseto em quatro diferentes concentrações: óleo puro, 500 mg/mL, 250 mg/mL e 125 mg/mL. A avaliação biológica da ação inseticida de cada tratamento foi registrada em mortalidade e muda durante um período de 41 dias^{3,4}. o tratamento tópico com os óleos essenciais testados causou altos níveis de mortalidade já em 24 horas após a alimentação sanguínea. Progressivamente, este alto nível de mortalidade aumentou durante o período de observação (24 dias) atingindo 96,6% ($p < 0.0001$), 93,3% ($p < 0.0001$) 80% ($p < 0.0001$), 76,6% ($p < 0.0001$) e 70% ($p < 0.001$) nos grupos tratados com *Ocotea spixiana*, *O. pulchella*, *M. floribunda*, *O. elegans* e *X. ochranta*, respectivamente, enquanto apenas 3,3% dos insetos do grupo controle (não tratados) morreram no mesmo período. Observou-se também a inibição total ou parcial da metamorfose dos insetos sobreviventes nos grupos tratados com *Ocotea spixiana* (0%; $p < 0.01$) e *M. floribunda* (10%, $p < 0.001$) enquanto 43,3% dos insetos no grupo controle atingiram a fase adulta. Adicionalmente, nos grupos tratados com *Ocotea spixiana* e *M. floribunda*, todos os insetos que atingiram a fase adulta apresentaram deformidades nas asas.

CONCLUSÕES:

A variedade de efeitos dos óleos essenciais obtidos a partir de folhas de Canela Branca Grande, *O. pulchella*, *M. floribunda*, *O. elegans* e *X. ochranta* sobre o desenvolvimento do *R. prolixus* indica seus metabólitos

secundários – neste momento sobre investigação e purificação em nosso laboratório – como bons candidatos para o estudo da fisiologia de insetos e possível utilização em programas integrados e ecologicamente seguros de controle das populações de vetores da doença de Chagas.

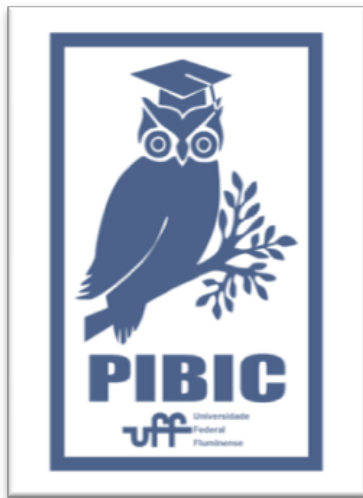
Agradecimentos:

FAPERJ/ CNPq/ PROPII (UFF)

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Viegas Júnior, C. 2003. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. *Quím. Nova* 26 (3): 390-400. 2-Ezeonu F.C.; Chidume, G.I.; Udedi, S.C. 2001. Insecticidal properties of volatile extracts of orange peels. *Bioresource Technology* 76: 273-274.
- 2- Mello CB, Mendonça-Lopes, D, Feder D, Uzeda CD, Carneiro RM, Rocha MA, Gonzalez MS. Laboratory Evaluation of the Effects of Triflumuron on the Development of *Rhodnius Prolixus* Nymph. 2008. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 103(7): 839-842.
- 3- Mello CB, Uzeda CD, Bernardini MV, MendonçaLopes D, Kelecom A, Fevereiro PCA, Santos MG, Oliveira AP, Rocha LM, Gonzalez MS. 2007. Effects of the essential oil obtained from *Pilocarpus spicatus* Saint-Hilaire (Rutaceae) on the development of *Rhodnius prolixus* nymphae. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 17(4): 514-520.

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





Ciências Biológicas

**NANOPARTÍCULAS NO MONITORAMENTO DA INFECÇÃO DO MODELO
INVERTEBRADO *GALLERIA MELLONELLA* PELO PATÓGENO
ZONÓTICO *SPOROTHRIX BRASILIENSIS***

Camilla da Costa Oliveira¹, Nathália Faria Reis¹, Simone Cristina Pereira Brito¹, Lais Cavalcanti dos Santos Velasco de Souza¹, Luiza Covas de Carvalho¹, Marrara Pereira Sampaio¹, Marcelo Cerilo Filho¹, Vinicius D' Avila Bitencourt Pascoal³, Cecilia Stahl Vieira², Ricardo Luiz Dantas Machado¹, Marcel Guimarães Martins⁴, Andréa Regina de Souza Baptista¹

¹Centro de Investigação de Microrganismos, Instituto Biomédico, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Rio de Janeiro, Brasil.

²Laboratório de Biologia de Insetos, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil.

³Instituto de Saúde de Nova Friburgo, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil.

⁴Magtech Soluções em Nanopartículas Magnéticas, RJ, Brasil.

INTRODUÇÃO:

A esporotricose é uma doença subcutânea causada por fungos do gênero *Sporothrix*, principalmente pela via zoonótica. O agente do cenário hiperendêmico é *S. brasiliensis*, reconhecido pela alta virulência e menor susceptibilidade ao itraconazol. Investigações sobre a relação felino-fungo são de extrema relevância para futuro tratamento e controle dessa dermatozoonose. Por motivos éticos, o uso do modelo murino está sendo reavaliado, o que destaca a necessidade de alternativas. A *Galleria mellonella* possui um sistema imune inato semelhante ao de mamíferos, tornando-a modelo potencial para o estudo da interação fungo-hospedeiro, conforme apontado por

nosso grupo. A nanotecnologia tem atraído grande interesse, sobretudo nos estudos de novos alvos terapêuticos e patogênese de agentes

infecciosos. Os *Quantum dots* (QDs) podem ser opção por suas propriedades de semicondutividade e fluorescência. Assim, esse estudo objetiva investigar a relação entre o patógeno *Sporothrix brasiliensis* e o modelo experimental *Galleria mellonella*, com auxílio de nanopartículas de marcação fluorescente.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

A curva de sobrevivência da *G. mellonella*, revelou que a concentração de 1×10^7

leveduras/larva a 37°C foi a melhor para avaliar a morte das larvas e a relação fungo-hospedeiro. Esse resultado corrobora parcialmente com o obtido por Clavijo-Giraldo e colaboradores (2016), onde foi utilizada concentração de 1×10^5 leveduras/larva, em temperatura igual a utilizada neste estudo. A viabilidade foi testada com azul de metileno, e os resultados semelhantes aos obtidos por Mei e coautores (2014), que demonstraram células não viáveis coradas. A toxicidade dos QDs nas larvas foi avaliada com concentrações de 10, 50, 100, 500 e 1000 $\mu\text{g/mL}$. Nenhuma delas foi tóxica para o invertebrado. As concentrações de 500 e 1000 $\mu\text{g/mL}$ foram as que melhor marcaram as leveduras (Figura 1), corroborando Feder e coautores (2009) em *Rhodnius prolixus*. Contudo, o teste com *R. prolixus* demonstrou baixa toxicidade em três dias, enquanto o modelo *G. mellonella* em cinco. Os QDs marcaram efetivamente leveduras de *S. brasiliensis* sem afetar a viabilidade ou o crescimento das colônias. O mesmo foi publicado por Gomes e equipe (2011) em *Saccharomyces cerevisiae* frente à exposição aos QDs, sem danos morfológicos celulares observados.

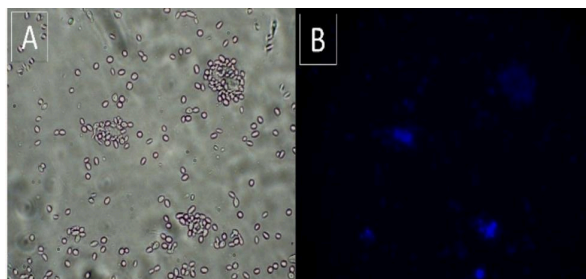


Figura 1: QDs internalizados nas leveduras de *S. brasiliensis*. (A) Observa-se em campo claro o aglomerado de leveduras ovaladas. (B) Leveduras

marcadas com QDs (1000 $\mu\text{g/mL}$) (Motic, China, 900x). Fonte: Acervo CIM-UFF, Niterói, 2024.

Foi ainda realizada microtomografia nas *G. mellonella* com 24 e 120 horas após a exposição aos QDs, sem diferenças significativas entre o grupo controle e o inoculado. O fluxograma de análises realizadas a partir da interação do fungo e a nanopartícula, ilustrado na Figura 2.

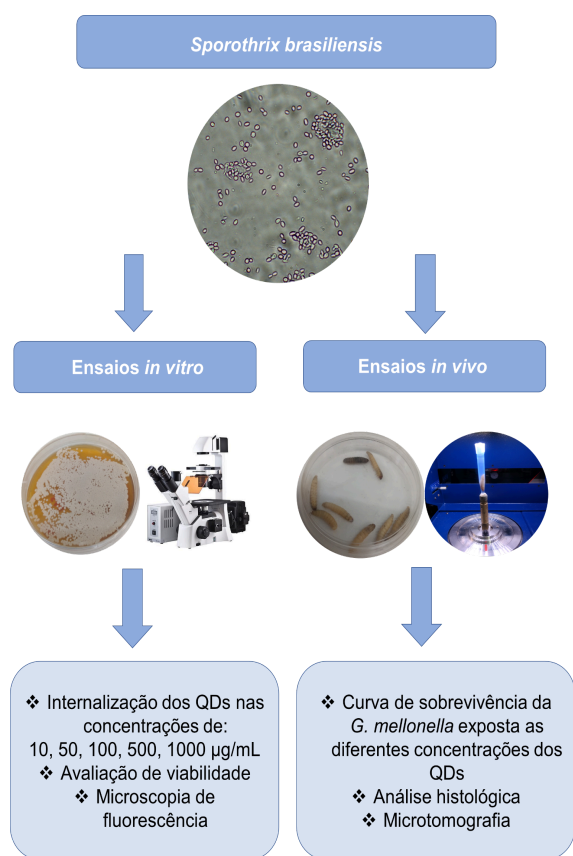


Figura 2: Fluxograma dos ensaios *in vitro* e *in vivo* de *S. brasiliensis* e as nanopartículas fluorescentes.

Após processamento histológico, foi verificado que a fixação das larvas com 100 μL de formalina 10% proporcionou melhor qualidade dos cortes histológicos, em contraste com outras condições examinadas (Figuras 3 e 4).

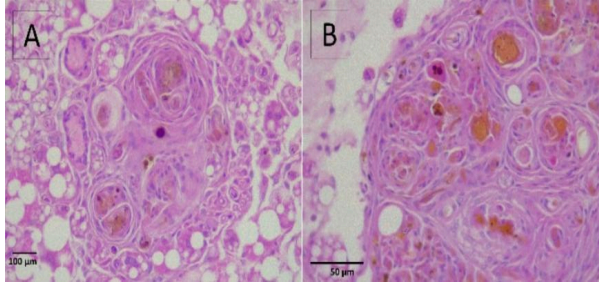


Figura 3: Secções sagitais de *G. mellonella* coradas com hematoxilina-eosina. (A) Formação de nódulos e deposição de melanina, 400x. (B) Leveduras presas no corpo gorduroso e rodeadas por camadas de células e defesa, 1900x. Fonte: Acervo CIM-UFF, Niterói, 2024.

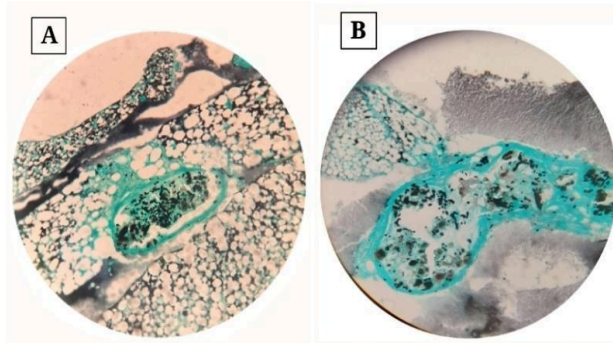


Figura 4: Secções sagitais de *G. mellonella* coradas com Grocott-Gomori evidenciando nódulos e leveduras. (A) 100x (B) 400x Fonte: Acervo CIM-UFF, Niterói, 2024.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

CLAVIJO-GIRALDO, D.M et al. Analysis of *Sporothrix schenckii* sensu stricto and *Sporothrix brasiliensis* virulence in *Galleria mellonella*. J Microbiol Methods, v. 122, p. 73-7, 2016.

FEDER, D. et al. *In vitro* and *in vivo* documentation of Quantum dots labeled *Trypanosoma cruzi*-*Rhodnius prolixus* interaction using confocal microscopy. Parasitol Res, n. 106, p. 85-93, 2009

GOMES, S.A.et al. CdTe and CdSe Quantum dots cytotoxicity: a comparative study on microorganisms. Sensors (Basel), v. 11, n.12, p.11664-78, 2011.

MEI J, et al. The interactions between CdSe Quantum dots and yeast *Saccharomyces cerevisiae*: adhesion of Quantum dots to the cell surface and the protection effect of ZnS shell. Chemosphere. 2014 Oct; 112:92-9.

REIS NF. et al. *Sporothrix brasiliensis* Infection Modulates Antimicrobial Peptides and Stress Management Gene Expression in the Invertebrate biomodel *Galleria mellonella*. J Fungi (Basel). 2023 Oct 27;9(11):1053.

CONCLUSÕES:

O presente estudo representa abordagem inédita, com potencial em inovação. A padronização da curva de sobrevivência em diferentes condições e a avaliação da toxicidade com *Quantum dots*, proporcionam uma compreensão mais profunda da interação patógeno-hospedeiro. Ensaio relacionados ao uso das nanopartículas e ao papel dos microRNAs no modelo invertebrado infectado pelo *Sporothrix* estão em andamento em nosso grupo.





Ciências Biológicas

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

Marcos Vinicius de Araujo Brandão 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 micróglias¹.

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:

Na intenção de avaliar os efeitos mais imediatos na viabilidade de células U87MG, foram tratadas por 48h nas condições de 125, 250, 500, 1000 e 2000 μ M de CFA e 3-CQA, através da contagem de núcleos positivos para hoechst, excluindo os núcleos que co-localizavam a sonda homodimero de etídeo.

Os resultados indicaram uma tendência bifásica, constituída por um aumento no número de células de maneira concentração-dependente até 125 μ M. A partir desta concentração, houve a redução de número de células concentração-dependente, conforme figura 1. Mais repetições deste experimento serão necessárias para confirmar os resultados obtidos.

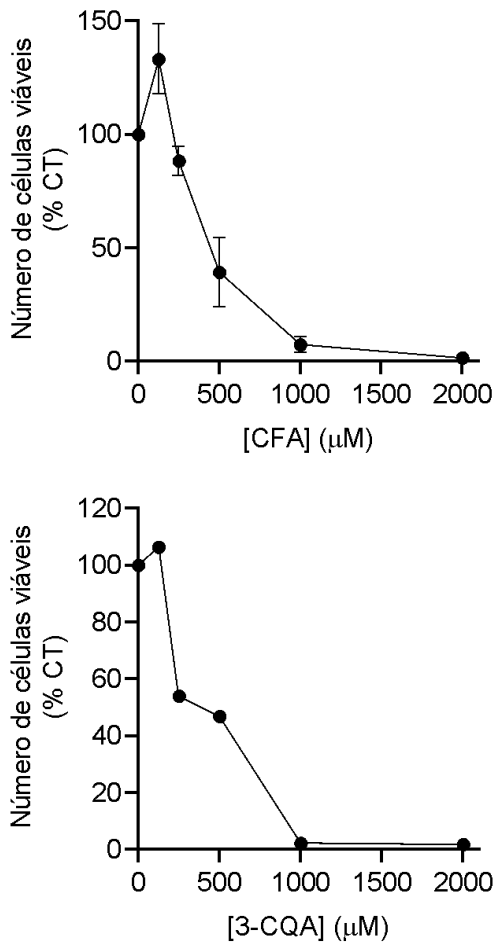


Figura 1. Porcentagem de número de células viáveis (Hoechst descontadas as células EtD1 positivas) em relação ao grupo controle. Painel superior: células viáveis após tratamento com CFA (n=2). Painel inferior: células viáveis após tratamento com 3-O-CQA (n=1). Valor porcento do controle U87MG: 5000 ± 1225 células viáveis por poço (média \pm EPM).

Este efeito também pode ser observado no ensaio de área da calceína (Live), na mesma concentração de até $125\mu\text{M}$. A partir daí, ocorre uma redução na área da calceína concentração-dependente. Em paralelo, na concentração de 1mM , há um aumento da área de células marcadas com homodímero de

etídeo (EtD1 -Dead) em relação à concentração de ao grupo controle, conforme figura 2.

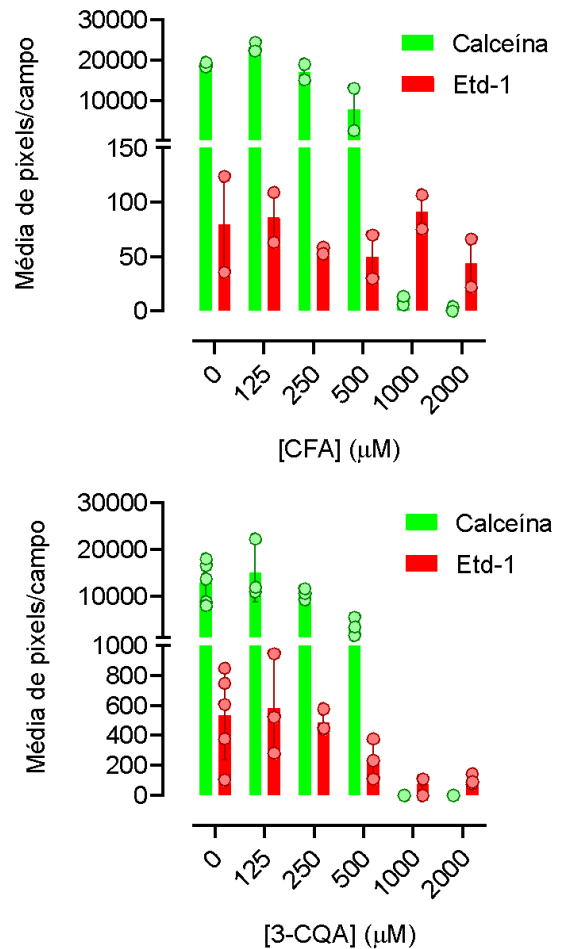


Figura 2. Média de pixels/campo de calceína (Live), comparada a média de pixels/campo de Etd-1 (Dead), em relação ao grupo controle. Painel esquerdo: células viáveis após tratamento com CFA (n=2). Painel Direito: células viáveis após tratamento com 3-O-CQA (n=1). Valor absoluto U87MG: 5000 ± 1225 células viáveis por poço (média \pm EPM).

Este estudo pretende avaliar o perfil de fosforilação da Src nas células U87MG. No resultado preliminar, observou-se que até a

concentração de 300 μM houve um aumento do nível de fosforilação do resíduo inibitório da Src (Y527), enquanto na concentração de 500 μM 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, conforme figura 3.

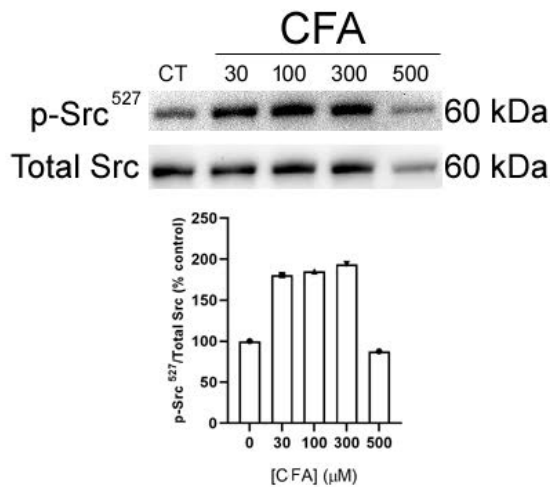


Figura 3. O tratamento com CFA até a concentração de 300 μM sugere a inibição da proteína Src (n=1). Painel superior: imagem de experimento de western blot em relação a p-Src Y527 e Src total; Painel inferior: quantificação do experimento em relação a densidade óptica da proteína p-Src Y527/Src Total.

Em relação ao padrão de fosforilação da proteína Src em seu resíduo inibitório (Y527), após tratamento com o 3-O-CQA, é possível observar um aumento da fosforilação, embora a diferença tenha sido menos proeminente sob 30 μM , conforme a Figura 4.

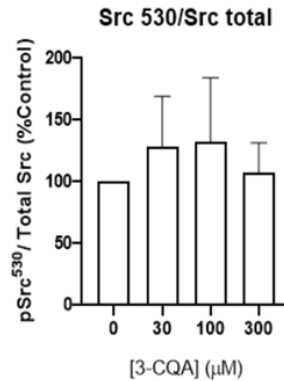
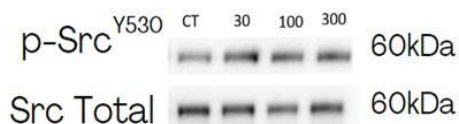


Figura 4. O tratamento com 3-CQA tende a aumentar a inibição da proteína Src (n=2). Painel superior: imagem de experimento de western blot em relação a p-Src Y527 e Src Total; Painel inferior: quantificação dos experimentos em relação a densidade óptica das proteínas pSrc Y527 e Src Total. (Média \pm EPM).

CONCLUSÕES:

Conforme observado nos dados acima, tanto o 3-CQA quanto o CFA, foram capazes de reduzir a viabilidade das células U87MG, de forma concentração-dependente em 48h de tratamento. Entretanto, foi observado um efeito de aumento da viabilidade no intervalo de 0 - 125 μM de ambos polifenóis, um fenômeno que ainda necessita ser explorado. Segundo os ensaios de Western Blot, o tratamento com os polifenóis, parecem inibir a via da Src.

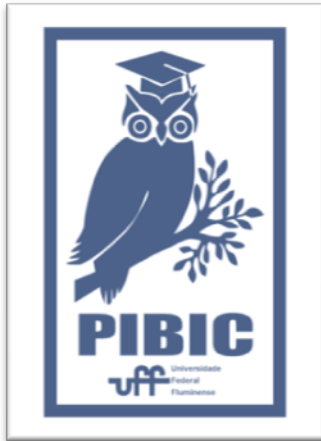
REFERÊNCIAS:

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)

AGRADECIMENTOS:

UFF-PROPII, CNPQ-PIBIC





Grande área do conhecimento: Ecologia Aplicada

TÍTULO DO PROJETO: ECOLOGIA DA CHUVA DE SEMENTES DE FLORESTA INUNDÁVEL DE RESTINGA EM RESTAURAÇÃO.

Autores: Julia Moreira Otero e Luiz Roberto Zamith

Departamento de Biologia Geral /Instituto de Biologia/Laboratório de Ecologia Animal e Vegetal

INTRODUÇÃO:

A chuva de sementes é o conjunto de propágulos que uma comunidade recebe através de diferentes formas de dispersão, sendo um dos indicadores utilizados no monitoramento de florestas em processo de restauração, visto que sua composição pode fornecer informações sobre a estrutura e a dinâmica da comunidade. Entre 1998 e 2002, a Prefeitura da Cidade do Rio de Janeiro, através do Projeto Flora do Litoral, realizou plantios de restauração ecológica em trechos de floresta inundável de restinga no Parque Natural Municipal de Marapendi com a utilização de 22 espécies nativas. Esse projeto teve como objetivo descrever e analisar a chuva de sementes em floresta inundável de restinga, com cerca de 22 anos, possibilitando um maior entendimento sobre o processo de regeneração destas florestas inundáveis em restauração.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram amostrados 26.433 sementes de 21 espécies e um gênero de 16 famílias e 24 morfoespecies, sendo que as espécies identificadas representam 91% da abundância total. A chuva de sementes apresentou uma

densidade estimada de 5.035 sementes.m⁻², superior às descritas em outras florestas inundável de restinga. Esta alta densidade foi devido à alta abundância de *Ficus clusiifolia*, com 19.525, 39,13% do IVI. Juntamente com *Ficus vermifuga* as duas espécies do gênero representaram 78% da abundância. O índice de diversidade de Shannon-Wiener de 1,19 nats.ind⁻¹ e a equabilidade de Pielou de 0,31 indicam diversidade baixa, intensificada pela baixa equabilidade. Para as 26 espécies onde foi possível identificar a síndrome de dispersão, 15 (57,7%) são zoocóricas, 10 (38,5%) são anemocóricas e apenas uma (3,8%) é autocórica. Apenas 11 das 22 espécies plantadas inicialmente tiveram sementes coletadas na chuva de sementes, correspondendo a 24,4% da riqueza, embora sementes dessas espécies representaram 83,2% da abundância, devido principalmente à alta abundância de *Ficus clusiifolia*. A contribuição alóctone para a riqueza de espécies foi de 75,6%. Possivelmente, o predomínio de espécies zoocóricas entre as sementes de origem alóctone está sugerindo a ação de dispersores que vêm sendo atraídos pela frutificação das espécies plantadas (também em sua grande maioria zoocóricas). Esses dados apontam que a comunidade vegetal em recuperação possui espécies

capazes de atrair e manter a fauna dispersora dentro da região, refletidos na dispersão de sementes com alta abundância e frequência pela área de estudo. Não foi observada correlação significativa entre o tamanho das sementes amostradas e sua abundância na chuva de sementes ($r = -0,19$). A densidade média mensal da chuva de sementes apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) entre as abundâncias dos meses de outubro e novembro para abril e junho ($F=3,44$, $p<0,001$) e este resultado foi por conta do pico de abundância de *F. clusiifolia* em outubro e novembro. A observação que as sementes mais abundantes e frequentes são compostas principalmente por espécies nativas da restinga é relevante, pois indica que sementes de espécies de interesse estão conseguindo dispersar na floresta em restauração. Porém cabe ressaltar que a quarta espécie mais abundante foi *Casuarina equisetifolia*, espécie exótica e invasora nas florestas inundáveis e que pode limitar a regeneração nestes ecossistemas. Sementes de outras três espécies exóticas, *Terminalia catappa*, *Leucaena leucocephala* e *Triplaris* sp. foram amostradas mas com baixa densidade, porém a presença das duas primeiras, por serem também espécies invasoras nas restingas merecem atenção dos gestores.

CONCLUSÕES:

A floresta inundável de restinga em restauração do Parque Natural Municipal de Marapendi, com cerca de 22 anos, apresenta chuva de sementes com índices de diversidade e

equilíbrio similares aos de florestas inundáveis conservadas. A presença de propágulos de espécies nativas de dispersão zoocórica de ocorrência nesta formação vegetal e que não foram plantadas revela que esta floresta está atraindo dispersores que estão promovendo aumento da riqueza. Porém a baixa riqueza de espécies e a alta dominância de algumas delas merece atenção em futuras pesquisas e a presença de propágulos de espécies exóticas chama a atenção para a necessidade de manejo destas espécies no entorno da unidade de conservação.

A avaliação da chuva de sementes em ecossistemas em processo de restauração fornece informações essenciais para o monitoramento e manejo dessas áreas, tornando-se essencial na produção do conhecimento científico na área de ecologia de ambientes tropicais.

AGRADECIMENTOS:



Agradecemos a toda equipe do Laboratório de Ecologia Animal e Vegetal que auxiliaram nas coletas e triagens de material, a CAPES pela

concessão da bolsa para JMO e ao Programa PIBIC da Universidade Federal Fluminense.



Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas

O ESTUDO DE ÁRVORES PROTEGIDAS COMO FERRAMENTA NO COMBATE À IMPERCEPÇÃO BOTÂNICA

Amanda Hammerschlag Lima e Luiz Mors Cabral (Orientador)

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

INTRODUÇÃO:

O termo “impercepção botânica” descreve a dificuldade das pessoas em perceber as plantas ao seu redor, e é compreendida hoje como um fenômeno com três características principais: a incapacidade de reconhecer a importância das plantas na biosfera e no cotidiano; a dificuldade em perceber os aspectos estéticos e biológicos exclusivos das plantas; e a ideia de que as plantas sejam seres inferiores aos animais (Wandersee and Schussler 1999). Ela é mais uma manifestação de dificuldades no ensino de biologia, e de ciências em geral (Chassot 2003). No Brasil, essa dificuldade é evidenciada pelos resultados ruins em rankings internacionais de ensino, como o PISA (Programa Internacional de Avaliação de Estudantes). Nos resultados de 2018, o Brasil foi posicionado na 57ª posição em leitura, 70ª em matemática e 66ª em ciência, dentre os 79 países ou regiões participantes do teste. Nas três áreas a pontuação dos estudantes ficou abaixo da média dos países da OCDE (Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico). Existem árvores ou conjuntos arbóreos que recebem algum tipo de proteção da cidade de

Niterói. São árvores que se espalham por diversos bairros, mas a enorme maioria da população ignora a existência delas, mais um demonstrativo da impercepção botânica enquanto fenômeno de massa, especialmente entre as populações urbanas. No entanto, essas mesmas árvores estão presentes no dia a dia de todos nós.

Estando espalhadas pelas cidades, é provável que ao menos um exemplar que recebe proteção esteja nas proximidades de todos os cidadãos. A divulgação sobre essas árvores, suas histórias, suas características fisiológicas, sua ecologia e seus usos são uma ferramenta poderosa de aproximação da ciência com a população.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

1. Identificação das árvores protegidas:
Começamos o projeto pela cidade de Niterói, uma vez que a UFF se encontra espalhada pela cidade, e o acesso às árvores é bastante facilitado. Além disso, nosso grupo possui contatos em escolas da região, de forma que existe uma facilidade em apresentar nosso material em ambientes de ensino. Uma busca

nos arquivos da cidade permitiu identificar 81 árvores notáveis na cidade de Niterói. Niterói possui apenas uma árvore sob a proteção legado do tipo “tombamento”. uma figueira de bengala nas proximidades do forte do Gragoatá. As demais árvores recebem o status de “Árvores Notáveis”.

2. Produção de material sobre as árvores e construção do site.

Fizemos buscas em arquivos sobre a histórias das árvores notáveis. Iniciamos por 6 exemplares: a amendoeira em frente à Reitoria da UFF, o Pau Ferro e a Figueira religiosa que estão no Campo de São Bento, a embaúba e o abricó-de-macaco do campus da Praia Vermelha, e as mangueiras do Museu do Ingá. Geramos imagens e textos sobre as árvores, buscando desvendar porque elas se tornaram exemplares notáveis para a cidade. Nosso material preza pela multidisciplinaridade, costurando elementos da biologia e ecologia das plantas com aspectos históricos da cidade. Procedemos então a compra de um domínio da Internet, para a construção do nosso site. No endereço “<https://www.semeandohistorias.com/>” estamos depositando os materiais que produzimos. No momento temos textos material sobre as 6 árvores descritas acima, além de textos acessórios sobre o tema da arborização urbana.

Estamos avançando na produção de novos materiais sobre outras plantas notáveis da cidade. O site tem sido divulgado em palestras, e tem recebido um volume crescente de visitas. Paralelamente disponibilizamos para cada árvore analisada, um material de apoio ao

professor que queira trabalhar com as árvores notáveis em sala de aula.

CONCLUSÕES:

O projeto caminha bem. Estamos produzindo material de divulgação científica, voltado para o público em geral, além de material didático para alimentar a prática do ensino de ciências em escolas de Niterói. O material preza pelas abordagens multidisciplinares, focando na redução da impercepção botânica. Acreditamos que é possível criar uma cultura de integração das plantas no dia a dia da cidade, e esse projeto, ao divulgar as árvores protegidas da cidade, é um passo nessa direção.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- CHASSOT, A. Alfabetização científica: uma possibilidade para a inclusão social. Revista Brasileira de Educação, 22: 89-100, 2003.
- Wandersee, James H., and Elisabeth E. Schussler. “Preventing Plant Blindness.” The American Biology Teacher, vol. 61, no. 2, 1999, pp. 82–86.

AGRADECIMENTOS:

- Programa de Bolsas de Iniciação Científica- UFF.





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.**

Pereira, L. G. S., Jesus, M. C. S. e Fragel-Madeira, L.,

**Laboratório de Desenvolvimento e Regeneração Neural,
Departamento de Neurobiologia, Instituto de Biologia, UFF.**

INTRODUÇÃO:

A retinose pigmentar é uma doença heterogênea de caráter hereditário – autossômica dominante, autossômica recessiva ou ligada ao X - de alta incidência, que atinge gradualmente os fotorreceptores. A grande quantidade de mutações em genes diferentes dificulta muito a criação de um tratamento abrangente, principalmente na área da terapia gênica (Sancho-Pelluz e cols, 2008). Ainda não há cura, porém, existem terapias para tentar evitar ou atrasar a morte dos fotorreceptores ou mesmo substituir essas células danificadas através de transplantes (Radner e cols, 2001). 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.

Dentre os modelos murinos usados para o estudo de degeneração dos fotorreceptores,

existem aqueles categorizados como degeneração retiniana (comumente chamados de rd – *retinal degeneration*, em inglês). O camundongo rd10 possui uma mutação missense no éxon 13 do gene da subunidade β da fosfodiesterase 6 (PDE6b), que faz com que esta proteína ainda tenha um pouco de atividade (Samardjiza e cols., 2012). 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 14^o 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 nos camundongos rd10.

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 PDE6 β rd10/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 ± erro padrão da média.

O número de células recoverina-positivas por toda extensão da retina apresentou diferença significativa entre o controle e os grupos tratados (CTR= 496.3 ± 21.4 ; 30nM= 604.5 ± 43.3 ; 100nM= 642.0 ± 40.0). 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 ± 25.6 ; 30nM= 598.6 ± 49.1 ; 100nM= 615.4 ± 46.3) mas não na região da periferia (CTR= 522.1 ± 33.25 ; 30nM= 610.3 ± 76.38 ; 100nM= 668.7 ± 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 ± 0.15 ; 30 nM: 25.9 ± 2.00 ; 100 nM: 32.2 ± 8.80). Analisando individualmente cada área da retina, tanto o centro (CTR: 21.95 ± 0.05 ; 30nM: 25.15 ± 1.35 ; 100 nM: 31.5 ± 9.00) como a periferia (CTR: 29.45 ± 0.85 ; 30nM: 26.45 ± 5.25 ; 100nM: 33.05 ± 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.

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.





A DINÂMICA NA EXPRESSÃO DE MARCADORES INFLAMATÓRIOS APÓS ENUCLEAÇÃO MONOCULAR EM FASES DISTINTAS DO DESENVOLVIMENTO

**Arthur da Silva de Andrade¹; Claudio
Alberto Serfaty¹; Luana da Silva
Chagas¹**

**¹Laboratório de Plasticidade Neural,
Universidade Federal Fluminense,
Niterói, Brasil.**

INTRODUÇÃO:

O cérebro neonatal é capaz de se adaptar de forma eficiente em resposta ao ambiente, e também no contexto de lesões ao sistema nervoso central (SNC), caracterizando-o, então, como uma estrutura plástica. Em adultos, entretanto, essa plasticidade é reduzida. Tais diferenças são inerentes à existência de janelas temporais **bem** definidas durante o desenvolvimento conhecidas como períodos críticos. Esses períodos são específicos do desenvolvimento dos diversos circuitos que compõem o SNC. No sistema visual de ratos, mais especificamente, na via retinocolicular, o período crítico se restringe às 3 primeiras semanas **após o nascimento**. Assim, com a maturação do sistema, os circuitos retinocoliculares se apresentam mais resistentes à influência ambiental (Serfaty et al, 2005).

