



# CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

REVISTA PIBIC 2020



**Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas**

**Título do Projeto: MODULAÇÃO DO SISTEMA ENDOCANABINÓIDE COMO PERSPECTIVA DE ABORDAGEM TERAPÊUTICA PARA TRATAMENTO DE RETINOSE PIGMENTAR**

**Autores: Beatriz de Almeida Wagner, Daniella Senos Lopes, Lucianne Fragel Madeira.**

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

## **INTRODUÇÃO:**

A retinose pigmentar (RP) é uma doença heterogênea de caráter hereditário, de alta incidência, que atinge gradualmente os fotorreceptores. A grande quantidade de mutações em genes diferentes dificulta a criação de um tratamento abrangente, principalmente na área da terapia gênica (Sancho-Pelluz e cols, 2008). Em humanos, o primeiro sintoma é um prejuízo na visão noturna e a perda da visão periférica, levando a chamada “visão túnel”, o sintoma mais tardio é a perda da visão central, o que pode ser explicado devido ao gradiente de degeneração periferia-centro dos fotorreceptores. O termo “pigmentar” refere-se ao fato de que, em estágios avançados, é possível notar a presença de depósitos de melanina na retina, oriundos do epitélio pigmentar e são chamados de espículas ósseas (Milam e cols., 1998).

As intervenções terapêuticas utilizadas na retinose pigmentar vem apresentando resultados promissores. Porém, ainda é

perceptível que os tratamentos não conseguem impedir por completo a morte dos fotorreceptores. Nossa aposta farmacológica é a modulação do sistema endocanabinóide com a intenção de prevenir ou, pelo menos, atrasar o início da morte celular dos fotorreceptores.

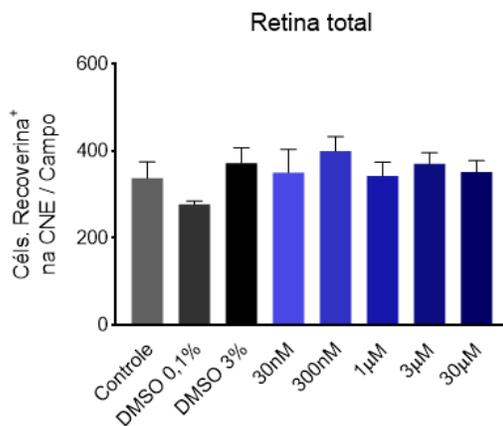
O uso de canabinóides no tratamento de retinopatias vem aumentando ao longo do tempo, porém, na área da RP o seu uso é bastante recente (Lax e cols, 2014). Dados prévios do nosso grupo utilizando o camundongo rd10, que é um modelo animal de RP, mostraram que o tratamento intraperitoneal com o inibidor da FAAH aumentou o número de fotorreceptores e a área da camada nuclear externa, possivelmente causando um efeito neuroprotetor nestas células. Através de western blotting de extratos proteicos de retina total observamos que a expressão da FAAH apresentou uma tendência a estar elevada no camundongo rd10 em comparação com o fundo genético C57Bl/6, que não apresenta a degeneração. A partir destes resultados sugerimos que as alterações na expressão da FAAH no camundongo rd10 podem estar

relacionadas ao progresso da degeneração dos fotorreceptores.

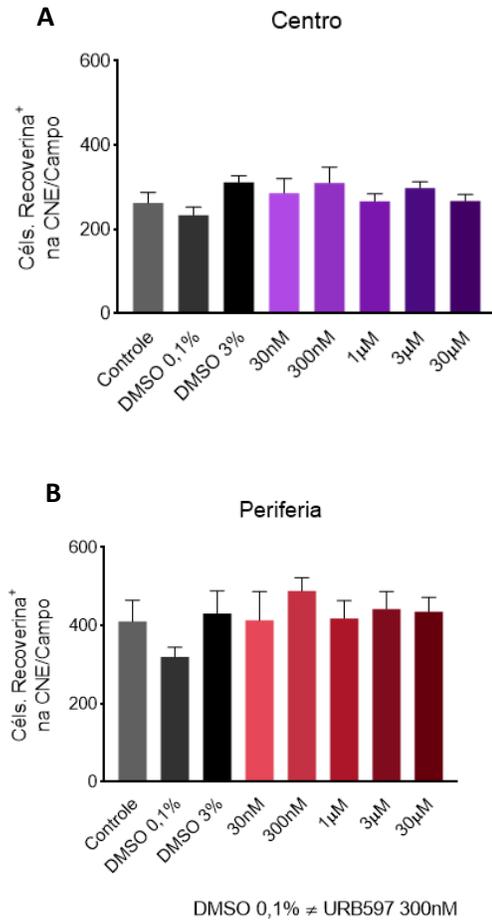
Desta forma, nosso trabalho visa uma intervenção terapêutica precoce, na qual em períodos anteriores a degeneração retiniana, o uso de moduladores canabinóides pode atrasar o início da morte celular dos fotorreceptores.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Com o objetivo de verificar se o inibidor da FAAH era capaz de salvar os fotorreceptores da morte, aplicamos o colírio com URB597 em diferentes concentrações, realizamos imunofluorescência para recoverina e analisamos os efeitos tanto na retina total quanto dividindo-a em centro e periferia. Como resultados temos que, em ambos os casos, a aplicação do fármaco não resultou em nenhum efeito significativo na preservação dos fotorreceptores.



**Figura 1.** A aplicação do colírio contendo URB597 na retina total, nas concentrações indicadas, não é capaz de alterar o número de fotorreceptores com relação ao controle. N=4



**Figura 2.** (A) Análise do centro da retina. (B) Análise da periferia da retina. A aplicação do colírio contendo URB597 também não teve efeito significativo no número de células da camada de fotorreceptores. N=4

Resultados prévios do nosso grupo demonstraram que o tratamento, seja com injeção intraperitoneal ou intravítrea, do URB597 possui efeito neuroprotetor e preserva os fotorreceptores nos camundongos rd10. Porém, o tratamento com o colírio não apresentou o mesmo resultado. Desta forma, acreditamos que a aplicação do fármaco na forma de colírio não foi capaz de atingir a camada nuclear externa da retina, onde residem os fotorreceptores.

## **CONCLUSÕES:**

O uso do inibidor seletivo da enzima FAAH, URB597, na forma de colírio não foi capaz de alterar o número de fotorreceptores da retina. Com esses resultados, poderemos pensar em outras formulações ou concentrações para verificar a eficácia do tratamento com colírio.

## **AGRADECIMENTOS:**

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001; do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); e da Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ).



**Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas**  
**ESTUDO DO METABOLISMO DA GLICOSE NO ESTRIADO DE**  
**MODELO MURINO DA DOENÇA DE PARKINSON**

**Jonathan Mendes da Silva<sup>1</sup>, Lucas Tadeu de Andrade Almeida<sup>1</sup>,  
Lívia de Sá Hayashide<sup>1</sup>, Wagner Seixas da Silva<sup>2</sup>, Manuel  
Gustavo Leitão Ribeiro<sup>1</sup>**

**<sup>1</sup>Departamento de Biologia Celular e Molecular / Instituto de  
Biologia / Laboratório de Bioquímica das Interações, <sup>2</sup>Instituto de Bioquímica Médica,  
UFRJ**

### **INTRODUÇÃO:**

A Doença de Parkinson (DP) é a segunda doença neurodegenerativa mais comum. A maior frequência desta doença é na terceira idade, onde os indivíduos homens deste grupo são os mais acometidos. Os sintomas motores da DP são: tremor, rigidez, bradicinesia e distúrbios de marcha e alteração dos reflexos posturais. Já os sintomas não motores são: deficiências cognitivas, como atenção, memória, habilidade viso-espacial e depressão. Acredita-se que os sintomas da DP são derivados da depleção de neurônios dopaminérgicos na substância nigra, que pode ocorrer por disfunções celulares como o acúmulo de alfa-sinucleína gerando os corpos de Lewis.

#### **Metabolismo energético na DP**

O metabolismo de glicose e lactato na DP estão alterados, ocorrendo uma diminuição do metabolismo de glicose e aumento do metabolismo de lactato e piruvato. Mesmo sendo normal o aumento de produção de lactato em estriado e córtex no envelhecimento, na neurodegeneração essa produção é maior,

assim como a atividade da lactato desidrogenase, enzima responsável na conversão de piruvato em lactato. A isoforma lactato desidrogenase 5 favorece a formação de lactato em astrócitos, sendo encontrada em sua maioria nas mitocôndrias. Em contrapartida, ocorre a disfunção de algumas enzimas nos neurônios dopaminérgicos, como a Gliceraldeído-3-Fosfato Desidrogenase, que está supostamente envolvida em iniciar uma sinalização de morte celular programada, apoptose.

A hexoquinase (HK) catalisa a etapa inicial obrigatória do metabolismo da glicose, onde a glicose sofre fosforilação dependente de ATP produzindo a glicose-6-fosfato. Além disso, a HK pode se ligar à Parkina na via metabólica intracelular, onde a Parkina regula negativamente a via das pentoses fosfato e a glicose através da degradação da isoforma HK I.

A partir dessas informações, o objetivo deste trabalho foi estudar o metabolismo da glicose no estriado de camundongos C57Bl6 submetidos à administração unilateral de 6-hidroxidopamina (6-OHDA) para simular o quadro progressivo da DP em humanos, além

de iniciar a busca de artigos para elaboração de uma revisão sistemática.

## Artigo de revisão sistemática

### RESULTADOS E DISCUSSÕES:

#### Atividade da Hexocinase (HK)

Foi analisada a atividade da HK em homogenato e em frações citosólicas e mitocondriais (Figura 1). Quarenta e oito horas (48h) depois da lesão com injeção de 6-OHDA, vimos que a atividade da HK na porção mitocondrial do estriado lesionado era menor ( $0,034 \pm 0,0059$ ) comparada ao controle ( $0,038 \pm 0,0096$   $p=0,58$   $n=3$ ). Observamos comportamento semelhante em 1, 2 e 4 semanas. Nenhum padrão foi observado na porção citosólica e homogenato.

Foi realizada uma pesquisa no PubMed utilizando-se os MeSH (Medical Subject Headings) Terms “Oxidopamine” e “Parkinson disease” para seleção de artigos sobre o tema “metabolismo energético em modelos animais da DP obtidos através da administração de 6-OHDA”. Foram encontrados 1178 artigos, que foram divididos entre 4 pessoas para analisar a relevância. A 5ª pessoa, o orientador, ficou responsável pelo controle dessa filtragem. Os estudos não poderiam ser de revisão, deveriam usar qualquer espécie animal e não havia limite de tempo de publicação ou de língua utilizada. Para agilizar o processo de filtragem foi utilizado o programa gratuito de gerenciamento