Evidências apontam o envolvimento intrínseco do sistema imune na manutenção da homeostasia do SNC. O

uso de inibidores farmacológicos em modelos de lesão já demonstrou que a plasticidade axonal depende da reatividade microglial e da liberação de TNF- α (Chagas et al 2019). Quando ativada, a microglia pode assumir diferentes fenótipos, identificados pela sua morfologia, esse espectro variando entre o perfil amebóide e ramificado, e pela expressão de marcadores específicos.

A expressão molecular auxilia na identificação de um contexto funcional pró-inflamatório ou pró-regenerativo. A expressão de moléculas como iNOS, TNF- α e IL-6 pelas células gliais atuam como marcadores de inflamação, enquanto a expressão de Arg-1, por exemplo, relaciona-se a um contexto anti-inflamatório.

Neste projeto, avaliamos a expressão temporal de diferentes indicadores inflamatórios no contexto da enucleação monocular dentro ou fora do período crítico. A expressão de NF κ B, um dos principais fatores de transcrição associado à inflamação e ativação microglial, está intimamente ligado à liberação de TNF- α . Este pode atuar de duas formas dependendo do receptor com o qual interage: o TNFR1, promove a inflamação, já o TNFR2, associa-se a um contexto de homeostasia.

Já a expressão de GFAP (marcador de astrócitos) e IB-4 (marcador de endotélio) viabilizam o estudo da participação da unidade neurovascular no contexto inflamatório pós-lesão dentro e fora do período crítico.

Em suma, o objetivo do estudo é determinar se a expressão diferencial de marcadores inflamatórios, endoteliais e

glias em diferentes sobrevidas justificam as diferenças observadas na plasticidade estrutural induzida por lesão no SNC em diferentes fases do desenvolvimento, utilizando o sistema visual de roedores como modelo de estudo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Ratos Lister Hooded enucleados nos dias pós-natal 10 (durante o período crítico) ou 21 (após o período crítico) foram analisados em diferentes sobrevidas entre 24h-14d pós-lesão. O conteúdo e expressão de marcadores inflamatórios foi avaliado por Western Blot ou imunofluorescência no colículo superior (CEUA/UFF 4983140219).

Em relação ao conteúdo de iNOS, os dados indicam um pico em 7 dias após a lesão em P21, sugerindo efeito da lesão nas diferentes sobrevidas, ao se comparar o lado ENU (maior deafferentação) ao lado CT (menor deafferentação), o que não se observa em P10. Já a expressão de ARG-1, marcador anti-inflamatório, que se opõe a atividade da iNOS ao competir por substrato, caracteriza diferentes contextos inflamatórios do microambiente neural. Na lesão em P10, a lesão parece promover uma redução no conteúdo de ARG-1 em todas as sobrevidas analisadas, enquanto em P21, o efeito parece reverter, com um pico virtual em 24h, sugerindo efeitos opostos da lesão sobre o conteúdo de ARG-1, principalmente em 24h, quando se compara os efeitos em P10 e P21.

Em relação aos receptores de TNF- α , não se observa variações significativas no conteúdo de ambos na lesão em P10.

Entretanto, na lesão em P21, verifica-se o aumento gradual do TNFR1 a partir de 72h após a lesão, e um aumento transitório do TNFR2, também a partir de 72h e que retorna ao basal 14 dias após a lesão.

Em relação ao NF κ B, observamos um efeito temporal significativo na lesão promovida em P10, com um pico em 24h, sendo este 35% maior que o efeito da lesão em 72h (p -valor $\leq 0,054$) e 45% maior que 7 dias (p -valor $\leq 0,01$) ao se comparar os colículos ENU e CT. Tanto em P10 quanto em P21, observa-se o efeito da lesão apenas na sobrevida de 24h com um aumento rápido e transitório de NF κ B.

O cross-talk entre astrócitos e endotélio foi avaliado através da imunorreatividade para GFAP e IB-4 no colículo superior. Após a lesão em P21, a análise qualitativa apontou um aumento da expressão de IB-4 no colículo ENU, contralateral a lesão, em todas as sobrevidas analisadas. A análise da dinâmica da reatividade endotelial sugere que em 24h há um aumento da imunorreatividade para IB-4 em relação ao grupo não lesionado, enquanto em 72h ocorre pico de interação entre astrócitos e vasos, porém em 14 dias após a lesão, apesar da astrogliose persistir, a imunomarcção para IB-4 apresenta um perfil mais difuso e espalhado. Esses dados nos ajudam a entender o contexto inflamatório do SNC pós-lesão, utilizando a associação entre astrócitos e vasos da unidade neurovascular como um parâmetro para avaliação das possíveis interações entre o sistema nervoso e outros componentes imunes sistêmicos que contribuam com processos inflamatórios.

CONCLUSÕES:

Os resultados sugerem a existência de diferenças no padrão de expressão de marcadores inflamatórios que possam contribuir na compreensão dos efeitos distintos da lesão sobre a plasticidade estrutural em fases precoces e tardias do desenvolvimento, respeitando os limites dos períodos críticos. As alterações observada na lesão em P21, que diferem da lesão em P10, como o aumento relativo e pontual da expressão de Arginase-1 e uma variação temporal no conteúdo de iNOS, TNFR1 e TNFR2 e IB-4 propõe possíveis alvos moleculares envolvidos nas interações neuroimunes que podem influenciar a plasticidade induzida pela lesão quando esta ocorre em fases mais avançadas do desenvolvimento.

AGRADECIMENTO: CAPES, CNPq, Faperj, PROPPi(UFF)





Ciências Biológicas

ESTRESSE MENTAL PÓS-COVID-19: RELEVÂNCIA DE AMBIENTES ALIMENTARES SAUDÁVEIS E SUSTENTÁVEIS

Lethicia dos Santos Conceição, Guilherme Macedo Soares Coutinho, Isabel de Paula Antunes David, Leticia de Oliveira

Departamento de Fisiologia e Farmacologia/ Instituto Biomédico/ Laboratório de Neurofisiologia do Comportamento.

INTRODUÇÃO

Segundo a classificação Nova, os alimentos ultraprocessados (AUP) são resultado de uma cadeia de processos industriais, caracterizados pela combinação de açúcares, amidos, gorduras e fibras, e até carcaças de animais, porém, contendo pouco ou nenhum *alimento in natura* (Monteiro et al., 2019). Os alimentos fabricados têm um grande tempo de prateleira e apelo sensorial. De acordo com Louzada e colaboradores (2023) os AUP contribuem em torno de 20% das calorias consumidas diariamente pela população brasileira. Ainda, houve um aumento médio alarmante de 5,5%, nos últimos 10 anos.

A escolha por AUP em detrimento de alimentos *in natura* minimamente processados pode ser influenciada por diversos fatores, como, por exemplo, o preço competitivo dos AUP, o que os torna mais acessíveis para a população de baixa renda. Além disso, independente da renda familiar, o consumo de alimentos ultraprocessados associa-se na literatura a sintomas de adicção alimentar (Gearhardt and Schulte, 2021).

Embora existam estudos que associam a renda familiar e a adicção alimentar ao

consumo de AUP de forma isolada, ainda não existem estudos que avaliem o impacto destes dois fatores em conjunto sobre o consumo de AUP. O presente estudo teve o objetivo de investigar, individual e conjuntamente, o impacto da renda familiar e da presença de sintomas de adicção alimentar sobre o consumo de AUP.

METODOLOGIA

Estudantes de graduação da Universidade Federal Fluminense (n = 368, 247 mulheres, idade média = 21.8; DP = 2.9) participaram de um estudo transversal online que foi conduzido de entre maio e novembro de 2021. O consumo de AUP foi mensurado através do Nova score (Costa et al., 2021). Também foram coletados dados antropométricos, como peso (Kg) e estatura (Metros) estimados para cálculo do Índice de Massa Corporal (IMC) e dados sociodemográficos como gênero, raça e renda familiar. A amostra foi dividida de acordo com a renda familiar mensal baseada no salário-mínimo (SM): Classe A – renda acima de 10 SM; Classe B – renda entre 5-10 SM; Classe C - 2-5 SM; Classe D/E - renda abaixo de 2 SM. Utilizamos a escala a Modified Yale Addiction Scale 2.0 (mYFAS

2.0; Schulte and Gearhardt, 2017), a fim de avaliar sintomas de adicção alimentar.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

No estudo encontramos que os sintomas de adicção alimentar e a renda familiar são variáveis preditoras importantes do consumo de ultraprocessados na amostra. Os sintomas de adicção alimentar aumentaram o consumo de AUP em 17% (IRR=1.17 [1.02-1.33]; $p=0.023$), assim como pertencer as classes D/E ou C comparados a classe A resulta em aumentos de consumo entre 39-42% (D/E: IRR=1.39 [1.09-1.79; $p=0.008$]; C: IRR=1.42 [1.11-1.81]; $p=0.005$), incluindo o IMC como potencial confundidor.

Foi visto também uma associação entre raça e renda familiar na amostra ($X^2=44.8$; $p<0.001$). As classes D/E são compostas predominantemente de pessoas negras, enquanto a classe A é formada majoritariamente por pessoas brancas, no qual, reflete o padrão de desigualdade presente na população brasileira. Uma grande parte da amostra (84.4%) da classe D/E relatou ter consumido um ou mais substitutos de refeições (embutidos, refeições prontas, etc...) no dia anterior em relação à classe de maior renda (67.5%; $X^2=7.84$; $p=0.049$), indicando a substituição de carnes *in natura* por alternativas ultraprocessadas nesta população. A mudança do consumo de carne para alternativas AUP, pode ter sido causada pela perda do poder de compra durante a crise econômica passada durante a pandemia COVID-19.

CONCLUSÃO

A presença de sintomas adicção alimentar e a renda familiar contribuem conjuntamente para o consumo de AUP. Os resultados encontrados podem contribuir positivamente para discussões sobre políticas públicas que promovam ambientes alimentares mais saudáveis e sustentáveis

REFERÊNCIAS

Costa CDS, Faria FR de, Gabe KT, et al. Nova score for the consumption of ultra-processed foods: description and performance evaluation in Brazil. *Rev Saude Publica* 2021;55:13.

Louzada, M. L. da C., Cruz, G. L. da, Silva, K, et al (2023). Consumo de alimentos ultraprocessados no Brasil: Distribuição e evolução temporal 2008- 2018. *Revista de Saúde Pública*, 57(1), 12.

Monteiro, C. A., Cannon, G., Levy, R. B., et al. (2019). Ultra-processed foods: What they are and how to identify them. *Public Health Nutrition*, 22(5), 936–941.

Gearhardt AN, Schulte EM. (2021) Is Food Addictive? A Review of the Science. *Annu Ver Nutr* 41, 387–410.

Schulte, E. M., & Gearhardt, A. N. (2017). Development of the Modified Yale Food Addiction Scale Version 2.0. *European Eating Disorders Review*, 25(4), 302–308.





Ciências biológicas

PRODUTOS NATURAIS DE *DICTYOTA MERTENSII* (PHAEOPHYCEAE) PARA AVALIAÇÃO EM MODELOS BIOLÓGICOS DE AUTISMO

Victor Hugo Cordeiro Vianna, Johana Marcela Concha Obando, Joel C. de Paula, Valeria L. Teixeira, Diana Negrão Cavalcanti

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:

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). Algas da família Dictyotaceae (Phaeophyceae) vêm sendo obtidos com sucesso associadas a bioatividades, tais como antiviral (CIRNE-SANTOS, et al 2020), antioxidante (QI, et al 2023) e anti-inflamatória (BARBALACE et al, 2019). Neste projeto foi feita uma investigação sobre a composição química de populações da alga marinha *Dictyota mertensii*, 6 populações de *D. mertensii* coletadas em P1-Ferrihães, P2-Praia de Cumuruxatiba-BA, P3-Ponta do Corumbal-BA, P4-Praia dos Coqueiros-BA, P5-Parrachos e P6- Placafor-BA (no litoral brasileiro) e que estavam armazenadas no Laboratório de Produtos

Naturais de Algas Marinhas (ALGAMAR) – UFF. Biomassa das populações foram submetidas a extração orgânica com diclorometano, para analisar o seu perfil de diterpenos usando cromatografia de camada delgada (CCD) e Ressonância magnética nuclear de prótons (RMN-¹H). Adicionalmente foi monitorado seu potencial antioxidante com CCD-DPPH. 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. Também foram feitas duas técnicas de para para o fracionamento dos compostos dos nossos extratos. Sendo elas a Cromatografia de Camada Delgada Preparativa (PTLC) e a cromatografia de coluna.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

As amostras foram primeiramente pesadas e separadas, e depois maceradas com 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.

Os rendimentos obtidos para cada população podem ser vistos no Quadro 1.

Quadro 1. Resultados obtidos das extrações das seis populações de *D. mertensii*. * R (%) = Peso após extração /Peso biomassa alga (após macerar) x 100.

Pop's	*R(%)1ra Extração	*R(%)2ra Extração	*R(%)3ra Extração
1	E1P1 4,148%	E2P1 1,891%	E3P1 0,6067%
2	E1P2 0,609%	E2P2 0,300%	E3P2 0,217%
3	E1P3 0,0609%	E2P3 0,258%	E3P3 0,334%
4	E1P4 0,6746%	E2P4 (0,101%	-
5	E1P5 1,103%	E2P5 (0,385%)	E3P5 0,08%
6	E1P6 0,629%	E2P6 0,263%	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).

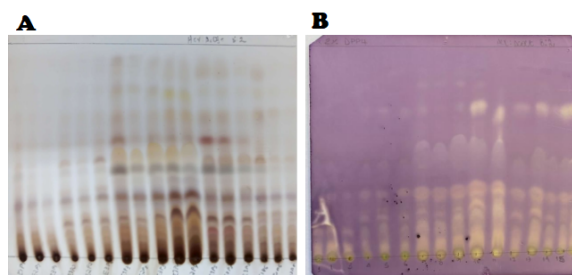


Figura 1. A. Resultado da placa de CCD (Hex: EtOAc) com os extratos diclorometânicos das populações de *D. mertensii*. As cores sublinhadas diferenciam cada população (Vermelho: Ferrilhões, Verde: Praia de cumuruxatiba, Amarelo: Ponta do Corumbal, Preto: Praia dos coqueiros, Azul: Parrachos, Rosa: Placafor).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

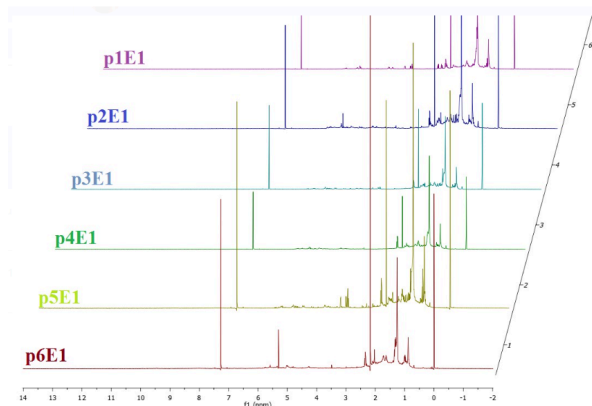


Figura 2. Espectros de RMN-¹H das seis populações de *D. mertensii*.

Usando a população com mais biomassa (P3-Ponta do Corumbal) foi possível separar 17 frações. Foi feita uma placa de CCD para a junção de frações semelhantes (Figura 3A) e depois um teste de CCD-DPPH para triagem de frações antioxidantes. Ao final, concluímos que todas as frações que os compostos químicos das frações possuem ativos antioxidantes, principalmente no CP31 (Figura 3 B).

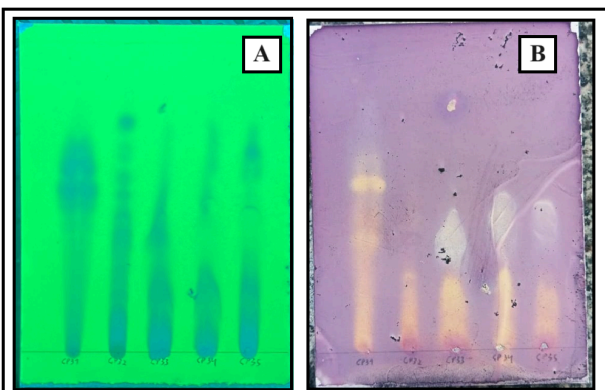


Figura 3.A Revelação dos componentes das frações na câmara de UV, **B.** teste de CCD-DPPH dos mesmos componentes das frações. *Fotos de autoria própria.*

CONCLUSÕES:

As técnicas de CCD e CCD-DPPH mostraram a presença de compostos com potencial

antioxidantes. As análises químicas de RMN-¹H confirmaram a composição química de produtos diterpenoides presentes nestas populações. Também já foi fracionado os extratos orgânicos e comprovado seu potencial antioxidante. Este projeto, forneceu dados da variabilidade química da alga alvo deste estudo, o qual vai auxiliar de maneira eficiente o 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:

Agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento e tecnologia (CNPq), a Universidade Federal Fluminense e a FAPERJ





Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas

TÍTULO DO TRABALHO: COBERTURA VACINAL ENTRE ALUNOS DE CURSOS DA ÁREA DA SAÚDE: INVESTIGAÇÃO DAS ATITUDES, CONHECIMENTO E DESEJO DE SE VACINAR ENTRE OS ESTUDANTES.

Autores: Pedro Barbosa Gomes¹, Camila Costa dos Santos¹, Eliza da Costa Pinto¹, Leonardo Motta de Abreu¹, Samuel Stoliar de Vilhena Machado¹, Ana Lorena Lima Ferreira², Gina Peres Lima dos Santos³, Silvia Maria Baeta Cavalcanti³, Claudia Lamarca Vitral³

¹Faculdade de Medicina, ²Instituto de Saúde Coletiva, ³Departamento 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 vem sendo conduzido desde julho/2021. 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/SUS (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. Uma série de possíveis fatores comportamentais envolvidos na hesitação vacinal foram avaliados em relação à completude do esquema vacinal do PAS e do adulto/SUS. As respostas evidenciaram que os estudantes reconhecem a importância da vacinação, uma vez que 99,4% acreditam que as vacinas podem proteger de doenças sérias, 78,3% entendem como as vacinas funcionam e 99,2% acreditam que os benefícios das vacinas, em geral, são maiores que os riscos. Porém, esse reconhecimento não é convertido em uma boa cobertura vacinal, já que nenhuma vacina alcançou a cobertura preconizada pelo PNI de 95%. A avaliação da situação vacinal evidenciou que apenas 57,2% dos estudantes possuem o esquema vacinal

completo das vacinas do SUS, e apenas 6,7% estão com a carteira em dia para todas as vacinas indicadas para os PAS. O desconhecimento sobre como as vacinas são produzidas mostrou-se fortemente associado com a incompletude vacinal para as vacinas do adulto (0,001) e do PAS (0,050). A ausência da completude para as vacinas do adulto foi também influenciada pela existência de dúvidas em relação à necessidade de se vacinar (0,024) e o custo das vacinas (0,024). A influência positiva, negativa ou neutra de uma série de fatores sociais sobre o ato de se vacinar foi avaliada em relação à completude vacinal. A influência positiva foi relatada majoritariamente em relação à família, núcleo social, informações científicas, redes sociais e profissionais de saúde. Por outro lado, apresentaram uma influência predominantemente neutra a religião e a política. Nenhum fator investigado exerceu influência negativa relevante sobre o ato de se vacinar. No entanto, não houve significância estatística em nenhuma dessas análises. Apesar disso, tais resultados demonstram possíveis vias de auxílio a uma melhora das taxas de completude vacinal.

CONCLUSÕES:

Estudantes dos cursos da área da saúde apresentam atitudes muito positivas em relação às vacinas. No entanto, seu conhecimento e comprometimento integral 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. Além disso, diante da relação da incompletude vacinal ao desconhecimento sobre a produção vacinal e a dúvida da necessidade de se vacinar, evidencia-se que atividades educativas, como as implementadas por este projeto, são essenciais como uma estratégia auxiliar na redução da hesitação e no aumento da cobertura vacinal, bem como para trazer à tona a discussão deste tema tão relevante para a saúde pública. Precisamos, mais do que nunca, falar sobre vacinas!



AGRADECIMENTOS:

Apoio financeiro: CNPq, Proex



CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

EFEITO DE DERIVADOS DE POLIGODIAL COM ATIVIDADE ANTICÂNCER

MARINHO, B.A.M.; SERRANO, LP; SANTOS, C.; BAEZ, CF; CRUZ, HR;

GONÇALVES-DE-ALBUQUERQUE, CF; AMORIM, LMF; 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 CO₂.

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 μM de Poligodial e DR-P27, e acima de 50 μM 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. Padronizamos a fim de estabelecer a capacidade da poligodial e seus derivados DR-P10 e DR-P27 de impedir a migração celular, foram realizados testes utilizando a técnica de *Scratch Assay*. Padronizamos o ensaio de ranhura utilizando a ouabaina em diferentes concentrações. Foram utilizados os compostos poligodial, P10 e P27 na concentração de 10 μM , 20 μM e 30 μM e a ouabaina na concentração 50 μM . Não observamos, nas condições utilizadas, alteração significativa na migração celular frente aos derivados de poligodial. Experimentos adicionais de migração celular deverão ser feitos para a confirmação dos resultados iniciais obtidos.

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 elementos importantes para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais eficazes no tratamento do glioblastoma. Além disso, incentivam pesquisas adicionais para avaliar o potencial clínico desses compostos, contribuindo para avanços significativos na área.

AGRADECIMENTOS:

PIBIC/CNPQ e PROPPI





CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

AVALIAÇÃO DE TÉCNICAS DE NUCLEAÇÃO USADAS NA RECUPERAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS E DE PRESERVAÇÃO PERMANENTE NO MORRO DO GRAGOATÁ - NITERÓI/RJ: II - DESEMPENHO DOS ESTÁGIOS INICIAIS (SEGUNDO ANO) COM O USO DE COMPOSTO ORGÂNICO.

Leonardo Silva de Almeida, Monique Padilha de Freitas,
Gelson Daniel Vieira da Penha, Janie Garcia da Silva

Laboratório Horto-Viveiro (LAHVI)/Instituto de Biologia (I.B), UFF

INTRODUÇÃO

Muitos países, em diferentes partes da Terra, têm enfrentado graves problemas ambientais. Paisagens modificadas pelo homem prejudicam a conservação da biodiversidade e a prestação de serviços ecossistêmicos, por vezes de modo irreversível. Restaurar esses ambientes é urgente, mas há pouco incentivo e envolvimento dos órgãos governamentais.

Hoje, o bioma Mata Atlântica abrange 12,4% do nosso território. Abriga a segunda maior floresta úmida no Brasil, um dos 36 *hotspots* mundiais de biodiversidade. A criação de centros urbanos e industriais gera grandes impactos pela redução da cobertura vegetal. A especulação imobiliária acentua ameaças ao bioma restringindo-o, nas cidades, a fragmentos vitais ao equilíbrio do ambiente.

Em Niterói, na orla de Boa Viagem, o Morro do Gragoatá abriga um fragmento da Mata Atlântica com papel relevante na conservação da biodiversidade regional. Ele ameniza o clima para a comunidade do entorno e funciona como trampolim ecológico para aves que dispersam sementes em encostas de difícil acesso na cidade. Na década de 1970, parte dele sofreu desmonte para aterro, construção da Av.

Litorânea criação dos *campi* da UFF do Gragoatá e da Praia Vermelha, com perda de vegetação e do solo. Fatores como pouca umidade, temperatura elevada e solo pobre dificultaram a recuperação da vegetação, principalmente no topo do morro. Em 2003, foi criada a Área de Proteção Ambiental (APA) do Morro do Gragoatá.

Há vários anos, o LAHVI se dedica a estudar e a recuperar áreas degradadas e de preservação permanente da APA, usando composto orgânico resultante da varrição do campus da UFF como tecnologia de baixo custo (SILVA et al. 2023). Tal estratégia tem criado micro habitats, reestruturado o solo e desenvolvido a cobertura vegetal, constatado por sensoriamento remoto. Esta pesquisa, iniciada em 2021, visa reproduzir e avaliar os estágios iniciais de sucessão vegetal na APA, após o uso do composto em técnicas de nucleação. Se justifica por contribuir para preencher uma lacuna sobre o comportamento das espécies vegetais que ocorrem nesta fase inicial sobre esse substrato que seria descartado e, assim, passa a ter uso. A Técnica de nucleação foi adaptada com o uso de composto orgânico proveniente dos resíduos de varrição das folhas do Campus da Praia Vermelha/UFF produzido próximo ao LAHVI. Em

uma área no topo, previamente capinada, foram montados 10 núcleos. Cinco, receberam uma camada de 10 cm de composto orgânico e cinco ficaram sem composto (controle). Ocorreram mensurações e monitoramento. Para a identificação botânica, houve consulta à literatura especializada, amostras de herbário e à expertise da equipe.

As morfoespécies sem identificação completa, receberam nomes provisórios. Em uma planilha, foram inseridos os nomes botânicos, o hábito de vida das plantas adultos e as medições. Fotos da flora, da fauna, dos núcleos e do ambiente serviram para documentar atividades, auxiliar na identificação, comparar o desenvolvimento das morfoespécies e uso em relatórios. Elas foram organizadas em pastas por data em um banco de imagens com legenda, vinculadas à planilha.

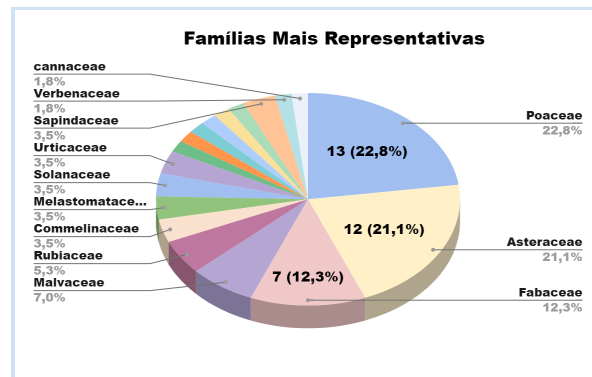
RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foram registradas 58 espécies inseridas em 53 gêneros e 19 famílias botânica. As famílias mais numerosas são Poaceae, Asteraceae e Fabaceae. As duas primeiras, tem maior número de invasora. A terceira, se destaca por ter espécies associadas a bactérias que fixam nitrogênio no solo, um fator positivo para recuperar o solo (gráfico 1).

Houve avanços na identificação botânica, 69% das plantas estão identificadas a nível de espécie, 25,8% a nível de gênero e 7% a nível de família. A identificação de plantas, inicialmente chamadas como morfoespécies foi facilitada pelo acesso à literatura específica de família, gênero, listas de flora regional, de ruderais ou de invasoras. Para as plantas não

identificadas a nível de espécie, o termo morfoespécie ainda é usado.

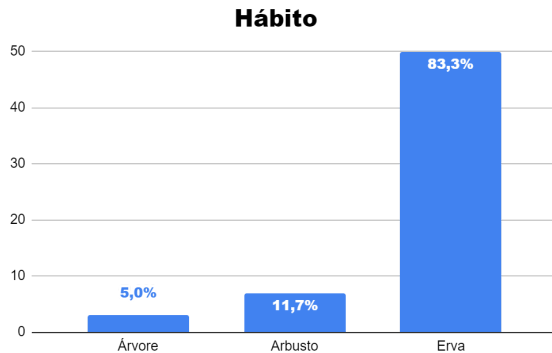
Gráfico 1: Famílias botânicas encontradas



Neste segundo ano, como esperado, predominam plantas herbáceas (83,3%). Mas já surgem arbustos (11,7%), com destaque para alecrim do campo (*Baccaris dracunculifolia* DC), importante fonte de alimento para abelhas e jurubeba (*Solanum paniculatum* L.) e árvores (5%), destacando-se cambará (*Moquiniastrum polymorphum* (Less.) G. Sancho, dispersada pelo vento, camboatá (*Cupania emarginata* Camb.), chau chau (*Alophyllus puberulus* (Cambess) Radlk) que são frugívoras para a avifauna e leucena (que apesar de exótica, fixa nitrogênio no solo e produz massa foliar para ciclagem de nutrientes (gráfico 2).

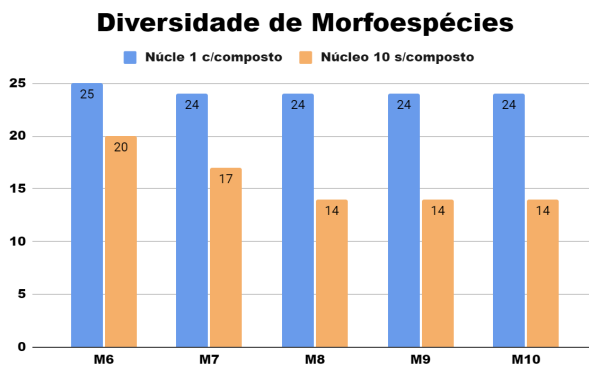
Assim, há uma tendência positiva na evolução da sucessão vegetal. Espécies nativas presentes nos arredores já conseguem de estabelecer, algumas das quais, do estrato arbóreo. Mas requer manejo de invasoras, pela origem dos resíduos proceder de uma área urbana, para evitar o abafamento de outras em desenvolvimento.

Gráfico 2 - Morfoespécies quanto ao hábito



Há nítida diferença na diversidade de morfoespécies (gráfico 3) de núcleos com e sem composto (controle).

Gráfico 3 - Diversidade de morfoespécies nos núcleos



CONCLUSÕES

Neste segundo ano, o uso do composto orgânico produzido por varrição de folhas do campus da UFF em técnica de nucleação para restaurar áreas degradadas do morro do Gragoatá vem se mostrando uma estratégia promissora e sustentável, com avanços significativos. Mas este processo é lento. Requer um monitoramento contínuo para

compreender melhor as dinâmicas da comunidade vegetal ao longo do tempo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

SILVA, J. G. da; SILVA, R. R. E.; EINGEHEER, E. M.; FREITAS, M. P. de; ALMEIDA, L. S. Recuperação de áreas degradadas no Morro do Gragoatá com técnicas de nucleação a partir de composto orgânico produzido no Campus da Praia Vermelha da UFF. PUC RIO, Brasil: PUC RIO, 2023.

AGRADECIMENTOS

Ao



PIBIC/UFF- CNPq, à FAPERJ, Ministério do Meio Ambiente e à equipe do LAHVI.



Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas

TÍTULO DO PROJETO: AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIVIRAL DA ALGA VERMELHA *DICHOTOMARIA MARGINATA* CONTRA O VÍRUS HERPES SIMPLES TIPO 1

Autores: Thaíssa Fernandes Motta; Vitor Won-Held Rabelo; Leonardo dos Santos Corrêa-Amorim; Amanda Cunha de Souza Coração; Joel Campos De-Paula; Valéria Laneuville Teixeira; 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

O *Simplexvirus humanalpha1*, amplamente conhecido como vírus Herpes simples tipo 1 (HSV-1), é o agente etiológico do herpes, uma infecção comumente caracterizada por lesões cutâneas ulcerativas vesiculares que afeta mais de 3,7 bilhões de pessoas no mundo.

Apesar disso, manifestações mais graves podem ocorrer, como encefalite. Além disso, as infecções por HSV-1 têm sido associadas à diferentes doenças neurodegenerativas, como doença de Alzheimer e esclerose múltipla, o que gera grande preocupação.

Atualmente, o tratamento dessas infecções é realizado com o fármaco aciclovir (ACV) e seus análogos, que, embora reduzam os sintomas, não eliminam o vírus completamente do organismo. Somado a isso, a emergência e disseminação de cepas resistentes a esses fármacos impulsiona a busca por novas terapias farmacológicas.

Nesse sentido, a macroalga vermelha *Dichotomaria marginata* é relevante devido às suas atividades biológicas já descritas, como

atividade antifúngica e antiparasitária. No entanto, ainda não há relatos sobre seu potencial antiviral.

Posto isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial antiviral da macroalga vermelha calcificada *Dichotomaria marginata* contra o HSV-1 em células Vero.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente, a citotoxicidade do extrato foi avaliada em células Vero através do método de MTT. Para tal, as células foram tratadas em diferentes concentrações do extrato (10, 50, 125, 250, 500 µg/mL) por 72 h e, então, a viabilidade das células foi determinada e a concentração necessária para reduzir a viabilidade celular em 50% (CC₅₀) foi estimada. O extrato não mostrou efeito citotóxico significativo, com um valor de CC₅₀ de 209,01 µg/mL. Apesar deste extrato apresentar maior citotoxicidade em relação ao fármaco ACV (CC₅₀ > 1.000 µg/mL), ele ainda apresenta baixa citotoxicidade, especialmente nas concentrações analisadas nos ensaios antivirais.

Em seguida, o extrato foi avaliado contra a multiplicação do HSV-1 sensível ao ACV (cepa KOS) em células Vero (MOI = 1,0) após tratamento com diferentes concentrações do extrato (1,25-50 µg/mL) por 24 h. O título viral foi determinado por ensaio de redução de placas e a concentração necessária para reduzir em 50% a produção de partículas virais (EC₅₀) foi estimada. O extrato inibiu 84,4% da multiplicação do HSV-1 a 50 µg/mL, se equiparando ao ACV, que reduziu em 100% a multiplicação viral na mesma concentração. Com um EC₅₀ de 21,09 µg/mL e um índice de seletividade (IS) de 9,91, o extrato demonstrou alta potência antiviral sem causar danos significativos às células. Em comparação com o ACV, o extrato apresentou menor atividade e seletividade (EC₅₀ = 0,03 µg/mL; IS = > 33,333).

Então, foi avaliada a atividade antiviral deste produto frente a multiplicação do HSV-1 resistente ao ACV (cepa AR-29), utilizando as mesmas metodologias. O extrato demonstrou elevada ação antiviral contra o HSV-1 resistente, inibindo 93,98% da multiplicação viral a 50 µg/mL, enquanto o ACV não exibiu efeitos inibitórios significativos (0%). Com um EC₅₀ de 9,69 µg/mL, o extrato foi mais potente contra a cepa resistente, sugerindo seu potencial como uma nova alternativa terapêutica para tratamento de infecções herpéticas por cepas sensíveis ou resistentes ao ACV.

Por isso, o mecanismo de ação do extrato foi investigado. Primeiramente, foi avaliado a capacidade do extrato em inativar diretamente as partículas virais (atividade virucida) e, para isso, suspensões virais de HSV-1 (2 x 10⁵ PFU) foram tratadas com o

extrato (50 µg/mL) por 1 h e o título viral foi determinado por ensaio de redução de placas em células Vero. O extrato de *D. marginata* reduziu o título viral em 100%, superando o ACV, que não apresentou atividade virucida.

Além disso, foi avaliado o efeito protetivo deste extrato frente à infecção pelo HSV-1. Para tal, células Vero foram tratadas com o extrato (50 µg/mL) por 1 h. Em seguida, as células foram lavadas, infectadas com HSV-1 (MOI = 1,0) e incubadas por 24 h. O extrato não reduziu o título viral de forma significativa, demonstrando que este produto não apresenta efeitos protetivos nas células hospedeiras frente à infecção pelo HSV-1, assim como observado para o ACV.

CONCLUSÕES

Este estudo avaliou a citotoxicidade e o potencial antiviral do extrato diclorometano de *Dichotomaria marginata* contra o HSV-1, incluindo cepas sensíveis e resistentes ao aciclovir. O extrato mostrou baixa citotoxicidade e atividade antiviral promissora, com alta atividade virucida. Apesar de não ter efeitos protetivos, esses resultados sugerem que o extrato pode ser uma nova alternativa para o tratamento da infecção por herpes, justificando pesquisas futuras.

AGRADECIMENTOS

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





CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
IDENTIFICAÇÃO DE NOVOS CANDIDATOS A FÁRMACOS
ANTIVIRAIS CONTRA O VÍRUS CHIKUNGUNYA UTILIZANDO
ABORDAGENS *IN SILICO* E *IN VITRO*

**LUAN LETIERI BELEM MARTINS¹, VITOR WON-HELD RABELO¹,
IZABEL CHRISTINA NUNES DE PALMER PAIXÃO¹**

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

INTRODUÇÃO:

As arboviroses são infecções causadas por vírus transmitidos por artrópodes e consistem em um problema persistente para a humanidade. Dentre elas, pode-se citar as infecções causadas pelo vírus Chikungunya (CHIKV) que passaram a ser consideradas importantes problemas de saúde pública por causa da disseminação global. Mesmo que apresentem baixa taxa de letalidade, essas doenças podem evoluir para a forma de poliartrite crônica, o que compromete drasticamente a qualidade de vida dos pacientes por meses ou até anos após a infecção aguda. De acordo com o Ministério da Saúde, em 2023 o número total de casos prováveis foi de 158.061, com 122 óbitos confirmados. Contudo, quando se analisa o ano de 2024, até a semana epidemiológica 34 (24/08/2024) se tem um número maior que 250 mil de casos prováveis, com 160 óbitos

confirmados por infecção com CHIKV, evidenciando um aumento alarmante. Por conta desses fatores, mais de 218 milhões de reais já foram investidos para o desenvolvimento de estratégias de respostas de emergência em saúde pública no Brasil, demonstrando também o impacto econômico dessas arboviroses. Apesar dos fatores alarmantes e, por mais que já haja uma vacina para prevenção das infecções pelo CHIKV, tal vírus ainda permanece sem um fármaco antiviral específico aprovado para tratamento. Ainda, a vacina recentemente aprovada pelo *Food and Drug Administration* (FDA) ainda não está licenciada em muitos países, incluindo o Brasil, e é contraindicada para pacientes menores de 18 anos e imunocomprometidos. Por isso, a busca por novos fármacos antivirais específicos contra o CHIKV é de grande necessidade. Neste contexto, a protease nsP2 do CHIKV se destaca como um ótimo alvo terapêutico, levando em consideração que esta enzima é vital no ciclo de

biossíntese do vírus e está ausente na célula hospedeira.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi identificar potenciais inibidores de protease nsP2 do CHIKV de origem sintética com perfil farmacocinético e toxicológico promissor e atividade antiviral a partir de metodologias *in vitro* e *in silico*.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Para a triagem virtual de substâncias capazes de inibir da protease nsP2 do CHIKV foi utilizada a biblioteca de moléculas da empresa Sigma-Aldrich, contendo 239.486 moléculas. A partir de um modelo farmacofórico determinado previamente, e o uso do servidor Pharmit, foram identificadas 102.364 moléculas com características estruturais mínimas para inibir a enzima do CHIKV com valores de ajuste no modelo (RMSD) variando de 0,02 a 0,93. Em seguida, as moléculas obtidas foram avaliadas quanto ao seu perfil *drug-like* (baixos riscos mutagênico, tumorigênico, irritante, efeito em células reprodutivas e ausência de subestruturas indesejadas), propriedades farmacocinéticas e toxicológicas, tais como regra dos cinco de Lipinski, de Veber, Egan, Pfizer 3/75 e GSK 4/400, pelo programa DataWarrior. A partir disto, foram selecionadas 4.343 moléculas com perfil *drug-like* satisfatório, as quais foram submetidas à triagem virtual baseada no alvo molecular. Nestas, foram realizados estudos de docking molecular com a protease nsP2 do CHIKV utilizando o programa Autodock 4.2.6 e os ligantes com melhor afinidade teórica (top 10%) com a proteína

foram avaliados por inspeção visual de suas interações intermoleculares. Dentre os ligantes analisados, 47 moléculas apresentaram interações importantes com a enzima do CHIKV e, destas, 11 substâncias (**P1-P11**) foram adquiridas comercialmente para os ensaios *in vitro*. Inicialmente, foi avaliada a citotoxicidade dessas substâncias (10-1.000 μM) em células Vero após tratamento por 72 h utilizando o método de MTT. As substâncias apresentaram citotoxicidade variada, com valores de concentração necessária para reduzir em 50% a viabilidade celular (CC_{50}) de 32,4 μM para a **P8** a >1.000 μM para a **P3**. Então, a atividade antiviral das substâncias com baixa citotoxicidade foi avaliada. Para tal, células Vero infectadas com CHIKV BRA/RJ/18 (MOI = 1) foram tratadas por 24 h com as substâncias (100 μM). Após tratamento, o sobrenadante foi coletado e o título viral determinado por ensaio de redução de placas. Duas substâncias apresentaram efeito inibitório significativo, como a **P3** (55,84%) e **P4** (71,88%), confirmando seu potencial antiviral como predito.

CONCLUSÕES:

Neste trabalho, foram utilizadas diferentes estratégias computacionais para identificar potenciais inibidores da protease nsP2 do CHIKV a partir de uma biblioteca de moléculas da empresa Sigma-Aldrich. Assim, a partir de 239,486 moléculas, foram selecionados 47 possíveis candidatos a antivirais com propriedades farmacocinéticas e toxicológicas promissoras. Destas, 11 substâncias foram adquiridas e avaliadas experimentalmente.

Duas (**P3** e **P4**) apresentam baixa citotoxicidade e elevada atividade antiviral contra o CHIKV, validando as predições realizadas. Deste modo, foi demonstrado que a combinação de métodos *in silico* e *in vitro* permitem a identificação de substâncias com arcabouço químico ainda não estudado na busca por novos agentes anti-CHIKV. Ainda, mais estudos estão em andamento para melhor caracterização do potencial antiviral destas substâncias bem como para confirmação de seu mecanismo de ação, o que contribuirá no desenvolvimento de novos fármacos para tratamento das infecções pelo CHIKV.



AGRADECIMENTOS:

CAPES, CNPq, FAPERJ, PROPI-UFF, PIBIC-UFF



CIÊNCIAS DA SAÚDE

NOVOS PROTÓTIPOS A ANTIMICROBIANOS: MICROBIOLOGIA E PATOLOGIAS APLICADAS

Sarah Christina Gomes Gonçalves¹, Nathália da Rosa Coelho Martins ^{1,2}, Aldo Rodrigues da Silva ^{1,2}, Reinaldo Barros Geraldo^{1,3}, Thatyana Rocha Alves Vasconcelos⁴, Thais Cristina Mendonça Nogueira⁵, Thais Gabrielly Souza de oliveira⁵, Marcus Vinícius Nora de Souza⁵, Helena Carla Castro^{1,2,3}.

Instituições: ¹: Universidade Federal Fluminense/EGB/Instituto de Biologia/Departamento de Biologia Celular e Molecular/Laboratório de Antibióticos, Bioquímica, Ensino e Modelagem

Molecular - LABiEMol. ²: Programa de Pós-graduação em Patologia/ Universidade Federal Fluminense. Niterói - RJ. ³: Programa de Pós-Graduação em Ciências e Biotecnologia/ Universidade Federal Fluminense. Niterói – RJ ⁴: Programa de Pós-Graduação em Química/ Universidade Federal Fluminense. Niterói –RJ. ⁵: Instituto de Tecnologia em Fármacos - Farmanguinhos/FIOCRUZ Rio de Janeiro RJ

INTRODUÇÃO:

A resistência a antimicrobianos é um problema já reconhecido pela organização mundial da saúde entre outros órgãos. Dentre a classe dos fungos a *Candida sp.* é um relevante agente patogênico sendo responsável pela maioria das infecções humanas causadas por fungos e é a quarta maior causa de infecções nosocomiais da corrente sanguínea nos EUA. A primeira linha de tratamento contra essas infecções são as equinoncandinas com troca para o fluconazol para pacientes em um estado mais estável.

A não susceptibilidade em *Candida spp.* a diversos antifúngicos utilizados na clínica tem se mostrado um problema em ascensão para pacientes com candidíase invasiva. *Candida albicans* ainda é a causa etiológica mais frequente seguido por *C. glabrata*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*. A resistência ao fluconazol por *C. glabrata* não é incomum possuindo uma variação de 5,6% até 15,7%,

sendo reportado em populações nos EUA, Dinamarca, Austrália e Bélgica. Tendo em vista o problema crescente da resistência a antimicrobianos, destaca-se a necessidade da busca de novas alternativas para enfrentar o problema. Os derivados de quinoxalinas tem tido um importante papel na descoberta de novos antimicrobianos e tem mostrado atividade em amplo espectro, como antifúngicos, antivirais, antitumoral, anticâncer, antituberculoso, entre outras. Sendo assim temos como objetivo de o trabalho avaliar o potencial anti-*Candida in vitro* E A toxicidade *in silico* de seis compostos derivados de quinoxalinas, os compostos foram cedidos pela Dr. Thatyana Rocha Alves de Vasconcelos do departamento de química orgânica da Universidade Federal Fluminense nas cepas *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida glabrata* ATCC 2001, *Candida parapsilosis* ATCC 22019, *Candida dubliniensis* ATCC

34135, *Candida tropicalis* ATCC 750 e *Candida Krusei* NCPF 3949.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Os testes *in vitro* demonstraram potencial promissor com os resultados das análises de concentração inibitória mínima e de concentração fungicida mínima variando de 0,5 até 512µg/ml com os diferentes compostos testados com exceção dos compostos pqux30 e pqux32 todos tiveram atividade anti-*Candida* com ao menos uma das espécies com destaque para os compostos pqux03 com sua atividade inibitória e fungicida frente a cepa de *C. glabrata* de 0,5µg/ml e frente a cepa de *C. albicans* com atividade inibitória de 1µg/ml e fungicida de 4µg/ml e o composto pqux47 com atividades inibitórias para todas as espécies testadas variando de 4µg/ml a 32µg/ml. Para *C. krusei* que é intrinsecamente resistente ao fluconazol o composto Pqux47 e Pqux27 demonstraram atividade promissora com 4µg/ml e 32µg/ml de atividade inibitória respectivamente.

Os resultados *in silico* demonstraram que as moléculas se encontram dentro dos padrões de drug-likeness de Lipinski e Veber, boa biodisponibilidade, absorção intestinal, não demonstraram sensibilização da pele e diversas moléculas da série não apresentaram potencial hepatotóxico

CONCLUSÃO:

A série de compostos derivados de quinoxalinas demonstra potencial como novos antifúngicos, com destaque para o composto pqux03 que demonstrou atividade inibitória de 1 µg/ml para *Candida Albicans* e atividades

inibitórias e fungicidas de 0,5 µg/ml para *Candida glabrata*.

AGRADECIMENTOS:

CNPQ, PIBIC/UFF, FAPERJ.





Grande área do conhecimento: Ciências biológicas

TÍTULO DO PROJETO: ANTIFÚNGICOS: PROSPECÇÃO E ANÁLISE DE HÍBRIDOS NAFTOQUINÔNICOS TRIAZÓLICOS FUNCIONALIZADOS COM SELÊNIO FRENTE A CEPAS DE *CANDIDA*

Autores: Maria Eduarda Oliveira Correa¹, Nathália da Rosa Coelho

Martins¹, Aldo Rodrigues da Silva¹, Helena Carla Castro¹, Fernando de

Carvalho da Silva², Vitor Francisco Ferreira², Ruan Carlos Ribeiro²

Departamento/Unidade/Laboratório: Universidade Federal Fluminense/EGB/Instituto de Biologia/Departamento de Biologia Celular e Molecular/Laboratório de Antibióticos, Bioquímica, Ensino e Modelagem Molecular – LABiEMol. Niterói - RJ

INTRODUÇÃO:

Candidíase é uma infecção provocada por fungos do gênero *Candida*, sendo *Candida albicans* a espécie mais frequente. Apesar desses fungos fazerem parte da microbiota normal da pele, das mucosas orais, dos intestinos e do trato vaginal, seu caráter oportunista pode levar a complicações graves quando há desequilíbrios ou condições que favoreçam seu crescimento excessivo, podendo levar a infecções oportunistas invasivas.^{1,2} Anualmente, cerca de 1.565.000 pessoas são diagnosticadas com infecção na corrente sanguínea causada por esses microrganismos.³ A grande limitação das classes medicamentosas para tratar candidíase invasiva, somada aos diversos mecanismos de resistência, intrínsecos e adquiridos, por esses patógenos, resulta em uma significativa taxa de mortalidade, com 995.000 mortes anuais.^{1,2,3} Triazóis são compostos sintéticos com um vasto espectro de propriedades biológicas, que possuem capacidade antifúngica, bloqueando a

síntese de ergosterol, o principal esterol da célula fúngica, e são amplamente utilizados clinicamente.² As naftoquinonas são produtos naturais que podem ser obtidos por síntese orgânica e apresentam significativo potencial antifúngico.⁴ Além disso, o selênio, um composto bioativo com propriedades antimicrobianas, pode potencializar os efeitos biológicos das moléculas com as quais é combinado.⁵ A hibridação molecular é uma técnica que consiste na combinação de diferentes estruturas de compostos bioativos em uma única molécula, mostrando-se promissora ao aumentar o espectro de ação e potencial aumento de inibição.⁶

Com a extrema necessidade de novos sintéticos antifúngicos, esta pesquisa investigou a ação de compostos híbridos inovadores que combinam 1,2,3-triazóis com quinonas contendo selênio, em espécies American Type Culture Collection (ATCC) e uma da National Collection of Pathogenic Fungi (NCPF), conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1- Cepas ATCCs utilizadas na testagem

Espécie	Identificação
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231
<i>Candida parapsilosis</i>	ATCC 22019
<i>Candida glabrata</i>	ATCC 2001
<i>Candida dubliniensis</i>	ATCC 34135
<i>Candida krusei</i>	NFCPF 3949

Para avaliar a sensibilidade antifúngica, foi realizado o teste de Concentração Inibitória Mínima (CIM), técnica quantitativa que permite avaliação das diferentes amostras testadas, usando controles positivos como itraconazol e fluconazol. Todos os parâmetros da técnica seguiram o padrão M27 do CLSI. Os testes foram realizados em triplicata por microdiluição em placas de 96 poços.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram selecionados cinco compostos para análise, e seus resultados detalhados estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2- Resultado da CIM dos selenotriazóis frente a *Candida* spp.

FLZ=Fluconazol. ITRA= Itraconazol. Resultados em µg/mL

Os compostos VFC17 e VFC18 apresentaram destaque, ao inibir o crescimento de *C. glabrata* em um CIM de 16 µg/mL e 32 µg/mL, respectivamente. VFC18 também apresentou atividade em *C. tropicalis* e *C. Krusei* a a 256 µg/mL, além de inibir *C. parapsilosis* e *C.*

dubliniensis a 512 µg/mL e 256 µg/mL, respectivamente. O VFC01 demonstrou boa eficácia contra *C. glabrata* a 64 µg/mL, *C. albicans* a 512 µg/mL, *C. tropicalis* a 256 µg/ML e *C. dubliniensis* a 256 µg/mL. VFC09 apresentou um CIM de 128 µg/L para *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. dubliniensis*, e 256 µg/mL para *C. albicans*. VFC04 apresentou melhor atividade em *C. parapsilosis* na concentração de 256 µg/mL, *C. krusei* a 128 µg/mL, e *C. dubliniensis* a 256 µg/mL.

CONCLUSÕES:

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que a série apresentou ampla atividade biológica, com destaque para os compostos VFC17 e VFC18, que demonstraram significativo potencial contra *C. glabrata*.

AGRADECIMENTOS:

CNPq, FAPERJ, CAPES.

REFERÊNCIAS:

- Lu, H., Hong, T., Jiang, Y., Whiteway, M. & Zhang, S. Candidiasis: From cutaneous to systemic, new perspectives of potential targets and therapeutic strategies. *Adv Drug Deliv Rev* **199**, 114960 (2023).
- Deberaldini, M. G. & Santos, J. L. Infecções Fúngicas Invasivas: Aspectos Gerais e Tratamento: Invasive Fungal Infections: An Overview and Treatment. *ULAKES JOURNAL OF MEDICINE* **1**, 209–221 (2021).
- Denning, D. W. Global incidence and mortality of severe fungal disease. *Lancet Infect Dis* **24**, e428–e438 (2024).
- Futuro, D. O. *et al.* The Antifungal Activity of Naphthoquinones: An Integrative

Review. *An. Acad. Bras. Ciênc.* **90**, 1187–1214 (2018).

5. Doering, M. *et al.* Synthesis and Selective Anticancer Activity of Organochalcogen Based Redox Catalysts. *J. Med. Chem.* **53**, 6954–6963 (2010).

6. Parkes, A. L. & Yule, I. A. Hybrid antibiotics - clinical progress and novel designs. *Expert Opin Drug Discov* **11**, 665–680 (2016).





Ciências Biológicas

CARACTERIZAÇÃO E PADRONIZAÇÃO DE MODELO DE CULTIVO TRIDIMENSIONAL DA CÉLULA DE OSTEOSARCOMA HUMANO PARA AVALIAÇÃO DE NOVOS QUIMIOTERÁPICOS.

Julya Vittoria A. dos Santos, Bruna Rodrigues de Oliveira, Joice Corrêa da Silva, Ana Carolina Batista Brochado, Gutemberg G Alves

Departamento de Biologia Celular e Molecular, IB

INTRODUÇÃO:

O câncer, uma doença caracterizada pelo crescimento descontrolado de células anormais, continua sendo uma das principais causas de morte em todo o mundo. Dentre as várias formas de câncer, o osteossarcoma destaca-se como uma neoplasia rara, mas altamente agressiva, principalmente em adolescentes e jovens adultos. Devido à sua alta taxa de mortalidade e resistência ao tratamento, há uma necessidade premente de desenvolver novas estratégias terapêuticas que possam melhorar o prognóstico desses pacientes. Nesse contexto, modelos in vitro desempenham um papel crucial na pesquisa de novos quimioterápicos. O cultivo bidimensional (2D) tem sido amplamente utilizado, mas apresenta limitações significativas na reprodução do microambiente tumoral. Em contrapartida, modelos tridimensionais (3D) têm se mostrado promissores, proporcionando uma melhor simulação das condições in vivo, o que pode levar a uma maior eficácia na fase clínica de novos tratamentos. Este estudo teve como objetivo padronizar e caracterizar um modelo 3D de células de osteossarcoma humano U-2OS,

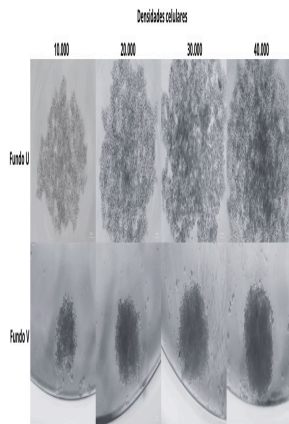
utilizando uma técnica de sobreposição líquida adaptada.

MÉTODOS:

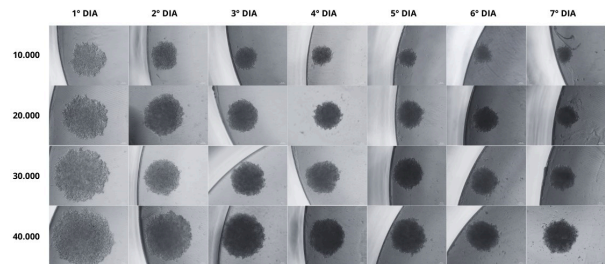
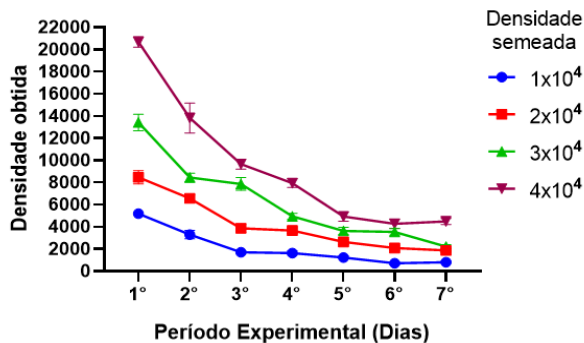
A linhagem celular U-2OS, obtida da coleção da Unidade de Pesquisa Clínica do Hospital Universitário Antônio Pedro-UFF, foi cultivada em meio DMEM suplementado com 10% de Soro Fetal Bovino (SFB). As células foram semeadas em microplacas de 96 poços com fundo "V" revestidas com uma fina camada de ágar, para inibir a aderência celular e promover a formação de esferóides. Diferentes densidades celulares (1×10^4 , 2×10^4 , 3×10^4 , e 4×10^4 células/poço) foram testadas para determinar a densidade ideal para a formação de esferóides estáveis e uniformes. Após 24 horas de agitação orbital, as placas foram incubadas sem agitação por 7 dias, com trocas de meio no 5º dia. Os esferóides foram então caracterizados quanto ao diâmetro, aspecto, densidade e viabilidade celular, além de análises estruturais por microscopia eletrônica de varredura (MEV).

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

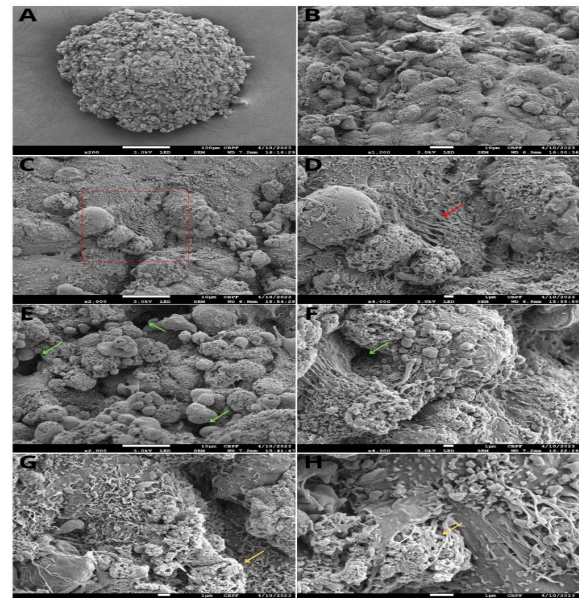
Os resultados indicaram que a técnica de sobreposição líquida em placas de fundo "V" foi eficaz na produção de esferóides de U-2OS, com a densidade de 4×10^4 células/poço mostrando-se a mais adequada para a formação de agregados celulares compactos e estáveis.



Durante o período de 7 dias, observou-se uma compactação dos esferóides, com uma redução significativa no diâmetro, especialmente nos primeiros dias, estabilizando-se posteriormente. A análise de viabilidade celular revelou uma alta taxa de células viáveis (>90%) ao longo do experimento, indicando que a técnica utilizada preserva a integridade celular.



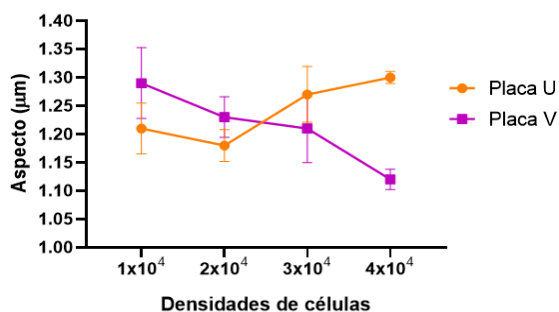
As análises por MEV confirmaram a integridade estrutural dos esferóides, mostrando interações celulares robustas, presença de microvilosidades, e formação de depósitos de cálcio na superfície celular, sugerindo uma mineralização similar ao tecido ósseo.



Esses achados são promissores, uma vez que modelos 3D mais representativos podem melhorar a previsibilidade dos testes toxicológicos e reduzir a necessidade de experimentação animal.

A comparação entre os esferóides produzidos em placas de fundo "U" e "V" demonstrou que o fundo "V" facilita a formação de esferóides com melhor regularidade e maior estabilidade. As

células semeadas em placas de fundo "U" apresentaram maior variabilidade no tamanho e forma dos esferóides, dificultando a manipulação e a reprodutibilidade dos resultados.



Esses dados corroboram a necessidade de padronização de técnicas para o cultivo 3D de células U-2OS, visando melhorar a aplicação desse modelo em estudos pré-clínicos de novos quimioterápicos.

CONCLUSÕES:

A padronização de um modelo 3D utilizando a técnica de sobreposição líquida em placas de fundo "V" para células U-2OS se mostrou eficaz e reprodutível, oferecendo uma alternativa viável ao cultivo 2D tradicional. Os esferóides obtidos são adequados para testes toxicológicos, com potencial para aumentar a precisão dos estudos pré-clínicos e acelerar o desenvolvimento de novos tratamentos para o osteossarcoma. Este modelo 3D pode servir como uma plataforma para futuras pesquisas, contribuindo para a redução do uso de animais em experimentos e para a implementação de práticas mais éticas e sustentáveis na pesquisa biomédica.

AGRADECIMENTOS:

A equipe agradece o apoio financeiro do CNPq, FAPERJ, e CAPES.





Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas

TÍTULO DO PROJETO: AVALIAÇÃO DOS EFEITOS VASCULARES DA INOSINA NO DESENVOLVIMENTO DA ATEROSCLEROSE

Autores: Anne Tayna Stein; Gabriel Ferreira Lima; Fernanda Carla Ferreira de Brito

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

INTRODUÇÃO:

A aterosclerose representa um dos maiores problemas de saúde, sendo uma das causas mais significativas de mortalidade pelo mundo. A aterosclerose, é uma doença multifatorial, crônica, provavelmente iniciada por uma disfunção endotelial e também associada à ativação do sistema imunológico. Diversos estudos têm demonstrado que os receptores NMDA podem desempenhar um papel significativo no desenvolvimento da doença. Trabalhos anteriores do nosso grupo de pesquisa demonstraram um importante papel da inosina no controle do processo de desenvolvimento da aterosclerose. Nesse contexto, este trabalho tem como objetivo avaliar os efeitos da inosina no desenvolvimento e progressão da aterosclerose, empregando um modelo murino de hipercolesterolemia.

Para este fim foram utilizados ratos Wistar machos (250-300g). Os animais foram divididos randomicamente em 4 grupos experimentais: Grupo controle (C), grupo tratado com inosina (C+I), ambos alimentados com ração comercial padrão por 45 dias; grupo hipercolesterolemia (HC), grupo hipercolesterolemia tratado com inosina (HC+I), ambos alimentados com dieta hipercolesterolêmica por 45 dias. No 31º dia de

experimento, foi administrado o veículo (salina: 5µL/g/dia) por gavagem nos grupos C e HC. A inosina foi administrada na dose 10mg/Kg/dia nos grupos C+I e HC+I. Os animais foram eutanasiados no 46º para a coleta de soro e tecidos para análises bioquímicas e moleculares posteriores. Durante todo o período o consumo alimentar e o peso corporal foram monitorados.

Foi realizada a dosagem do perfil lipídico sérico e aortas foram analisadas histologicamente. Para o ensaio de Western Blot em homogenatos de aorta foram utilizados anticorpos anti-SOD, GPx, catalase, Nrf2, NMDAR1, BAX, Bcl-2, caspase-3. Todos os resultados foram analisados estatisticamente pela análise da variância (ANOVA) one way seguido de pós teste de comparação múltipla de bonferroni, para um nível de significância de * $p < 0,05$. Os resultados foram expressos em média \pm erro padrão da média utilizando o programa GraphPad Prism 8.0.2 (GraphPad Prism Software Inc., San Diego, CA). CEUA UFF 1479140219.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Constatamos que a dieta hipercolesterolêmica resultou em um aumento dos níveis séricos de colesterol total (HC: 1193 \pm 57,34 mg/dL x C: 97,51 \pm 3,58 mg/dL), triglicerídeos (HC: 234,30 \pm 9,72 mg/dL x C: 139,0 \pm 9,91 mg/dL), VLDL (HC:

46,85 ± 1,94 mg/dL x C: 27,79 ± 1,98 mg/dL), LDL (HC: 1118 ± 58,92 mg/dL x C: 31,06 ± 2,56 mg/dL), e reduziu os níveis plasmáticos de HDL (HC: 36,82 ± 1,05 mg/dL x C: 41,93 ± 1,25 mg/dL) quando comparado ao grupo controle. O tratamento com inosina foi efetivo em reduzir os níveis de colesterol (1008 ± 52,01 mg/dL), triglicerídeos (206,5 ± 4,24 mg/dL), VLDL (41,31 ± 0,84 mg/dL), LDL (917,20 ± 56,45 mg/dL).

Sabendo que efeitos pró ateroscleróticos podem estar relacionados a ação do Nrf2, sua expressão foi avaliada e constatamos que a dieta foi capaz de induzir um aumento da expressão do Nrf2 (370%) quando comparado ao controle e o tratamento farmacológico reverteu esse efeito (49,80%). A dieta também promoveu um aumento das enzimas antioxidantes catalase (373,16%), SOD (72,20%) e GPx (77,08%) quando comparados ao grupo controle. Em contrapartida, o tratamento com inosina induziu uma redução da expressão da catalase (21,97%), SOD (42,26%) e GPx (27,89%) quando comparado com o grupo HC. Proteínas envolvidas no processo apoptótico tiveram sua expressão aumentada no grupo HC em relação ao controle: BAX (97,57%), Bcl-2 (162,71%) e Caspase-3 (56,19%). O tratamento foi capaz de inibir a ativação dessa via através da diminuição da expressão de BAX (30,50%) e caspase-3 (32,68%). Tendo em vista a relação da atividade do receptor NMDA com a manutenção da função vascular, estresse oxidativo e apoptose, avaliamos a sua expressão, bem como da eNOS nessas condições. Observamos que a dieta hipercolesterolêmica foi capaz de reduzir a expressão de NMDAR1 (57,25%), bem como da atividade da eNOS (49,62%) em relação ao

grupo controle e o tratamento com inosina reverteu esses efeitos, tanto para a expressão de NMDAR1 (274,13%), quanto para a atividade de eNOS (108,56%).

Verificamos ainda por meio de análise histológica da aorta que a dieta hipercolesterolêmica induziu um aumento na espessura da parede e no diâmetro do lúmen em relação ao grupo controle. O tratamento farmacológico com inosina foi capaz de melhorar essa condição, reduzindo tanto o espessamento da parede quanto o diâmetro do lúmen em relação ao grupo que recebeu a dieta.

CONCLUSÕES:

Verificamos em nosso estudo que o tratamento com inosina na dose 10mg/kg, por 15 dias, foi capaz de promover marcantes efeitos hipolipemiantes, sobre a disfunção endotelial, modulação da resposta antioxidante por meio da via Nrf2/Keap1/SOD-catalase-GPx e da morte celular induzida por apoptose através da redução da expressão de BAX e caspase-3. Nossos resultados indicam a inosina como um potencial candidato para o tratamento de doenças cardiovasculares, como a aterosclerose.

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





Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas

**TÍTULO DO PROJETO: EFEITOS DA EXPOSIÇÃO SUBAGUDA
AO CLORETO DE TRIBUTILESTANHO SOBRE O ESTRESSE
OXIDATIVO E A INFLAMAÇÃO NO TECIDO CARDÍACO DE RATOS WISTAR
MACHOS**

Autores: Ana Rebecca da S. de Souza; 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) é um desregulador endócrino, anteriormente amplamente utilizado em fungicidas agrícolas, biocidas e em tintas anti-incrustantes utilizadas em cascos de navios, causando poluição ambiental. O TBT possui como característica a tendência de se acumular em organismos, seja por meio da bioconcentração através da absorção dos compostos presentes na água e nos sedimentos ou por biomagnificação através de acúmulo do composto ao longo da cadeia alimentar. Em 2003 seu uso foi banido pela Organização Marítima Internacional (OMI), porém, por ser considerado um composto orgânico persistente, seus resíduos no ambiente marinho ainda se mostram elevados, excedendo 7000 ng/g. De acordo com a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos, a ingestão diária máxima tolerável é de 250 ng/kg/dia de massa corporal (USEPA, 2000; Oehlmann & Schulte-Oehlmann, 2003). Na literatura, são descritos efeitos negativos sobre o sistema reprodutor, endócrino e imunológico. Entretanto, ainda persistem lacunas a serem preenchidas sobre seus impactos no sistema cardiovascular, principalmente no coração. Portanto, o objetivo

deste trabalho é avaliar os efeitos do composto Tributilestanho no coração, através da administração subaguda do TBT, em ratos Wistar machos, investigando os mecanismos moleculares envolvidos em suas ações. Para avaliar os efeitos do TBT, os animais foram divididos randomicamente em dois grupos: controle (C), tratado com veículo, etanol 0,4% e grupo experimental (TBT), onde os animais receberam TBT na dose de 1000 ng/kg/dia. Ambos os grupos receberam o tratamento uma vez ao dia, pela manhã, por gavagem durante 30 dias. Durante todo o experimento, os animais foram continuamente monitorados e pesados a cada três dias para registrar o peso corporal. As rações fornecidas aos animais foram medidas no início e ao final de cada ciclo de três dias de observação. No 31º dia, os animais foram submetidos à eutanásia para a coleta de amostras e a realização de ensaios funcionais. A anestesia foi realizada utilizando quetamina (100 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg). Após a eutanásia, realizou-se a pesagem dos tecidos dos animais. Os homogenatos do tecido cardíaco foram preparados a partir do ventrículo esquerdo dos animais de cada grupo. A mensuração dos metabólitos reativos ao ácido tiobarbitúrico foi realizada pelo método de

Ohkawa *et al.* (1979) modificado. Para o ensaio de Western Blotting, foram utilizados anticorpos primários anti-NF-kB, anti-SOD, anti-GPx, anti-Keap1, anti-Nrf2, anti-Caspase 3, anti-Bax. (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 8.0 (GraphPad Prism Software Inc., San Diego, CA). CEUA-UFF 1781110419.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

O tratamento subagudo com TBT, em ratos Wistar machos, promoveu uma diminuição no peso relativo do coração ($0,0027 \pm 3,53 \times 10^{-5}$ mg) quando comparado ao grupo controle ($0,0029 \pm 4,59 \times 10^{-5}$ mg). Em relação ao estresse oxidativo, as análises de TBARS mostraram um aumento nos níveis de produção de MDA pela exposição ao TBT ($0,5837 \pm 0,12$ nmol/mg de proteína⁻¹) quando comparado ao grupo controle ($0,1483 \pm 0,02$ nmol/mg de

proteína⁻¹) em homogenato de tecido cardíaco. Na análise de *Western Blotting*, também foi observado que a exposição ao TBT, em homogenato de tecido cardíaco, aumentou a expressão de proteínas como catalase ($1,687 \pm 0,19$) e do fator de transcrição Nrf2 ($1,611 \pm 0,25$) quando comparado ao grupo controle ($0,660 \pm 0,29$; $0,287 \pm 0,06$), respectivamente. Por outro lado, a expressão da proteína Keap-1 no grupo TBT foi reduzida ($0,778 \pm 0,11$) quando comparada ao grupo controle ($1,235 \pm 0,12$). Esses dados sugerem que a exposição ao TBT promoveu um aumento do estresse oxidativo e desbalanço dos fatores antioxidantes. Semelhantemente, a exposição ao TBT também foi capaz de aumentar a expressão de proteínas relacionadas à atividade inflamatória, como o NFkB (TBT: $1,949 \pm 1,10$; C: $1,494 \pm 0,11$) e iNOS (TBT: $2,587 \pm 0,33$; C: $1,472 \pm 0,08$).