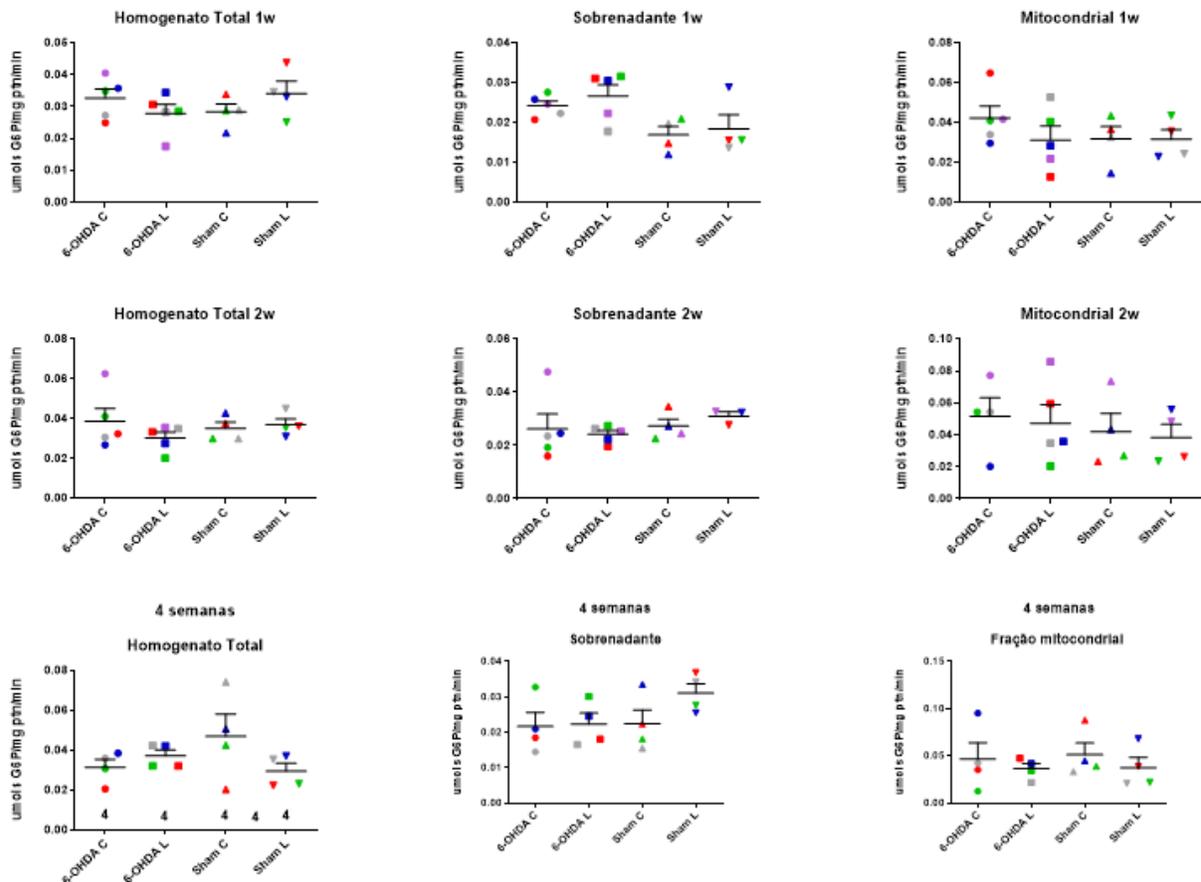


Figura 1: Atividade final da hexoquinase em porções celulares distintas ao longo de quatro semanas. 1w, 2w e 4w: 1, 2 e 4 semanas

bibliográfico JabRef (desenvolvido e mantido por diferentes pesquisadores), para onde foram exportados todos os artigos, organizados em ordem alfabética e divididos igualmente. Foram analisados os artigos do número 591 até 885 do PubMed, tendo sido separados 12 trabalhos: •

Ren et al. Toxicology and applied pharmacology, 2019, 378:114617; Ning et al. Brain Research Bulletin, 2019, 146:224-227; Sarookhani et al. Behavioural Pharmacology, 2018, 29:336-34; Scholpa et al. British Journal of Pharmacology, 2018, 175:348-358; Morales-García et al. ACS Chemical Neuroscience, 2013, 4:350-60; Sheline et al. Neurodegenerative Diseases, 2013, 11:49-58; Rodriguez-Pallares et al. Age (Dordrecht, Netherlands), 2012, 34:863-80; Rodriguez-Perez et al. Experimental Neurology, 2010, 224:517-26; Marcellino et al. Journal of Neural Transmission, 2010, 117:681-7; Mignon et al. Neuroreport, 2005, 16:699-703; Manáková et al. Brain Research, 2005, 1038:83-91; Manyam et al. Phytotherapy Research : PTR, 2004, 18:706-12.

## **CONCLUSÕES:**

É notório uma diferença não significativa entre a atividade da HK entre os lados lesionados e o controle ao longo das semanas. É bom analisar essas diferenças ao longo do tempo e quais efeitos metabólicos ocasionam no animal submetidos ao tratamento de 6-OHDA. A pequena diferença da atividade da HK na fração mitocondrial permaneceu ao longo do tempo. Isso pode indicar mudanças na oxidação de glicose, geração de ATP e resultado de estresse

oxidativo. Precisa-se de mais estudos para melhores comprovações.

Também se conclui que ainda há relativamente poucos estudos envolvendo o metabolismo energético em modelos animais da DP obtidos pela administração da 6-OHDA.

## **AGRADECIMENTOS:**

Apoio financeiro: CNPq



## CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

### O SISTEMA NERVOSO ENTÉRICO E MODELO ANIMAL DA DOENÇA DE PARKINSON: UM ESTUDO DA HETEROGENEIDADE GLIAL ENTÉRICA

**MARIA CAROLINA GARCIA RICCIARDI; NEILANE RODRIGUES SANTIAGO ROCHA;  
BEATRIZ BASTOS DE MORAES THOMASI; LUISA VALDETARO; ANA LUCIA TAVARES  
GOMES**

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

#### **INTRODUÇÃO:**

O sistema nervoso entérico (SNE) é reconhecido como segundo cérebro devido as suas particularidades e complexidades neuroquímicas e funcionais, sendo muito semelhante ao encontrado no sistema nervoso central (SNC). O SNE se localiza ao longo de todo o trato gastrointestinal (TGI), é responsável pela motilidade gastrointestinal, secreção e absorção de nutrientes, fluxo sanguíneo e processos inflamatórios. A glia entérica (GE) é o tipo celular mais encontrado neste sistema e está extremamente interligada a homeostasia intestinal apresentando influência sobre a neurotransmissão entérica, a regulação do epitélio intestinal assim como um papel chave na imunomodulação. Este tipo celular apresenta diferentes morfologias, localizações e biomarcadores moleculares, caracterizando subtipos.

A doença de Parkinson (DP) é reconhecida pela comunidade científica como uma doença multicêntrica, que afeta diferentes sistemas do organismo levando a manifestação de sintomas não-motores clássicos, como a constipação. A

literatura descreve que a GE se encontra alterada no TGI de pacientes da DP tendo a expressão da proteína GFAP aumentada concomitante a um quadro inflamatório. A indução de modelos animais da DP vem servindo como base para identificação e caracterização da fisiopatologia da doença assim como para testes de terapias. O objetivo deste trabalho é estudar o perfil da célula glial do cólon de animais submetidos ao modelo animal da DP induzida por 6-hidroxidopamina ao longo de diferentes tempos de sobrevida.

#### **RESULTADOS E DISCUSSÕES:**

Realizamos a cirurgia estereotáxica para administração da droga 6-OHDA no estriado de camundongos C57/bl6 para obtenção do modelo da DP. Os animais foram mantidos com diferentes tempos pós-cirurgia: 48h, 1 semana e 2 semanas. Realizamos uma técnica que permite aferir o trânsito colônico de forma indireta, através da % de água nas fezes. Observamos uma redução da % de água nas fezes em animais com sobrevida de 1 e 2 semanas, o que indica um maior tempo das

fezes dentro do tubo gastrointestinal, levando a uma maior reabsorção de águas do bolo fecal pelo intestino grosso, ou seja, o trânsito intestinal lento. Realizamos o processamento histológico do intestino grosso para análise da presença de diferentes marcadores gliais. No entanto a chegada da pandemia e a necessidade do isolamento social nos impediu de continuarmos os experimentos de bancada. Diante disto, nosso laboratório deu início às atividades remotas já no primeiro mês de isolamento social, com reuniões semanais contendo apresentações e discussões de artigos. Os trabalhos científicos estudados e apresentados por mim, assim como as apresentações realizadas pelas demais integrantes do grupo de pesquisa, promoveram um forte arcabouço para entender melhor o funcionamento estrutural, biofísico e fisiológico da DP e a GE.

Para além da discussão interna de nosso grupo, ao final das apresentações de artigos, foi produzido resumos didáticos e instigantes para a página de divulgação científica do Laboratório da Interação Neuro-gliar da UFF, @ling\_uff. Este portal de propagação de conhecimento se localiza nas redes sociais *Instagram* e *Facebook* e foi criado em abril do ano de 2020. Nas páginas há diversos conteúdos voltados para o público interessado em produção científica, como as nossas colunas "Você sabia?" e "Breaking Ling News" que possui o propósito de divulgar descobertas científicas atuais a partir dos resumos de artigos citados anteriormente. Entendendo que seria importante o conhecimento de alguns temas básicos para entendimento dos artigos que trazíamos,

criamos uma coluna chamada de "Segundo Cérebro", com conteúdo voltado para os princípios do funcionamento do sistema nervoso entérico.

Há muita dedicação em cada postagem, pesquisa bibliográfica e estudo para que o conteúdo se torne acessível. Sendo assim, esta foi uma das maneiras que o nosso laboratório achou para se reinventar em cenário de pandemia e isolamento social.

## **CONCLUSÕES:**

Apesar de toda dificuldade imposta pelo momento em que vivemos, foi importante participar do projeto de pesquisa e estar envolvido com um grupo científico, que possibilitou manter o vínculo com a universidade e a produção de ciência, mesmo que de forma remota e virtual. Nosso único resultado experimental demonstrou uma menor porcentagem de água nas fezes de animais modelo da DP nos tempos de 1 e 2 semanas pós-cirurgia, refletindo uma possível lentidão no trânsito intestinal. Mais experimentos são necessários para identificarmos se há uma modificação no perfil da GE nas camadas específicas e se a GE poderia estar envolvida com a alteração do trânsito intestinal.

Gostaríamos de ressaltar que a divulgação científica se torna ainda mais fundamental no atual cenário nacional de descrédito da ciência e pretendemos continuar a trabalhar com ciência mesmo durante o período de isolamento social, realizando divulgação científica através das ferramentas digitais.

**AGRADECIMENTOS:**

PIBIC-UFF, CNPq, PROAP, PROPPI e  
FAPERJ.





## NEUROCIÊNCIAS

### ASPECTOS NEUROQUÍMICOS DO PROCESSAMENTO DA PROTEÍNA PRECURSORA DO AMILÓIDE NA PLASTICIDADE INDUZIDA POR LESÃO EM RATOS

VICENTE, J. M. S. J; HERINGER, P. V. B; FARIA-MELIBEU, A. C.

DEPARTAMENTO DE NEUROBIOLOGIA, PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
NEUROCIÊNCIAS, INSTITUTO DE BIOLOGIA, UNIVERSIDADE FEDERAL  
FLUMINENSE, NITERÓI – BRASIL.

#### INTRODUÇÃO:

A Proteína Precursora do Amilóide (APP) é amplamente estudada e conhecida por seu papel na fisiopatologia da Doença de Alzheimer (DA), visto que um de seus produtos enzimáticos, o peptídeo A $\beta$ , é o principal constituinte das placas amiloides, marcador histopatológico da doença.

A APP é uma glicoproteína transmembrana altamente expressa em neurônios e possui duas vias de clivagem principais e antagônicas: a via amiloidogênica e via não-amiloidogênica.

Na via amiloidogênica, a APP é clivada por uma  $\beta$ -secretase e por uma e  $\gamma$ -secretases, liberando o peptídeo A $\beta$  no meio extracelular. A principal  $\beta$ -secretase é a BACE-1. Enquanto isso, na via não-amiloidogênica, a APP é clivada inicialmente por uma  $\alpha$ -secretase, dentro do domínio A $\beta$ , levando a formação de sAPP $\alpha$  e consequentemente impedindo a formação de A $\beta$ . A principal  $\alpha$ -secretase é a ADAM10.

Os níveis de APP e de sua forma solúvel  $\alpha$  (sAPP $\alpha$ ) estão aumentados em modelos de neuroplasticidade, sugerindo papéis importantes no rearranjo cerebral. O objetivo geral deste projeto é estudar, via modelo de plasticidade induzida, se, mais do que o aumento dos níveis de A $\beta$ , a perda da função fisiológica da sAPP $\alpha$  seria capaz de interferir com a plasticidade neuronal.

Para tal, utilizamos a enucleação monocular (EM) como modelo de plasticidade induzida por lesão e avaliaremos o colículo superior (CS) de roedores. A via retinocolicular é um excelente modelo de estudo do desenvolvimento do sistema nervoso, já que durante as fases pós-natal, as projeções retinocoliculares passam por um intenso refinamento topográfico, levando à formação de um mapa retinotópico na superfície do CS. Em estudos prévios, vimos um aumento nos níveis de  $\alpha$ -secretase e na produção da sAPP $\alpha$ , simultaneamente a uma redução nos conteúdos de  $\beta$ -secretase e A $\beta$ , sugerindo que a EM facilite o processamento da APP pela via

não-amiloidogênica, aumentando assim a liberação de sAPP $\alpha$ . Resultados com a técnica de histoquímica sugerem que esta proteína solúvel exerça um papel no rearranjo estrutural e sináptico da via retinocolicular (Vasques et al.,2017).

Neste trabalho, buscamos avaliar o papel da APP e seus metabólitos, em especial a sAPP $\alpha$ , na plasticidade induzida por lesão, tal como o impacto da inibição farmacológica da ADAM10 na expressão das proteínas envolvidas no processamento da APP.

## **RESULTADOS E DISCUSSÕES:**

Considerando os efeitos causados pelo inibidor da ADAM10 na organização topográfica das fibras ipsolaterais no CS, decidimos avaliar o conteúdo proteico da ADAM10 e do metabólito solúvel sAPP $\alpha$  por Western Blot.

Nossos resultados demonstraram que amostras do CS dos animais enucleados, que receberam o implante de elvax com inibidor na concentração de 10mM, apresentaram, 24h após o evento plástico, uma redução dos níveis da forma ativa da enzima se comparado ao grupo que recebeu o implante contendo somente o veículo DMSO.

Também avaliamos a sAPP $\alpha$ , produto da atividade da ADAM10. Dentro das nossas análises, ainda não conclusivas, é possível perceber que existe uma tendência à uma redução dos níveis do peptídeo solúvel nos animais que receberam o implante de elvax contendo o inibidor. Tal resultado, caso se confirme, estaria de acordo com nossas

análises da ADAM10, já que é a principal enzima produtora da sAPP $\alpha$ .

O efeito da liberação das substâncias contidas no elvax ocorre principalmente nos 3 primeiros dias após a realização do implante. Posto esta condição, decidimos avaliar se em uma janela temporal maior, em relação ao implante, os níveis de sAPP $\alpha$  se restabeleceriam dado a ausência dos efeitos inibitórios vistos anteriormente 24h após a EM (DPN11), período máximo da liberação do fármaco no elvax.

Nossos resultados preliminares, mostraram que em DPN28 os níveis de sAPP $\alpha$  são maiores nos animais que receberam o implante com o inibidor se comparado com os animais implantados somente com DMSO. Este resultado prévio sugere que a ausência do inibidor permite a variação dos níveis do peptídeo, possivelmente em resposta a uma plasticidade tardia ocasionada pelo efeito da EM no DPN10. A EM foi feita dentro do período crítico de formação da via retinocolicular e a análise no DPN28, quando esta janela de desenvolvimento já está fechada. Possivelmente, a ausência do inibidor agora permita que o sistema responda ao evento plástico causado pela EM aumentando o níveis de sAPP $\alpha$ , porém esta resposta é mais demorada.

## **CONCLUSÕES:**

Nosso grupo já havia demonstrado que em modelos de plasticidade induzida por lesão cerebral, os níveis da enzima  $\alpha$ -secretase e do seu principal produto, a sAPP $\alpha$  aumentam, simultaneamente a uma redução nos conteúdos

de  $\beta$ -secretase e  $A\beta$ . Tais resultados sugerem que, no colículo superior, a lesão tecidual promova a liberação de sAPP $\alpha$  e que esta possa participar ativamente do rearranjo estrutural e sináptico da via retinociliar (Vasques et al., 2017). Neste trabalho, confirmamos através da inibição enzimática da ADAM-10 o seu envolvimento direto e indireto, através da diminuição dos níveis de sAPP $\alpha$  neste rearranjo com o intuito de ampliar o entendimento sobre o papel da APP e de seus metabólitos em situações fisiológicas e em resposta a lesões teciduais.

#### **AGRADECIMENTOS:**

Agradeço a minha orientadora, Dra. Adriana Melibeu, a todos os membros do Laboratório Neurobiologia do Desenvolvimento e às agências de fomento CNPq e Capes.



Imagem 1: Imagem PIBIC



## Ciências Biológicas

### CARACTERIZAÇÃO DOS SUBTIPOS DE RECEPTORES MUSCARÍNICOS EM ESPERMATOZÓIDE DE RATOS E SEU ENVOLVIMENTO FUNCIONAL NO GAMETA MASCULINO.

Corrêa TL (bolsista PIBIC)<sup>1</sup>, Moreira TJ<sup>1</sup>, Gontijo, LS<sup>1</sup>, Ribas

JAS<sup>1</sup>, Porto CS<sup>2</sup>, Maróstica E<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Farmacologia Experimental - Departamento de Fisiologia e Farmacologia (MFL)- Instituto Biomédico/UFF - Niterói, RJ. <sup>2</sup> Departamento de Farmacologia; UNIFESP, SP, Brazil.

#### INTRODUÇÃO:

No trato reprodutor masculino, a maioria das ações da acetilcolina (ACh) é induzida por seus efeitos nos receptores muscarínicos de acetilcolina (mAChRs). Estudos prévios do nosso laboratório demonstraram a expressão dos subtipos M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub> e M<sub>3</sub> de mAChR nos ductos eferentes e no epidídimo (Maróstica *et al.*, 2001; Siu *et al.*, 2006), entretanto suas funções não foram completamente esclarecidas. Paralelamente, a literatura também relata a presença de EGFR na membrana plasmática de espermatozoides maduros em várias espécies de mamíferos, como humanos, camundongo, coelho, rato e touro (Damjanov *et al.*, 1993; Lax *et al.*, 1994). Considerando que o EGFR pode ser transativado através da estimulação de mAChRs, bem como por outros receptores acoplados à proteína G em outros tecidos (Jaldety *et al.*, 2012; Etkovitz *et al.*, 2009), a proposta do presente trabalho é caracterizar os mAChRs no gameta masculino e explorar o aspecto funcional da neurotransmissão colinérgica no espermatozoide, considerando a possível correlação, mostrada em outros

tecidos, entre os subtipos de mAChR e a transativação de EGFR na função espermática.

#### RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Para a identificação dos subtipos de mAChR, espermatozoides de ratos *Wistar* machos adultos (120 dias) foram coletados da cabeça e da cauda distal do epidídimo. Para experimentos *in vivo* (CEUA/UFF n°. 1026/2018), os animais foram divididos em 06 grupos, os quais receberam 200µl de solução (i.v.), contendo: CO (controle) - solução salina; CA - 10 µg de Carbacol; AT+CA - 480 µg Atropina, 30 minutos antes da administração de 10 µg de Carbacol; PZ+CA - 120 µg de Pirenzepina, 30 minutos antes da administração de 10µg de Carbacol; ME+CA - 120 µg Metocramina, 30 minutos antes da administração de 10µg de Carbacol; DA+CA - 60 µg de Darifenacina, 30 minutos antes da administração de 10µg de Carbacol. Duas horas após os tratamentos, os epidídimos foram retirados e dissecados. Para avaliação *in vitro*, espermatozoides foram obtidos da cauda epididimal e incubados com Carbacol ou

Betanecol na presença e na ausência de Atropina para a avaliação da motilidade progressiva e vigor, integridade e funcionalidade de membrana. Espermatozoides também foram obtidos da cabeça e da cauda distal do epidídimo para o estudo da expressão do EGFR através de ensaios de *western blotting*. Nos ensaios de imunomarcacão foram utilizados anticorpos primários anti-M<sub>1</sub>, anti-M<sub>2</sub>, anti-M<sub>3</sub>, anti-M<sub>4</sub> e anti-M<sub>5</sub> (1:30) e anticorpo secundário de coelho (1:250). Os estudos de *western blotting* foram realizados com anticorpos primários de camundongo anti-EGFR e anti-EGFR/fosforilado e secundário IgG de cabra anti-camundongo (1:5000) conjugado com peroxidase. Os valores são expressos como média±EPM; "t" de Student, ANOVA, Neuman-Keuls,  $P<0,05$ . Na imunomarcacão para mAChR espermatozoides imaturos demonstraram imunoreatividade para o subtipo M<sub>1</sub> na região da cabeça e flagelo, para o M<sub>2</sub>, principalmente, na cabeça e M<sub>3</sub> na cabeça, pescoço e flagelo, enquanto os espermatozoides *maduros* demonstraram imunorreatividade para o subtipo M<sub>1</sub> apenas no flagelo, M<sub>2</sub> na cabeça e M<sub>3</sub> com padrão de marcação puntiforme na região dos centríolos. Os subtipos de mAChR M<sub>4</sub> e M<sub>5</sub> não foram identificados. Na avaliação espermática, não foram encontradas diferenças estatísticas entre os espermatozoides tratados com o carbacol (CA) comparados ao grupo controle. No tratamento *in vitro* somente a atropina (AT) diminuiu significativamente todos os parâmetros avaliados, exceto o vigor dos espermatozoides, comparados ao grupo controle. Os ensaios de *western blotting* para o estudo da expressão de

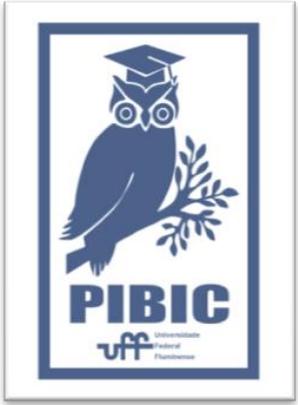
EGFR e EGFR fosforilado demonstraram uma maior expressão de EGFR nos espermatozoides extraídos da cauda (maduros) quando comparados aos da cabeça (imaturos). A análise da ativação do EGFR após tratamento com agonista muscarínico mostrou um aumento da expressão de EGFR fosforilado (Tyr845) após tratamento com betanecol, tanto em espermatozoides imaturos, como naqueles que já passaram pelo processo de maturação. O bloqueio dos receptores muscarínicos com atropina diminuiu esta expressão, sugerindo o envolvimento dos mAChRs na ativação dos EGFRs.

### **CONCLUSÕES:**

Os subtipos de mAChR M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub> e M<sub>3</sub> presentes no espermatozoide são redistribuídos no gameta durante seu trânsito pelo epidídimo, sugerindo o envolvimento dos mesmos no processo de maturação, necessária para fertilização. A ativação destes receptores não altera os parâmetros analisados na avaliação espermática, mas nossos resultados preliminares sugerem que eles podem transativar receptores de EGF no espermatozoide de rato. A caracterização da regulação e função dos subtipos de mAChR em células reprodutivas pode ser importante para entender e tratar a (in)fertilidade masculina e desenvolver novas ferramentas para a contracepção masculina.

### **Agradecimentos:**

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





## CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

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

**JESUS, M.C.S.; SANTOS, C. S., GONÇALVES-DE-ALBUQUERQUE, C.F.; BURTH, P.**

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

**INTRODUÇÃO:** Os principais tumores do Sistema Nervoso Central são os gliomas. A dificuldade para o tratamento desse tumor está associada à sua apresentação difusa e a barreira hematoencefálica que dificulta a passagem dos fármacos junto a resistência a quimioterápicos. Desta forma, se faz necessário a busca por novos medicamentos que possam atuar de forma diferente dos já existentes. A enzima Na/K-ATPase (NKA), além de suas funções já conhecidas, também atua como transdutor de sinal intracelular além de atuar também na adesão celular, o que caracteriza a NKA como um potencial alvo terapêutico anticâncer. Esse projeto tem por objetivo identificar novas substâncias com potencial anticâncer, com mecanismo de atuação via NKA.