CONCLUSÕES:

Este estudo revelou efeitos pró-oxidantes e inflamatórios associados à exposição subaguda ao TBT. Nossos achados sugerem que o TBT provoca cardiotoxicidade, o que pode estar vinculado ao surgimento de doenças cardiovasculares.

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





Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas

**TÍTULO DO PROJETO: O PAPEL DO POLIMORFISMOS -819 C>T (RS1800871)
NO GENE *IL10* NA GRAVIDADE DA SILICOSE E NA SUSCETIBILIDADE À
SILICOTUBERCULOSE EM TRABALHADORES EXPOSTOS À SÍLICA NO ESTADO DO RIO
DE JANEIRO.**

Autores: Luiza Gombarovits Trindade, Natalie Ashley Simões Brandão, Lucas de Carvalho Costa, Kaio Cezar Rodrigues Salum, Ângela Ferreira Nani, Marcos Cesar Santos Castro, Fabiana Barzotto Kohlrausch

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

INTRODUÇÃO:

A silicose é uma doença pulmonar causada pela inalação de sílica cristalina, ou dióxido de silício (SiO_2). A silicose se estabelece a partir da inalação e deposição dos cristais de sílica nos bronquíolos e alvéolos pulmonares, ocorrendo reação inflamatória que leva à fibrose do tecido, comprometendo sua função. Apesar dos esforços para conter a doença, a silicose permanece um problema de saúde pública global, considerada a pneumoconiose mais prevalente no mundo. A doença está relacionada a várias atividades de risco, como mineração, construção, corte de pedras, lapidação, fabricação de vidro e jateamento de areia. Apesar de ser possivelmente a doença ocupacional mais antiga do mundo, a silicose se tornou mais frequente e de progressão mais acelerada após o século XIX graças ao desenvolvimento industrial.

Os achados radiográficos classificam a silicose de acordo com a sua gravidade, em simples e complicada. A silicose simples tem como

característica o desenvolvimento de pequenos nódulos fibróticos que não ultrapassam os 10mm de diâmetro, bem definidos, concentrados nas regiões superiores dos lóbulos pulmonares. Os pacientes portadores da silicose simples são frequentemente assintomáticos, podendo apresentar tosse seca e falta de ar após esforço. A silicose complicada, também chamada de fibrose maciça pulmonar, apresenta nódulos silicóticos que se fusionam, ultrapassando os 10mm de diâmetro. Os pacientes também apresentam enfisema paracicatricial e distorção de traqueia, provocando diminuição da função pulmonar. Os sintomas dessa forma de silicose são dispneia, hipoxemia e cor pulmonale, uma forma de insuficiência cardíaca.

Pacientes com silicose apresentam um risco 40 vezes maior de desenvolver silicotuberculose, e indivíduos expostos à sílica saudáveis um risco 3,7 vezes maior, quando comparados a indivíduos não expostos saudáveis.

A manifestação da silicose é influenciada pela interação de diversos fatores genéticos e ambientais. A regulação da resposta inflamatória e de processos proliferativos após a inalação de cristais de sílica levam a produção de interleucinas (IL), que podem influenciar na fibrose do tecido pulmonar e, portanto, na patogênese da silicose. A Interleucina-10 (IL-10) é uma citocina anti-inflamatória, produzida por diversas células do sistema imunológico, como monócitos e macrófagos. Seu efeito é inibitório sobre a síntese de citocinas pró-inflamatórias pelos linfócitos T e macrófagos. O gene *IL10* está localizado em 1q32.1 e possui um polimorfismo em sua região promotora, -819C>T (rs1800871), que parece ter papel importante em diversos processos inflamatórios, uma vez que está associado ao nível de transcrição desse gene. O presente estudo tem como objetivo avaliar a associação entre o polimorfismo -819C>T (rs1800871) e a gravidade clínica da silicose (simples e complicada) e a suscetibilidade à silicotuberculose, em trabalhadores expostos à sílica no Estado do Rio de Janeiro.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Um total de 139 trabalhadores com história de exposição à sílica no estado do Rio de Janeiro, classificados em silicose simples (56 pacientes) e silicose complicada (83 pacientes) foi avaliado nesse estudo. Do total, 68 pacientes tiveram tuberculose. Os dados clínico-demográficos avaliados foram tempo de exposição à sílica (anos), carga horária semanal de trabalho, tempo de afastamento do trabalho (anos) e carga tabágica (maços/ano). As amostras de

DNA foram obtidas a partir de células bucais dos pacientes e submetidas à amplificação da região contendo o polimorfismo -819C>T por Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) em tempo real, através da utilização de ensaio Taqman® específico (C__1747362_10; Thermo Fisher Scientific, Brasil). A amostra total mostrou as seguintes médias (\pm DP) para as características clínico-demográficas: tempo de exposição à sílica 21,29 (\pm 8,94) anos, carga horária semanal de trabalho 47,60 (\pm 9,52) horas, tempo de afastamento do trabalho 13,81 (\pm 9,36) anos, e carga tabágica 34,93 (\pm 30,67) maços/ano. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as duas formas clínicas da silicose (simples e complicada) e as variáveis clínico-demográficas citadas acima ($p=0,116$; $p=0,131$; $p=0,774$; e $p=0,694$, respectivamente). Para os grupos com e sem tuberculose, também não foram observadas diferenças entre os dois grupos ($p=0,891$; $p=0,511$; $p=0,511$; e $p=0,990$, respectivamente).

Os genótipos do polimorfismo -819C>T estão distribuídos de acordo com o equilíbrio de Hardy-Weinberg. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas na distribuição dos genótipos ($p=0,483$) e alelos ($p=0,304$) do polimorfismo entre os grupos de silicose simples e complicada. Os modelos dominante ($p=0,461$), recessivo ($p=0,263$) ou overdominante ($p=0,945$) para o alelo variante também não mostraram associações significativas. Entretanto, quando consideramos a prevalência de silicotuberculose em nossa amostra, foram encontradas diferenças estatisticamente significativas para a

distribuição dos genótipos e alelos. O alelo T foi associado ao risco para silicotuberculose ($p=0,03$; OR=1,68, IC 95% 1,05-2,71). No modelo dominante para o alelo T (CT+TT *versus* CC), a presença de pelo menos um alelo T foi associada ao risco para silicotuberculose ($p=0,045$; OR=1,97, IC 95% 1,01-3,83). Os modelos recessivo ($p=0,103$) e overdominante ($p=0,324$) não mostraram associações significativas.

CONCLUSÕES:

A partir de nossos dados, podemos concluir que o polimorfismo -819C>T em *IL10* não está associado à gravidade da silicose, mas tem um papel importante na suscetibilidade à silicotuberculose. Já as variáveis clínico-demográfica avaliadas não mostraram influência nos dois fenótipos. Mais estudos, utilizando amostras maiores, são necessários para confirmação desses resultados.

AGRADECIMENTOS:

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





Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas

TÍTULO DO PROJETO: ANÁLISE DE ASSOCIAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO -174G>C (RS1800796) NO GENE DA INTERLEUCINA 6 (IL6) E A GRAVIDADE DA SILICOSE E SUSCETIBILIDADE À SILICOTUBERCULOSE EM TRABALHADORES EXPOSTOS À SÍLICA NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO.

Autores: Natalie Ashley Simões Brandão, Luiza Gombarovits Trindade, Lucas de Carvalho Costa, Kaio Cezar Rodrigues Salum, Ângela Ferreira Nani, Marcos Cesar Santos Castro, Fabiana Barzotto Kohlrausch

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

INTRODUÇÃO:

A silicose é uma doença pulmonar causada pela inalação e deposição de cristais de sílica (SiO_2) nos alvéolos, gerando resposta inflamatória e fibrose. Classificada como ocupacional, ela está relacionada com diversas atividades capazes de liberar pó de sílica, tais como a indústria extrativa mineral (mineração), o beneficiamento de minerais (moagem, lapidação de pedras semipreciosas e quartzo, britagem e moagem), a indústria de transformação (vidro, fundição, cerâmicas), a indústria dos cosméticos, o jateamento de tecidos e a manipulação de pedras artificiais. Há ainda atividades mistas, como realizadas por protéticos, cavadores de poços e jateadores de areia.

O diagnóstico se dá a partir do histórico ocupacional do paciente, podendo ser classificada de acordo com as manifestações radiológicas da doença em silicose simples ou complicada. A forma simples é caracterizada pela presença de nódulos de 1-10mm de forma difusa, principalmente nas regiões posteriores

dos lobos superiores. Já a forma complicada é caracterizada pela presença de grandes opacidades oriundas da fusão dos nódulos (tamanho superior a 10mm), que com o passar do tempo o conglomerado pode aumentar de tamanho, sofrendo confluência e destruindo a arquitetura pulmonar em ambos os lobos.

A gravidade na manifestação do fenótipo é influenciada pela interação de diversos fatores ambientais e genéticos. Além disso, indivíduos expostos à sílica possuem um risco aumentado de desenvolvimento de silicotuberculose. Pacientes silicóticos apresentam um risco 40 vezes maior, e indivíduos expostos à sílica sem silicose um risco 3,7 vezes maior, quando comparados à indivíduos não expostos saudáveis.

As interleucinas (IL) apresentam diversas funções na regulação da resposta inflamatória e em processos proliferativos após a inalação de cristais de sílica e podem influenciar na fibrose do tecido pulmonar e, portanto, na patogênese da silicose. IL-6 é uma citocina pró-inflamatória

multifuncional com potencial de iniciar uma resposta fibrogênica após exposição a poeiras, através do estímulo da síntese de fibroblastos. Vários estudos relataram a associação entre IL6 e doenças inflamatórias crônicas, assim como pneumoconioses. IL-6 também pode ter um efeito anti-inflamatório, assumindo um papel protetor ao inibir a produção de citocinas pró-inflamatórias. O gene *IL6* encontra-se em 7p15.3, e apresenta um polimorfismo (rs1800796 ou -174G>C) bastante estudado em diversas doenças, incluindo pneumoconioses. O objetivo do presente estudo é de avaliar a associação entre o polimorfismo -174G>C e a gravidade clínica da silicose (simples e complicada) ou com a suscetibilidade à silicotuberculose em trabalhadores expostos à sílica no Estado do Rio de Janeiro.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

A amostra foi composta por 139 trabalhadores com história de exposição à sílica no estado do Rio de Janeiro. Destes, 56 pacientes foram classificados em silicose simples e 83 pacientes em silicose complicada. Do total, 68 tiveram tuberculose. Tempo de exposição à sílica (anos), carga horária semanal de trabalho, tempo de afastamento do trabalho (anos) e carga tabágica (maços/ano) foram os dados clínico-demográficos avaliados. As amostras de DNA foram obtidas a partir de células da cavidade oral dos pacientes e submetidas à amplificação dos fragmentos contendo o polimorfismo -174G>C por Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) em tempo real, através da utilização de ensaio Taqman® específico (C__1839697_20; Thermo Fisher Scientific,

Brasil). Nossa amostra total mostrou as seguintes médias (\pm DP) para as características clínico-demográficas: tempo de exposição à sílica 21,29 (\pm 8,94) anos, carga horária semanal de trabalho 47,60 (\pm 9,52) horas, tempo de afastamento do trabalho 13,81 (\pm 9,36) anos, e carga tabágica 34,93 (\pm 30,67) maços/ano. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as duas formas clínicas da silicose (simples e complicada), com $p=0,116$ para tempo de exposição à sílica; $p=0,131$ para tempo de afastamento do trabalho; $p=0,774$ para carga horária semanal de trabalho; e $p=0,694$ para carga tabágica, indicando que estas variáveis não tiveram influência na gravidade clínica da silicose em nossa amostra. Para os grupos com e sem tuberculose, também não foram observadas diferenças entre os dois grupos quanto ao tempo de exposição ($p=0,891$), tempo de afastamento do trabalho ($p=0,511$), carga horária semanal de trabalho ($p=0,511$) e carga tabágica ($p=0,990$).

A distribuição dos genótipos do polimorfismo -174G>C se encontra em equilíbrio de Hardy-Weinberg. Não foram encontradas diferenças significativas na distribuição dos alelos ($p=0,695$), assim como na distribuição dos genótipos ($p=0,559$) entre os grupos de silicose simples e complicada e o polimorfismo em *IL6*. Também não foram observadas associações significativas quando consideramos os modelos dominante ($p=0,946$), recessivo ($p=0,482$) ou overdominante ($p=0,523$) para o alelo variante. Quando consideramos a prevalência de silicotuberculose em nossa amostra, também não foram encontradas diferenças significativas para os genótipos ($p=$

0,804) e alelos ($p= 0,947$), ou para os modelos dominante ($p=0,743$), recessivo ($p=0,749$) ou overdominante ($p=0,546$).

CONCLUSÕES:

A partir de nossos dados, podemos concluir que o polimorfismo -174G>C (rs1800796) parece não ter efeito importante na gravidade da silicose, nem na suscetibilidade à silicotuberculose. Nenhuma variável clínico-demográfica analisada mostrou influência nos dois desfechos. Mais estudos são necessários para confirmação desses resultados.

AGRADECIMENTOS:

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





Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas

TÍTULO DO PROJETO: AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE BIORREMEDIAÇÃO DAS ALGAS *ULVA LACTUCA* E *KAPPAPHYCUS ALVAREZII* EM ÁGUAS PROVENIENTES DA BAÍA DE GUANABARA

Autores: Lucas Soneira Barros e Elisabete Barbarino

Departamento/Unidade/Laboratório: Departamento de Biologia Marinha/Instituto de Biologia/Laboratório de Cultivo de Organismos Aquáticos, sala 418

INTRODUÇÃO:

A água desempenha papel fundamental na manutenção da vida. Antes vista como um bem natural e infinito, vem se tornando cada vez mais escassa e os ambientes associados a ela continuam sendo extremamente afetados pela sua qualidade. Ambientes estuarinos são ambientes de transição entre a água doce e salgada, sendo extremamente dinâmicos, sofrendo alta variação em suas propriedades físicas, químicas e biológicas, além de serem essenciais no transporte e transformação de matéria orgânica terrestre, inclusive de atividade antrópica (Cantinho, 2017).

Os principais nutrientes encontrados são nitrogênio e fósforo, sendo estes indicativos da qualidade da água nestes ecossistemas. Estes compostos inorgânicos são introduzidos no ambiente por processos naturais, como intemperismo e erosão do solo, precipitação, decomposição de matéria orgânica e processos antrópicos (Cantinho, 2017).

A Baía de Guanabara, um estuário com aporte de 50 rios e canais, abrange os 4.081 km² da Região Hidrográfica da Guanabara, sendo englobada pela Região Metropolitana do Rio de Janeiro, e, portanto, tendo contato com diversos municípios. É considerado um dos ecossistemas mais degradados e ameaçados por ações antrópicas. O grande aporte de resíduos de origem industrial, somado ao despejo de esgoto doméstico e desmatamento do seu entorno, tornaram a região uma das áreas mais degradadas da costa brasileira (Filho et al., 2020).

Segundo Pedrini (2010) as macroalgas possuem diversas aplicações industriais, dentre elas estão a indústria farmacêutica, alimentícia, têxtil, eletrônica, cosmética, de construção, de adesivos, bebidas, tintas, borracha, papéis impermeáveis, e na medicina, por exemplo. As macroalgas são cosmopolitas, sendo encontradas em diferentes partes do globo e suas aplicações variam de acordo com a utilização da população local, com relação às regiões estuarinas, o uso das macroalgas apresenta papel essencial na biorremediação.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial biorremediador de duas espécies de macroalgas, cultivadas em laboratório em águas provenientes da Baía de Guanabara.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Como esperado, os Experimentos Enriquecidos tiveram crescimento bastante significativo em relação ao Controle, independente da alga a ser estudada. Nos experimentos com *U. lactuca* o Controle teve um crescimento de 223,6% ao final do experimento, enquanto que o Experimento Enriquecido teve incremento de 412,9% da biomassa final ao término do período de cultivo.

Kappaphycus alvarezii teve crescimento reduzido, tendo o Experimento Controle alcançado aumento da biomassa final de 15,4%. Já no Experimento Enriquecido, mostrou crescimento 33,3% da biomassa final ao término do período de cultivo. A salinidade se manteve constante em todos os cultivos (30%).

A partir das análises de nutrientes, foi possível observar a retirada completa de amônia pela macroalga *U. lactuca* já a partir do sexto dia de cultivo, com exceção do Experimento Enriquecido Sacrifício, em que foi observada concentrações pequenas do nutriente, provavelmente devido à exsudação da alga. Por outro lado, *K. alvarezii* realizou assimilação de amônia somente no Experimento Controle, tendo suas concentrações aumentadas no experimento enriquecido. Nas

análises de nitrito, é possível observar que *Ulva* teve sucesso no esgotamento completo das suas reservas, com exceção do Experimento Controle no Tempo 6, *K. alvarezii*, por outro lado, teve concentrações do nutriente extremamente reduzidas já a partir do início do experimento, tendo suas concentrações ligeiramente variadas ao longo do período de cultivo, tendo somente uma amostra retirado completamente o nutriente do meio. Por fim, fosfato nos experimentos com *U. lactuca* manteve suas concentrações ao longo do período de cultivo, enquanto que em *K. alvarezii* houve aumento exponencial no decorrer do experimento. Os Experimentos Enriquecidos de ambas as macroalgas tiveram altas concentrações de fosfato desde o início, isso se dá devido à presença de fosfato na composição do meio de cultura Von Stosch.

CONCLUSÕES:

As macroalgas *U. lactuca* e *K. alvarezii* apresentaram excelente potencial de biorremediação, com a retirada de nutrientes da água da Baía de Guanabara, com conversão para aumento de biovolume e peso.

As macroalgas *U. lactuca* e *K. alvarezii* foram capazes de retirar as formas nitrogenadas e fosfatada do meio em que cresceram, chegando a valores muito baixos ou zero.

U. lactuca apresentou maior eficácia na retirada de nutrientes da água quando comparada a *K. alvarezii*, apesar de altos

valores terem sido observados ao final dos experimentos.

As duas espécies apresentaram o mesmo comportamento com relação ao decréscimo de proteínas ao longo do tempo de cultivo. Para os pigmentos fotossintetizantes, não foi observado um padrão claro.

As duas espécies de macroalgas apresentaram incremento diferenciado no crescimento *U. lactuca* apresentou crescimento ao final dos experimentos de 223% e 412%, no controle e no experimento enriquecido, respectivamente. Ao passo que *K. alvarezii* apresentou um crescimento numericamente discreto, 15% e 33% no controle e no experimento com enriquecimento, respectivamente. No entanto, em porcentagem relativa entre os tratamentos, *K. alvarezii* apresentou 220% de crescimento, ao passo que *U. lactuca* apresentou 184%.

AGRADECIMENTOS:

Agradeço a PIBIC pela minha bolsa de estudos.

REFERÊNCIAS:

CANTINHO, K. M. C. R. Caracterização e avaliação da qualidade ambiental do estuário Ponta do Tubarão (RN) com base na água, sedimento e macroalgas marinhas. 93f. Tese de Doutorado - Universidade Federal do Rio Grande do

Norte, Centro de Biociências, Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Meio Ambiente, Natal, Brasil, 2017.

FILHO, J. T. S.; MELLO, S. C. R. P.; FARIA, A. S.; SOUZA, L. L.; MELO, C. Análise socioambiental da poluição por esgoto da Baía de Guanabara do Rio de Janeiro. Revista Valore, v.5, 14 p, 2021.

PEDRINI, A. G. Macroalgas: Uma introdução à taxonomia. 1º edição, Technical Books, v. 1, 128 p, 2010.





GRANDE ÁREA DO CONHECIMENTO: CIÊNCIAS BIOLÓGICAS, MORFOLOGIA

TÍTULO DO PROJETO: EFEITOS DO TREINAMENTO AERÓBIO E ENALAPRIL NA MORFOLOGIA E METABOLISMO DO TECIDO ADIPOSEO MARROM EM MODELO DE OBESIDADE

AUTORES: LUIZA DA FRANÇA LOSITO, GABRIELA RODRIGUES MEDEIROS, LYSS FÉLIX MEIRELLES, GABRIEL XIMENES, BEATRIZ ALEXANDRE-SANTOS, ANA LIVIA LADISLAU DE SOUZA VIEIRA, D'ANGELO MAGLIANO, NATHALIA SILVA CARLOS OLIVEIRA, ANTONIO DA NÓBREGA, ELIETE DALLA CORTE FRANTZ

DEPARTAMENTO DE MORFOLOGIA (MMO), LABORATÓRIO DE CIÊNCIAS DO EXERCÍCIO (LACE), NÚCLEO DE PESQUISA EM MORFOLOGIA E METABOLISMO (NUPEMM) E UNIDADE INTEGRADA DE PATOLOGIA ESPECIALIZADA (UNIFE)

INTRODUÇÃO:

A obesidade é uma epidemia de saúde pública (1), e sua fisiopatologia é complexa, o que exige abordagens multifacetadas para sua prevenção e tratamento (2). Recentemente, o tecido adiposo marrom (TAM) interescapular tem sido considerado um alvo potencial no tratamento da obesidade, devido à sua capacidade de gerar calor por meio da termogênese, embora a obesidade cause a disfunção do TAM (3). Esse fenômeno prejudica seu aspecto multilocular e, além dos danos à histoarquitetura, a obesidade também pode prejudicar sua fisiologia, especialmente na termogênese mediada pelo TAM (4). Estudos recentes investigam a modulação do sistema renina-angiotensina (SRA) como um dos mecanismos envolvidos no

whitening do TAM (3). No cenário da obesidade, ocorre uma superativação do eixo clássico do SRA [Enzima Conversora de Angiotensina (ECA)/Angiotensina (Ang) II/Receptor tipo 1 de angiotensina (AT1R)] em detrimento do eixo contrarregulatório [ECA2/Ang 1–7/Receptor Mas (MasR)] (4). Vários fatores podem modular o RAS, como abordagens farmacológicas e exercício físico. Especificamente, no TAM, a via contrarregulatória promove a ativação da termogênese e melhorias na homeostase lipídica, culminando em efeitos antiobesidade (5).

O objetivo do estudo foi comparar o efeito do treinamento aeróbio e do enalapril na modulação do SRA no TAM 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 aeróbio (HF-T) e grupo submetido às intervenções combinadas (HF-ET). Depois de 8 semanas de tratamento, foram avaliados: composição corporal, morfologia e esteologia do TAM, marcadores de termogênese e componentes do SRA. Os dados foram analisados por *one-way* ANOVA com pós-teste de Holm-Sidak. Aprovação do CEUA/UFF 2504060718.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

O grupo HF mostrou aumento na massa corporal (MC) e na massa do TAM interescapular em relação ao grupo SC. Todas as intervenções foram capazes de reverter esses parâmetros para níveis próximos aos do grupo SC. Os grupos treinados apresentaram níveis mais altos de irisina plasmática em relação aos grupos SC e HF. O grupo HF apresentou *whitening* do TAM. O grupo combinado, que recebeu enalapril e treinamento, foi o único a restaurar a morfologia do TAM.

Os animais obesos apresentaram danos na função termogênica do TAM, evidenciados pela diminuição da expressão de UCP-1, Ppar α e Ppar γ , e ativação proteica do eixo clássico do SRA.

As intervenções foram capazes de melhorar a capacidade termogênica, com aumento da expressão de UCP-1 e AMPK, e a vascularização do TAM, com aumento da expressão de Vegfa.

No entanto, apenas o tratamento com enalapril foi capaz de promover aumento de marcadores de manutenção do fenótipo marrom (Prdm16 e Cidea), e somente os grupos submetidos a treinamento aeróbio tiveram melhora da biogênese mitocondrial, com aumento da expressão de PGC1 α e Tfam. Por fim, apenas o grupo combinado promoveu aumento na expressão do receptor β 3-adrenérgico.

CONCLUSÕES:

A obesidade causou danos teciduais extensivos no TAM, e as intervenções isoladas atenuaram parcialmente os prejuízos morfológicos. Apenas as intervenções combinadas restauraram a histoarquitetura do TAM. Tanto o tratamento com enalapril quanto o treinamento aeróbio foram capazes de reduzir a expressão dos principais efetores da via clássica do SRA e deslocar o equilíbrio do sistema em favor da via contrarregulatória, mostrando efeitos metabólicos benéficos relacionados ao TAM, como indução da expressão de UCP1, ativação da função mitocondrial, aumento da vascularização e termogênese.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- 1) Perdomo CM, et.al. Contemporary medical, device, and surgical therapies for obesity in adults. Lancet 2023;
- 2) Chait A, den Hartigh LJ. Adipose Tissue Distribution, Inflammation and Its Metabolic Consequences, Including Diabetes and Cardiovascular Disease. Front Cardiovasc Med 2020;
- 3) Morimoto H, et al. Angiotensin 1-7 stimulates brown adipose tissue and reduces diet-induced obesity. Am J Physiol Endocrinol Metab 2018;
- 4) Rangel-Azevedo C, et.al. Progressive brown adipocyte dysfunction: Whitening and impaired nonshivering thermogenesis as long-term obesity complications. J Nutr Biochem 2022;
- 5) Kawabe Y, et al. ACE2 exerts anti-obesity effect via stimulating brown adipose tissue and induction of browning in white adipose tissue. Am J Physiol Endocrinol Metab 2019;



AGRADECIMENTOS

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



Ciências biológicas

EFEITOS DE INIBIDORES DE TRPA1 NA REATIVIDADE GLIAL E INFLAMAÇÃO EM MODELO DE GLAUCOMA

Ana Carolina de Luca Mattos, Camylla Nascimento, Rafael Brito, Ana Gabriela da Costa Alves e Karin C. Calaza

Laboratório de Neurobiologia da Retina - UFF

INTRODUÇÃO:

A visão é um sentido que tem grande importância em atividades básicas do dia a dia, como na detecção de perigos, no estabelecimento de interações interpessoais e nas atividades laborais. A retina traduz a informação luminosa e envia esta informação para os centros visuais encefálicos, levando a percepção da imagem.

Glaucoma é um grupo de doenças neurodegenerativas associado a perda progressiva e irreversível da visão que, consequentemente, impacta negativamente a qualidade de vida humana.¹ O principal fator de risco é a idade, mas o aumento da pressão intraocular (PIO) também tem grande relação com o desenvolvimento da doença e é o alvo das intervenções. Atualmente, há cerca de 70 milhões de pessoas afetadas pelo glaucoma no mundo.² Apesar das intervenções farmacológicas e/ou cirúrgicas poderem reduzir a PIO, e a progressão da doença, não há cura e o dano é irreversível. Assim, diagnosticar e intervir precocemente é a melhor forma de proteger a retina e prevenir a cegueira, mas não é suficiente para curar.³ Portanto, a busca de novas intervenções protetoras é de grande

interesse clínico. TRPA1 são canais polimodais, respondendo a estímulos mecânicos, térmicos e químicos, alguns desses importantes sinais ligados a patologia da doença.⁴

Nosso grupo identificou o TRPA1 na retina de galinha, camundongos e humanos e a ausência genética ou seu bloqueio farmacológico protegeu da morte induzida em modelos de isquemia aguda e isquemia e reperfusão (I/R), um modelo de glaucoma.⁵

As células glias monitoram continuamente o microambiente, respondendo a pequenas alterações deste, e mantendo a homeostasia dos tecidos. Quando há lesão, as células de Müller e os astrócitos respondem aos sinais e sofrem várias alterações, num processo chamado de “gliose reativa”. Durante esse processo, a glia pode exercer funções neuroprotetoras ou neurotóxicas, dependendo de diversos fatores.⁶ Essa resposta pode causar morte das células da retina por meio da ação de citocinas inflamatórias e gliotransmissores. O objetivo desse trabalho é analisar a reatividade astrogliar e a resposta inflamatória associadas à I/R e ao tratamento com inibidores de TRPA1.

O modelo de glaucoma utilizado no estudo foi o PIO por 1h e reperfusão por 7 dias

em camundongos C57Bl/6. A seguir, foi realizado tratamento, uma vez/dia por 7 dias, com colírio com antagonista de TRPA1 (A-967079, 10 mM), dipirona (10 mM) ou veículo (VEH, DMSO+Tween 4%). Imunofluorescência e Western Blot (WB) foram realizados para observação de biomarcadores associados à reatividade glial de Muller e de astrócitos e inflamação.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

A análise da imunofluorescência para GFAP, marcador de reatividade glial, mostrou maior reatividade no grupo I/R e maior número de feixes de Müller na periferia em relação ao centro, indicando reatividade glial. A análise por WB confirmou o aumento significativo de GFAP no grupo isquêmico, mas também no tratado com dipirona em relação ao controle (CTR dms: 100% ± 0%, n = 4; CL dms: 73,58% ± 16,25%, n = 4; IOP dms: 174,7% ± 47,59%, n = 4; CTR dip: 96,82% ± 24,23%, n = 4; CL dip: 92,55% ± 22,2%, n = 4; IOP dip: 252,4% ± 56,92%, n = 4). Aquaporina 4 (AQP4) foi analisada, por WB, como medida de reatividade de Müller. Foi observada uma tendência de aumento nos níveis de AQP4 no grupo PIO e uma redução parcial pela dipirona (CTR dms: 100% ± 0%, n = 4; CL dms: 157,1% ± 66,99%, n = 4; IOP dms: 251,4% ± 79,06%, n = 4; CTR dip: 155,4% ± 38,67%, n = 4; CL dip: 132,5% ± 29,84%, n = 4; IOP dip: 208,3% ± 63,89%, n = 4). Foi encontrado aumento significativo de Arginase-1, marcador anti-inflamatório, no grupo isquêmico tratado com dipirona (CTR dms: 100% ± 0%, n = 4; CL dms: 120,7% ± 18,16%, n = 4; IOP dms: 366% ± 162,9%, n = 4; CTR

dip: 249,1% ± 91,36%, n = 4; CL dip: 169,2% ± 116,6%, n = 4; IOP dip: 1495% ± 1152%, n = 4). Finalmente, VEGF, marcador clássico de inflamação, apresentou aumento significativo no grupo isquêmico, porém ainda maior no tratado com dipirona em comparação com o controle (CTR dms: 100% ± 0%, n = 2; CL dms: 64,46% ± 48,6%, n = 2; IOP dms: 121,7% ± 34,74%, n = 2; CTR dip: 139,2% ± 62,91%, n = 2; CL dip: 147% ± 75,46%, n = 2; IOP dip: 904,6% ± 842,7%, n = 2).

CONCLUSÕES:

A partir dos dados obtidos é possível observar uma importante gliose reativa nos grupos isquêmicos. Interessantemente, a dipirona parece aumentar a reatividade glial. Assim, a proteção observada pela dipirona pode estar relacionada aos estágios iniciais de gliose reativa das células de Müller e/ou astrócitos. Porém, os dados apresentados ainda são preliminares, e mais experimentos serão necessários para estabelecer de forma contundente a relação entre reatividade de células de Müller e de astrócitos e o efeito dos inibidores de TRPA1 no modelo de glaucoma.

AGRADECIMENTOS:

FAPERJ, CNPq, CAPES.

REFERÊNCIAS:

1. Jayaram et al., 2023. doi: 10.1016/S0140-6736(23)01289-8.
2. Tham et al., 2014. doi:10.1016/j.ophtha.2014.05.013
3. Weinreb et al., 2014. doi:10.1001/jama.2014.3192

4. Meents et al., 2019 doi: 10.1152/jn.00524.2018.
5. Souza Monteiro de Araújo D et al. 2020. doi: 10.1038/s41419-020-02863-6..
6. Shinozaki e Koizumi, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jphs.2020.12.009>.





Ciências Biológicas

AVALIAÇÃO DO EFEITO DA CAFEÍNA NO ESTRESSE OXIDATIVO, AUTOFAGIA E REATIVIDADE GLIAL NO MODELO DE RETINOPATIA DIABÉTICA.

Natália Escovino de Pinho Freitas, Glaucio de Carvalho da Silva, Josiane Pinheiro da Silva, Rafael Brito e Karin da Costa Calaza

Laboratório de Neurobiologia da Retina

INTRODUÇÃO:

A visão é um sentido crucial para a interação do ser humano com o mundo. Por meio dela, o indivíduo explora o ambiente onde está inserido, aprimorando suas relações interpessoais, além de estar relacionada com aspectos importantes para o comportamento em sociedade. Dessa forma, problemas envolvendo a visão podem comprometer a qualidade de vida e, por isso, é necessário estudar essas doenças e seus alvos moleculares a fim de entender como elas afetam tal sentido e como poderia ocorrer a prevenção.

A retinopatia diabética (RD) é a principal causa de cegueira em adultos em idade produtiva. É oriunda de um estado hiperglicêmico crônico causando prejuízo nos tecidos neurais e vasculares da retina, porém, mesmo que a RD seja caracterizada como uma vasculopatia, estudos comprovam que as alterações neuronais ocorrem antes das alterações vasculares tanto em modelo animal quanto no humano. Devido às condições

hiperglicêmicas, diversas vias são ativadas, como as vias do poliol e da hexosamina, produtos finais de glicação avançada (AGEs) e a ativação da proteína cinase C (PKC), elas aumentam a quantidade de espécies reativas de oxigênio (ROS) formando um feedback positivo que leva ao aumento do estresse oxidativo celular. Tais eventos ativam microglia e astroglias (células de Müller e astrócitos) da retina que produzem diversas interleucinas, como IL1-beta, TNF-alfa, IL6 e galactina-3, causando inflamação, neurodegeneração, um aumento da permeabilidade da barreira hematoretiniana e, depois de um tempo mais longo, neovascularização desordenada, características da RD.