**RESULTADOS E DISCUSSÕES:** Para analisar a atividade citotóxica da Poligodial e seus derivados em linhagem celular de glioblastoma humano (U87) realizamos o teste da Lactato desidrogenase (LDH). As culturas foram mantidas em incubação com as substâncias pelo período de 24h, 48h e 72h. Observamos que a Poligodial foi a substância

que apresentou melhor atividade demonstrando uma citotoxicidade de aproximadamente 50% na concentração de 20 $\mu$ M no período de 24h de incubação. Com a incubação de 48h e 72h todas as substâncias promoveram efeitos semelhantes.

**CONCLUSÕES:** Todas as substâncias testadas apresentaram atividade anticâncer in vitro, sendo a poligodial a mais potente. Experimentos adicionais são necessários para desvendar o mecanismo de ação, bem como verificar se a atuação ocorre via NKA.

### **AGRADECIMENTOS:**

PIBIC/CNPQ e PROPPi

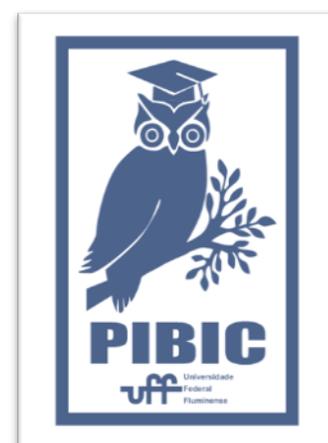


Imagem 1: Imagem PIBIC



**ÁREA: Ciências Biológicas**

**TÍTULO: Efeito inibitório de triazóis na coagulação causada pelo veneno da serpente *Bothrops jararaca***

**Paulo Fernando Sant'Anna Armond Pinto, Aldo Rodrigues da Silva, Ana Cláudia Rodrigues da Silva, Eladio Flores Sanchez, Sabrina Baptista Ferreira, André Lopes Fuly**

**Departamento de Biologia Celular / Laboratório de Venenos, Toxinas e Avaliação de inibidores (LAVENOTOXI)**

## **INTRODUÇÃO:**

As serpentes são animais vertebrados que pertencem ao grupo dos répteis, da subordem ophidia e podem ser classificadas como peçonhentas ou não. As serpentes peçonhentas podem representar um potencial risco para o ser-humano uma vez que, em situação de estresse ou de perigo iminente, elas inoculam uma substância tóxica – peçonha ou veneno – através de um aparelho inoculador (SANDRIN; PUORTO; NARDI, 2005). Segundo dados do Sistema de Informações sobre Doenças da Declaração Obrigatória (SINAN) - avaliados de 2009 a 2013 foram registrados cerca de 28.812 casos de picadas de cobra por ano (SILVA *et al*, 2015). Dentro deste contexto, mais de 80% dos acidentes causados por serpentes de importância médica no Brasil tem como responsável o gênero *Bothrops* (JORGE; RIBEIRO, 1997), que terá seu veneno como objeto de estudo nesse projeto. O tratamento preconizado pela OMS é a administração intravenosa do antiveneno, este apesar de impedir o óbito, apresenta diversas

desvantagens, como alto custo de produção, é termolábil, produzido apenas nos grandes centros e principalmente por não ser capaz de inibir os efeitos locais do envenenamento, trazendo sequelas aos vitimados. Desta forma, existe uma necessidade da busca por tratamento(s) alternativo(s).

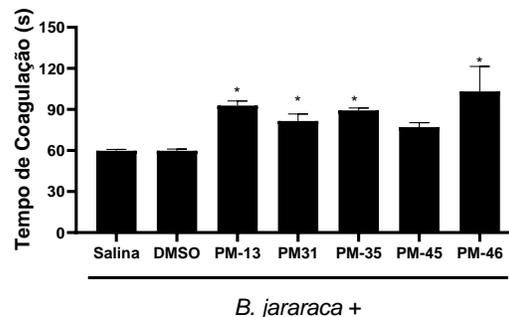
Os triazóis referem-se a uma família de compostos heterocíclicos obtidos através de síntese orgânica e com a fórmula molecular  $C_2H_3N_3$ . Por ser uma molécula rica em elétrons e possuir uma aromaticidade favorável, é capaz de formar de maneira rápida ligações fracas com enzimas e/ou receptores. Essas características conferem ao triazol um grande potencial farmacológico. Tendo em vista seu potencial antiveneno inexplorado, esta pesquisa se propõe a investigar a capacidade de inibição dos efeitos de derivados de triazóis em inibir certas atividades tóxicas do veneno de *B. jararaca*, pois é uma espécie relevante nos acidentes no Brasil

## **RESULTADOS E DISCUSSÕES:**

## ATIVIDADE COAGULANTE

Essa atividade foi realizada com o objetivo de avaliar a capacidade inibitória dos derivados triazólicos frente a atividade coagulante induzida pelo veneno da serpente *B. jararaca*. Esse ensaio foi realizado através da utilização de um coagulômetro, na qual o plasma (previamente diluído 1:1 em salina) foi incubado a 37°C por 1 minuto e em seguida a atividade coagulante foi iniciada pela adição de diferentes concentrações de veneno de *B. jararaca*. A quantidade de veneno ( $\mu\text{g/mL}$ ) capaz de coagular o plasma em 60 segundos foi designada como concentração mínima coagulante (CMC), e utilizada nos experimentos de inibição.

Os compostos triazólicos (designados de PM13, PM31, PM35, PM45 e PM46) foram previamente solubilizados em DMSO e incubados com uma CMC do veneno de *B. jararaca* ( $19 \mu\text{g/mL}$ ) na proporção de 1:10 (veneno: composto, p/p) por 30 minutos a 25°C. Em seguida, a mistura foi adicionada ao plasma para iniciar a reação e o tempo de coagulação foi monitorado e comparado com aquele obtido no controle, onde somente o veneno foi adicionado a cubeta. O tempo máximo de observação para ocorrer a coagulação foi de 800 segundos e o volume final reacional foi de 250  $\mu\text{L}$ . Como pode ser observado na Figura 1, os compostos triazólicos PM13, PM31, PM35 e PM46 inibiram a atividade coagulante induzida pelo veneno de *B. jararaca*, prolongando o tempo de coagulação do plasma em relação ao controle positivo (veneno + DMSO). Na concentração utilizada, as moléculas quando testadas isoladamente não promoveram a coagulação do plasma (dados não mostrados).



**Figura 1: Efeito dos derivados triazólicos na coagulação induzida pelo veneno de *B. jararaca*.**

O veneno de *B. jararaca* ( $19 \mu\text{g/mL}$ ) foi incubado com os compostos ( $190 \mu\text{g/mL}$ ) por 30 min a 25°C. E, em seguida a mistura foi adicionada ao plasma e a coagulação monitorada como descrito. Os resultados expressam a média  $\pm$  SD de três experimentos individuais ( $n=3$ ). \*  $p < 0,05$  em relação ao veneno de *B. jararaca* + DMSO

## CONCLUSÕES:

Os resultados obtidos até o momento demonstraram um efeito inibitório dos compostos triazólicos na coagulação do plasma causada pelo veneno da *B. jararaca*.

## AGRADECIMENTOS:

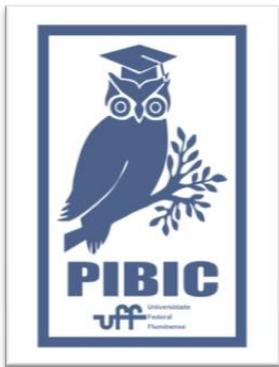
CNPq, FAPERJ, CAPES, UFF-PROPII

## REFERENCIAS:

JORGE, M. T.; RIBEIRO, L. A. Antivenom serum doses in the treatment of poisoning by a venomous snake of the genus *Bothrops* Revista da Associação Médica Brasileira (1992) Associação Médica Brasileira, , 1997.

SANDRIN, M. D. F.; PUORTO, G.; NARDI, R.  
Serpentes e acidentes ofídicos: um estudo  
sobre erros conceituais em livros didáticos.  
Investigações em Ensino de Ciências, v. 10, n.  
3, p. 281–298, 2005.

SILVA, Ageane Mota da; BERNARDE, Paulo  
Sérgio; ABREU, Luiz Carlos de. Acidentes com  
animais peçonhentos no Brasil por sexo e idade.  
Rev. bras. crescimento desenvolv. hum., São  
Paulo, v. 25, n. 1, p. 54-62, 2015.





## **METIL-BETA-CICLODEXTRINA (M $\beta$ CD) REGULA A ATIVIDADE DE ENT1 LOCALIZADO EM LIPID RAFTS EM CULTURAS DE RETINA DE GALINHA.**

**DOS SANTOS, C. M.; SOUZA, S. B. C.; PAES-DE-CARVALHO, R. & DOS SANTOS-RODRIGUES, A.**

**DEPARTAMENTO DE NEUROBIOLOGIA, PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS, INSTITUTO DE BIOLOGIA, UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE, NITERÓI – BRASIL.**

### **INTRODUÇÃO**

A adenosina (Ado) é um nucleosídeo composto por uma ribose e por uma adenina. Ela está presente em todos os tecidos corporais e é conhecida por ser um importante neuromodulador presente no sistema nervoso central (SNC), podendo ser liberada tanto por neurônios quanto por células gliais (Sebastião & Ribeiro, 2000). Este neuromodulador pode estar envolvido em diversos processos fisiológicos, tais como a regulação da transmissão e plasticidade sináptica, regulação do sono, proliferação e diferenciação celular, além de processos de reparo celular e neurodegeneração (Cunha, 2001; dos Santos-Rodrigues et al., 2015). Os níveis de adenosina podem ser regulados por meio de enzimas que catalisam sua cascata metabólica. Além disso, estes níveis de nucleosídeos também podem ser regulados através de transportadores inseridos na membrana celular.

Os transportadores de nucleosídeos (NTs) são proteínas integrais de membrana que desempenham um papel fundamental na regulação dos níveis de nucleosídeos. Eles podem ser concentrativos (CNTs), os quais são dependentes do gradiente de sódio das células, e podem ser equilibrativos (ENTs),

os quais realizam transporte passivo, independente de sódio e sempre a favor do gradiente de concentração (Paes-de-Carvalho, 2002; Pastor-Anglada et al., 2018). No SNC são encontrados quatro tipos diferentes de ENTs, porém apenas o ENT-1 e o ENT-2 são as predominantes, além de serem os mais estudados do grupo. A contribuição dos ENTs para a sinalização purinérgica no SNC é essencial para diversos processos importantes e, apesar de serem bastante estudados, nossa compreensão sobre os seus mecanismos regulatórios ainda é muito limitada.

As membranas celulares possuem diversos componentes que conferem a ela diversas características que as fazem ter a funcionalidade que conhecemos. Um desses domínios, conhecidos como lipid rafts, são microdomínios de membrana e têm como componentes principais o colesterol, glicosíngolipídeos e diversos tipos de proteínas específicas (Butchbach et al., 2004; Sebastião et al., 2013; Simons & Ikonen, 1997). Estes microdomínios funcionam como plataformas para a montagem de moléculas sinalizadoras, além de atuarem na regulação do tráfego celular e de diversas vias de sinalização (Sebastião et al., 2013; Simons & Ikonen,

1997). O colesterol exerce um papel importante na organização de certas proteínas na membrana celular, podendo induzir mudanças na sua função através de uma interação entre colesterol e proteína ou quando afeta a fluidez da membrana, característica que é imprescindível para o bom funcionamento desta. Alguns transportadores, tais como os transportadores de glutamato do tipo EAAT2 (Butchbach et al., 2004) e os transportadores de serotonina (SERT) (Magnani et al., 2004), podem ser encontrados nas regiões de lipid rafts.

Visto que os ENTs são proteínas que estão presentes na membrana celular e que sua atividade é importante para a regulação da sinalização purinérgica no SNC, esse trabalho tem como objetivo investigar a associação entre a atividade e expressão do ENT-1 e os lipid rafts em culturas mistas de embrião de galinha a partir do uso do M $\beta$ CD, composto que depleta o colesterol da membrana, alterando a sua fluidez.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Primeiramente, o ensaio de viabilidade celular foi realizado para que houvesse a certificação de que o fármaco utilizado não estaria afetando as células negativamente, induzindo a sua morte. Foi possível observar que não houve alterações significativas na viabilidade celular em concentrações do fármaco até 5 mM por 45 minutos ( $90,7 \pm 3,7 \%$ ,  $p=0,8498$ ,  $n=3$ ). Posteriormente, foi realizada dosagem de colesterol das culturas para que pudessemos avaliar se o fármaco na concentração de 5 mM estaria realmente depletando o colesterol. Constatamos a depleção do colesterol das células ( $55,5 \pm$

$4,6\%$ ,  $n=2$ ) e um aumento no meio extracelular ( $625 \pm 25\%$ ,  $n=2$ ) em tratamento com o fármaco (5 mM) por 45 minutos, resultado que demonstra que o tratamento com o M $\beta$ CD está induzindo a depleção do colesterol da membrana e o liberando no meio extracelular.

A partir disso, foram realizados ensaios de captação de [ $^3$ H]-adenosina, os quais permitiram medir a atividade de ENTs. O tratamento com M $\beta$ CD (5 mM) por 45 minutos diminuiu significativamente a captação de adenosina ( $50,5 \pm 11,0\%$ ,  $p<0,05$ ,  $n=3$ ). Estes resultados sugerem que a depleção do colesterol e a desestruturação dos lipid rafts a partir do tratamento com o M $\beta$ CD modulam negativamente a atividade dos transportadores de nucleosídeos nas nossas culturas.

Além disso, para se obter a análise de expressão dos ENT1 na superfície celular foi realizada a técnica de biotilação. Os dados obtidos a partir desse experimento indicam que houve uma diminuição nos níveis de ENT1 na membrana celular após o tratamento com M $\beta$ CD (5 mM) por 45 minutos em relação ao controle. Esse resultado pode demonstrar uma possível associação entre o ENT1 e o colesterol presente nos lipid rafts, porém mais experimentos são necessários para confirmar esse resultado.

## CONCLUSÕES

Os resultados demonstram uma possível interação do ENT-1 com o colesterol da membrana. Além disso, o colesterol pode ter um papel regulador do ENT-1 pela manutenção da fluidez da membrana

celular, podendo modular também diversos processos celulares.

### **AGRADECIMENTOS**

PROPPI-UFF, FAPERJ e CNPq.



**GRANDE ÁREA DO CONHECIMENTO: CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**TÍTULO DO PROJETO: ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO**

**-509C>T NO GENE *TGFB1* E A GRAVIDADE CLÍNICA DA SILICOSE OU PREVALÊNCIA DE TUBERCULOSE EM TRABALHADORES EXPOSTOS À SÍLICA NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO**

**AUTORES: THAYANE DA SILVA RAMOS, KAIO CEZAR RODRIGUES SALUM, MARCOS CESAR SANTOS CASTRO, ÂNGELA FERREIRA NANI, FABIANA BARZOTTO KOHLRAUSCH**

**DEPARTAMENTO/UNIDADE/LABORATÓRIO: BIOLOGIA GERAL/INSTITUTO DE BIOLOGIA/LABORATÓRIO DE GENÉTICA HUMANA**

## **INTRODUÇÃO:**

A silicose é uma pneumoconiose causada pela inalação de poeira contendo partículas de sílica cristalina ( $\text{SiO}_2$ ), o que provoca uma reação fibrogênica pulmonar. De acordo com as manifestações radiológicas da doença, ela pode ser classificada em silicose simples ou complicada, e esta gravidade na manifestação do fenótipo depende de diversos fatores ambientais e genéticos. Indivíduos expostos à sílica possuem um risco aumentado de desenvolvimento de tuberculose, sendo que pacientes silicóticos apresentam um risco 40 vezes maior e indivíduos expostos à sílica saudáveis um risco 3,7 vezes maior, quando comparados à indivíduos não expostos saudáveis. O fator de crescimento transformador beta 1 (TGF- $\beta$ 1) é uma citocina multifuncional que regula proliferação e diferenciação de vários tipos celulares. TGF- $\beta$ 1

promove o acúmulo de matriz extracelular por regulação positiva da expressão do colágeno e do gene da fibronectina, e inibe a degradação da matriz diminuindo a secreção de proteases e aumentando a secreção de inibidores de protease. Estudos com cultura de células mostram que TGF- $\beta$ 1 é capaz de estimular a proliferação de fibroblastos de pulmão humano em cultura, para aumentar a produção de colágeno das células e é capaz de aumentar a produção de IL-6 por fibroblastos pulmonares de pacientes com silicose. O gene *TGFB1* localiza-se em 19q13.2 e possui um polimorfismo funcional de troca de nucleotídeo na região promotora do gene (-509C>T; rs1800469). Indivíduos homocigotos para o alelo T apresentam concentrações plasmáticas de TGF- $\beta$ 1 aproximadamente duas vezes mais altas do que os homocigotos para o alelo C. Sendo assim, o objetivo do presente projeto é analisar a possível influência do polimorfismo -509C>T

no gene *TGFB1* na gravidade clínica da silicose (simples ou complicada), bem como na ocorrência de tuberculose, em trabalhadores expostos à sílica.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES:

A amostra consiste em 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). Destes, 68 pacientes tiveram tuberculose. Os dados clínico-demográficos avaliados foram os seguintes: tempo de exposição à sílica (anos), horas semanais de trabalho, tempo de afastamento do trabalho (anos) e carga tabágica (maços/ano). As amostras de DNA obtidas a partir de células bucais dos pacientes foram submetidas à amplificação do fragmento do gene *TGFB1* contendo o polimorfismo -509C>T por Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) em tempo real, através da utilização de ensaio Taqman<sup>®</sup> específico (C\_\_8708473\_10; Thermo Fisher Scientific, Brasil). Nossa amostra total mostrou as seguintes médias para características clínico-demográficas: tempo de exposição à sílica 21,20 ( $\pm$  9,30) anos, horas semanais de trabalho 47,24 ( $\pm$  9,21) horas, anos de afastamento do trabalho 13,69 ( $\pm$  9,91) anos e carga tabágica 34,99 ( $\pm$  29,76) maços/ano. Para estas variáveis clínicas e populacionais analisadas não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as duas formas clínicas da silicose (simples e complicada), com  $P=0,288$  para tempo de exposição à sílica;  $P=0,457$  para horas

semanais de trabalho;  $P=0,745$  para anos de afastamento e  $P=0,264$  para carga tabágica (maços/ano), o que indica que estas variáveis não tiveram influência na gravidade da silicose em nossa amostra. Também não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos com e sem tuberculose, com  $P=0,146$  para tempo de exposição à sílica;  $P=0,435$  para horas semanais de trabalho;  $P=0,366$  para anos de afastamento e  $P=0,158$  para carga tabágica (maços/ano). Em relação aos dados genéticos, todas as amostras foram analisadas e a distribuição dos genótipos encontra-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre o polimorfismo -509C>T no gene *TGFB1* com as formas clínicas da silicose (simples ou complicada), na distribuição dos genótipos ( $P=0,084$ ) e dos alelos ( $P=0,129$ ). Da mesma forma, a associação deste polimorfismo com a tuberculose também não pode ser observada (genótipos  $P=0,992$ , alelos  $P=0,909$ ).

## CONCLUSÕES:

Não foram observadas associações estatisticamente significativas entre a gravidade da silicose e o polimorfismo -509C>T no gene *TGFB1* em nossa amostra de indivíduos expostos à sílica. A mesma ausência de associação foi observada para a tuberculose. No entanto, esses resultados podem ser um reflexo de nosso pequeno número amostral. Portanto, será necessário dar continuidade às

coletas de novas amostras para confirmação destes resultados.

**AGRADECIMENTOS:**

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



**GRANDE ÁREA DO CONHECIMENTO: Ciências Biológicas**  
**TÍTULO DO PROJETO: “CRISPR: aplicação como ferramenta de tipificação em enterococos”**

**AUTORES: Orientador: Prof. Felipe Piedade Gonçalves Neves**

**Coorientadora: Barbara Araújo dos Santos**

**Aluno: Rafael Lazaretnich do Rêgo**

**DEPARTAMENTO/UNIDADE/LABORATÓRIO: MIP / CMB / Lab. de Cocos Gram Positivos (LCGP)**

## **INTRODUÇÃO:**

Nas últimas décadas, o gênero se tornou um importante agente de infecções relacionadas a assistência à saúde. O uso indiscriminado de antimicrobianos tem se mostrado decisivo para a emergência dos enterococos como agentes de infecção em humanos, devido à sua resistência intrínseca e adquirida.

Em um contexto de crescente resistência a antibióticos, a OMS incluiu os enterococos resistentes a vancomicina (VRE) na categoria de prioridade alta entre os patógenos bacterianos que representam maiores riscos à saúde pública.

Procaríotos podem conter em seu genoma os sistemas CRISPR-Cas, que consistem em um mecanismo de defesa contra elementos genéticos móveis invasores, como bacteriófagos e plasmídeos. A ausência desse sistema parece estar diretamente relacionada ao aumento da virulência e resistência.

De acordo com sua organização, os sistemas CRISPR-Cas podem ser divididos em 2 classes e 6 tipos. Três sistemas CRISPR do tipo II já foram identificados em *Enterococcus* spp.: CRISPR1, CRISPR2 e CRISPR3.

## **MATERIAL E MÉTODOS:**

**Amostras bacterianas.** Foram incluídas 430 amostras, sendo 181 amostras VRE isoladas de colonização e doença e 249 amostras VSE (enterococos sensíveis a vancomicina) obtidas de doença, colonização e alimentos.

**Identificação das amostras.** Todas as amostras, identificadas previamente por provas bioquímicas ou PCR, tiveram ou terão sua identificação confirmadas por MALDI-TOF.

**Pesquisa de genes de virulência por PCR multiplex.** Para investigar a presença dos marcadores genéticos de virulência *asa1*, *gelE*, *cylA*, *esp* e *hyl* (Vankerckhoven *et al.*, 2004).

**Pesquisa das regiões CRISPR por PCR.** Para investigar a presença dos elementos CRISPR do tipo II (CRISPR1, CRISPR2 e CRISPR3) descritos no gênero *Enterococcus* spp. (Lindenstrauss *et al.*, 2011).

**Análise estatística.** Os resultados foram submetidos à análise estatística pelo teste exato de Fisher, com significância estatística quando o valor de  $p$  foi menor que 0,05.

**Aspectos éticos.** Esse trabalho integra um projeto aprovado no CEP do Instituto Nacional de Câncer (CAAE no. 37890614.6.0000.5274).

## RESULTADOS E DISCUSSÕES:

**Identificação das amostras.** Do total, 367 já foram identificadas em nível de espécie, das quais 337 foram analisadas pela técnica de PCR e MALDI-TOF, e 31 foram analisadas apenas pela técnica de MALDI-TOF. Como resultado, obtivemos os seguintes dados: *E. faecalis* (271; 80,6%), *E. faecium* (82; 19,6%), *E. gallinarum* (5; 1,2%), *E. casseliflavus* (5; 1,2%), *E. durans* (3; 0,7%) e *E. avium* (1; 0,2%).

Para 121 das 181 cepas VRE, obtivemos as seguintes identificações: *E. faecalis* (61, 50,4%), *E. faecium* (56; 46,3%), *E. gallinarum* (2; 1,7%), *E. avium* e *E. casseliflavus* (1; 1% cada) (Figura 1).