A retina é modulada por diversas substâncias, entre elas está a adenosina. No sistema nervoso central, ela atua na proteção em situações de estresse, modulando a liberação de transmissores, a plasticidade e a atividade sináptica, entre outras funções. Um dos moduladores exógenos clássicos dos receptores de adenosina é a cafeína, um dos

psicoativos mais consumidos no mundo. Este está presente no café, no chá, no refrigerante, chocolate, e apresenta um importante potencial neuroprotetor modulando processos oxidativos, regulando os níveis de ROS no sistema nervoso. As pesquisas feitas no laboratório demonstram um aumento do estado de resistência das células contra a isquemia aguda pela exposição à cafeína em fases do desenvolvimento. Porém, seu possível efeito protetor na retina no modelo de RD não foi estudado. Como objetivo do estudo, investigaremos o papel protetor da cafeína nas alterações neurais precoces da retina em modelo de diabetes

METODOLOGIA

A pesquisa é feita com ratos do Biotério do Instituto de Biologia. Os protocolos foram aprovados pela CEUA da UFF. O modelo usado foi de diabetes do tipo I feito através da injeção intraperitoneal de estreptozotocina (STZ) em ratos P30. A avaliação da glicemia sanguínea foi 4 dias após a injeção. Os animais controles, não-diabéticos (ND), foram injetados com tampão citrato ao invés de STZ. Os animais diabéticos (DB) e ND foram tratados com cafeína na água de beber (0,3g/L) por 3 semanas, e o grupo controle ND recebe água. Ao final do tratamento, os animais são eutanasiados por sobredose de isoflurano e as retinas são dissecadas para *Western Blotting*.

RESULTADO:

Hemeoxigenase (HO-1) é uma importante enzima do sistema antioxidante, e é regulada por Nrf2 que mostramos anteriormente estar diminuída nas retinas de animais diabéticos. Assim, inicialmente investigamos os níveis de HO-1 nos diferentes grupos. As retinas de diabéticos apresentaram níveis 60% menores de HO-1 em comparação ao controle ND e a cafeína não modulou esse efeito (n=1). A cafeína gerou um aumento de 35% HO-1 nos animais ND em comparação ao controle (ND sem cafeína). Além disso, o Nrf2 apresenta vários pontos de controle, e um dos seus reguladores é a proteína REDD1 (n=1), sua expressão foi 20% maior no grupo diabético em comparação ao controle ND. A cafeína ocasionou um aumento de 70% Redd1 nos animais diabéticos em comparação aos animais ND. O estresse oxidativo, já mostrado pelo nosso grupo em 3 semanas de diabetes, é um modulador bem mostrado da autofagia. A avaliação de marcadores de autofagia, como a Beclin1, sugere uma expressão reduzida no grupo diabético não tratado em comparação ao grupo controle ND. Outro marcador importante de autofagia é o SQSTM1/p62 (n=1), sua expressão é 90% menor no grupo diabético em comparação ao controle ND. Não foi observado efeito da cafeína no grupo diabético e no grupo ND. Finalmente, avaliamos a reatividade glial utilizando o GFAP como marcador de gliose de células de Müller/astrócitos e Iba1 para microglia. Os dados preliminares sugerem um aumento de 50% do GFAP no grupo diabético em comparação ao seu grupo controle (n=1). A cafeína impede esse aumento, induzindo inclusive uma redução de 50% em comparação

ao controle ND, sugerindo uma ação de controle da reatividade de Müller/astrocítico na retina DB. De forma similar, os níveis de IBA1 (n=1) encontra-se 50% maior no grupo diabético e a cafeína parece modular essa gliose, induzindo inclusive uma diminuição em comparação ao controle.

CONCLUSÃO:

Os dados preliminares indicam um efeito modulatório protetor da cafeína na reatividade glial, estresse oxidativo e autofagia. Porém, é necessário aumentar o número de experimentos de forma a possibilitar uma análise segura e estatisticamente confiável dos resultados para uma conclusão contundente.

AGRADECIMENTOS

FAPERJ, CNPq, CAPES e UFF.





Ciências Biológicas

INVESTIGAÇÃO DO ENVOLVIMENTO DA MICROGLIA NO EFEITO PROTETOR DA DIPIRONA EM CAMUNDONGOS NO MODELO DE GLAUCOMA.

Autores: Camylla de Oliveira Nascimento, Ana Carolina de Luca Mattos, Rafael Brito, Ana Gabriela Alves Costa, Karin C. Calaza.

Laboratório Neurobiologia da retina

INTRODUÇÃO:

A visão constitui um dos sentidos mais relevantes para os seres humanos.¹

O glaucoma é a forma mais prevalente de neuropatia óptica, onde uma degeneração progressiva das células ganglionares da retina (RGCs) leva à perda irreversível da visão. O aumento da pressão intraocular (IOP), um dos principais fator de risco para glaucoma, é o objetivo de grande parte dos fármacos em pacientes com glaucoma.^{2,4,5}

Na retina adulta, como em outras partes do sistema nervoso central (SNC), a microglia monitora o ambiente, contribuindo para manutenção da homeostase. Elas são ativadas em resposta a patógenos/toxinas externas ou sinal de perigo interno diante de contextos patológicos e geram uma rápida resposta inflamatória que pode recuperar o equilíbrio estrutural e fisiológico.³ A ativação dos mecanismos de desenvolvimento mediados por microglia durante o glaucoma pode influenciar o início e/ou a progressão da doença. Portanto, o papel da microglia está relacionado à abordagens terapêuticas no glaucoma.

O canal de potencial receptor transitório anquirina 1 (TRPA1) são expressos em diversos tecidos, são polimodais sendo ativados por estímulos térmicos, mecânicos e químicos. Como os canais TRPA1 podem mediar processos como condução mecânica, pressão osmótica e estresse oxidativo, esses estão diretamente relacionados no contexto do glaucoma. O TRPA1 é um canal iônico permeável a cálcio, que é ativado por várias espécies reativas de oxigênio, nitrativas e carbonílicas (ROS, RNS e RCS, respectivamente).⁶ Nosso grupo demonstrou que a inibição de TRPA1 protege a retina da morte induzida no modelo de glaucoma de aumento de pressão intraocular (IOP) e reperfusão (I/R). Recentemente, foi mostrado que a dipirona inibe o canal TRPA1 e dados preliminares indicam que a dipirona também exerce efeito protetor na I/R. Desse modo, o estudo propõe avaliar o efeito da dipirona e o papel da microglia no modelo de glaucoma (I/R).

Para o aumento da pressão intraocular uma agulha de 40G foi introduzida na câmara anterior do olho esquerdo do animal por 1 hora, tendo o olho direito como controle. Os animais foram tratados com colírio veículo (VEH)

(DMSO+Tween 4%) ou dipirona (DIP, um bloqueador TRPA1) 10 mM diluído em DMSO, uma vez por dia durante 7 dias.

As retinas foram coletadas para processamento de imunofluorescência (IF) e western blot.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Análises qualitativas por imunofluorescência por marcador de microglia (IBA1) indicou um aumento na presença dessas células nos grupos isquêmicos. A partir da análise do conteúdo proteico, por Western Blotting, não encontramos variação entre os grupos para marcador microglial IBA1 (CTR dms: 100% ± 0%, n = 3; CL dms: 101,1% ± 34%, n = 3; IOP dms: 86,38% ± 19,25%, n = 3; CTR dip: 107,9% ± 40,46%, n = 3; CL dip: 97,76% ± 15,23%, n = 3; IOP dip: 120,9% ± 64,57%, n = 3); marcador de ativação microglial, CD68 (CTR dms: 100% ± 0%, n = 2; CL dms: 116% ± 16,34%, n = 2; IOP dms: 185,7% ± 69,64%, n = 2; CTR dip: 155,5% ± 57,52%, n = 2; CL dip: 106,8% ± 13,01%, n = 2; IOP dip: 306,2% ± 228%, n = 2); nem para a proteína pró apoptótica BAX (CTR dms: 100% ± 0%, n = 4; CL dms: 84,01% ± 28,45%, n = 4; IOP dms: 102,7% ± 31,64%, n = 4; CTR dip: 69,6% ± 16,68%, n = 3; CL dip: 65,41% ± 21,56%, n = 3; IOP dip: 79,64% ± 31,2%, n = 3); ou para proteína anti apoptótica BCI2 (CTR dms: 100% ± 0%, n = 4; CL dms: 90,08% ± 35,12%, n = 4; IOP dms: 93,14% ± 12,51%, n = 4; CTR dip: 80,83% ± 16,28%, n = 4; CL dip: 79,19% ± 20,85%, n = 4; IOP dip: 124,9% ± 50,61%, n = 4). Iniciamos a análise dos efeitos no estresse

oxidativo através da análise da subunidade catalítica da NOX, gp91, importante gerador de ROS (CTR dms: 100% ± 0%, n = 4; CL dms: 159,4% ± 84,78%, n = 4; IOP dms: 178,4% ± 51,02%, n = 4; CTR dip: 156,8% ± 72,87%, n = 4; CL dip: 157,5% ± 74,17%, n = 4; IOP dip: 229,8% ± 137,9%, n = 4).

CONCLUSÕES:

A I/R parece induzir reatividade microglial. Os dados preliminares não indicaram efeito da dipirona na reatividade glial. Porém, uma análise mais detalhada, com aumento do número de experimentos e de marcadores é ainda necessária.

AGRADECIMENTOS:

FAPERJ, CNPq, CAPES.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. CHAKRAVARTHY, Usha *et al.* The Economic Impact of Blindness in Europe. *Ophthalmic Epidemiology*, v. 24, n. 4, p. 239–247, 30 jun. 2017.
2. OSBORNE, N. N. et al. Isquemia retiniana: mecanismos de dano e potenciais estratégias terapêuticas. *Progress in Retinal and Eye Research*, v. 23, p. 91–147, 2004.
3. PRINZ, M. et al. Microglia biology: one century of evolving concepts. *Cell*, 2019. DOI: 10.1016/j.cell.2019.08.053.
4. QUIGLEY, H. A. Glaucoma. *Lancet*, v. 377, p. 1367–1377, 2011.

5. RESNIKOFF, S. et al. Dados globais sobre deficiência visual no ano de 2002. *Bulletin of the World Health Organization*, v. 82, p. 844–851, 2004.

6. TREVISAN, G. et al. TRPA1 receptor stimulation by hydrogen peroxide is critical to trigger hyperalgesia and inflammation in a model of acute gout. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 72, p. 200–209, 2014. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2014.04.021.



Imagem 1: Imagem
PIBIC



Karin da Costa Calaza

Ciências Biológicas

AVALIAÇÃO DE ALVOS MOLECULARES PARA A PREVENÇÃO DE ESTRESSE OXIDATIVO E INFLAMAÇÃO EM MODELO DE RETINOPATIA DIABÉTICA.

Josiane Pinheiro da Silva, Natalia Escovino de Pinho Freitas, Glaucio de Carvalho da Silva, Rafael Brito,

Laboratório de Neurobiologia da Retina

INTRODUÇÃO:

A diabetes mellitus (DM) é uma doença crônica que atinge grandes proporções de indivíduos mundialmente. Uma das complicações que a DM pode causar é a retinopatia diabética (RD) que, clinicamente, pode ser definida como uma complicação microvascular da retina, que a longo prazo trás perda e deterioração da visão, podendo ser incorrigível e levar a cegueira. Alterações como diminuição da percepção do contraste, adaptação ao escuro e na visão de cores, assim como aumento de reatividade glial, apoptose, danos mitocondriais e aumento na ativação de vias celulares, como a produção dos produtos finais da glicação avançada (AGEs) e das vias do polioliol, hexosamina e proteína cinase C (PKC) são encontrados presentes na retina de pacientes com DM sem o diagnóstico de RD.

Apesar de existirem terapias para o tratamento da RD, elas não são eficientes para impedir a progressão da doença, possuem efeitos colaterais e tratam apenas o estágio mais tardio da doença. O canal potencial receptor transitório anquirina 1 (TRPA1) é um

alvo interessante nesse contexto, sendo um canal iônico permeável ao cálcio classicamente descrito em células nociceptivas, polimodal, sendo ativado por diversos estímulos, como espécies reativas de oxigênio (ROS), espécies reativas de nitrogênio, parabenos, anestésicos, metilglioxal, entre outros. O receptor TRPA1 tem tido seu papel estudado em diversas doenças inflamatórias, e sua inibição mostrou prevenir a morte de células da retina em modelo de glaucoma. Entretanto, não há nenhuma descrição sobre seu papel na RD. Além disso, diversos agonistas do TRPA1 estão em grandes quantidades na RD, como o metilglioxal e os ROS, e o TRPA1 ativo vai aumentar a quantidade de cálcio intracelular, que além de tóxico em altos níveis, que pode desencadear outro processo importante da RD, o estresse do retículo endoplasmático (RE). Ele ocorre pelo acúmulo de proteínas mal enoveladas no interior do RE, devido a uma perturbação na homeostase, ativando as da resposta proteica desnovelada, que tem como finalidade a recuperação dessa homeostase. Entretanto, a ativação prolongada dessas vias provoca

aumento de apoptose celular e inflamação, além de contribuir para o desenvolvimento da RD.

Na busca por agentes farmacológicos, a dipirona (DIP) se torna interessante já que foi mostrado que inibe o canal TRPA1. Assim, sendo um medicamento altamente conhecido, barato com doses seguras, a dipirona surge como um agente atrativo para ser estudado. Portanto, o objetivo desse projeto é avaliar o envolvimento do TRPA1 nas alterações precoces na retina de um modelo de diabetes do tipo I. Para isso, ratos saudáveis ou diabéticos receberam colírio com veículo (DMSO) ou com antagonista do TRPA1 (A96) ou dipirona (10 mM) por 3 semanas. Marcadores de inflamação fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e Arginase 1 foram avaliados por western blot.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Para uma análise preliminar dos efeitos da inibição de TRPA1 na inflamação da retina de animais diabéticos, investigamos o conteúdo proteico do VEGF. O grupo diabético (DB) apresentou uma pequena diferença do controle (CTR), de 13,42%. Os animais DB tratados com dipirona (DIP) ou A96 já apresentaram uma diferença maior em comparação ao DB, com aumento de 35,06% no tratado com DIP e diminuição de 80,97% no tratado com A96, na expressão de VEGF.

Também foi analisado o conteúdo proteico da Arginase 1, que pode ser utilizado como um marcador de reação anti-inflamatória. O DB apresentou uma pequena redução de 8,03% em comparação ao controle. O DB tratado com DIP não apresentou efeito,

enquanto o DB tratado com A96 apresentou diminuição nos níveis dessa proteína.

Trabalhos anteriores do grupo demonstram que há diminuição de glutatona e Nrf2, com aumento de estresse oxidativo após 3 semanas de diabetes. Assim, fomos avaliar os níveis de HO-1, um dos marcadores da atividade de Nrf2, já que sua transcrição é aumentada por Nrf2. O grupo DB não apresentou diferença do CTR. Já o DB tratado com DIP apresentou uma drástica redução, enquanto o tratado com A96 não apresentou diferença.

Por último, foi avaliado o conteúdo proteico de REDD1, um regulador de Nrf2 e, portanto, com impacto no estresse oxidativo. O DB não apresentou diferença do CTR. O DB tratado com dipirona apresentou uma diminuição, enquanto o tratado com A96 apresentou um aumento no conteúdo proteico de REDD1.

CONCLUSÕES:

Os dados preliminares apresentados sugerem que os efeitos de A96 e dipirona são diferentes e, portanto, podem indicar que a dipirona está tendo um efeito além da inibição do TRPA1. Porém, é necessário aumentar o número de experimentos já que refletem apenas a um experimento, o que não permite conclusão concreta.

AGRADECIMENTOS:

FAPERJ, CNPq, CAPES e PIBIC/UFF.





TÍTULO DO PROJETO: INVESTIGAÇÃO DE MOLÉCULAS DE RNA CIRCULARES EM CÉLULAS TUMORAIS A PARTIR DO TRANSCRITO DA OSTEOPONTINA

TÍTULO DO RESUMO: O TRANSCRITO DA OSTEOPONTINA (OPN) GERA MOLÉCULA DE RNA CIRCULAR GERADAS POR BACK SPLICING EM LINHAGENS CELULARES TUMORAIS

Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas

TÍTULO DO PROJETO: INVESTIGAÇÃO DE MOLÉCULAS DE RNA CIRCULARES EM CÉLULAS TUMORAIS A PARTIR DO TRANSCRITO DA OSTEOPONTINA (OPN)

Autores: Stephani Ohana, Millene Mercadante, Fabiana Santos, Isabella Pereira, Daniella Mattos, Amanda Vitoria, Amanda Lewis, Gabriela Ribeiro, Luciana B Ferreira, Etel RP Gimba.

Departamento de Ciências da Natureza/Instituto de Humanidades e Saúde/Laboratório de Biomarcadores Tumorais

INTRODUÇÃO:

Os RNAs circulares (circRNAs) correspondem a uma classe de moléculas de RNA simples fita covalentemente fechados, resistentes à exonucleases, que não apresentam extremidades 5' ou 3' livres, sendo derivados do mecanismo de *back splicing*, podendo ser ou não codificantes. São expressos de maneira célula e tecido-específica, desempenhando funções regulatórias no genoma. A expressão aberrante de circRNAs tem sido observada em diversas patologias, incluindo o câncer, indicando papéis cruciais na tumorigênese e no desenvolvimento tumoral. Estas moléculas têm sido propostas como potenciais biomarcadores

e alvos para estratégias para o tratamento do câncer, tendo se tornado um tema de fronteira na pesquisa oncológica e na patologia molecular. Neste contexto, nosso grupo de pesquisa tem estudado o transcrito da Osteopontina (OPN), uma fosfoglicoproteína aberrantemente expressa em tumores. O transcrito primário da OPN apresenta *splicing* alternativo, gerando 5 isoformas de *splicing* (OPN-SI). Temos estudado o papel funcional dessas isoformas e suas potenciais aplicações clínicas em distintos tumores. No entanto, até o presente momento, a expressão de circRNAs derivados do transcrito primário da OPN ainda não foi descrita. Este projeto teve como objetivo

investigar a expressão de possíveis circRNAs derivados do transcrito primário da OPN em linhagens celulares derivadas de distintos tipos tumorais. Foram utilizadas as linhagens celulares TPC1 e 8505c (câncer de tireoide), Caco-2, HT-29, HCT-116 (carcinoma colorretal), RS4;11 e Jukart (leucemia de células B e T, respectivamente) e LNCap (câncer de próstata). Estas células foram cultivadas em condições recomendadas pela *American Type Culture Collection* (ATCC), a partir das quais foi extraído RNA total, seguido de síntese de cDNA utilizando *random primers*. Foram projetados pares de *primers* divergentes que circundavam as regiões de junção dos circRNA sendo investigados. Por meio de ensaios de PCR convencional e em tempo real, foram amplificados os fragmentos de DNA compreendidos entre os pares de *primers* divergentes, de modo a identificar a expressão dos circRNA derivados de distintas regiões do transcrito primário da OPN.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Utilizando os pares de *primers* divergentes que amplificam as junções entre os éxons 3 e 4 (Ex3/Ex4), 3 e 5 (Ex3/Ex5), 3 e 6 (Ex3/Ex6) e 4 e 5 (Ex4/Ex5), identificamos por ensaios de RT-PCR convencional e em tempo real que nas amostras de cDNA das linhagens celulares tumorais Jurkat, HCT-116, RS4;11, LNCaP e Caco-2 foram amplificados fragmentos de DNA com curvas de *melting* e tamanho compatíveis com os produtos de amplificação esperados para as regiões de junção dos circRNAs que envolvem os Ex3/Ex4 (120 pb), Ex3/Ex5 (126 pb), Ex3/Ex6 (135 pb) e Ex4/Ex5 (120 pb). Em

seguida, testamos todos os pares de *primers* projetados, que envolviam a maioria das regiões exônicas do transcrito da OPN nas amostras de cDNA das linhagens tumorais TPC1, 8505c, Caco-2, HT-29, HCT-116, RS4;11 e Jukart e LNCaP. Observamos que os pares de *primers* divergentes que envolviam as junções Ex2/Ex3, Ex2/Ex4, Ex2/Ex5, Ex2/Ex6, Ex2/Ex7, Ex3/Ex4, Ex3/Ex5, Ex3/Ex6, Ex3/Ex7, Ex4/Ex5, Ex4/Ex6, Ex5/Ex6 e Ex6/Ex7 geraram produtos de amplificação compatíveis com as regiões de junção de circRNA a partir das amostras de cDNA da maioria das linhagens celulares testadas, exceto aqueles que anelam nas junções entre Ex5/Ex7 e Ex4/Ex7 (Figura 1). Além disso, observamos que o perfil de amplificação das distintas regiões de junções exônicas da OPN analisadas foi linhagem celular específica, sugerindo um padrão tumor e tecido-específico de expressão dos circRNAs sendo investigados que apresentam origem no RNA codificador da OPN.

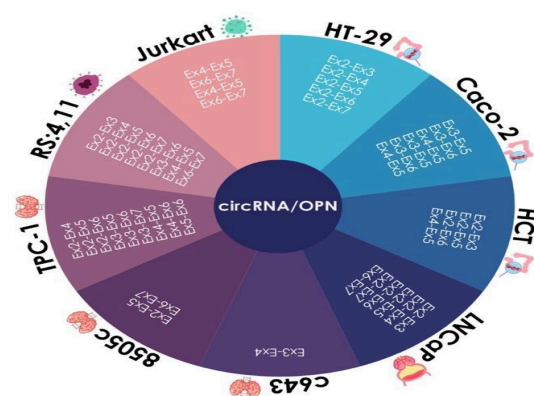


Figura 1: Resumo do perfil de expressão dos circRNA/OPN de acordo com as linhagens

celulares testadas. A Figura apresenta o resumo do perfil de amplificação das regiões de junções exônicas derivadas de circRNAs derivados do transcrito primário da OPN. Os produtos de amplificação das regiões de junção dos éxons Ex(2,3,4,5,6)-Ex(2,3,4,5,6,7) da esquerda e da direita de cada junção, respectivamente, estão listados para cada linhagem celular tumoral testada.

CONCLUSÕES:

Concluimos que os pares de *primers* divergentes projetados para amplificar as diferentes regiões de junções de éxons da OPN para formar possíveis circRNAs se mostraram eficientes em se anelar e amplificar as regiões de interesse, possibilitando a identificação dos circRNAs gerador do tipo EcRNAs ou ElciRNAs. Além disso, mostramos que a expressão dos circRNAs sendo investigados ocorre em diferentes regiões do transcrito da OPN, evidenciando padrão de expressão tecido e tumor específico. O conjunto destes achados evidencia que o RNA primário da OPN origina circRNAs por *back-splicing*. Além disso, parece haver maior frequência de expressão de circRNAs do tipo EcRNAs ou ElciRNAs nas junções entre os éxons 2 e 6 da OPN. Este trabalho representa informação pioneira a respeito da identificação de circRNAs oriundos do transcrito da OPN, o que pode indicar mais um grau de complexidade dos mecanismos de controle da expressão deste gene, bem como dos possíveis alvos dos circRNAs sendo investigados através do presente trabalho.

AGRADECIMENTOS:

Agradecemos às agências de fomento CNPq, FAPERJ, CAPES e Ministério da Saúde.





Ciências Biológicas

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

Tainá Fittipaldi Arêas Duran; Sulamita Campos Murray, Caio Antunes de Carvalho

Departamento de Biologia Geral, Instituto de Biologia, Laboratório de Biodiversidade de Insetos e Patógenos

INTRODUÇÃO:

Leiodidae Fleming, 1821, é a segunda maior família de besouros de Staphylinoidea, os quais fazem parte da fauna que vive em serrapilheira, possuindo pequenas dimensões e coloração marrom escura ou avermelhada. Os leiodídeos possuem variados hábitos alimentares e habitats, mas em geral habitam áreas florestais e alimentam-se de matéria vegetal ou animal em decomposição. Algumas espécies são encontradas em ninhos de insetos sociais, como vespas e formigas, assim como em tocas de vertebrados terrestres. Os adultos são geralmente coletados através de armadilhas de queda com iscas de carniça, peneiramento da serrapilheira, ou armadilhas de interceptação de voo. Geralmente, é possível identificar se um besouro pertence à Leiodidae pelo formato do oitavo antenômero, que é menor em relação ao sétimo e ao nono, resultando em um aspecto de "clava interrompida".

Coletas realizadas por nossa equipe no Parque Nacional da Serra dos Órgãos e Parque Estadual dos Três Picos entre os anos de 2022 e 2023 resultaram em 23 espécies de Leiodidae, 19 dessas documentadas pela primeira vez no estado. Esses resultados revelaram uma lacuna de conhecimento sobre a

diversidade e distribuição de Leiodidae em áreas de Mata Atlântica, sobretudo no estado do Rio de Janeiro. Neste contexto, o objetivo do presente trabalho foi contribuir com o avanço do conhecimento sobre a diversidade de Leiodidae em áreas de Mata Atlântica fluminense através de coletas de espécimes no Parque Estadual da Serra da Tiririca (PESET) e Parque Natural Municipal de Niterói (PARNIT).

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Os resultados apresentados aqui foram obtidos por meio de coletas realizadas no PESET (Niterói e Maricá) e PARNIT (Niterói) em datas selecionadas do segundo semestre de 2023 e primeiro semestre de 2024.

Foram coletados um total de 1.261 espécimes de Coleoptera: 715 no PESET e 546 no PARNIT. Dentre esses espécimes, 623 pertencem à Staphylinoidea, sendo a maioria atribuído à Staphylinidae, com 534 espécimes encontrados (68 Pselaphinae, 183 Scydmeninae, e 283 pertencentes a outras subfamílias). Os outros Staphylinoidea coletados foram Ptiliidae, com 51 espécimes, e Leiodidae, representada por 38 espécimes.

Os leiodídeos encontrados pertencem a duas espécies: *Dissochaetus hetschkoi* Reitter,

1884 (Cholevinae: Anemadini) (Figura 1), com 37 espécimes coletados no PARNIT, e *Aglyptinus* sp. (Leiodinae: Scotocryptini) (Figura 2), com 1 espécime coletado no PESET.

O gênero *Dissochaetus* Reitter, 1884 é caracterizado por um esporão apical longo e serrilhado na tíbia posterior, que é igual ou mais longo que o primeiro metatarsômero. Abrange 81 espécies, com 11 ocorrendo no Brasil, incluindo *D. hetschkoii*. Essa espécie foi identificada através da análise do edeago, o qual apresenta características diagnósticas.

O gênero *Aglyptinus* Cockerell, 1906 pertence à Scotocryptini, possuindo fórmula tarsal 3-3-3 e o primeiro ventrito abdominal visível com carena transversa, características diagnósticas da tribo. Podem ser diferenciados de outros gêneros de Scotocryptini por suas antenas longas e pernas delgadas. O gênero abrange 41 espécies, com 5 ocorrendo no Brasil. A espécie encontrada não pôde ser identificada por se tratar de um espécime fêmea; como em outros Leiodidae, o reconhecimento das espécies de *Aglyptinus* se baseia na análise da morfologia da genitália masculina.

Comparado a fauna de Leiodidae de outras áreas de Mata Atlântica, a diversidade encontrada parece ser baixa, o que pode estar relacionada à exposição dos parques estudados a distúrbios ambientais devido à proximidade com áreas urbanas. Entretanto, outros estudos são necessários para compreender de modo mais abrangente a diversidade e distribuição de Leiodidae na Mata Atlântica.



Figura 1: *Dissochaetus hetschkoii* Reitter, 1884. Foto: Sulamita Campos Murray.



Figura 2: *Aglyptinus* sp. Cockerell, 1906. Foto: Sulamita Campos Murray.

CONCLUSÕES:

Esta pesquisa mostrou pela primeira vez a fauna de Leiodidae encontrada no PARNIT e PESET. O número de espécies de Leiodidae encontradas foi muito inferior ao registrado em outras áreas de Mata Atlântica. Investigações adicionais são necessárias para elucidar os fatores que influenciam a diversidade e distribuição desses besouros.

AGRADECIMENTOS:

Agradecemos ao PIBIC-CNPq, PROPPI-UFF, e a FAPERJ (processos E-26/010.002705/2019, E-26/210.289/2021) pelo apoio financeiro.





Ciências Biológicas

HELMINTOS PARASITOS DE AVES SULIFORMES DO LITORAL SUL DE SÃO PAULO PROVENIENTES DO INSTITUTO DE PESQUISAS CANANEIA (IPEC)

Guilherme Sena, Julia Amaral Piolla, Beatriz Brener

Departamento de Microbiologia e Parasitologia

Instituto Biomédico

Laboratório de Artrópodes e Helmintos de Vertebrados

INTRODUÇÃO:

A avifauna brasileira caracteriza-se como uma das mais importantes ao redor do mundo, porém é diversificada e pouco explorada. As aves pelágicas possuem importância biológica e ecológica, mas são pouco elucidadas em território brasileiro, especialmente em relação à sua fauna parasitária. As aves marinhas necessitam de habitats ricos em nutrientes e em presas para seu desenvolvimento, alimentando-se de peixes e crustáceos. Sua dieta piscívora tende a predispô-los a infecções parasitárias.

Dentre as diversas ordens de aves atualmente classificadas, a ordem Suliformes é composta por 4 famílias, Anhingidae, Fregatidae, Phalacrocoracidae e Sulidae. As aves da família Fregatidae habitam países tropicais e subtropicais e a espécie mais abundante na costa brasileira é a *Fregata magnificens* Mathews, 1914. A família Phalacrocoracidae é composta por corvos marinhos e cormorões presentes na região costeira de quase todos os continentes e as espécies que são encontradas

nas costas das Américas foram reagrupadas no gênero *Nannopterum*. No Brasil, a única espécie encontrada é *Nannopterum brasilianus* Gmelin, 1789. A família Sulidae é representada por aves marinhas de vasta distribuição que apresentam asas compridas e estreitas e cauda bifurcada. Na região costeira brasileira, podem ser encontradas três espécies pertencentes ao gênero *Sula*, sendo *Sula leucogaster* Boddaert, 1783 a mais comumente encontrada.

Os estudos sobre a taxonomia dos parasitos de aves brasileiras são escassos, porém essenciais à compreensão de sua fauna parasitária. Grande parte dos estudos sobre parasitos de aves ocorrem em espécies com potencial zoonótico, sendo necessárias pesquisas mais aprofundadas sobre as demais espécies. Esclarecer as doenças e a relação parasito-hospedeiro das aves marinhas brasileiras é essencial para garantir sua sobrevivência e eficácia dos programas de conservação e reabilitação das aves e dos ecossistemas brasileiros. Portanto, são necessários estudos complementares sobre a

ocorrência e a intensidade da helmintofauna de aves marinhas brasileiras.

O presente estudo apresenta o objetivo de registrar a helmintofauna, principalmente, os nematelmintos, de *Fregata magnificens*, *Nannopterum brasilianus* e *Sula leucogaster* do litoral sul de São Paulo, analisar suas características morfológicas e avaliar a diversidade e intensidade de infecção em aves silvestres suliformes do litoral sul de São Paulo.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram analisados, identificados e medidos helmintos de 20 amostras de *Fregata magnificens*, 21 amostras de *Sula leucogaster* e 10 amostras de *Nannopterum brasilianus*. Foram identificados nematelmintos do gênero *Contraecum* e *Syncuaria* e acantocéfalos do gênero *Andracantha*. Dentre os helmintos do gênero *Contraecum*, foram identificadas as espécies *C. australe*, *C. multipapillatum*, *C. pelagicum*, *C. plagiaticium* e *C. rudolphii*. Todos os parasitos do gênero *Syncuaria* foram classificados como *S. squamata* e os acantocéfalos pertencentes ao gênero *Andracantha* foram classificados como *A. tandemtesticulata*.

A prevalência de *F. magnificens* foi de 20% (4 de 20 aves parasitadas), das quais 2 aves (10%) apresentaram *C. plagiaticium* e 1 ave (5%) apresentou *C. pelagicum*. A prevalência de *S. leucogaster* foi de 19% (4 de 21 aves parasitadas), das quais 1 ave (4,7%) apresentou *C. plagiaticium*. Não foi possível identificar os helmintos das demais amostras a nível de

espécie, pois foram coletadas apenas larvas de suas carcaças. A prevalência de *N. brasilianus* foi de 90% (9 de 10 aves parasitadas), das quais 4 aves (44,4%) apresentavam *C. australe*, 5 aves (55,5%) apresentavam *C. rudolphii* e 1 ave (11,1%) apresentava *C. multipapillatum*. Das aves parasitadas, 3 (33,3%) apresentavam *Syncuaria squamata* e 2 aves (22,2%) apresentavam *Andracantha tandemtesticulata*. Nesta espécie de ave, foi notada co-infecção de 2 aves (22,2%) com *C. australe* e *S. squamata*, 1 ave (11,1%) com *C. rudolphii* e *S. squamata*, 1 ave (11,1%) com *C. rudolphii* e *C. multipapillatum* e 1 ave (11,1%) com *C. rudolphii* e *A. tandemtesticulata*.

A intensidade média de hospedeiro para *C. australe* é de 26,5 parasitos por hospedeiro, a de *C. multipapillatum* é de 1,0, a de *C. pelagicum* é de 2,0, a de *C. plagiaticium* é de 25,0, a de *C. rudolphii* é de 17,5.

Esses resultados condizem com os encontrados por Fedynich e colaboradores e Torres e colaboradores, os quais analisaram a helmintofauna de aves suliformes nos anos de 1997 e 2005, respectivamente. As espécies de parasitos encontradas já foram descritas nas três espécies de aves analisadas, assim como a co-infecção de hospedeiros pelos gêneros *Contraecum* e *Andracantha* concomitantemente. O primeiro relato do acuarídeo *Syncuaria* sp., no Brasil, foi realizado por Monteiro, no ano de 2006, ao analisar carcaças de Biguás no Rio Grande do Sul.

A morfometria realizada neste estudo mostrou-se fundamental para identificar as espécies de helmintos que parasitam aves suliformes da zona costeira de São Paulo. O

uso de técnicas de biologia molecular, porém, é capaz de aprimorar os estudos sobre a helmintofauna das aves brasileiras e auxiliar a compreensão dos padrões parasitários desses animais. Deve-se, portanto, destacar a importância do seu uso em futuros estudos para pleno entendimento das espécies de helmintos presentes em território brasileiro.

CONCLUSÕES:

Logo, é possível notar que o conhecimento das espécies de parasitos de aves suliformes na zona pelágica brasileira é de extrema importância ecológica, além de auxiliar programas de reabilitação e conservação dessas espécies. No presente estudo, as principais espécies encontradas parasitando aves suliformes foram os nematelmintos *C. australe* e *C. rudolphii*, além dos acuarídeos *S. squamata*. Também é possível destacar a presença do acantocéfalo *A. tandemtesticulata* em biguás brasileiros. Os estudos atuais sobre essas aves, porém, são escassos e devem ser mais aprofundados para total compreensão da prevalência e da ocorrência das espécies de helmintos que parasitam tais animais.