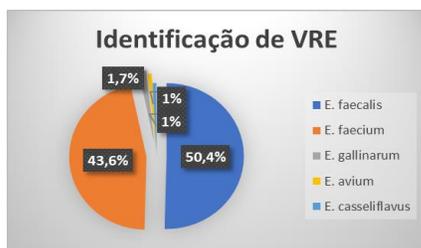


Figura 1. Identificação de 121 amostras de enterococos resistentes a vancomicina (VRE).

As 249 amostras de VSE foram identificadas como: *E. faecalis* (210; 84,3%), *E. faecium* (29; 11,6%), *E. gallinarum* (3; 1,2%), *E. casseliflavus* (4; 1,6%) e *E. durans* (3; 1,2%) (Figura 2).



Figura 2. Identificação das 249 amostras de enterococos sensíveis a vancomicina (VSE).

Das 340 amostras submetidas ao teste de susceptibilidade a antimicrobianos, observamos altos níveis de resistência para eritromicina (226; 66,5%), norfloxacina (149; 43,8%), ciprofloxacina (189; 55,6%) e levofloxacina (101; 26,5%).

**Genes de Virulência.** Dentre 187 amostras analisadas por PCR, os genes de virulência *gelE*, *esp*, *asa1*, *hyl*, *cylA* foram encontrados em 79 (44,3%), 77 (43,3%), 68 (38,2%), 43 (24,2%) e 24 (13,5%) amostras bacterianas. O gene de virulência *gelE* foi achado em 52 (54,7%) de 95 amostras de *E. faecalis* e em 25 (32,5%) de 77 amostras de *E. faecium* ( $p < 0,01$ ).

**Elementos CRISPR.** Foram analisadas 178 amostras, das quais 92 (51,7%) apresentaram pelo menos um dos elementos CRISPR do estudo. Os elementos CRISPR1, CRISPR2 e CRISPR3 foram encontrados, respectivamente, em 62 (67,4%), 44 (47,8%) e 43 (46,7%) das amostras bacterianas.

Analisando por espécie, 70 (76,1%) *E. faecalis* apresentavam pelo menos um elemento CRISPR, porém apenas 19 (20,6%) amostras de *E. faecium* tinham elementos CRISPR ( $p < 0,01$ ).

Já 80 (54,6%) dos 146 enterococos multirresistentes (MDR, ou seja, resistentes a três ou mais classes de antimicrobianos) e apenas 8 (25%) de 32 enterococos não-MDR não apresentaram nenhum elemento CRISPR ( $p < 0,01$ ).

## CONCLUSÕES:

A espécie mais frequente foi *E. faecalis*. Porém, considerando amostras resistentes aos

antimicrobianos, sobretudo VRE, a proporção foi mais equilibrada entre *E. faecalis* e *E. faecium*.

O gene de virulência de virulência *gelE* e os elementos CRISPR foram mais comuns na espécie *E. faecalis*. Por sua vez, amostras MDR, sobretudo da espécie *E. faecium*, normalmente não possuíam nenhum elemento CRISPR.

A finalização dos ensaios e das análises permitirá avaliar a associação entre elementos CRISPR e determinantes de virulência e resistência, contribuindo para o entendimento da evolução desse importante gênero bacteriano.

## **AGRADECIMENTOS:**

Ao meu orientador, Prof. Felipe P. G. Neves.

À minha coorientadora, Bárbara A. Santos, e à Dra. Nayara T. C. Marques.

A toda a equipe do LCGP.

À PROPPi/UFF, CAPES, CNPq e FAPERJ pelo apoio financeiro.



**Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas**

**Título do Projeto: AVALIAÇÃO DA VIRULÊNCIA DE CEPAS OS-MRSA APÓS EXPOSIÇÃO A CONCENTRAÇÕES SUBINIBITÓRIAS DE OXACILINA**

**Autores: Maria Eduarda Rocha Condé; Denise Braga Shimidt;**

**Helvécio Cardoso Corrêa Póvoa**

**Departamento/Unidade/Laboratório: Departamento de Ciências Básicas/ Instituto de Saúde de Nova Friburgo/ Laboratório de Microbiologia Experimental e Aplicada**

## **INTRODUÇÃO:**

*Staphylococcus aureus*, apesar de naturalmente sensível aos antibióticos é conhecido por sua habilidade de adquirir resistência facilmente. A expressão da resistência pode ocorrer como consequência do uso irracional dos antibióticos, pois isso resulta na disseminação de concentrações subinibitórias (sub-MICs) nos mais variados ambientes, impondo uma pressão seletiva sobre a bactéria e favorecendo sua evolução genética, como resposta ao estresse ambiental. Por esse motivo, o estudo teve como objetivo avaliar *in vitro* a influência da pressão seletiva sobre a expressão da resistência aos antibióticos em *S. aureus* sensíveis à oxacilina, através da exposição à sub-MICs deste antibiótico. Cinco amostras isoladas de colonização nasal que apresentavam perfis genotípicos variados foram expostas a diluições seriadas de oxacilina (0,125 a 256 µg/mL) por cinco a dez dias consecutivos. A cada 24 horas, as amostras foram reexpostas ao antibiótico, usando o crescimento visível na maior concentração de oxacilina. Antes e depois da indução foi feito o teste de disco difusão, para

determinar o perfil de suscetibilidade a vários antibióticos; e determinado o perfil de análise populacional, para avaliar a expressão da resistência à oxacilina.

## **RESULTADOS E DISCUSSÕES:**

A suscetibilidade aos antibióticos não β-lactâmicos não foi alterada. Por outro lado, foram observadas mudanças na expressão da resistência à oxacilina e cefoxitina. Duas amostras (SA607 e SA786) passaram a expressar homoresistência (MIC de oxacilina igual a 256 µg/mL). Dentre elas, SA607, *mecA* positiva oxacilina sensível (OS-MRSA). As demais (*mecA* e *mecC* negativas) atingiram MICs de 8 µg/mL (SA177) e 32 µg/mL (SA799), e com exceção de uma (SA292), foram classificadas como heterorresistentes após indução. As alterações observadas para a amostra OS-MRSA (SA607) foram atribuídas à ativação de *mecA* e ao estímulo do *locus bla*. A hiperprodução de β-lactamase e as modificações nas PBP's nativas de *S. aureus* foram associadas às mudanças relacionadas às demais amostras.

## CONCLUSÕES:

A simulação *in vitro* da pressão seletiva antimicrobiana alterou a expressão fenotípica da resistência à oxacilina. Isso reforça o impacto que o uso irracional de antibióticos tem sobre indivíduos colonizados por *S. aureus* e sobre a população, enfatizando que a emergência e disseminação de resistência aos antibióticos representam um processo de evolução em resposta à pressão seletiva antimicrobiana.

## AGRADECIMENTOS:

Agradecemos a equipe do Laboratório de microbiologia do instituto Biomédico da Universidade Federal Fluminense, Niterói RJ

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AARESTRUP, F. M.. Veterinary drug usage and antimicrobial resistance in bacteria of animal origin. *Clinical Pharmacology & Toxicology*, v. 96, p. 271-281, 2005.

AEDO, S; TOMASZ, A.. Role of the stringent stress response in the antibiotic resistance phenotype of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 60, n. 4, p. 2311-2317, 2016.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Critérios diagnósticos de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Série: Segurança do paciente e qualidade em serviços de saúde. 1 ed. 2013. Disponível em: <

<http://www20.anvisa.gov.br/segurancadopaciente/images/documentos/livros/Livro2-CriteriosDiagnosticosIRASaude.pdf>>. Acesso em: 13 abril 2016.

ALLEKSHUN, M. N.; LEVY, S. B.. Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. *Cell*, v. 128, p. 1037-1050, 2007.

ANDERSSON, D. I.; LEVIN, B.R.. The biological cost of antibiotic resistance. *Current Opinion in Microbiology*, v. 2, p. 489-493, 1999.

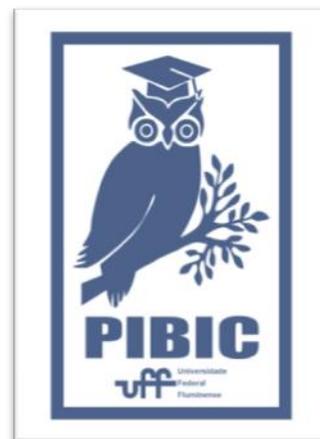


Imagem 1: Imagem PIBIC



## Ciências Biológicas

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

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

Laboratório de Fisiologia Endócrina e Metabologia, Instituto Biomédico, UFF

#### INTRODUÇÃO:

O envelhecimento celular é um processo progressivo comum a todos os seres vivos, caracterizado por modificações na fisiologia de órgãos e sistemas do nosso organismo, aumentando a suscetibilidade de doenças crônicas não transmissíveis. O estilo de vida e o perfil alimentar podem afetar significativamente a taxa de envelhecimento. A Restrição Calórica (RC) tem sido proposta como uma estratégia para mitigar os efeitos do envelhecimento, pois diminui a inflamação e atua favorecendo processos biológicos como homeostase glicêmica, biogênese mitocondrial, balanço oxidativo, e reparo e manutenção celular, além de também aumentar a expressão do marcador de longevidade Sirtuina 1 (SIRT1). No entanto, visto que manter uma dieta restritiva em longo prazo é de difícil execução, busca-se por alimentos que causem os mesmos efeitos da RC sem a necessidade de se diminuir a ingestão alimentar. Os alimentos funcionais têm demonstrado serem bons reguladores metabólicos. A canela (*Cinnamomum verum*) possui efeitos benéficos no metabolismo glicídico e lipídico, composição corporal, inflamação e estresse oxidativo<sup>7,8</sup>. Nesse

contexto, tivemos como objetivo investigar se a canela é capaz de exercer efeitos similares ou potencializar os fenótipos induzidos pela RC, com foco em aspectos moleculares e histológicos do tecido adiposo.

Para isso, nós utilizamos ratos Wistar machos com 3 meses de idade e os dividimos em 4 grupos (n=8 por grupo): grupo controle com oferta alimentar livre (CT); grupo Canela (CNL) com oferta alimentar livre e tratado com 50 mg de canela em pó/kg de peso corporal; grupo Restrição Calórica (RC) que recebeu ração com oferta limitada a 70% da ingestão do grupo CT; grupo Restrição Calórica com Canela (RCNL) que recebeu ração com oferta limitada a 70% da ingestão do grupo CT + suplementação de 50 mg de canela em pó / kg de peso corporal. O tratamento durou 6 semanas e a ingestão alimentar e o peso corporal foram avaliados diariamente. Três horas antes do sacrifício a ração foi retirada para minimizar oscilações na glicemia. O tecido adiposo marrom (TAM), tecido envolvido na termogênese, e o tecido adiposo branco (TAB), responsável pelo armazenamento de gordura, foram coletados para análises histológicas utilizando a técnica de hematoxilina e eosina e

para análises moleculares da expressão de RNAm por PCR em tempo real (q-PCR) de genes envolvidos na via do metabolismo lipídico do TAB. Dentre os genes estão: o *Lpl*, que codifica a enzima lipase lipoproteica (LPL); o *Srebf1* gene codificador do fator 1 de transcrição de ligação do elemento regulador de esterol (SREBP1) que é um fator de transcrição que regula a maquinaria lipogênica; o *Fasn*, gene codificador da enzima ácido graxo sintase; o *Acaca*, gene codificador da enzima acetil-CoA carboxilase 1 (ACC), além da expressão da *Sirt1*. Utilizamos o gene *Rplp0* como gene de referência (sem diferença na expressão entre os grupos). As concentrações séricas de colesterol e triglicérideo foram avaliadas por kit comercial (Kovalent), de acordo com as orientações do fabricante.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES:

O padrão alimentar da ingestão cumulativa de alimentos permaneceu semelhante entre os grupos com ingestão alimentar livre e entre os grupos em RC. O peso corporal dos animais diminuiu significativamente ( $p < 0,05$ ) nos grupos RC em comparação com os grupos alimentados livremente. Não observamos diferenças nas concentrações séricas de colesterol, triglicérideo e glicose. Não observamos alteração na massa do TAM entre os grupos. Entretanto, análise histológica mostrou uma redução significativa da área ocupada por gotículas lipídicas do TAM nos grupos com RC em relação aos grupos alimentados de forma livre ( $p < 0,05$ ). O tratamento com canela não modificou a resposta

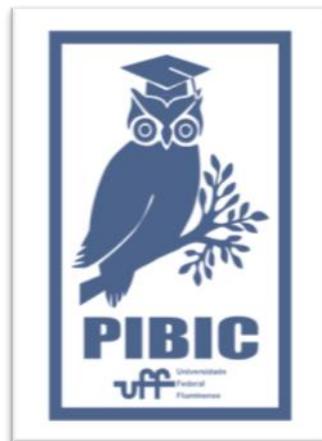
da RC, sugerindo que a redução do conteúdo de gordura do TAM observado no grupo RCNL é um efeito da restrição calórica. A massa do TAB não reduziu de forma significativa no grupo RC quando comparado ao CT. Entretanto, o grupo RCNL apresentou redução ( $p < 0,05$ ) na massa de TAB em relação ao grupo CNL, o que sugere que o tratamento com canela potencializou o efeito da RC sobre este parâmetro. Já a análise histológica do diâmetro dos adipócitos brancos mostrou que somente o grupo RCNL apresentou uma diminuição significativa ( $p < 0,05$ ) no tamanho das células quando comparado aos demais grupos. Observamos uma diminuição significativa ( $p < 0,05$ ) na expressão do gene *Lpl* no grupo RC em relação ao grupo CT e no grupo RCNL em relação aos grupos CT e CNL. Em relação aos genes *Srebf1*, *Acaca* e *Fasn* observamos uma diminuição significativa somente do grupo RCNL em relação ao grupo CT, destacando o efeito potencializador da canela à restrição calórica na modulação de genes envolvidos no metabolismo lipídico adipocitário. A expressão de RNAm da *Sirt1* não apresentou mudança significativa em entre os grupos.

## CONCLUSÕES:

Os dados obtidos até o presente momento sugerem que a canela pode atuar potencializando os efeitos da restrição calórica sobre a massa adiposa, o volume dos adipócitos e sobre a redução da expressão de genes lipogênicos no TAB.

**AGRADECIMENTOS:**

PROPI, UFF; CNPq; FAPERJ; CAPES;  
DIPAT-INCA.





## **CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**ECOLOGIA DE PEIXES DE RIACHOS DA BACIA DO RIO POMBA, RIO DE JANEIRO E MINAS GERAIS, BRASIL**

**LUCAS MARINHO CAMPOS MARTINS E IGOR DAVID DA COSTA**

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

### **INTRODUÇÃO**

Riachos são considerados ambientes especiais, pois neles são dominantes espécies de peixes de pequeno porte que em geral, correspondem a aproximadamente 50% do total de espécies de peixes de água doce descritas da América do Sul e mostram um grau elevado de endemismo (CASTRO et al. 2003). Em proporção ao volume de água disponível, estes são ambientes de extrema riqueza, sendo que o estudo da sistemática, evolução e biologia geral das espécies de peixes de pequeno porte é, sem dúvida, o grande desafio da ictiofauna sul-americana no início deste século (ALILOU et al., 2019).

Estudos de Langeani et al. (2007), na bacia do alto rio Paraná, indicaram uma ascendente taxa de descrição de espécies, indicando que, em uma das regiões mais degradadas do país e com maior número de pesquisadores ativos

*per capita*, ainda há uma parcela desconhecida da ictiofauna, particularmente em ambientes de riachos.

Dessa maneira, é plausível esperar que situação semelhante seja registrada na bacia do rio Pomba, que é naturalmente parte de um sistema com elevada diversidade específica e do qual pouco se conhece a respeito de sua fauna aquática em geral. O presente projeto foi elaborado com vistas a suprir a lacuna de conhecimento referente a ictiofauna de riachos de uma importante bacia hidrográfica da região sudeste, em ambientes particularmente propensos a exibir elevada diversidade e endemismo, mas que também estão expostos a diversas atividades que provocam modificações nos seus habitats.

Afim de melhor compreender a metodologia do trabalho descrevemos que: O rio Pomba apresenta sua nascente à 1.182 m de altitude,

na Serra do Sapateiro, região da Mantiqueira, município de Santa Bárbara do Tugúrio-MG. A bacia hidrográfica do rio Pomba possui uma área de 8.544 km<sup>2</sup> e está inserida na bacia do rio Paraíba do Sul (BRASIL, 2012).

As amostragens foram realizadas em outubro e dezembro de 2019 e 10 riachos foram amostrados. Para cada riacho um trecho de 80 m de extensão foi analisado sendo realizada a coleta da ictiofauna e medidas de estrutura física interna e externa.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Devido as medidas tomadas com o intuito de combater a atual pandemia do COVID-19, não foi possível finalizar a análise do material coletado em campo. Os exemplares coletados se encontram no Departamento de Ciência - Faculdade de Formação de Professores - Universidade do Estado do Rio de Janeiro. A identificação de todo o material será realizada após a retomada das atividades da instituição supracitada.

Foram amostrados um total de 1.361 indivíduos, compreendidos em 15 espécies distintas. As espécies mais abundantes foram *Poecilia reticulata* Peters, 1859 (n = 747; 54% da abundância total), *Poecilia vivipara* Bloch & Schneider, 1801 (n = 291; 21%) e *Bryconamericus microcephalus* (Miranda Ribeiro, 1908) (n = 142; 10%).

Um total de nove espécies foram classificadas como nativas, sendo elas: *Astyanax sp. 1* Melo, 2001; *Oligosarcus hepsetus* (Cuvier, 1829); *Cyphocharax gilbert* (Quoy & Gaimard, 1824); *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794); *P. vivipara*; *Gymnotus carapo* Linnaeus, 1758; *Geophagus brasiliensis* (Quoy & Gaimard, 1824); *Australoheros paraibae* Ottoni & Costa, 2008; *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard,

1824). As seis espécies restantes foram classificadas como exóticas, sendo elas: *B. microcephalus*; *Hyphessobrycon eques* (Steindachner, 1882); *Phalloceros harpagos* Lucinda, 2008; *P. reticulata*; *Hoplosternum littorale* (Hancock, 1828); *Schizolecis guntheri* (Miranda Ribeiro, 1918). Espécies exóticas causam a diminuição de espécies nativas, por predação e/ou competição, alterações no ambiente e redução de sítios de desova, sendo dessa forma bioindicadores da integridade do ambiente (Miranda 2012). Os principais fatores relacionados introdução de espécies exóticas de peixes são a extinção de espécies nativas, hibridização, transmissão de doenças e parasitas e alterações das cadeias tróficas, contribuindo assim para os impactos das atividades antrópicas nos ecossistemas (Miranda et al. 2010).

## CONCLUSÕES

Os riachos localizados na bacia do rio Pomba, mesmo apresentando elevado grau de desmatamento e alterações ambientais decorrentes do uso do solo na matriz adjacentes, apresentam elevada riqueza de espécies de peixes. Sendo necessárias mais amostragens e estudos na referida bacia, objetivando conhecer de forma mais apurada a biodiversidade ictiofaunística local.



**Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas**

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

**Autores: Nikolas Cunha de Assis Pereira; Ana Beatriz Araújo Mendes; Nádia Alice Vieira da Motta; Fernanda Carla Ferreira de Brito**

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

## **INTRODUÇÃO:**

O tributilestanho (TBT - tributiltin) é um composto amplamente utilizado em biocidas, fungicidas agrícolas, bem como em tintas anti-incrustativas. Por ser lipossolúvel, ele tende a se acumular em peixes e frutos do mar. Dessa forma, a exposição humana ocorre também através da ingestão de frutos do mar contaminados com TBT e através de verduras, legumes ou frutas onde se usam biocidas à base de TBT. Sabe-se que ele inibe a aromatase responsável pela transformação da testosterona em estrogênio em gastrópodes fêmeas, funcionando como um desregulador endócrino. Diversos efeitos sobre o sistema cardiovascular, reprodutor e endócrino foram descritos na literatura, contudo permanecem dúvidas sobre seu impacto sobre o desenvolvimento de doenças cardiovasculares. O objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos da administração crônica de TBT sobre a reatividade vascular de ratos Wistar. Ratos Wistar machos adultos foram divididos

randomicamente em três grupos (n=10): grupo controle (C), grupo TBT 500ng/kg e grupo TBT 1000ng/kg, recebendo o tratamento por via oral, por 30 dias, diariamente. No 31º esses animais foram anestesiados e posteriormente eutanasiados para coleta de tecidos para análises funcionais, moleculares e funcionais. Para ensaio funcional, foi realizado o ensaio de órgão isolado. A aorta torácica dos animais foi retirada e rapidamente colocada em uma placa de Petri contendo solução nutritora de Krebs modificada para a retirada dos tecidos adjacentes. Uma vez limpo, o seguimento de aorta foi dividido em pequenos anéis (3-5 mm) e conectada a um transdutor de deslocamento de força conectado a um software (Windaq Data Acquisition – DATAQ Instruments). As preparações foram colocadas em um banho de órgão isolado contendo 10 mL de solução nutritora de Krebs modificada aquecida a 37°C, pH 7,4 e oxigenada por aeração contínua com mistura carbogênica (95% O<sub>2</sub> e 5% CO<sub>2</sub>). Após o período de estabilização, foi realizado o teste de viabilidade do endotélio. A contração dos

anéis foi induzida com fenilefrina ( $10^{-6}$  M), e após atingir o platô contrátil, foi adicionado acetilcolina ( $3 \times 10^{-8}$  M a  $10^{-4}$  M), após relaxamento e estabilização, foram feitas curvas de fenilefrina ( $3 \times 10^{-8}$  a  $10^{-4}$ ). (Silva *et al.*, 2005). Os dados foram analisados empregando o teste one-way ANOVA, com pos-test de Bonferroni,  $P < 0,05$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÕES:

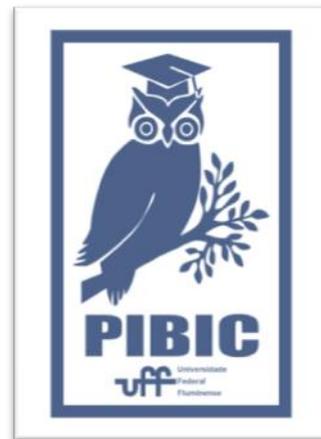
O grupo TBT 1000ng/kg apresentou aumento da resposta contrátil frente à fenilefrina, dependente de endotélio, quando comparado ao grupo controle ( $1083,0 \pm 87,8$  mg e  $814,9 \pm 35,01$  mg, respectivamente), mostrando que o TBT pode afetar a atividade contrátil, através de ações endotélio dependentes. Não houve diferenças no relaxamento máximo, induzido pela acetilcolina nos dois grupos tratados com TBT. O tratamento com TBT diminuiu a expressão da proteína peNOS (Ser 1177) no grupo TBT 1000ng/kg quando comparado ao controle ( $0,169 \pm 0,04$  % e  $0,826 \pm 0,14$  %, respectivamente). Esses resultados sugerem que a administração de TBT exerce efeitos sobre a produção de NO. Os níveis de malondialdeído se encontraram aumentados em homogenato de aortas, nos dois grupos tratados (TBT 500ng/kg  $5,09 \pm 0,03$ ; TBT 1000ng/kg  $2,09 \pm 0,03$  nmol/mg de proteína) quando comparados ao grupo controle ( $0,560 \pm 0,03$  nmol/mg de proteína), sugerindo aumento do estresse oxidativo.