Ciências Biológicas

HELMINTOS DE *PUFFINUS PUFFINUS* E *PUFFINUS GRAVIS* DO LITORAL SUL DE SÃO PAULO PROVENIENTES DO INSTITUTO DE PESQUISAS CANANÉIA (IPEC)

Júlia Amaral Piolla Rego, Guilherme Sena Valadão, Beatriz Brener

Departamento de Microbiologia e Parasitologia

Instituto Biomédico

Laboratório da Disciplina de Parasitologia

INTRODUÇÃO:

O Brasil possui uma avifauna diversificada e é o país com o maior número de aves ameaçadas. A zona costeira e marinha do país é vital para aves marinhas que dependem de recursos como peixes e crustáceos. Essas aves são indicadoras de mudanças climáticas e da saúde ambiental marinha, e também influenciam ecossistemas terrestres ao introduzir nutrientes e dispersar sementes. O conhecimento de seus parasitos pode trazer informações sobre a biogeografia histórica das associações parasito-hospedeiro e revelar amplas mudanças no ecossistema marinho.

Na região sudeste do Brasil, ocorrem cinco ordens de aves marinhas de forma constante ou sazonal (Sphenisciformes, Suliformes, Pelicaniformes, Charadriiformes e Procellariiformes), com destaque para as duas últimas por serem as mais estudadas em relação aos parasitas devido a uma maior ocorrência em zonas costeiras.

A ordem Procellariiformes, que inclui a maior quantidade de aves marinhas, é predominantemente encontrada no hemisfério sul e está presente nas águas brasileiras durante todo o ano. A família Procellariidae, composta por aves como grazinas, bobos, pardelas e cagarras, é adaptada para viagens longas no oceano e vive quase exclusivamente no mar, exceto quando nidifica ou é deslocada por tempestades. O *Puffinus puffinus* (bobo-pequeno ou pardela-sombria) é comum ao longo da costa brasileira e pode estar mais exposto a parasitas devido à sua reprodução em colônias densas. O *Puffinus gravis* (pardela-de-barrete) é uma ave pelágica que realiza migrações trans-hemisféricas e pode ser encontrada em várias regiões do Oceano Atlântico, incluindo o Brasil.

Considerando o exposto, conhecer e estudar os parasitos e as possíveis doenças que os mesmos podem causar torna-se essencial para a sobrevivência e saúde destes animais, assim como seu papel na ecologia e conservação das espécies e ecossistemas brasileiros. Levando em conta a escassez de dados sobre parasitos de aves marinhas

publicados no Brasil, informações adicionais sobre a ocorrência e intensidade de infecção por estes parasitos são necessárias.

Portanto, os objetivos deste estudo foram de registrar a helmintofauna, sobretudo de nematóides, de *Puffinus puffinus* e *Puffinus gravis* do litoral sul de São Paulo, estudar as características morfológicas destes helmintos e avaliar a diversidade e intensidade de infecção por nematóides em aves silvestres do gênero *Puffinus* do litoral sul de São Paulo.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram analisadas 14 amostras de *Puffinus gravis* e 38 de *Puffinus puffinus*, que continham nematódeos dos gêneros *Contracaecum* e *Seuratia*. Esses nematódeos foram identificados e medidos. Identificou-se o gênero *Contracaecum* em 2 amostras de *P. gravis* e em 6 de *P. puffinus*, e o gênero *Seuratia* em 2 amostras de *P. gravis* e 6 de *P. puffinus*. Entre os nematódeos de *Contracaecum*, foram identificadas as espécies *C. pelagicum*, *C. spiculigerum* e *C. multipapillatum*. Todos os parasitos do gênero *Seuratia* foram identificados como pertencentes à espécie *Seuratia shingleyi*.

Em *P. gravis*, a prevalência de *C. pelagicum* foi de 12,5% (1 de 8 aves parasitadas) e de *S. shingleyi* foi de 25% (2 de 8 aves parasitadas). Em *P. puffinus*, a prevalência de *C. spiculigerum* e *C. multipapillatum* foi de 4,55% (1 ave parasitada por espécie), e de *S. shingleyi* foi aproximadamente de 27,27%. A intensidade média de parasitos em *P. gravis* foi de 50,5 para o gênero *Contracaecum*, 28 para *C. pelagicum* e 7,5 para *S. shingleyi*. Em

P. puffinus, a intensidade média foi de 7 parasitos para *C. spiculigerum*, 8 para *C. multipapillatum* e 5,67 para *S. shingleyi*.

Tanto helmintos do gênero *Contracaecum* quanto os da espécie *Seuratia shingleyi* já foram descritos parasitando aves das espécies *P. puffinus* e *P. gravis* e, assim como no estudo de Melo e colaboradores (2012), não houve relato de infecção mista por helmintos nas aves deste estudo, embora em outros estudos, como no de Schramm e colaboradores (2018), essa coinfeção já tenha sido descrita.

No estudo realizado no Rio Grande do Sul por Schramm e colaboradores (2018) a prevalência de infecção por *Seuratia shingleyi* foi de 26,1%, semelhante à prevalência de 25% em *Puffinus gravis* e 27,27% em *Puffinus puffinus* no estudo atual. No entanto, a intensidade média de infecção observada no estudo atual foi muito menor, com 7,5 helmintos por hospedeiro em *P. gravis*, em comparação com 39 helmintos por hospedeiro no estudo do Rio Grande do Sul.

A única espécie do gênero *Seuratia* descrita parasitando aves do gênero *Puffinus* é *Seuratia shingleyi*, o que vai ao encontro dos resultados do presente estudo.

Neste estudo, a identificação das espécies de nematódeos foi feita apenas com base em morfometria, sem utilizar técnicas de Biologia Molecular. A identificação molecular poderia ajudar a estabelecer perfis moleculares dos nematódeos no litoral sul de São Paulo. Embora os helmintos estudados possam afetar a saúde e a sobrevivência das aves marinhas, o estudo não aprofundou as relações parasito-hospedeiro, histopatológicas

e os impactos na saúde das aves. Mais investigações são necessárias para avaliar os efeitos desses helmintos nas populações de aves marinhas e nos ecossistemas.

CONCLUSÕES:

O conhecimento dos parasitos da avifauna brasileira e de suas relações parasito-hospedeiro são escassos, porém imprescindíveis para a conservação das aves marinhas e detecção de mudanças no ecossistema marinho, visto que o Brasil possui o maior número de aves ameaçadas no mundo. Neste estudo, *Contracaecum pelagicum* e *Seuratia shipleyi* mostraram alta prevalência em *Puffinus gravis*, e *S. shipleyi* também teve alta prevalência em *Puffinus puffinus*. Assim, mais estudos são necessários para elucidar o potencial patológico desses helmintos à integridade das aves e seu impacto na conservação das espécies e ecossistemas.





Ciências Biológicas

IDENTIFICAÇÃO ANATÔMICA DE MADEIRAS COMERCIAIS BRASILEIRAS

JORGE LUIZ DE LIMA Vaccari, Cláudia Franca Barros, Arno Fritz das Neves Brandes
Departamento de Biologia Geral / Instituto de Biologia / Laboratório de Anatomia da
Madeira e Dendrocronologia

INTRODUÇÃO:

Madeira é um importante produto comercial no Brasil. Entretanto, a extração de madeiras é uma das principais causas do desmatamento, em muitos casos violando a legislação ambiental, estando historicamente ligada à conversão de áreas florestais em pastagens e plantações, ameaçando a diversidade dos principais biomas florestais do Brasil e colocando espécies em risco de extinção. O uso sustentável dos recursos florestais, a fiscalização e o controle da cadeia de produção e comércio são alguns dos meios de mitigar os impactos causados pela exploração irracional desse recurso.

A verificação científica das espécies declaradas nos documentos de controle, por exemplo no Documento de Origem Florestal (DOF), é uma das ações de fiscalização e controle. Contudo são necessários métodos e ferramentas que permitam identificar com segurança e precisão as espécies declaradas. A anatomia da madeira é um dos principais métodos para identificação de madeiras.

Contudo, esse método exige a disponibilidade de dados de referência, como:

coleções de madeira (amostras de madeira), lâminas histológicas, descrições anatômicas e bancos de dados eletrônicos (por exemplo, chaves de identificação interativas). Mas apesar dos esforços para suprir as carências para a aplicação da identificação anatômica forense de madeiras, ainda faltam dados de referência e ferramentas que facilitem o processo de identificação de muitas madeiras brasileiras presentes no comércio.

O presente estudo visou desenvolver bases anatômicas que permitam a identificação de cinco espécies que estão entre os taxa com maior volume de produção no país e entre as espécies com nível alto e médio de prioridade para desenvolvimento de pesquisas e material de referência para identificação de madeiras do GTTN (Global Timber Tracking Network) (*Caryocar villosum* (Aubl.) Pers.; *Ceiba pentandra* (L.) Gaertn.; *Dipteryx odorata* (Aubl.) Forsyth f.; *Hymenaea courbaril* L.; *Hymenolobium petraeum* Ducke.).

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Dezesseis duplicatas de amostras de madeira das cinco espécies do presente estudo foram obtidas da Xiloteca do Jardim botânico do Rio de Janeiro (RBw) e tombadas na Xiloteca do Herbário de Niterói (NITw). Segmentos de amostras (14) foram usados para a produção de macerados e montagem de lâminas semipermanentes (~10 por amostra totalizando 140 lâminas). Também foram produzidos corpos de prova (14) que foram descritos macroscopicamente e outros (14) que foram seccionados. Os cortes foram clarificados, corados e montados lâminas permanentes (~10 por amostra, totalizando 140 lâminas permanentes). Essas lâminas foram observadas em microscópio de campo claro, fotografadas e descritas microscopicamente em português e inglês, seguindo padrões internacionais propostos pelo Comitê da Associação Internacional de Anatomistas da Madeira (IAWA Committee). Para a descrição e categorização, elementos celulares foram mensurados (~25/amostra; diâmetro de vasos (μm), frequência de vasos (vasos/ mm^2), comprimento de vasos (μm), comprimento de fibras (μm), diâmetro de fibras (μm), lúmen das fibras (μm), espessura da parede das fibras (μm), largura do raio (μm e número de células), altura dos raios (μm e número de células) e frequência de raios (/mm linear)).

Os dados anatômicos descritivos (macroscópicos e microscópicos) foram armazenados, gerenciados e compartilhados na plataforma Xper3 (<http://www.xper3.fr/>). Com essa plataforma foram desenvolvidas chaves

interativas de identificação que estão disponíveis on-line no site do Laboratório de Anatomia da Madeira e Dendrocronologia da UFF (<http://gbg.sites.uff.br/lamad/>), local onde também estão disponíveis outras chaves de identificação desenvolvidas pelos executores desse projeto. Essas chaves são de acesso gratuito e livre e estão sendo divulgadas amplamente, especialmente entre os órgãos de controle e fiscalização ambiental.

Abaixo apresentamos a figura de uma das espécies analisadas (*Hymenolobium petraeum*; Figura 1), com fotomicrografias macroscópicas e microscópicas que compõe a chave de identificação, juntos com as descrições anatômicas completas.

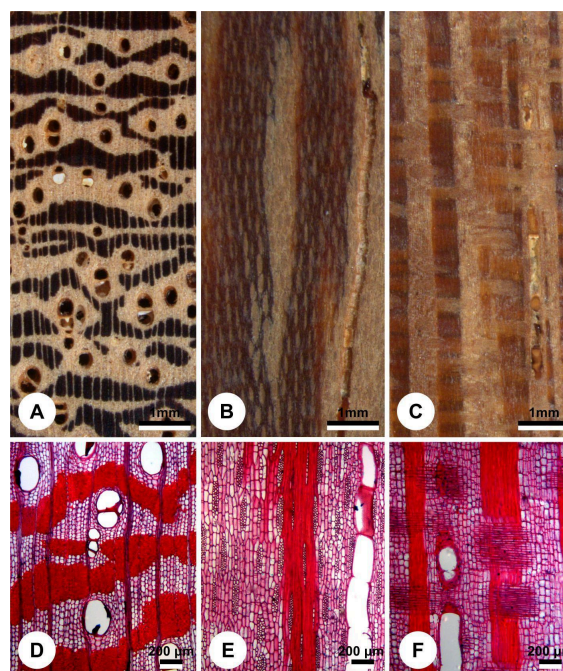


Figura 1. *Hymenolobium petraeum*. (A–C) Estereomicroscopia. (D–F) Microscopia de campo claro. (A, D) Cortes transversais. (B, E) Cortes longitudinais tangenciais. (C, F) Cortes longitudinais radiais.

CONCLUSÕES:

No presente estudo foram produzidos materiais de referência, ampliado o acervo da coleção de madeiras do Herbário de Niterói (NITw) e da Xiloteca do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, com o tombamento de duplicatas e lâmina histológicas, e desenvolvidas ferramentas tecnológicas aplicáveis na identificação de madeiras brasileiras. Esses materiais são aplicáveis na identificação de madeiras brasileiras e estão sendo divulgados amplamente para os órgãos de controle e fiscalização do comércio e transporte de madeiras.

Espera-se que os produtos desenvolvidos no presente estudo se estendam aos órgãos competentes, bem como para outros setores produtivos ou de serviços relacionados a produtos florestais e madeireiros, promovendo a melhoria da qualidade ambiental, da conservação e preservação da biodiversidade e do uso sustentável de recursos naturais.





CIÊNCIAS DA SAÚDE

IMPACTO DE UMA SESSÃO DE EXERCÍCIO FÍSICO SUBMÁXIMO SOBRE A FUNÇÃO ENDOTELIAL NA CONDIÇÃO PÓS-COVID

SILVA, EC; ROCHA, HNM; PRODEL, E; ROCHA, NG; MATTOS, JD; NÓBREGA, ACL.

LABORATÓRIO DE CIÊNCIAS DO EXERCÍCIO, DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA.

INTRODUÇÃO:

A pandemia do coronavírus-2 (SARS-CoV-2) causou uma crise global, levando a milhões de mortes no mundo (Who, 2020), com mais de 700 mil vítimas apenas no Brasil (Saúde, 2024). Entre as manifestações agudas da doença do SARS-Cov-2 (COVID-19) estão a síndrome respiratória aguda e inflamação sistêmica o qual promove um ambiente pró-inflamatório e pró-trombótico. Além disso, mesmo após a fase aguda da doença, estudos sugerem que pessoas recuperadas da COVID-19 podem apresentar, meses após a infecção, disfunção endotelial o que pode contribuir para o aparecimento e permanência das sequelas cardiometabólicas, como também do desenvolvimento de doenças cardiovasculares, como consequência da condição pós-COVID. O exercício físico surge, então, com uma possível estratégia terapêutica sobre a saúde vascular, todavia não há registro na literatura de investigações sobre o impacto do exercício físico sobre a função endotelial na condição pós-COVID.

Desse modo, este trabalho teve por objetivo testar o possível efeito benéfico de uma sessão

de exercício submáximo na função endotelial em indivíduos pós-COVID-19.

O protocolo consistiu em um estudo transversal, randomizado, realizado em duas sessões experimentais não consecutivas com a realização de teste de esforço progressivo em cicloergômetro até intensidade máxima e exercício submáximo. O exercício submáximo teve duração predeterminada de 40 minutos em uma intensidade equivalente à carga de potência correspondente ao primeiro limiar ventilatório obtido no teste de esforço máximo.

A função endotelial foi medida pela técnica de dilatação mediada pelo fluxo (DMF), essa técnica contrasta as mudanças do diâmetro de artérias periféricas de condução em resposta ao aumento abrupto no fluxo sanguíneo laminar e na taxa de cisalhamento na parede interna dos vasos sanguíneos (Thijssen et al., 2011). Dessa maneira, é possível verificar, a vasodilatação dependente do endotélio nos leitos vasculares arteriais. Assim, a DMF foi determinada nos momentos basal e 30 minutos após o teste de exercício submáximo.

A DMF foi determinada nos momentos basal e 30 minutos após o teste de exercício submáximo.

A frequência cardíaca (FC) e as pressões arteriais sistólica (PAS) e diastólica (PAD) foram monitoradas durante todo o protocolo.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram recrutados 7 homens com histórico de infecção por SARS-CoV-2 e 7 homens saudáveis para o grupo controle.

O grupo Controle e pós-Covid não divergiu significativamente nos parâmetros idade 22.3 ± 2.2 vs 27.3 ± 9.8 ($p=0.216$), índice de massa corporal 24.2 ± 1.8 vs 24.5 ± 2.0 ($p=0.835$), volume de oxigênio máximo 30.0 ± 2.9 vs 25.0 ± 12.5 ($p=0.635$). Em relação a função endotelial analisada pela técnica de DMF, não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos Controle e pós-Covid no momento pré-exercício $6,11 \pm 2\%$ vs. $4,72 \pm 2,32\%$ ($p=0,331$), somente houve diferença no momento pós exercício $7,75 \pm 1,50\%$ vs. $4,08 \pm 2,40\%$ ($p=0,032$). A análise do diâmetro da artéria braquial permitiu estimar os valores médios de dilatação máxima nos seguintes momentos: basal e pós-exercício. No momento basal, os valores médios de dilatação foram 0.369 ± 0.02 vs. 0.381 ± 0.07 ($p=0,349$), e os valores de picos foram 0.392 ± 0.02 vs. 0.398 ± 0.07 ($p=0,575$). Após o exercício, os valores médios foram 0.360 ± 0.02 vs. 0.393 ± 0.07 ($p=0,026$), e os valores de pico foram 0.387 ± 0.03 vs. 0.409 ± 0.07 ($p=0,088$). Esses resultados mostram que houve uma diferença significativa apenas nos valores de diâmetro da artéria braquial no momento pós-exercício entre os grupos.

CONCLUSÕES:

Os resultados apontam que os indivíduos que tiveram COVID-19 apresentaram menor percentual de dilatação arterial no momento pós exercício em comparação ao grupo controle, de modo que o grupo pós-COVID parece apresentar um prejuízo na função endotelial no momento pós exercício.

Mais estudos são necessários para uma melhor compreensão dos mecanismos fisiológicos, sobretudo na condição pós-Covid.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

SAÚDE, M. D. Painel Coronavírus. 2024. Disponível em: < <https://covid.saude.gov.br/> >.

THIJSEN, D. H. et al. Assessment of flow-mediated dilation in humans: a methodological and physiological guideline. Am J Physiol Heart Circ Physiol, v. 300, n. 1, p. H2-12, Jan 2011. ISSN 1522-1539 (Electronic) 0363-6135 (Linking).

WHO. COVID-19 situation reports. 2020.

AGRADECIMENTOS:

Agradecemos às agências de fomento FAPERJ, CNPq, CAPES e FINEP pelo apoio financeiro.





Grande área do conhecimento: CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
TÍTULO DO PROJETO: POTENCIAL INIBITÓRIO DE
MOLÉCULAS OBTIDAS POR SÍNTESE ORGÂNICA EM NA
COAGULAÇÃO CAUSADA PELO VENENO DE *BOTHROPS*
JARARACUSSU

Autores: ¹ANDRESA NOBERTO DE LIMA SILVA; ¹BRENDA BAIRRAL QUEIROZ ORNELLAS; ²ELADIO FLORES SANCHEZ; ³VÍTOR FRANCISCO FERREIRA; ³FERNANDO DE CARVALHO DA SILVA; ³RUAN CARLOS BUSQUET RIBEIRO; ¹ANDRÉ LOPES FULY

¹LABORATORIO DE VENENOS E TOXINAS DE ANIMAIS E AVALIAÇÃO DE INIBIDORES, UFF, NITERÓI, BRASIL; ²FUNDAÇÃO EZEQUIEL DIAS, BELO HORIZONTE, MG, BRASIL; ³LABORATORIO DE SÍNTESE ORGÂNICA

APLICADA, UFF, NITERÓI, BRASIL.

INTRODUÇÃO:

Os acidentes por serpentes peçonhentas são considerados pela Organização Mundial da Saúde (OMS) uma doença tropical negligenciada e que acomete, predominantemente populações empobrecidas normalmente em áreas rurais. Tais regiões apresentam dificuldades de transporte, comunicação, acessibilidade a um sistema de saúde, além de escassez e distribuição desigual de profissionais de na área. Estes problemas refletem diretamente na evolução do quadro clínico de um indivíduo acidentado com animais peçonhentos. No Brasil, existem duas Famílias de importância médica, que são, a Elapidae, com o gênero *Micrurus*, e a Viperidae, representada pelos gêneros *Bothrops*, *Crotalus* e *Lachesis*, responsáveis por 99% dos acidentes ofídicos no país. O gênero *Bothrops* apresenta-se como o mais incidente, com 70% dos casos notificados. O veneno botrópico desencadeia uma reação inflamatória, alterações na coagulação do sangue, hemorragias, necrose tecidual, e eventualmente óbito. Os venenos de serpentes são formados por uma mistura complexa de componentes tóxicos, em geral de natureza protéica, que representam 95%-99% do peso seco e são responsáveis pelos efeitos tóxicos na vítima. O tratamento preconizado

pela OMS, designado de soroterapia é realizado através da administração intravenosa de um antiveneno, composto por imunoglobulinas capazes de neutralizar algumas toxinas presentes na peçonha. O antiveneno é eficaz na prevenção do óbito, mas possui algumas desvantagens, como risco de choque anafilático, o processo de produção e estocagem é custoso, e, principalmente, a ineficácia na neutralização dos efeitos locais, podendo causar deformidades graves ao membro afetado, necrose e, em situações extremas, amputação do membro. Sendo assim, a procura por tratamento alternativo e/ou complementar à soroterapia vem sendo incentivada baseadas em fontes naturais, como plantas e algas, ou por moléculas obtidas por síntese orgânica, chamados derivados sintéticos. Dessa maneira, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de 12 moléculas híbridas de triazol e naftoquinonas designados RC29 a RC40 na neutralização da atividade coagulante *in vitro* causada pelo veneno de *B. jararacussu*, serpente responsável por provocar uma série de enfermidades na vítima.

RESULTADOS e DISCUSSÃO

Os derivados sintéticos são moléculas inéditas quimicamente híbridos triazólicos e naftoquinonas, sintetizados pelo grupo dos Professores Fernando de Carvalho e Vitor Francisco Ferreira do Instituto de Química da UFF. A estrutura e parâmetros físico-químicos foram verificados por Infravermelho e Ressonância Magnética Nuclear. Os derivados foram designados de RC29, RC30, RC31, RC32, RC33, RC34, RC35, RC36, RC37, RC38, RC39 e RC40 e dissolvidos em dimetilsulfóxido (DMSO) para utilização nos ensaios tóxicos.

A atividade coagulante do veneno de *B. jararacussu* foi realizada utilizando um "pool" de plasma humano citratado de doadores sadios, proveniente do Hospital Universitário da UFF, Antônio Pedro. O veneno de *B. jararacussu* (20 µg/mL) foi incubado com salina, DMSO, ou com os derivados sintéticos (120 µg/mL) por 30 min a 25 °C. Em seguida, uma alíquota foi retirada da mistura e adicionado ao plasma ou fibrinogênio comercial e o tempo de coagulação foi monitorado em segundos, em um coagulômetro multicanal digital (Amelung KC4A). Em geral, os doze derivados sintéticos foram capazes de prolongar o tempo de coagulação quando comparados com o controle positivo, mas com eficácias diferentes. Os derivados RC32, RC36, RC39 e RC40 prolongaram em cerca de 5 vezes o tempo de coagulação, quando comparado com o veneno na ausência dos derivados. De forma similar, os derivados (120 µg/mL) também foram capazes de inibir a atividade coagulante sobre o fibrinogênio causada pelo veneno de *B. jararacussu* (30 µg/mL). Os derivados RC33 ao RC40 foram os mais eficazes na inibição da coagulação sobre o fibrinogênio. Os derivados isoladamente não foram capazes de coagular o plasma ou fibrinogênio, e desta forma, não possuem efeito pro-coagulante. Ressalta-se que os derivados foram capazes de interferir na coagulação causada pelo veneno de *B. jararacussu* tanto no plasma, que têm todos os componentes protéicos, bem como na ausência

destes componentes, que foi o teste sobre o fibrinogênio. Esses resultados sugerem que os derivados atuam em diferentes pontos da cascata de coagulação, mas também podem inibir enzimas trombina-símile, que são abundantes nos venenos de serpentes, em especial de *B. jararacussu*.

CONCLUSÕES

Este trabalho evidenciou o potencial inibitório de moléculas inéditas obtidas por síntese orgânica contra a atividade coagulante do veneno de *B. jararacussu*, podendo ser promissoras como inibidores de enzimas pro-coagulante presentes no veneno desta espécie. Ressalta-se que tal atividade avaliada reflete os efeitos tóxicos apresentados nos acidentes ofídicos por esta espécie, como coagulação e hemorragias. Dessa forma, este estudo sustenta a expectativa na descoberta de novas alternativas à soroterapia.

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





GRANDE ÁREA: CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

TÍTULO: EFEITO DE POLISSACARÍDEOS DE ALGAS E DERIVADOS SINTÉTICOS DE HÍBRIDOS DE NAFTOQUINONA E ÉSTER NA COAGULAÇÃO DO PLASMA

AUTORES: ¹ Isabelly do Nascimento Firmino, ¹Camila de Castro Pinheiro, ¹Brenda Bairral Queiroz Ornellas, ²Fernando de Carvalho da Silva, ²Gustavo Senra, ³Stanislav Sukhikh, ³Olga Babich, ⁴Svetlana Ivanova, ¹André Lopes Fuly

¹Departamento de Biologia Celular e Molecular, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ; ² Instituto de Química, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil.; ³Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Rússia; ⁴Kemerovo State University, Kemerovo, Rússia.

INTRODUÇÃO:

A hemostasia é uma série coordenada de respostas à lesão vascular que requer interações complexas entre plaquetas, proteínas plasmáticas da cascata de coagulação, fluxo sanguíneo e fibrinólise¹.

Uma desordem neste sistema pode levar a distúrbios vasculares, como isquemia e trombose, que eventualmente podem levar o indivíduo a óbito. A Varfarina é um medicamento oral muito utilizado com ação anticoagulante, que age inibindo a síntese dos fatores II, VII, IX e X da cascata de coagulação que dependem da vitamina K. Entretanto, este medicamento leva a quadros de hemorragias severas e necrose local na pele².

Desta maneira, há uma busca por novos tratamentos complementares com menores efeitos colaterais. Os produtos naturais derivados de algas marinhas, como os metabólitos primários e secundários vêm sendo utilizados como uma fonte rica de moléculas bioativas com potencial farmacológico e biotecnológico. Entretanto, com o aquecimento global, a temperatura e pH dos oceanos vêm mudando o ambiente marinho, e os organismos vivos não conseguem se adaptar às mudanças

climáticas, e por isso, vêm morrendo. Desta maneira torna-se crucial o isolamento e estudo das moléculas com potencial biotecnológico originárias do ambiente marinho^{3,4}.

Os derivados sintéticos da família de naftoquinonas se destacam por suas propriedades farmacológicas. Com base em sua estrutura molecular, as quinonas são classificadas em diferentes grupos, considerando o tipo de sistema aromático que sustenta o anel quinolínico; por exemplo, as naftoquinonas possuem um anel naftalênico. São reconhecidas por serem uma família de metabólitos de distribuição natural estando envolvidas em processos bioquímicos de grande importância. Estudos apontam tais substâncias como antifúngica, antioxidante e inibidoras de enzimas. Entretanto, seu potencial anticoagulante ainda precisa ser melhor investigado.^{5,6}

Frente ao exposto, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito inibitório de seis polissacarídeos de algas marinhas e seis derivados sintéticos naftoquinona e éster sobre a coagulação plasmática através do teste de protrombina (TP), que é um teste clínico clássico utilizado com frequência na clínica.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Para o teste de coagulação, os polissacarídeos isolados das algas verdes *Chlorella sorokiniana* (CS), *Nannochloris sp Naumann* (NN), *Scenedesmus acuminatus* (SA) e *Scenedesmus obliquus* (SO); e das algas pardas *Fucus vesiculosus* (FVF) e *Undaria pinnatifida* (UPF) foram utilizados. E, em relação aos compostos orgânicos, seis derivados de naftoquinona e ester, denominados de G3R001, G3R002, G3R003, G3R004, G3R008 e G3R011 foram utilizados.

Os polissacarídeos de algas ou derivados sintéticos (100 µg) foram incubados com o plasma, gentilmente cedido pelo Hospital Universitário Antônio Pedro da UFF, por 1 minuto a 37° C. Em seguida, 100 µL do reagente do kit comercial TP Wama Diagnóstica (Método de Quick) foi adicionado ao meio reacional e a coagulação foi monitorada em segundos no coagulômetro digital URIT610.

Como resultado, os polissacarídeos foram capazes de prolongar o tempo de coagulação do plasma neste teste, em relação ao controle (na ausência dos polissacarídeos). Os polissacarídeos CS e SA aumentaram o tempo de coagulação em cerca de 12 segundos. E, os polissacarídeos FVF e SO aumentaram o tempo de coagulação em 9 segundos. Por outro lado, UPF prolongou o tempo de coagulação em 50 segundos.

Já os derivados de naftoquinona e ester foram capazes de prolongar o tempo de coagulação em relação ao controle, mas com eficácias diferentes. Os derivados G3R001, G3R002,

G3R011 aumentaram o tempo de coagulação do plasma em 24 segundos. Em contrapartida, os derivados G3R004 e G3R008 não foram capazes de interferir na coagulação. Dentre os derivados testados, o G3R003, impediu a coagulação do plasma até o período máximo de observação, que foi de 600 segundos.

CONCLUSÕES:

As moléculas tanto de origem natural quanto sintéticas têm potencial inibitório na coagulação do plasma, através do teste de protrombina, e por isso, tornam-se candidatas a mais estudos sobre seus efeitos na coagulação.

AGRADECIMENTOS:

CAPES/CNPQ/UFF-PROPP/FAPERJ

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ¹Favaloro EJ *et al* Hemostasis and Thrombosis: An Overview Focusing on Associated Laboratory Testing to Diagnose and Help Manage Related Disorders. *Methods Mol Biol.* 2023;2663:3-38. ²Hosokawa K *et al.* A Multicenter, Single-Blind, Randomized, Warfarin-Controlled Trial of Edoxaban in Patients With Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension: KABUKI Trial. *Circulation.* 2024 Jan 30;149(5):406-409. ³Borburema HDS *et al* Mangrove macroalgae increase their growth under ocean acidification: A study with *Bostrychia* (Rhodophyta) haplotypes from different biogeographic provinces, *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 552, 151740

⁴ Borburema H. D. S., Yokoya N. S., Souza J. M. C., Nauer F., Barbosa-Silva M. S., Marinho-Soriano E. (2022b). Ocean warming and increased salinity threaten *Bostrychia* (Rhodophyta) species from genetically divergent populations. *Mar. Environ. Res.* 178, 105662

⁵Ferreira, V. F.; Souza, M. C. B. V.; Ferreira, M. L. G.; Cunha, A. C.; Heterociclos Contendo o Núcleo Triazólico: Métodos de Síntese, Reatividade e Atividade Biológica, Cadernos do Instituto de Química-UFRJ; Pinto, A. C.; Bicca, R. A., eds.; 1999. ⁶Morrison, R. K.; Brown, D. E.; Oleson, J. J.; Cooney, D. A.; *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **1970**, 17, 1; Manson, J. M.; Kang, Y. J. Em *Principles and Methods of Toxicology*; Hayes A. W., ed.; 3rd ed., Raven Press: New York, 1994, p. 989.





GRANDE ÁREA: CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

TÍTULO: EFEITO INIBITÓRIO DOS EXTRATOS DE *AESCULUS HIPPOCASTANUM* E *MELILOTUS OFFICINALIS* SOBRE AS ATIVIDADES PROTEOLÍTICA, COAGULANTE E FOSFOLIPÁSICA DOS VENENOS DE *BOTHROPS JARARACA* E *BOTHROPS NEUWIEDI*

AUTORES: ¹Roberto da Costa Gonçalves, ¹Camila Castro-Pinheiro, ²Eládio Flores Sanchez, ³Stanislav Sukhikh, ³Olga Babich, ⁴Svetlana Ivanova, ¹André Lopes Fuly

¹Departamento de Biologia Celular e Molecular, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ; ²Centro de Pesquisa e Desenvolvimento, Fundação Ezequiel Dias, Belo Horizonte, MG; ³Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Rússia; ⁴Kemerovo State University, Kemerovo, Rússia.

INTRODUÇÃO:

Os acidentes ofídicos são considerados doenças tropicais negligenciadas pela Organização Mundial da Saúde (OMS), com cerca de 2,7 milhões de casos registrados, 138.000 mortes e 400.000 casos de amputações ou sequelas físicas ao ano. As serpentes são encontradas em regiões tropicais e subtropicais do planeta, coincidindo com a distribuição geográfica dos países subdesenvolvidos que possuem pouca infraestrutura e difícil acesso à rede de saúde, onde a maioria da população é pobre e seus proventos são de atividades na agricultura e pesca.¹

No Brasil, o gênero *Bothrops* é responsável por cerca de 70% dos acidentes ofídicos⁵. Sua peçonha é uma mistura complexa de proteínas e peptídeos biologicamente ativos, que produzem distúrbios de coagulação, inflamação, dor, óbito e um intenso dano tecidual no local adjacente a picada, ocasionando perda de função ou até mesmo o amputação.²

O tratamento preconizado pelo Ministério da Saúde e OMS para os casos de envenenamento ofídico é a soroterapia, que apesar de evitar o óbito, não é capaz de reverter

os efeitos locais decorrentes do envenenamento. Desta maneira, há uma busca por novos tratamentos que sejam eficazes na reversão desses efeitos locais.²

As plantas são fontes de moléculas promissoras na busca por novos princípios ativos na cura de várias patologias, bem como no envenenamento ofídico³. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi investigar o potencial inibitório *in vitro* dos extratos das plantas *Aesculus Hippocastanum* (AH) e *Melilotus officinalis* (MO) contra as atividades proteolítica, coagulante e fosfolipásica dos venenos de *B. jararaca* e *B. neuwiedi*, que são efeitos tóxicos relacionados a uma ação local do veneno, como distúrbios de coagulação, mionecrose e inflamação.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

A atividade proteolítica foi realizada utilizando-se a azocaseína (0,2% p/v dissolvida em 20 mM Tris-HCl, 8 mM CaCl₂, pH 8,8) como substrato, conforme Garcia et al. (1978). O veneno das serpentes foi incubado com o substrato durante 90 min a 37°C. Em seguida, a reação foi interrompida com ácido tricloroacético (10%, p/v), os tubos foram centrifugados a 12.000 rpm por 3 min e NaOH 2N foi adicionado

ao sobrenadante. Os tubos foram lidos no comprimento de onda de 420 nm no espectrofotômetro. A quantidade de veneno ($\mu\text{g/mL}$) que produziu uma leitura em 420 nm de cerca de 0,2 foi designada como concentração efetiva (CE). Uma CE de cada veneno foi incubada com solução salina, dimetilsulfóxido (DMSO) ou com os extratos por 30 min a 37°C. Em seguida, uma alíquota desta mistura foi adicionada ao meio reacional e a atividade proteolítica foi realizada.

Para a atividade coagulante, diferentes concentrações de veneno foram adicionadas ao plasma e o tempo de coagulação monitorado em um coagulômetro digital. A quantidade de veneno ($\mu\text{g/mL}$) que causou uma coagulação de cerca de 70 segundos foi designada, concentração mínima coagulante (CMC). Os extratos das plantas foram incubados com 1 CMC de cada veneno por 30 min a 37°C. Em seguida, uma alíquota de 50 μL desta mistura foi adicionada ao plasma (200 μL) e coagulação monitorada no coagulômetro.

A atividade fosfolipásica dos venenos foi realizada conforme Monteiro-Machado et al (2015), em um meio reacional contendo CaCl_2 , taurocolato de sódio, tampão Tris-HCl pH 7,5 e gema de ovo, que é o substrato lipídico. A cinética da atividade fosfolipásica dos venenos foi monitorada em 850 nm durante 30 min em um leitor de microplaca. Os extratos das plantas ou solventes foram incubados com cada veneno por 30 min a 37°C, e, em seguida, uma alíquota desta mistura foi adicionado ao meio reacional contendo gema de ovo, e a cinética enzimática foi monitorada durante 30 min. Os resultados da

atividade fosfolipásica foram avaliados nos 5 e 30 min de reação.

Em geral, os extratos das plantas AH e MO inibiram a atividade proteolítica e coagulante dos venenos, mas com percentuais diferentes. AH inibiu 38% e 55% a atividade proteolítica do veneno de *B. jararaca* e *B. neuwiedi*, respectivamente; enquanto MO inibiu 70% esta atividade para ambos os venenos.

Na coagulação do plasma, AH prolongou o tempo de coagulação em cerca de 1,8 X para *B. jararaca* e *B. neuwiedi*; enquanto MO prolongou em 2,1 X. Entretanto, a diferença de inibição não é significativa.

Em relação à atividade fosfolipásica, em 5 min de reação AH inibiu 69% a atividade do veneno de *B. jararaca*, e MO inibiu 32%. Em 30 min, AH e MO inibiram a atividade fosfolipásica do veneno de *B. jararaca* em cerca de 57%; e, para o veneno de *B. neuwiedi*, AH e MO inibiram 35%. Em 5 min de reação, o solvente DMSO interferiu no experimento e, dessa forma, não foi feita a análise do percentual de inibição. Por outro lado, em 5 min de reação, AH inibiu a atividade fosfolipásica do veneno de *B. neuwiedi* em 90% e MO inibiu em 77%. Os extratos isoladamente não apresentaram atividade proteolítica, coagulante ou fosfolipásica.

CONCLUSÕES:

Os extratos de *A. hippocastanum* e *M. officinalis* têm potencial antiveneno *in vitro* contra o veneno de *B. jararaca* e *B. neuwiedi*, que são espécies de interesse médico no Brasil.

AGRADECIMENTOS:

CAPES/CNPQ/UFF-PROPII/FAPERJ.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

¹ Gutiérrez JM, Calvete JJ, Habib AG, Harrison RA, Williams DJ, Warrell DA. Snakebite envenoming. Nat Rev Dis Primers. 2017 Sep 14;3:17063.

² Freitas, FG, Silva, TA, Oliveira, F, Santos, BR, Homsí-Brandeburgo, MI, Hamaguchi, A. (2005) Biosc. J., 21: 95-103.

³ Soares, AM, Tícli, FK, Marcussi, S, Lourenço, MV, Januário, AH, Sampaio, SV, Giglio, JR., Lomonte, B, Pereira, PS. (2005). Curr. Med. Chem., 12: 2625-2641

⁴ Garcia, ES, Guimarães, JA, Kradp K. (1978). Arch. Biochem. Biophys., 188: 315-322.

⁵ “Boletim Epidemiológico”, SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE E AMBIENTE MINISTÉRIO DA SAÚDE; Volume 54, nº18, 19 de Dezembro de 2023.





CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ESTUDO DA EXPOSIÇÃO CRÔNICA A CAFEÍNA NO COLÓN E NA GLIA ENTÉRICA DE ANIMAIS QUE EXIBEM COMPORTAMENTO DO TIPO ANSIOSO

Isabela Nóbrega Fialho Tavares, Yasmin Oliveira Nazareth, Maria Carolina Ricciardi, Marianna Gonçalves de Carvalho, Silvia Maissonette, Jesus Landeira-Fernandez, Paula Campello-Costa, Ana Lúcia Tavares-Gomes

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

INTRODUÇÃO:

A cafeína é o estimulante psicoativo mais consumido no mundo e exibe um papel dual na ansiedade, podendo apresentar efeitos ansiogênicos ou ansiolíticos dependendo da dose ingerida. A ansiedade está entre os transtornos psiquiátricos mais comuns e estudos indicam uma relação entre os transtornos de humor, como a ansiedade, e alterações na comunicação intestino-cérebro. O eixo intestino-cérebro pode ser descrito como uma rede de comunicação bidirecional que liga o trato gastrointestinal (TGI) e o sistema nervoso central. As funções do TGI são controladas pelo sistema nervoso entérico (SNE), também denominado segundo cérebro, dada a sua importância na manutenção da saúde intestinal e geral. O ENS é composto por neurônios entéricos e células gliais, sendo a glia entérica um elemento chave que modula a barreira epitelial intestinal, participa da neurotransmissão e da motilidade, conversa

ativamente com as células do sistema imunológico, entre outras funções. Um estudo recente demonstrou a alteração da expressão glial ao longo do eixo intestino-cérebro, evocando comportamento ansiogênicos em um modelo animal de dieta de alta gordura. O objetivo deste estudo é avaliar o impacto do consumo de uma dose moderada de cafeína no trato gastrointestinal e na glia entérica de ratos que exibem o comportamento do tipo-ansioso.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Ratos Wistar machos previamente selecionados para altos (CHF - Carioca High-condicionado Freezing) e baixos (CLF - Carioca Low-condicionado Freezing) níveis de congelamento em resposta a sinais contextuais foram utilizados neste estudo e comparados com animais controle. Os animais foram expostos a água ou a uma dose moderada de cafeína diluída em água (0,3g/L) por 12 dias. Após, os animais foram eutanasiados e as

amostras foram coletadas. O presente estudo foi aprovado pelo CEUA-UFF sob número de protocolo 1707150622. O cólon foi medido e foi observado o número e o tamanho dos pellets. Western blot foi realizado para determinar o conteúdo protéico da proteína glial fibrilar ácida (GFAP) na camada neuromuscular, uma vez que a GFAP é uma proteína glial comumente utilizada para avaliar a resposta da rede glial. Nos animais do grupo água, foi observado o encurtamento no cólon do grupo CBC, enquanto no grupo exposto à cafeína foi observado um encurtamento tanto no grupo CBC quanto no controle, sendo um indicativo de quadro inflamatório. Em relação a quantidade de pellets fecais observados dentro do cólon, não foi observado diferenças entre os grupos. Entretanto, no grupo água, foi observado uma diminuição do tamanho dos pellets fecais no grupo CBC e nos animais expostos a cafeína houve um aumento do tamanho no grupo CAC comparado ao controle e CBC, demonstrando uma disfunção da motilidade. A análise protéica por Western blotting da camada neuromuscular colônica indicou um aumento da expressão da proteína GFAP nos animais CAC em comparação ao grupo controle e CBC, em ambos os grupos água e cafeína. Não foram detectadas alterações significativas ao comparar o grupo controle com o CBC. Esse resultado sugerem a presença de reatividade glial no cólon destes roedores que apresentam um maior comportamento do tipo ansioso, independente a exposição à cafeína.

CONCLUSÕES:

As células gliais entéricas apresentam uma reatividade na camada neuromuscular do cólon de animais que apresenta maior comportamento semelhante à ansiedade. Além disso, os animais com o menor comportamento do tipo ansioso, apresentam alterações anatômicas e funcionais no cólon. Ainda é necessário de mais investigações para entender o efeito da cafeína no eixo intestino cérebro desses animais para uma possível intervenção terapêutica. Entretanto, essas descobertas apontam para um cenário onde a glia possa ser uma peça-chave no controle da motilidade intestinal diante de um quadro de transtorno de humor como o encontrado em animais com comportamento semelhante à ansiedade.





CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
ENVOLVIMENTO DA VIA DA P38MAPK NA REATIVIDADE GLIAL
ENTÉRICA PRECOCE NA CAMADA NEUROMUSCULAR
COLÔNICA EM ANIMAIS MODELO DA DOENÇA DE PARKINSON
INDUZIDA POR 6-HIDROXIDOPAMINA

Marianna Gonçalves de Carvalho, Beatriz Bastos de Moraes Thomasi, Luisa Ribeiro
Figueredo Valdetaro, Maria Carolina Garcia Ricciardi, Isabela Nobrega Fialho Tavares,
Ana Lucia Tavares Gomes

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

INTRODUÇÃO:

A doença de Parkinson (DP) é uma doença neuroinflamatória e neurodegenerativa que afeta tanto o sistema nervoso central quanto o sistema nervoso entérico (SNE), e um de seus principais sintomas não-motores clássicos é a dismotilidade intestinal. As células da glia entérica (GE) possuem um papel fundamental na resposta imunomodulatória no SNE. Nosso grupo de pesquisa já demonstrou que em um modelo animal da DP induzido por 6-hidroxidopamina (6-OHDA), a GE responde de forma precoce no cólon, apenas 48 horas após a neurodegeneração se iniciar na camada neuromuscular, com aumento da expressão de marcadores como o GFAP, um biomarcador da GE cuja expressão aumentada em conjunto com alterações morfológicas da GE indicam um quadro de reatividade glial, um perfil presente em quadros de resposta inflamatória intestinal,

como é característico da DP. Além disso, a literatura sugere que a ativação da via de sinalização intracelular da proteína p38MAPK é responsável por promover e regular a resposta neuroinflamatória através da produção de mediadores pró-inflamatórios no sistema nervoso central durante a DP e no SNE durante quadros de colite. O receptor purinérgico P2X7 é um canal iônico encontrados em diversos tipos celulares, como em neurônios entéricos. Tal receptor se liga a moléculas de ATP (um importante gliotransmissor), possuindo um papel fundamental na liberação de mediadores pró-inflamatórios em quadros ocasionados por doenças inflamatórias intestinais, e esse é um dos receptores que pode ser encontrado ativado na via de sinalização da p38MAPK. O objetivo do trabalho foi investigar o papel da p38MAPK no SNE durante a DP na resposta inflamatória precoce deflagrada pela GE observada no cólon dos animais, e se tal envolvimento observado poderia ser via ativação do receptor P2X7.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foi realizada a cirurgia estereotáxica para administração da neurotoxina 6-OHDA através de injeção unilateral intraestriatal em camundongos machos C57/Bl6 para obtenção do modelo animal da DP. Os animais controle e os animais 6-OHDA tiveram a sobrevivência de 48 horas, e após esse tempo os animais foram eutanasiados e as amostras foram coletadas (aprovação da CEUA-UFF nº 6095200219). Através de uma técnica que permite a aferição indireta do trânsito colônico, utilizando a porcentagem de água nas fezes coletadas no cólon dos animais, foi observado que o conteúdo de água nas fezes entre os animais controle e 6-OHDA não foi alterada. Entretanto, houve uma redução da quantidade de pellets fecais observados dentro do cólon dos animais 6-OHDA em comparação com os animais controle, e um leve aumento do tamanho dos pellets fecais no grupo 6-OHDA, confirmando que os animais modelo da doença de Parkinson possuem uma modificação da função motora envolvida com a formação dos pellets fecais no lúmen do intestino grosso. A análise proteica por Western blotting da camada neuromuscular colônica indicou um aumento da expressão da proteína p38MAPK, porém sem alterações significativas da expressão do marcador do receptor P2X7 nos animais 6-OHDA em comparação com os animais controle. Já na camada mucosa, foi observada uma redução do conteúdo de GFAP dos animais 6-OHDA em comparação com os animais controle.

CONCLUSÕES:

Os resultados indicam que a via de sinalização intracelular da proteína p38MAPK pode estar envolvida na resposta inicial de reatividade glial entérica na inflamação colônica observada nos animais modelo da DP induzida por 6-OHDA, causando uma disfunção gastrointestinal. Mais experimentos são necessários para identificar através de qual receptor essas alterações glias observadas podem estar sendo ativadas.





Ciências Biológicas/Imunologia

**PAPEL DA MICROBIOTA MAMÁRIA NA REGULAÇÃO DE
LINFÓCITOS T ASSOCIADOS AO DESENVOLVIMENTO DE
METÁSTASES ÓSSEAS DERIVADAS DO CARCINOMA DE
MAMA**

Clara Serdeira Pergentino

Departamento de Imunobiologia (GIM)/Laboratório de

Osteoimunologia e Imunologia Tumoral (LOIT)

INTRODUÇÃO

O câncer de mama é o mais frequente tipo de câncer em mulheres e sua forma mais comum de classificação é baseada na expressão imuno-histoquímica dos receptores hormonais (HR) de estrogênio (ER), progesterona (PR) e fator de crescimento epitelial humano 2 (HER2), dividindo a doença em HR+, HER2+ e triplo-negativo, que não expressa nenhum dos receptores acima mencionados e costuma ter pior prognóstico.

As células tumorais da mama podem se disseminar e colonizar sítios secundários como pulmão, fígado, medula óssea e cérebro. Apesar de avanços na pesquisa, as taxas de sobrevivência de pacientes com doenças metastáticas permanecem ínfimas. Na medula óssea, as células do carcinoma de mama interferem no remodelamento ósseo e são caracterizadas por induzir uma doença osteolítica. O RANKL, principal molécula responsável por induzir a osteoclastogênese e subsequente degradação óssea, é contra regulada por outra molécula conhecida como a osteoprotegerina (OPG), que interrompe a atividade osteoclástica e inicia a

osteoblastogênese. Entretanto, tanto o RANKL quanto o OPG também são secretados por células do sistema imunitário, em especial pelos linfócitos T e B.

Há mais de seis décadas, estudos mostram a relação entre células imunitárias e progressão metastática. Durante a progressão do tumor e a consequente resposta imunitária antitumoral que se segue, as células T CD8⁺ citotóxicas têm papel de destaque no controle do desenvolvimento tumoral, por serem capazes de eliminar as células tumorais. Já as células T CD4⁺ auxiliares também promovem a ativação das funções efetoras e de memórias das células T CD8⁺, e são classificadas de acordo com a resposta imunitária que está sendo induzida, onde se destacam as células T CD4⁺ do tipo 1 (Th1) relacionadas a uma resposta antitumoral; células T CD4⁺ FOXP3⁺ chamadas de T regulatórias (Tregs) que montam um cenário supressor; e as células T CD4⁺ chamadas de Th17 relacionadas a uma resposta pró-tumoral inflamatória.

Em particular, as Th17 são detectadas intratumoralmente, mas não em seus linfonodos drenantes, e a IL-17 aumenta a degradação óssea ao induzir a diferenciação de

osteoclastos. Esses dados levaram estudiosos a identificarem as células Th17 como o subconjunto exclusivo de células T pró-osteoclastogênicas entre todas as linhagens de T auxiliares.

Outro fator cujo entendimento é essencial no combate ao câncer, é a microbiota e a sua importância na manutenção da homeostase do hospedeiro. Já existem trabalhos na literatura mostrando que a microbiota intestinal é capaz de regular a massa óssea através da modulação de hormônios e células imunitárias.

Diante do exposto, o modelo escolhido para o trabalho foi a linhagem tumoral mamária metastática, 4T1. A linhagem 4T1 é do subtipo triplo-negativo, que se desenvolve em camundongos BALB/c fêmeas, e as células são capazes de metastizar para os mesmos órgãos acometidos na doença humana. Por fim, a linhagem 4T1 é singênica, o que possibilita seu crescimento em animais imunocompetentes.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A análise das amostras fecais demonstrou que a microbiota foi depletada nos animais tratados com o coquetel de antibióticos (ABX).

O tumor primário não teve alterações significativas de peso ou volume entre os grupos 4T1 e 4T1 ABX. Em contrapartida, o grupo 4T1 apresentou maior celularidade no linfonodo drenante do tumor em comparação ao grupo 4T1 ABX, o que pode significar um maior número de células tumorais se disseminando pelas vias linfáticas, ou uma resposta imunitária mais robusta no grupo 4T1. Condizente com

essa tendência, o peso dos baços em animais 4T1 também foram significativamente maiores que em animais tratados com antibióticos.

A análise morfológica intestinal revelou aumento do cécum em animais 4T1 ABX, fato que pode ser interpretado como um acúmulo de fibra, que são normalmente metabolizadas pela microbiota intestinal.

A análise da concentração de DNA genômico das amostras fecais dos animais 4T1 se revelou maior que a do grupo 4T1 ABX. Além disso, os animais 4T1 ABX apresentaram uma proporção de DNA por gramas de fezes em média três vezes menor que animais 4T1 não tratados com antibióticos, indicando indiretamente a depleção da microbiota no grupo ABX e a sua modulação nos grupos 4T1.

Paralelamente, analisamos a presença de dois filos na microbiota intestinal do modelo animal, importantes para diversas doenças humanas, Bacteroidota (B) e Firmicutes (F). Nossos dados resultaram na diminuição da proporção F/B em animais 4T1.

Finalmente, analisamos os órgãos linfóides e vimos que, no linfonodo inguinal (iLN) de animais 4T1, houve um aumento de células T CD8⁺ e uma diminuição de células T CD4⁺, ambas significativas. Já no linfonodo mesentérico (mLN), as duas populações diminuíram em animais 4T1, diminuindo sua celularidade absoluta, o que pode indicar uma migração dessas células para outros órgãos a fim de melhorar a resposta imunitária antitumoral.

Vimos que o tumor 4T1 induz uma maior produção de RANKL por linfócitos T no iLN, onde também houve um aumento de células Treg. Esses resultados indicam alto potencial metastático e pior prognóstico, visto que trabalhos já mostraram a influência das Treg na mediação da metástase através da sinalização RANK-RANKL.

Por fim, vimos um aumento significativo de linfócitos T CD4⁺ RORγT⁺ em animais com tumor. A expressão de RORγT⁺ é essencial para a diferenciação de células Th17 pró-tumorais, e estudos relacionam sua importância com a exposição à microbiota e seu papel na regulação autoimune junto à Treg.

CONCLUSÕES

Diante do exposto, é possível concluir que a depleção da microbiota com o coquetel de antibióticos é efetiva e influencia significativamente no quadro da doença 4T1.

Além disso, vimos que a microbiota de animais com tumor apresenta mudanças mesmo sem o tratamento com antibióticos, o que corrobora a importância da sua caracterização e análise.

Por fim, tivemos resultados significativos relacionados aos imunofenótipos que ainda precisamos testar nos animais tratados com antibióticos.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos aos nossos colaboradores e aos órgãos de fomento que nos contemplam e incentivam, CNPq, Faperj, Fopesq UFF e Fundação do Câncer.





Ciências Biológicas

PESQUISA DE PARASITOS GASTROINTESTINAIS COM ÊNFASE NOS PROTOZOÁRIOS CILIADOS EM MATERIAL BIOLÓGICO DE *TAPIRUS TERRESTRES* CATIVOS E EM VIDA LIVRE

Breno Torres da Silva ¹; Camila Souza Carvalho Class ¹; Elan Cardozo Paes de Almeida ²; Laís Lisboa Corrêa ¹; Laís Verdan Dib ¹; Alynne da Silva Barbosa ¹

1. Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Instituto Biomédico, Laboratório de Parasitologia.
2. Departamento de Ciências Básicas, Instituto de Saúde Nova Friburgo.

INTRODUÇÃO:

Ao longo dos anos a fauna de mamíferos brasileiros vêm diminuindo se destacando nesse preocupante cenário *Tapirus terrestris*, conhecida como anta. No estado do Rio de Janeiro a anta foi extinta em 1914 e sua reintrodução se iniciou em 2017 na Reserva Ecológica de Guapiaçu (REGUA). Dentre as diferentes causas de redução da fauna silvestre inclui-se as infecções por parasitos, ainda pouco estudadas nesses animais. Mediante o exposto, este estudo teve como objetivo pesquisar parasitos gastrintestinais em fezes de antas com ênfase no Grupo Ciliophora. Entre 2023 e 2024 foram coletadas 37 amostras fecais de antas mantidas sob cuidados humanos e em vida livre. Dessas, 17 foram obtidas de antas mantidas em cinco Instituições do Rio de Janeiro e São Paulo e 20 foram de antas da REGUA. As fezes foram coletadas do assoalho dos recintos, nas trilhas e de cadáver. No laboratório as amostras foram submetidas a exames parasitológicos microscópicos incluindo o exame direto e as técnicas de Ritchie modificada, Lutz e Sheather modificada e

aquelas que apresentaram formas do Grupo Ciliophora foram inoculadas em meio de cultivo Pavlova. Os isolados foram submetidos a análise molecular com o alvo ITS1.5.8S.ITS2 de protistas ciliados. Aqueles que não foram isolados *in vitro*, a análise molecular foi realizada do DNA extraído do material fecal. As fezes obtidas nas trilhas da Reserva também foram submetidas à confirmação da espécie hospedeira por meio de análises moleculares com o gene *coi*.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Ao todo 72,9% das amostras foram positivas para parasitos, sendo o Grupo Ciliophora o mais identificado. Também foram detectados oocistos de coccídios, ovos de estrongilídeos e larva de nematoide. Das 15 amostras no qual foi possível isolar os trofozoítas ciliados *in vitro*, todas apresentaram produtos amplificados na reação em cadeia da polimerase. Ademais, cinco amostras que tiveram o DNA extraído das fezes também apresentaram produtos amplificados. As 20 sequências nucleotídicas geradas foram interpretadas como *Balantioides*

coli. Destas, 11 foram classificadas como A0, 8 B0 e uma mista. Os padrões de sequências de *B. coli* A0 e B0 foram identificadas em material de antas que estão sob cuidados humanos e em vida livre no Rio de Janeiro, no entanto apenas o tipo A0 foi caracterizado nas amostras de São Paulo. Cabe ressaltar que *B. coli* é um parasito zoonótico, sendo os suínos os principais reservatórios. A variante A0 já foi identificada em seres humanos e nestes hospedeiros as infecções disentéricas determinadas por *B. coli* são graves.

CONCLUSÕES:

Por fim por meio deste estudo foi possível confirmar de forma pioneira que a anta no Brasil, especificamente nos estados do Rio de Janeiro e São Paulo, pode ser mais um hospedeiro para o protozoário zoonótico *B. coli*, atuando como mais um reservatório desse parasito em ambiente silvestre. No entanto, mais estudos são necessários para avaliar e confirmar a colonização desse protozoário no trato intestinal desse hospedeiro e verificar as possíveis manifestações clínicas que podem estar associadas nesta infecção.

AGRADECIMENTOS:

Gostaríamos de agradecer a colaboração das Instituições que colaboraram neste estudo e que permitiram a coleta de amostras fecais das antas.

Imagem 1: Imagem PIBIC





Grande área do conhecimento: Ciências biológicas

TÍTULO DO PROJETO: AVALIAÇÃO DA VIRULÊNCIA DE CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI* ENTEROPATOGÊNICA ATÍPICA (AEPEC) ISOLADA DE CÃES NA INTERAÇÃO COM *GALLERIA MELLONELLA*, *ACANTHAMOEBA CASTELLANII* E LINHAGENS CELULARES CACO-2 E T84.

Autores: Yasmim G. Mesquita¹; Vanilda V. Kaufmann^{1,3}; André V. Barbosa¹; Simone C. P. Brito²; Andréa R. S. Baptista²; Ricardo L. D. Machado²; Helvécio C. C. Póvoa³; Aloysio M. F. Cerqueira¹.

Departamento/Unidade/Laboratório: ¹Instituto Biomédico /Departamento de Microbiologia e Parasitologia, /Laboratório de Enteropatógenos, Microbiologia de Alimentos e Veterinária-LEMA; ² Instituto Biomédico /Departamento de Microbiologia e Parasitologia/Centro de Investigação de Microrganismos; ³Instituto de Saúde de Nova Friburgo/Laboratório de Microbiologia Experimental e Aplicada

INTRODUÇÃO:

Escherichia coli enteropatogênica atípica (aEPEC) possui grande importância como agente causador de diarreia, sendo sua presença caracterizada em diversas espécies de animais. EPEC atípicas não produzem a fímbria BFP, característica nas EPEC típicas, fato que sugere a participação de outras adesinas, fimbriais e não fimbriais, podem ocorrer em cepas de aEPEC onde desempenhariam papel semelhante à BFP no processo de adesão e colonização das células epiteliais intestinais do hospedeiro. A demonstração da virulência e da adesão destas cepas é importante para a caracterização de seu potencial patogênico e, para isso, os modelos de interação *in vivo* com *G. mellonella* e *Acanthamoeba castellanii* e *in vitro* com as linhagens celulares Caco-2 e T84 são aplicáveis. No presente estudo foi avaliada a interação de três cepas aEPEC isoladas de cães, 21 e 47 (sorotipo O51:H40) e 77

(O117:H40), positivas para os genes codificantes de adesinas: *lpfA*, *ecpA* e *fimH*, com larvas de *G. mellonella* após inoculação intracelomática, tendo como parâmetros a taxa de sobrevivência das larvas e a contagem de hemócitos; o modelo de interação com *Acanthamoeba castellanii* tendo como parâmetros a associação e a invasão e sobrevivência; a interação com células Caco-2 e T84, tendo como parâmetros o fenótipo de aderência, ensaios quantitativos de invasão celular e índice de sobrevivência intracelular. Para fins comparativos foram incluídas uma cepa aEPEC de origem humana (O51:H40) e a cepa *E. coli* K12 (DH5α). Todos os testes nos três modelos propostos foram realizados ao menos em triplicata.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

As amostras foram cultivadas, a partir de estoques congelados a -20°C, em caldo tripticase soja (TSB) a 37°C sob agitação por 4

horas. O inóculo foi padronizado em tampão fosfato (PBS) até se obter uma suspensão bacteriana de 10^{-6} UFC/mL.

No modelo in vivo de *G. mellonella*, os ensaios de sobrevivência mostraram que, após 96h, as larvas inoculadas com a cepa 77 exibiram uma taxa de sobrevivência de 58%, que está dentro da faixa de 40 a 60%, sendo então, segundo o critério utilizado, caracterizada como de “virulência moderada”. As cepas H1, 21, 47 e DH5 α exibiram uma taxa de sobrevivência de mais de 60% (69%, 65%, 90% e 94%, respectivamente), portanto, foram caracterizadas como “baixa virulência” (Figura 1). Todas as cepas apresentaram queda na quantidade de hemócitos quando comparadas a larvas inoculadas apenas com PBS. No entanto, as cepas 77, 47 e 21 exibiram uma hemocitopenia mais acentuada que as cepas DH5 α e H1 (Figura 2).

Gráfico de sobrevivência da *Galleria* inoculadas com aEPEC

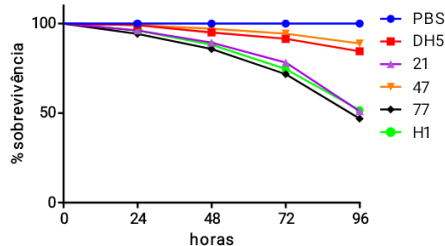


Figura 1: Sobrevivência de larvas de *G. mellonella* infectadas com cepas aEPEC.

Quantificação de hemócitos 24h após infecção da *Galleria* com aEPEC

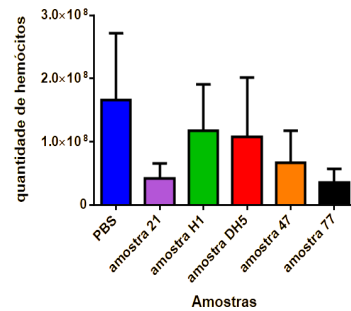


Figura 2: Contagem de hemócitos em larvas de *G. mellonella* infectadas com cepas aEPEC.

Através dos ensaios de associação às amebas a cepa 77 demonstrou a maior porcentagem, seguida das cepas 21 e H1. Ao contrário, a cepa 47 apresentou associação inferior ao da cepa DH5 α (Figura 3).

Figura 3: Percentual de associação de cepas aEPEC em *A. castellanii*.

Os ensaios de invasão demonstraram valores baixos em geral. A cepa 77 teve a maior taxa de invasão seguido das cepas 21, H1 e 47, com pequena variação entre elas. A cepa DH5 α apresentou valores de invasão similares a estas (Figura 4).

Figura 4: Percentual de invasão de cepas aEPEC em *A. castellanii*.

Os testes no modelo in vitro com as células T84 e Caco-2 mostraram que as amostras H1 e 21 apresentaram um fenótipo de aderência “localizada-like” (localized adherence-like; LAL) após 6h de interação em tapetes polarizados da linhagem intestinal T84. Nos ensaios com

tapetes confluentes da linhagem T84 as microcolônias só foram observadas nas regiões de borda ou quando há exposição da região basolateral das células (Figura 5).

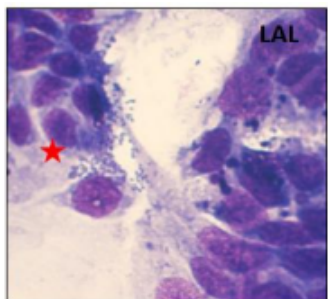


Figura 5: Imagem representativa, após coloração das células por solução de Giemsa, do fenótipo de aderência em células das linhagens T84 após 6h de incubação (cepa H1).

De acordo com os ensaios de invasão, a cepa H1 mostrou a maior taxa de invasão em células T84 e Caco2. Por outro lado, a cepa 77 também apresentou uma invasão considerável, embora menor que H1. As cepas 21, 47 tiveram taxas de invasão mais baixas. (Figuras 6 e 7).

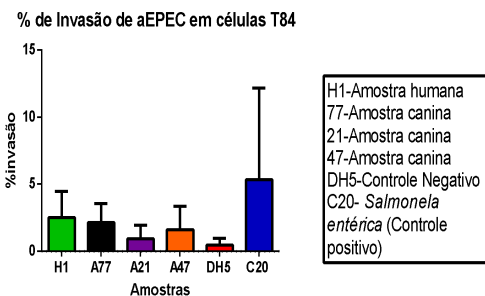


Figura 6: Percentual de invasão de cepas aEPEC em células T84

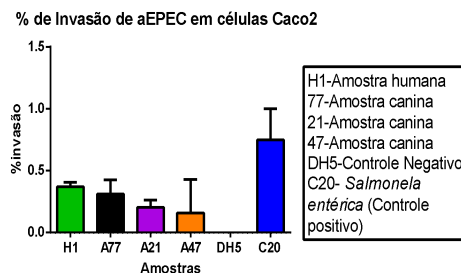


Figura 7: Percentual de invasão de cepas aEPEC em células Caco2.

CONCLUSÕES:

A virulência observada nos diferentes modelos biológicos foi variável, indicando que o comportamento patogênico das aEPEC pode depender do tipo de hospedeiro ou célula-alvo. No entanto, no conjunto geral a cepa 77 mostrou-se mais destacada, sendo considerada moderadamente virulenta no modelo de *G. mellonella*, apresentando os maiores valores de invasão em *A. castellanii*, e tendo desempenho levemente inferior a cepa H1 em células humanas. Já a cepa H1 apresentou baixa virulência em *G. mellonella*, contudo se destacou em associação e invasão em amebas e células humanas, Estes resultados sugerem que as características de virulência das cepas de *E. coli* podem ser específicas ao tipo de modelo biológico utilizado, refletindo a complexidade da interação entre o patógeno e o hospedeiro.

AGRADECIMENTOS:

CAPES, CNPq, Proppi/UFF.



Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas III

TÍTULO DO PROJETO: *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*: SUSCEPTIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS E BUSCA POR NOVAS OPÇÕES TERAPÊUTICAS

Autores: ELLEN KATY MINERVINO AGUIAR DOS SANTOS; FILIPE MARTIRE DE MIRANDA; FELIPE PIEDADE GONÇALVES NEVES; ALINE ROSA VIANNA DE SOUZA.

Departamento/ Unidade/ Laboratório: DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA E PARASITOLOGIA, INSTITUTO BIOMÉDICO (CMB), LABORATÓRIO DE COCOS GRAM-POSITIVOS.

INTRODUÇÃO

Streptococcus pneumoniae é um importante patógeno causador de pneumonia comunitária, meningite, otite média aguda e sinusite, acometendo principalmente crianças e idosos. Além disso, coloniza a nasofaringe de indivíduos saudáveis, sendo esta uma etapa essencial para o desenvolvimento de doença pneumocócica invasiva (DPI). A cápsula polissacarídica é essencial na virulência e permite a classificação deste microrganismo em mais de 100 sorotipos, sendo alguns associados a maiores índices de resistência à antimicrobianos. Altas taxas de não susceptibilidade à penicilina, por exemplo, vêm sendo detectadas entre cepas do sorotipo 6C, inclusive entre amostras de colonização. A emergência de pneumococos não susceptíveis a penicilina (PNSP), macrolídeos e até mesmo multirresistentes (MDR) é um fenômeno cada vez mais descrito, sendo PNSP e cepas resistentes a macrolídeos classificados como séria ameaça em relação a resistência aos antimicrobianos (RAM). Tal classificação deve-se ao alto custo do tratamento de DPI associado ao período prolongado de hospitalização nos casos de falhas terapêuticas. Além de alertar para a necessidade do desenvolvimento de novos antimicrobianos contra estas cepas. Nesse contexto a busca por novos antimicrobianos contra *S.pneumoniae* é imprescindível. Em vista disso, este estudo teve como objetivo caracterizar fenotipicamente

amostras de *S. pneumoniae* quanto à susceptibilidade a antimicrobianos de amplo uso na clínica, bem como caracterizar os genótipos de resistência à macrolídeos e lincosamidas. Além disso, padronizar uma metodologia de triagem de novas substâncias antimicrobianas (DP04, DP08, MA05, MA09, SC27, SC64, SC110 e SC266), assim como determinar as CIMs de um painel de 4 oximas recém-sintetizadas (SC27, SC64, SC110 e SC266). As substâncias avaliadas pertencentes a diferentes grupos químicos, incluindo oximas, triazóis e naftoquinonas, que tem reconhecida atividade antimicrobiana.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Dezoito cepas, pertencentes ao sorotipo 6C, isoladas da nasofaringe de crianças saudáveis residentes em Niterói-RJ, foram submetidas a teste de susceptibilidade antimicrobiana, por disco difusão. A não susceptibilidade à penicilina foi a mais relevante em nossa amostragem, sendo todas as amostras PNSP. Logo em seguida, os antimicrobianos para os quais foram detectadas as maiores taxas de não susceptibilidade foram: eritromicina (78%), clindamicina (67%) e tetraciclina (61%), respectivamente. Quanto à presença de genes de resistências aos macrolídeos e lincosamidas, 11 amostras (61,1%) apresentaram o gene *ermB*, 2 amostras apresentaram somente o gene *mefA/E*

(11,1%) e apenas 1 amostra (5,6%) possuía ambos os genes. Nenhuma amostra apresentou o gene *ermA*. Apenas 4 amostras sensíveis (22,2%) não possuíam nenhum dos genes. Tais dados alertam para a importância do monitoramento da circulação de pneumococos resistentes no município de Niterói, RJ, tendo em vista a detecção de taxas significativas de resistência à penicilina e macrolídeos.

A triagem inicial da atividade antimicrobiana das novas substâncias foi realizada pelo método de difusão em ágar (0,1 e 1 mg/mL), utilizando uma cepa clínica MDR representativa e uma cepa de referência. Todas as substâncias exibiram atividade antimicrobiana moderada a 1mg/mL, (10-20mm), para todas as substâncias avaliadas. Pelo potencial exibido durante o teste de triagem, todas as oximas foram submetidas à avaliação da concentração inibitória mínima (CIM) por diluição em ágar. *S. pneumoniae* foi completamente inibido por concentrações variando entre 256 e 1024 µg/mL, dependendo da substância avaliada (SC27: 512 µg/mL-1024 µg/mL; SC64: 512 µg/mL; SC110: 256-512 µg/mL; SC266: 1024 µg/mL), sendo a SC110 a que apresentou menor CIM (Figura 1).

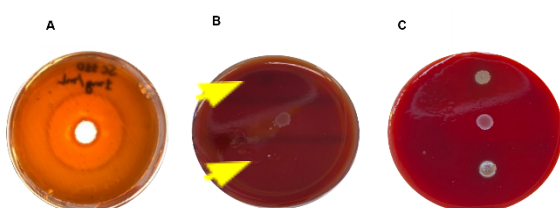


Fig 1. Atividade antimicrobiana de SC110. **A.** Difusão em ágar (1 mg/mL). **B e C.** Diluição em ágar (256 µg/mL). **C.** Controle de crescimento—*S.pneumoniae* (linhas 1 e 3); *S.agalactiae* (meio) . As setas indicam a inibição das amostras de *S.pneumoniae*.

Tendo em vista a escassez de novos antimicrobianos, este resultado demonstra interessante potencial antimicrobiano destas substâncias contra pneumococos, já que modificações estruturais podem potencializar sua atividade, bem como futuramente pode ser avaliado o uso sinérgico com antimicrobianos de amplo uso, constituindo assim importantes candidatos para desenvolvimento de novas opções terapêuticas com atividade anti-pneumocócica.

CONCLUSÕES:

Nossos resultados demonstram altos níveis de não susceptibilidade aos principais antimicrobianos utilizados na clínica para o tratamento das infecções pneumocócicas, especialmente penicilina e macrolídeos/lincosamidas, sendo esta última associada predominantemente ao gene *ermB*. Tendo em vista a detecção de taxas significativas de resistência entre *S.pneumoniae* circulantes em Niterói/RJ, nosso estudo também apresenta uma importante solução: foi capaz de padronizar um ensaio simples para detecção rápida do potencial antimicrobiano de novas substâncias antimicrobianas aplicável a *S. pneumoniae*. Todas as substâncias (oximas, triazóis, naftoquinonas) testadas apresentaram potencial de ação moderado contra *S. pneumoniae*, com CIMs entre 256 e 1024 µg/mL, dependendo da substância avaliada. SC110 foi a substância com maior atividade antimicrobiana contra *S.pneumoniae*.

AGRADECIMENTOS:

À Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação (PROPPi-UFF) e às agências de fomento CNPq e FAPERJ.





Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas

TÍTULO DO PROJETO: EFEITO DO EXERCÍCIO FÍSICO NAS VIAS ANTI-INFLAMATÓRIA E ANTIOXIDANTE EM CÉLULAS DA RETINA E DO FÍGADO DE RATOS ADULTOS SUBMETIDOS AO ESTRESSE CRÔNICO VARIADO.

Autores: Araujo, M.C.R., Santos, L.C., Monnerat, J.A.S., Teixeira, G.F., Lucchetti, B.B., Mentzinger, J, Rocha, H.N.M., Nóbrega, A.C.L., Rocha, N.G., Medeiros, R.F., Santos, A.A.

Departamento/Unidade/Laboratório: Departamento de Fisiologia e Farmacologia/Instituto Biomédico/Laboratório de Interações Neuroquímicas.

INTRODUÇÃO:

A inflamação prejudica o funcionamento do Sistema Nervoso e pode aumentar a vulnerabilidade desse sistema a doenças neurodegenerativas, infecções, lesões, estresse e envelhecimento. Embora a inflamação seja uma resposta eficaz para manter a homeostase, em níveis exacerbados, ela torna-se prejudicial.

O estresse é uma resposta do organismo a estímulos perigosos e pode resultar de várias fontes, como fatores ambientais, psicológicos ou fisiológicos. Quando a situação persiste, o estresse pode resultar em um perfil inflamatório crônico. O estresse crônico pode induzir inflamação tanto no sistema nervoso central quanto em tecidos periféricos. Estudos demonstraram que o estresse oxidativo induzido por estresse psicológico crônico causa danos teciduais no cérebro e fígado de ratos, aumenta a taxa de metástase hepática em câncer de cólon e reduz a ativação de vias antioxidantes no fígado.

Diante disso, é importante buscar alternativas para reduzir a inflamação crônica. A prática de atividade física já é reconhecida na

literatura como um método eficaz em reduzir a inflamação sistêmica, além de ser um fator de proteção contra várias doenças inflamatórias. É sabido que o exercício aeróbio influencia a plasticidade neural e o estado inflamatório do cérebro em doenças crônicas, reforçando as vantagens da prática de exercícios para atenuar a inflamação neural e sistêmica. Uma das formas de controlar o quadro inflamatório é através da regulação de fatores de transcrição envolvidos na via inflamatória, como o Fator Nuclear Kappa B (NFkB) e o Fator Nuclear Eritróide 2 Relacionado ao Fator 2 (Nrf2), que modulam respectivamente a transcrição de citocinas inflamatórias e de enzimas antioxidantes. Estudos já mostraram que o exercício é capaz de modular a expressão de NRF2 e NFkB.

Nosso objetivo é verificar se estresse crônico variado aumenta a inflamação na retina, que faz parte do sistema nervoso central, e no fígado, tendo repercussão periférica. Avaliaremos também se o exercício físico pode ter um papel anti-inflamatório nesta situação.

Utilizamos ratos machos adultos da linhagem Wistar, que foram submetidos ao estresse crônico variado durante 8 dias consecutivos. Após quatro dias, foi iniciado um protocolo de exercício aeróbio, de moderada intensidade, com duração de 30 minutos e frequência de cinco vezes por semana, em um total de 60 dias. Os animais foram divididos em quatro grupos aleatórios, sendo eles: Controle (CT), grupo submetido somente ao exercício (CT_EX), grupo submetido ao estresse crônico variado (ECV) e grupo submetido ao estresse e ao exercício (ECV+EX).

Após a eutanásia dos animais, as retinas e o fígado foram retirados. Após a obtenção das amostras, a proteína foi dosada e a identificação das proteínas de interesse (NFkB e Nrf2) foi realizada pelo método de western Blot.

A análise estatística foi realizada utilizando one-way ANOVA e post-test de Tukey. O projeto foi aprovado pela CEUA- UFF nº 5868211118.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Nossos resultados demonstraram que o estresse crônico variado aumenta os níveis de NFkB na retina, porém o treinamento aeróbio não foi capaz de reverter esse efeito (CT=0,031±0,003; CT-Ex=0,046±0,013; ECV=0,279±0,114; ECV+Ex=0,158±0,055, n=4-7). Não houve diferença significativa sobre os níveis do Nrf2 na retina nas condições avaliadas (CT=0,056±0,014; CT-Ex=0,11±0,039; ECV=0,072±0,040; ECV+Ex=0,051±0,021; n=3-5).

Nas amostras de fígado foi observado que o exercício físico aumenta os níveis de Nrf2 tanto em relação aos animais controle quanto aos animais submetidos ao estresse crônico variado (CT=0,164±0,019; CT-Ex=0,398±0,007; ECV=0,20±0,006; ECV+Ex=0,498±0,086; n=3).

Nossos resultados sugerem que o estresse crônico variado ativa uma importante via inflamatória na retina, representado pelo fator de transcrição NFkB. Nosso próximo objetivo é avaliar se essa mesma via é ativada no fígado, para verificar se a resposta inflamatória estaria sendo induzida de forma sistêmica.

Outro ponto a destacar é que embora não haja aumento nos níveis do Nrf2 na retina nos animais submetidos ao exercício físico, experimentos futuros são necessários para avaliar a translocação deste fator de transcrição para o núcleo, o que indicaria sua atividade.

No fígado, os resultados sugerem ativação da via antioxidante promovida pelo protocolo de exercício físico. Esse aumento observado em relação aos animais submetidos ao protocolo de estresse pode sugerir um importante fator protetor, controlando a inflamação. Sabe-se que a inflamação exacerbada é resultado de um aumento na produção de citocinas inflamatórias e/ou uma diminuição nas defesas antioxidantes.

CONCLUSÕES:

Nossos resultados sugerem que o estresse crônico variado ativa uma via inflamatória na retina, e que o protocolo de exercício físico aeróbio aplicado neste trabalho não foi capaz de reverter essa ativação. Na retina, não houve

alteração na via antioxidante induzida pelo estresse ou pelo exercício físico. No entanto, observou-se no fígado um potencial efeito protetor do exercício físico, evidenciado pelo aumento nos níveis de Nrf2, e essa proteção antioxidante se manteve mesmo na condição do estresse.

AGRADECIMENTOS:

Agradecemos ao apoio técnico de Renan de Souza Lima e Gustavo Mataruna da Silva.





Grande área do conhecimento

AVALIAÇÃO DO SISTEMA ADENOSINÉRGICO NOS EFEITOS DO RESVERATROL CONTRA A MORTE INDUZIDA POR ESTRESSE 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:

As espécies reativas de oxigênio, quando não metabolizadas corretamente pelos sistemas antioxidantes celulares, podem causar danos ao DNA, peroxidação lipídica, oxidação proteica e morte celular. O desequilíbrio entre a produção de radicais livres e os antioxidantes leva ao estresse oxidativo (EO), uma condição que afeta especialmente o tecido nervoso devido ao alto consumo de oxigênio e seu conteúdo lipídico. O EO está relacionado à patogênese de várias doenças neurodegenerativas.

O resveratrol é um polifenol encontrado em frutas e vegetais como uvas e amendoins, e estudos demonstraram seus benefícios antioxidantes, anti-inflamatórios, neuroprotetores e anticancerígenos. Ele é eficaz contra doenças neurodegenerativas como Alzheimer e obesidade, e também reduz marcadores de inflamação e estresse oxidativo no sistema nervoso. Além disso, o resveratrol pode ativar NRF2 e SIRT1, regulando a biogênese mitocondrial, defesa antioxidante e resposta ao estresse celular em modelos de AVC isquêmico.

A adenosina é um neuromodulador do sistema purinérgico, presente no Sistema Nervoso

Central, que atua através de receptores A1, A2a, A2b e A3, regulando funções como transmissão sináptica e neuroproteção. Ela é liberada em resposta a neurotransmissores e ajuda na sobrevivência neuronal, prevenindo a excitotoxicidade do glutamato. O resveratrol pode influenciar o sistema adenosinérgico, modulando receptores e vias de sinalização, restaurando os receptores A1 e dessensibilizando os A2a, o que potencializa seu efeito neuroprotetor em modelos da doença de Alzheimer.

As MAP cinases são proteínas que promovem a sobrevivência e proliferação celular, inibindo a apoptose. No estudo, foi utilizado um inibidor da MEK, que fosforila a ERK, ativando-a e influenciando processos celulares associados. A Sir2 é uma deacetilase dependente de NAD conservada em várias espécies, e SIRT1 (Sir2alfa) é uma de suas variantes em mamíferos, que interage com fatores de transcrição e participa da tolerância ao estresse, diferenciação e desenvolvimento.

O objetivo do trabalho é investigar como o resveratrol pode modular vias envolvidas no estresse oxidativo e na morte celular induzida por peróxido de hidrogênio em culturas de neurônios da retina de galinha.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Culturas purificadas de neurônios foram obtidas a partir da retina de pinto 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 de inibidores da MEK (U0126), e da SIRT1 (Ex-527) e em C3 com H₂O₂. Em C4 foram realizados os testes de viabilidade celular segundo o protocolo do MTT ou a marcação para estresse oxidativo com DHE.

Em primeiro lugar, caracterizamos a morte e a marcação para estresse oxidativo ao longo do tempo para o H₂O₂ (10 μ M). Observamos o aumento do estresse oxidativo nas três primeiras horas, seguido de uma morte progressiva dos neurônios em cultura, em 12, 18 e 24h, o que acaba diminuindo a marcação de DHE.

Também avaliamos o potencial neuroprotetor do Resveratrol contra o estresse oxidativo. Foi observado que as células pré-tratadas com resveratrol apresentaram menor perda da viabilidade, quando comparadas com o grupo H₂O₂ 10 μ M, se equiparando com o controle.

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.

Também verificamos se o efeito neuroprotetor do resveratrol dependia do aumento extracelular de adenosina, através do inibidor dos transportadores equilibrativos de nucleosídeos, NBI (10 μ M). Não observamos diferença significativa na viabilidade na condição experimental NBI mais resveratrol + H₂O₂ em comparação com o grupo Resveratrol + H₂O₂, mas encontramos esse inibidor gerando uma tendência de proteção frente ao insulto sozinho, o que está em concordância com outro trabalho em que o inibidor do ENT1 preveniu morte celular em modelo de AVC isquêmico.

Por fim, avaliamos se o resveratrol protege as culturas contra a morte promovida pelo peróxido de hidrogênio através da modulação da via da ERK 1/2. Observamos que a utilização do inibidor da MEK, U0126, não causou efeito sobre a sobrevivência das células tratadas com Resveratrol e H₂O₂.

O inibidor da SIRT-1, EX-527, também não preveniu os efeitos neuroprotetores do polifenol, sugerindo que a SIRT1 não é modulada por esse composto em neurônios da retina de galinha.

CONCLUSÕES:

Os resultados indicam que o tratamento com Resveratrol tem um efeito neuroprotetor contra a morte neuronal induzida por H₂O₂, evidenciando que esse composto pode ser um potencial agente no tratamento de doenças retinianas. No entanto, a ação neuroprotetora do resveratrol não parece ser mediada pelos

receptores A1 ou A2a ou pelo aumento extracelular de adenosina. O resveratrol também parece não modular a via das proteínas MEK/ERK e da sirtuína 1 (SIRT1) em nosso modelo.

AGRADECIMENTOS:

PROPPI-UFF e CNPq





CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESTUDO DA PROTEÍNA PRECURSORA DO AMILOIDE E SEUS METABÓLITOS EM MODELOS DE ISOLAMENTO SOCIAL E ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL

MATHEUS QUELHAS CONDEIXA DA COSTA & ADRIANA DA CUNHA FARIA MELIBEU

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

INTRODUÇÃO:

A proteína precursora de amiloide (APP) é uma glicoproteína transmembranar conhecida por estar envolvida na fisiopatologia da doença de Alzheimer (DA) como fonte do peptídeo β -amiloide, que contribui para a neurodegeneração na doença. No entanto, a APP desempenha papéis fisiológicos em vários eventos celulares, como sinaptogênese e plasticidade sináptica. O metabolismo da APP envolve a clivagem proteolítica por secretases através das vias amiloide e não amiloide. Na via não amiloide, a clivagem enzimática sequencial leva à liberação de sAPP α , um fragmento solúvel com efeitos neurotróficos. Na via amiloide, temos a formação de sAPP β e do A β . Assim, a APP pode desempenhar um papel importante tanto na fisiologia sináptica quanto em processos patológicos. Os efeitos da solidão são considerados problemas de saúde pública, estando associados à depressão e sendo um fator de risco para a DA. Um dos modelos usados para simular os efeitos da solidão em laboratório é o protocolo de Isolamento Social (IS), um fator ambiental que pode causar déficits

cognitivos e emocionais. 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. Considerando que tanto o IS quanto o EA sejam capazes de alterar a circuitaria neuronal, e considerando que a APP e seus metabólitos desempenham papéis na organização do sistema nervoso, este estudo visa avaliar: se o IS e o EA podem modular os níveis de APP e seus metabólitos no hipocampo, área sensível ao estresse e, se o EA seria capaz de reverter ou atenuar alterações no comportamento e nos níveis proteicos avaliados após o IS.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Utilizamos ratos Lister-Hooded com idade p21 (CEUA nº 4901040522). Eles seguiram o protocolo de IS, sendo divididos em dois grupos: Isolados e Agrupados, e permaneceram isolados por 30 dias. Após tal período, o protocolo de EA foi implementado por 7 dias, e os animais foram divididos em quatro grupos:

Controle, Enriquecido, Isolado Controle e Isolado Enriquecido. Utilizamos o teste de campo aberto (CA) para quantificar o tempo gasto explorando diferentes zonas do labirinto e a técnica de Western blotting para análises neuroquímicas. Na análise de campo aberto, os grupos enriquecidos tiveram a sua locomoção modulada em relação aos outros grupos, o grupo IC demonstrou se locomover em média mais do que os outros grupos mostrando também alterações de locomoção a partir do isolamento ambiental sem enriquecimento e a capacidade do enriquecimento em modular o comportamento de volta ao padrão esperado. Nesse sentido, no reconhecimento de objetos o IC demonstrou ter uma capacidade significativamente menor de discriminar os objetos no teste em relação ao grupo enriquecido, mostrando modulações no comportamento a partir do isolamento social, que reduziu a capacidade de discriminação. Já o grupo do enriquecimento ambiental melhorou a sua capacidade de discriminação dos objetos no teste. Além disso, a partir das análises neuroquímicas desses animais pode-se perceber modulações da APP no hipocampo.

CONCLUSÕES:

Os resultados demonstram que o enriquecimento ambiental possui capacidade modulatória do comportamento exploratório, discriminação de objetos, memória, aprendizado. Além disso, o enriquecimento ambiental foi capaz de modular os níveis proteicos da APP total, APP solúvel e da enzima BACE em amostras extraídas do hipocampo,

sugerindo que os protocolos utilizados sejam capazes de alterar a circuitaria hipocampal envolvida com fenômenos plásticos.

AGRADECIMENTOS:

Agradeço à minha orientadora Adriana Faria Melibeu, assim como aos meus colegas do laboratório de Neurobiologia do Desenvolvimento e às agências de fomento Proppi UFF e CNPQ.

Imagem 1: Imagem





Ciências Biológicas

INVESTIGAÇÃO DAS AÇÕES DA MESOTERAPIA COM IOIMBINA EM CAMUNDONGOS

Autores: Christiano Thadeu de Souza Menezes, Stéphanie Christine Sinder Mello, Caroline Fernandes-Santos, Thereza Cristina Lonzetti Bargut.

Departamento de Ciências Básicas (FCB), Instituto de Saúde de Nova Friburgo (ISNF)

INTRODUÇÃO:

A mesoterapia, desenvolvida em 1952 pelo médico francês Michel Pistor para tratamento de dores e distúrbios vasculares, passou a ser utilizada como uma alternativa não-cirúrgica para eliminação dos depósitos de gordura localizada - a mesoterapia para gordura localizada (SIVAGNANAM, 2010). A ioimbina é uma das substâncias utilizadas na mesoterapia com o propósito de estimular a lipólise diretamente no depósito de gordura. Trata-se de um alcaloide extraído das cascas da *Pausinystalia yohimbe*, planta nativa da África, que atua como um bloqueador de receptores alfa-2 adrenérgicos (JABIR et al., 2022). Ademais, a ioimbina aumenta o nível sérico de epinefrina e norepinefrina, sendo usado há décadas como um vasodilatador para melhora de impotência sexual. Outra característica conhecida é seu potencial lipolítico, sendo utilizada em forma de pomada de ioimbina na cosmetologia para redução da gordura local (JAYASINGHE et al., 2013).

Portanto, o objetivo foi investigar os efeitos da ioimbina após uma única aplicação subcutânea em camundongos *Swiss* fêmeas.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Os animais foram divididos em três grandes grupos, que receberam uma única injeção subcutânea na região inguinal direita de 100 μ L de salina como controle ou ioimbina nas doses de 80 μ g (IO-80) ou 800 μ g (IO-800). Foram realizadas análises a partir da eutanásia 2h ou 24h após a intervenção.

Foram avaliados os seguintes parâmetros: massa corporal (MC), glicemia, colesterol total (CT), triglicerídeos (TG), glicerol, peso do tecido adiposo branco genital (TABg) e inguinal (TABi) e do tecido adiposo marrom (TAM), área da gotícula de lipídeos no TAM, TG no TAM, diâmetro dos adipócitos no TABi, densidade de volume (Vv) dos adipócitos brancos e beges presentes no TABi, imunomarcção para a proteína desacopladora 1 (UCP-1) e para a lipase hormônio-sensível (HSL).

Quando avaliada a MC pré vs pós aplicação, houve aumento no grupo IO-80-2h (+1,8%) e diminuição no grupo IO-800-24h (-3,8%) quando comparados com os mesmos grupos pré injeção. Em relação à glicemia pós intervenção, houve diminuição no grupo IO-800-2h em relação ao controle de mesmo tempo (-21%). Quando comparado pré vs pós aplicação, o grupo IO-800-2h teve uma diminuição da glicemia (-16%).

Na análise da bioquímica sanguínea, o CT foi menor no grupo IO-800-24h frente ao controle de mesmo tempo (-59%). Sobre TG, houve queda no grupo IO-800-24h comparando com IO-800-2h (-46%). Na dosagem de glicerol, o grupo IO-800-24h foi maior que o controle (+110%) e o IO-80-24h (+88%).

Nos dados morfológicos, o peso do TABg, do TAM e do TABi direito no grupo IO-80-24h foi menor que o IO-80-2h (-36%, -22% e -26%, respectivamente). O peso do TABi direito também reduziu no grupo IO-800-24h frente ao mesmo grupo em 2h (-35%) e houve um aumento do grupo IO-800-2h frente ao controle (+55%). Não houve diferença no peso do TABi esquerdo, nem no acúmulo de TG no TAM. Outro estudo com administração oral de ioimbina em ratos também encontrou redução da MC e do compartimento de gordura (DUDEK et al., 2015).

Quanto ao diâmetro dos adipócitos no TABi, o grupo IO-80-24h foi menor que o Sal-2h (-22%) e do que o mesmo grupo em 2h (-22%). A mesma diferença ocorreu com o grupo IO-800-24h frente ao Sal-24h, IO-80-24h e IO-800-2h (-58%, -44% e -53%, respectivamente). Além disso, IO-80-24h foi

menor que o Sal-24h (-24%) e o IO-80-2h (-34%).

Analisando o Vv dos adipócitos brancos presentes no TABi, o grupo IO-800-2h foi menor que o IO-80-2h. Já o Vv dos adipócitos beges no grupo IO-800-2h foi superior ao IO-80-2h, e no grupo IO-80-24h em relação ao mesmo grupo em 2h. A fim de confirmar a presença dos adipócitos beges, foi realizada a imunomarcação para UCP-1, que mostrou sua presença neste tipo de célula. Já foi demonstrado que a ioimbina é capaz de elevar a expressão gênica de UCP-1 *in vitro* (BISWAS, 2018). Não foram encontradas diferenças na imunomarcação de HSL.

CONCLUSÕES:

Uma única aplicação subcutânea de ioimbina foi capaz de alterar a massa corporal, glicemia, CT e TG sérico em camundongos. No local da injeção, a ioimbina foi capaz de diminuir o peso do TABi e o diâmetro dos adipócitos, além de estimular o surgimento de adipócitos bege. Apesar disso, nenhuma alteração foi vista na expressão de HSL. Conclui-se que o uso da ioimbina pode estimular o surgimento de adipócitos bege de maneira localizada, mas deve ser feito com cautela, sendo necessários mais estudos para entender de forma mais ampla a ação dessa substância no organismo.

AGRADECIMENTOS:

UFF (Chamada Fopesq 2022) e CNPq (Bolsa PIBIC/CNPq/UFF 2023/2024 #IC230278).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

BISWAS, H. M. Effects of α -(prazosin and yohimbine) and β -receptors activity on cAMP generation and UCP1 gene expression in brown adipocytes. **Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology**, v. 29, n. 5, p. 545–552, 25 set. 2018.

DUDEK, M. et al. A Comparison of the Anorectic Effect and Safety of the Alpha2-Adrenoceptor Ligands Guanfacine and Yohimbine in Rats with Diet-Induced Obesity. **PLoS ONE**, v. 10, n. 10, p. e0141327, 27 out. 2015.

JABIR, N. R. et al. A literature perspective on the pharmacological applications of yohimbine. **Annals of Medicine**, v. 54, n. 1, p. 2861–2875, dez. 2022.

JAYASINGHE, S. et al. Mesotherapy for local fat reduction. **Obesity Reviews**, v. 14, n. 10, p. 780–791, out. 2013.

SIVAGNANAM, G. Mesotherapy - The french connection. **Journal of Pharmacology & Pharmacotherapeutics**, v. 1, n. 1, p. 4–8, jan. 2010.





Grande área do conhecimento: Ciências da Saúde

TÍTULO DO PROJETO: AVALIAÇÃO DA AÇÃO ANTIPROLIFERATIVA DE EXTRATOS DE EUGENIA BRASILIENSIS FRENTE À LINHAGEM DE CÂNCER CERVICAL HELA.

Autores: Giovana Gerheim Fortes Vasconcellos de Oliveira, Aislan Cristina Rheder Fagundes Pascoal

Departamento/Unidade/Laboratório: Departamento de Ciências Básicas/Instituto de Saúde de Nova Friburgo/Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais e Moléculas Bioativas.

INTRODUÇÃO:

O câncer cervical é causado pela infecção persistente por tipos oncogênicos do Papilomavírus Humano – HPV, sendo os tipos 16 e 18 os mais predominantes. No Brasil, se excluído o câncer de pele não melanoma, é o terceiro mais incidente nas mulheres e quarta maior causa de morte por câncer dessa população, além de ser o segundo mais diagnosticado na população feminina no mundo.

O tratamento em fase inicial da doença é feito com intervenção cirúrgica, sendo empregado o uso de quimioterapia e radioterapia para casos mais avançados. Porém, os quimioterápicos também são tóxicos para células não tumorais, o que leva à ocorrência de efeitos adversos, e as células cancerosas desenvolvem mecanismos de resistência aos medicamentos comumente utilizados, o que causa a redução de sua eficácia para o tratamento. Assim, é necessário que seja feita a busca por novos compostos com efeito anticâncer.

Os produtos naturais são de grande contribuição na busca de novos medicamentos para o tratamento de diversas doenças. Nesse

sentido, tem-se que, de 1981 a 2019, dos medicamentos aprovados pela *Food and Drug Administration* (FDA), 49,5% são produtos naturais ou têm sua fórmula derivada desses.

A *Eugenia brasiliensis* é uma planta nativa da Mata Atlântica brasileira pertencente à família das Myrtaceae. Estudos anteriores indicam propriedades anti-inflamatórias, antimicrobianas, antioxidantes e antifúngicas presentes nessa espécie. A ação antioxidante da planta possivelmente está associada à grande presença de compostos secundários fenólicos e carotenoides que já foram identificados, como quercetina, apigenina, cianidina, all-trans- β -criptoxantina e all-trans-luteína.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Os extratos obtidos das folhas de *E. brasiliensis* (EBD e EBAE) foram testados frente à linhagem de câncer cervical HeLa para avaliação da viabilidade celular após o tratamento. A partir disso, foram obtidos os valores de IC50 para cada amostra, sendo respectivamente: 31,03 $\mu\text{g/mL}$ e 57,67 $\mu\text{g/mL}$. A Doxorubicina (DOXO) e a Carboplatina (CARBO) foram usadas como controle, por serem medicamentos já utilizados

no tratamento de câncer, e obtiveram como respectivos IC50 os valores de 0,47 µg/mL e 52,45 µg/mL.

Posteriormente, foram feitos testes dos extratos frente à linhagem de células não tumorais de fibroblasto (NIH-3T3) para a análise da seletividade celular das amostras. Foram obtidos os seguintes IC50: 32,27 µg/mL (EBD); 92,70 µg/mL (EBAE); 0,78 µg/mL (DOXO) e 69,50 µg/mL (CARBO). A partir disso, com a razão entre os valores de IC50 frente à HeLa e NIH-3T3, foi calculado o índice de seletividade (IS) para cada amostra, que deve ser idealmente acima de 2, apresentando, assim, maior seletividade para as células tumorais. Os valores obtidos para EBD, EBAE, DOXO e CARBO foram respectivamente: 2,30; 2,46; 1,65 e 1,32.

Foram realizados ensaios para a quantificação de fenólicos totais e flavonoides presente nas amostras. Os resultados obtidos demonstram uma elevada concentração desses compostos nas amostras, sendo, $144.38 \pm 16,17$ µgAGE/mg (EBD); $93.48 \pm 9,72$ µgAGE/mg (EBAE) para compostos fenólicos e $32.45 \pm 4,27$ µgQE/mg (EBD); $24.24 \pm 1,73$ µgQE/mg (EBAE) para flavonoides. Esses compostos secundários são apontados como prováveis responsáveis pelo potencial antiproliferativo das plantas e, como analisado, estão em maior quantidade na amostra que apresenta o menor IC50, sendo assim, condizente com a literatura atual.

O ensaio de migração celular foi feito apenas com a amostra EBD, que apresentou melhores resultados. Para a obtenção dos dados, foram feitos riscos nos poços na placa de cultivo com

as células HeLa e foi analisada a sua migração 0, 12, 18 e 24 horas após o tratamento com a amostra em duas diferentes concentrações (EBD6 e EBD5). A porcentagem de área livre de migração nos tempos T1, T2 e T3 foram respectivamente: 70,50 %; 68,36 % e 66,94 % para EBD6 e 63,00 %, 56,87 % e 57,14 % para EBD5. A Doxorrubicina foi utilizada como controle e não apresentou diferença estatística significativa quando comparada com o controle negativo. Pelos dados, é possível analisar que a amostra foi capaz de inibir a migração das células no risco feito.

O experimento de citometria de fluxo foi feito para a análise da parada de ciclo celular pela amostra aplicada. Como resultados, foi obtido que, em fase G0/G1, estavam 63,26% das células tratadas com a amostra EBD, 58,80% de células do controle negativo e 43,71% das tratadas com DOXO. Isso indica que a amostra leva à parada do ciclo celular na fase G0/G1, na qual ainda não ocorreu a divisão celular.

CONCLUSÕES:

Os resultados obtidos da pesquisa apontam o potencial antiproliferativo dos extratos da *Eugenia brasiliensis*. A fração diclorometano (EBD) se apresentou como a mais promissora, com maior toxicidade contra as células tumorais HeLa, assim como maior presença de compostos fenólicos e flavonoides. Além disso, seu índice de seletividade é considerado ideal e a amostra é capaz de inibir a migração celular e causar a parada do ciclo celular da linhagem tumoral utilizada.

AGRADECIMENTOS: O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de

Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Universidade Federal Fluminense (UFF), Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (Faperj) e Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (Pibic).



Imagem 1: Imagem
PIBIC



Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas

**Título do Projeto: PROJETO DE CIÊNCIA CIDADÃ DO
BARRACUDAS DE NORONHA**

Autores: Leonardo Rafalski e Carlos Eduardo Leite Ferreira

**Departamento/Unidade/Laboratório: Departamento de
Biologia Marinha, Instituto de Biologia, Laboratório de**

Ecologia e Conservação dos Ambientes Recifais

INTRODUÇÃO:

As barracudas são peixes predadores que se alimentam principalmente de peixes e estão em um nível elevado na cadeia trófica, realizando a regulação das populações de níveis tróficos inferiores. Em Fernando de Noronha, essa espécie (*Sphyaena barracuda*) agrega valores tanto como recurso pesqueiro importante, como espécie icônica para o mergulho contemplativo. Uma característica marcante da barracuda é a presença de padrões únicos de manchas laterais, sendo característica acurada para diferenciação de indivíduos. O Projeto “Barracudas de Noronha” (@barracudas_de_noronha) tem como objetivo utilizar a fotoidentificação dessas marcas naturais de indivíduos de barracudas (*S. barracuda*), para entender fidelidade de sítios e contribuir para o monitoramento populacional da espécie no Arquipélago de Fernando de Noronha.

Essa ilha oceânica brasileira, descoberta em 1503, vem sofrendo grande pressão antropogênica nas últimas décadas principalmente por conta do aumento do turismo. Tendo em vista que estamos imersos na década dos Oceanos (2021 – 2030), um desafio constante é envolver a sociedade na resolução das questões ambientais. Uma estratégia interessante pode ser a ciência cidadã, que consiste em uma parceria entre o meio científico e não cientistas, que podem participar de maneira ativa nas variadas pesquisas acadêmicas, incluindo a coleta de dados, também conhecida como ciência cidadã contributiva. Nesse contexto, por meio de uma iniciativa de ciência cidadã, o Projeto Barracudas de Noronha buscou envolver a comunidade local e visitantes na captação de imagens de barracudas em diferentes localidades do arquipélago. As fotos enviadas foram avaliadas quanto ao padrão de qualidade (resolução e posicionamento) e inseridas no banco de dados do projeto. Posteriormente, foram analisadas com o software I³S-Spot,

muito utilizado para análise e comparação de marcas naturais de indivíduos.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Até o momento, o banco de dados possui 243 laterais de barracudas (126 direitas e 117 esquerdas, ou seja, no mínimo 126 indivíduos diferentes) e 8 indivíduos foram re-identificados pelo menos uma vez durante 1 ano e 3 meses de análise. O intervalo de tempo entre as reavistamentos variou de 2 a 296 dias, com múltiplos períodos de reavistamento para alguns indivíduos, sendo que todas as barracudas reavistadas estavam muito próximas (0,0 a 0,1 Km) do local onde foram primeiro registradas, indicando um potencial de fidelidade de sítios para o arquipélago. Contudo, a quantidade de fotos recolhida de cada ano e de cada ponto foi altamente desigual, não colaborando para uma melhor exatidão dos resultados de fidelidade, visto que a maioria das barracudas presentes no banco de dados não foi reavistada, o que pode indicar maior movimento, pressão da pesca ou apenas lacunas de informações (falta de fotos).

CONCLUSÕES:

As barracudas são predadoras ágeis e muito abundantes no Arquipélago de Fernando de Noronha. Por meio de uma iniciativa de ciência cidadã, o Projeto Barracudas de Noronha coletou um número significativo de imagens das laterais desses peixes com uma amplitude espacial e temporal que apenas uma metodologia com colaboração de múltiplos

agentes permitiria, a fim de monitorar a população de barracudas e avaliar uma possível fidelidade de sítios. Para evidenciar uma fidelidade de sítios mais exata ainda será preciso a coleta de mais dados, pois obtivemos diversos anos com amostragens altamente divergentes. Contudo, as barracudas que foram reavistadas indicaram um certo grau de residência aos sítios, ocorrendo nas mesmas localidades onde foram primeiro registradas. Dessa forma, é necessário conquistar cada vez mais a participação de mais cientistas cidadãos, a fim de preencher as lacunas de informações acerca do movimento dos indivíduos não reavistados no nosso banco de dados ao longo dos anos.

AGRADECIMENTOS:

Agradecemos a todos os cientistas cidadãos de Fernando de Noronha que contribuíram e continuam contribuindo com as imagens das barracudas, sem sua ajuda o projeto não seria possível. Agradecemos também o ONDA ILOC e PIBIC UFF



Imagem 1: Imagem PIBIC