## CONCLUSÕES:

O conjunto de nossos resultados nos permite concluir que o tratamento crônico com o TBT foi capaz de promover aumento da reatividade vascular e disfunção endotelial, caracterizando um aumento do risco cardiovascular. Esses efeitos parecem estar associados ao aumento do estresse oxidativo, aumento da resposta contrátil e diminuição da biodisponibilidade de NO.

## AGRADECIMENTOS:

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





**Grande área: Ciências Biológicas**

**Título: Implementação da Técnica de Microarranjo para Tipagem de Papilomavirus Humano (HPV) em Indivíduos Vivendo ou Não com o Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV): uma Comparação com a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) Convencional**

**Autoras: Gabriela Rapozo Guimarães, Sílvia Maria Baeta Cavalcanti, Katia Cristina da Silva e Milena Siqueira Pereira**

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

### **INTRODUÇÃO:**

O Papilomavírus Humano (HPV) é o agente da infecção viral mais comum que afeta o trato reprodutor. É um vírus ubíquo e estima-se que mais de 50% dos indivíduos sexualmente ativos podem ser expostos a ele em algum momento da vida. Em mulheres que vivem com HIV a prevalência de HPV é maior, a infecção tende a ser mais persistente, por múltiplos tipos e tipos pouco prevalentes. Sendo assim, a escolha de tipos de HPV para compor a vacina e a correlação entre eles e o grau das lesões suspeitas dependem diretamente de um protocolo que abarque não só o diagnóstico genérico do HPV e suas lesões, mas que também considere a tipagem dos tipos mais comuns nessa população. Foram selecionadas 49 amostras positivas para PCR genérica convencional (MY09/11), sendo 32 esfregaços de ectocérvice e endocérvice de mulheres que vivem com HIV e 17 biópsias de carcinoma de pênis em homens que não viviam com HIV. Esse trabalho teve como objetivo implementar a técnica de hibridização em

microarranjo para detecção e tipagem de HPV no Laboratório de Diagnóstico Viroológico e avaliar a eficácia e aplicação para o rastreamento de infecções causadas por HPV no colo uterino e carcinoma de pênis, especialmente em pessoas vivendo com HIV.

### **RESULTADOS E DISCUSSÕES:**

Das 17 biópsias de carcinoma de pênis, em 12 (70 %) foi observado algum resultado além dos controles. Foi possível detectar, conforme Tabela 1, 10 tipos de HPV (HPV 6, 16, 18, 11, 70, 66, 31, 45, 35 e 83), sendo assim 30% eram de baixo risco (HPV 6, 11 e 83), e 60% carcinogênicos (HPV 16, 18, 66, 31, 35e 45) e 10% provavelmente carcinogênicos (HPV 70). Os tipos de HPV mais frequentes foram o HPV 70 em 7 amostras, seguido do HPV 16 em 6 amostras e dos HPV 6 e 11 em 3 amostras cada um. Das 12 amostras que apresentaram algum tipo viral contido no chip, 5 (41%) delas detectaram infecção por um único tipo, 1 (9%) infecção por dois tipos, e 6 (50%) detectaram infecções

múltiplas. Sendo a média de HPV encontrado de 2,2 tipos, sendo o máximo 5 e o mínimo 1. Como esperado, os tipos oncogênicos se destacaram nesse grupo. Destaca-se a alta prevalência do HPV70, pois não é descrito na literatura configurando as primeiras posições, e é considerado possivelmente carcinogênico pela falta de dados. Em relação aos 32 esfregaços das mulheres vivendo com HIV, em 29 (93%) foi observado algum resultado e em apenas 3 não houve resultado. Foi possível detectar 18 tipos de HPV (HPV 35, 54, 90, 16, 18, 44, 81, 45, 70, 42, 52, 11, 6, 53, 58, 61, 33 e 83), sendo 50% de baixo risco (HPV 6, 11, 42, 44, 54, 61, 81, 83 e 90), 38% carcinogênicos (HPV 18, 16, 33, 35, 45, 52 e 58) e 11% provavelmente carcinogênicos (HPV 70 e 53). Os tipos de HPV mais frequentes foram HPV 6 e 11, seguido de HPV 11 em 9 amostras, HPV 18 em 7 amostras e 16 em 5 amostras. Entre as 29 amostras que deram algum resultado na hibridização, 16 (55%) eram infecções múltiplas e 13 (45%) eram infecções únicas. As amostras com infecções múltiplas continham em média 2,75 tipos e 12 (75%) delas continham tipos de alto risco de HPV. Nosso estudo corrobora que outros tipos que não possuem alta relevância clínico-epidemiológica passam a ser observados em indivíduos que vivem com HIV (MCKENZIE et al., 2010). Os tipos *não-16 e 18* corresponderam a 52% das genotipagens, em mulheres que vivem com HIV em contraste com os aproximadamente 10% que eles representam em indivíduos que não vivem com HIV. Obtivemos acesso ao prontuário de 27 pacientes, entre as 29 que foram tipadas. 53,8% das amostras que apresentaram resultado normal (n = 7/13), 87,5% das que apresentaram ASCUS

(n = 7/8) e 16% das que apresentaram resultado alterado (n=1/6) apresentaram infecções múltiplas. Com média de tipos, respectivamente de: 1.8; 3.0; e 1.2. Apresentaram citologia normal 61,5% das amostras (n = 8/13), 50% das que apresentaram ASCUS (n = 4/8) e 66% das que apresentaram resultado alterado (n= 4/6) foram positivas para algum HPV de alto risco. Não houve correlação estatística entre a presença de HPV de alto-risco e alterações na citologia,  $p=0,67$ . Analisamos estatisticamente se havia alguma correlação entre possuir infecções múltiplas com dados laboratoriais relacionados ao HIV e não foi encontrada qualquer relação. Ao analisarmos se havia correlação entre possuir infecções múltiplas e apresentar algum tipo de HPV de alto risco, observamos resultado estatisticamente significativo, onde  $p < 0,05$  ( $=0,04$ ).

#### **CONCLUSÕES:**

Nesse sentido, a implementação da técnica de hibridização em microarranjo no Laboratório de Diagnóstico Viroológico demonstrou ser importante para as mulheres que vivem com HIV. Além de a técnica detectar mais tipos nessa população quando comparada com a que não vive com HIV, através dela foi possível compreender melhor as infecções múltiplas nessa população. Utilizá-lo a longo prazo seria interessante no sentido de observar a persistência das infecções, investigar e destacar pacientes com maior risco de progressão das lesões ocasionadas pelo HPV e identificar genótipos que podem impactar a saúde do trato genital destas pacientes. Dessa forma, será possível compreender, acompanhar e agir precocemente no curso da doença.

## **AGRADECIMENTOS**

A todas do Laboratório de Diagnóstico Viroológico por todo ensinamento passado e momentos compartilhados durante essa jornada. Ao CNPq pelo fomento.

Imagem 1: Imagem PIBIC





## PREVALÊNCIA DE PEDICULOSE DO COURO CABELUDO EM ESCOLARES DE NITERÓI, RJ

Dorea, J. P. S. P, Souza, A. B. , Corrêa, L. L. , Nakashima,  
F.T., Fonseca, A.B.M. , Barbosa, A.S., Bastos, O.M.P.,  
Uchôa, C. M. A.

**Departamento de Microbiologia e Parasitologia. Instituto Biomédico. Laboratório de Bioagentes Ambientais.**

### INTRODUÇÃO

A pediculose é a infestação do couro cabeludo por *Pediculus capitis* e afeta principalmente crianças de 6 a 12 anos. A transmissão ocorre por contato pessoal, principalmente cabeça-cabeça. A principal manifestação clínica é o prurido no couro cabeludo, causado pela reação do hospedeiro à saliva, durante a hematofagia (MADKE; KHOPKAR, 2012).

A prevalência em escolares, no Brasil, foi estimada em 30% (BARBOSA; PINTO, 2003), sendo as informações referentes ao Rio de Janeiro e Niterói escassas. Dessa forma, este estudo propôs avaliar a prevalência de pediculose entre escolares do Ensino Fundamental I (EFI) de Niterói e sua associação com sexo, etnia e características do cabelo. O estudo foi realizado em cinco escolas de Niterói, sendo a amostra mínima de 137 e máxima de 374 escolares, considerando a população escolar de 1º a 5º anos do EFI disponibilizados pela Fundação Municipal de Educação de Niterói, de março de 2015 e nível de confiança de 95%.

Após apresentação do projeto, autorização dos responsáveis e das crianças foi realizada a coleta individual. O diagnóstico foi realizado por meio da aspiração do couro cabeludo (LUSTOSA et al., 2020) e posterior observação do material em microscópio estereoscópico. As informações sobre sexo, etnia e características do cabelo foram anotadas em ficha própria. Foram consideradas positivas, amostras com lêndeas, ninfas ou adultos. O resultado foi entregue, em laudo individual fechado, acompanhado de cartilha informativa. Ao final, foram realizadas reuniões devolutivas com responsáveis e equipe pedagógica.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A taxa de adesão global foi de 21,4% (244/1140). A prevalência da pediculose foi de 19,7% (48/244), sendo inferior à relatada por Oliveira et al. (2017) em Nova Iguaçu, RJ (37,07%). Sugere-se que a menor prevalência, nesse estudo, esteja relacionada a uma menor adesão de crianças sabidamente infestadas, por questão do estigma social da parasitose.

Foi evidenciado maior frequência entre as meninas (79,2%) com diferença estatística significativa ( $p=0,000$ ), o que concorda com o evidenciado por Oliveira et al. (2017) em Nova Iguaçu, RJ. A escola com a maior prevalência foi a do Morro do Estado (25,3%), o que foi associado ao desenvolvimento de atividades anteriores a esse estudo, voltadas para pediculose, tornando a comunidade mais sensível e consciente.

Considerando as características do cabelo, observou-se maior positividade no tipo encaracolado ( $18/49 = 36,7\%$ ) e no tamanho longo, ambos com associação significativa. O comprimento do cabelo também foi associado a infestação por Gulgun et al. (2013).

A técnica de aspiração recuperou formas evolutivas de *P. capitis*, sendo as formas de adulto as mais frequentes e nas meninas. Situação oposta foi relatada por Molina-Garza & Galaviz-Silva (2017), no México, que evidenciaram maior frequência de adultos em escolares do sexo masculino.

Foram realizadas nove reuniões devolutivas com os responsáveis e quatro com equipe pedagógica de quatro escolas. Pôde-se evidenciar nas reuniões, a coexistência de saberes corretos com mitos, principalmente na questão da transmissão da pediculose pelo ato de voar ou pular, bem como uso de inseticida ambiental no controle da parasitose, fatos também relatados por Goldschmidt e Loreto (2012).

## CONCLUSÕES

A prevalência geral de pediculose foi de 19,7% entre escolares de Niterói, RJ. Foi

observada associação significativa entre o sexo feminino e o comprimento do cabelo com a positividade. A técnica de aspiração mostrou eficácia, principalmente na coleta de ninfas e adultos.

A presença da pediculose em todas as escolas torna necessária a realização de ações educativas, objetivando empoderar a comunidade sobre o tema e possibilitar a aquisição de comportamentos preventivos e curativos adequados, considerando principalmente o uso do pente fino.

## AGRADECIMENTOS

Ao Núcleo de Ações Integradas da Fundação Municipal de Educação; a CAPES e a PROPPI-UFF pelo apoio financeiro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBOSA, J. V.; PINTO, Z. T. Pediculose no Brasil. II Encuentro Nacional de Entomología Médica y Veterinaria, Universidade Gama Filho. **Entomol Vect.**, v.10, n.4, p 579-586, 2003.

GULGUN, M., BALCI, E., KARAOĞLU, A., et al. (2013). Pediculosis Capitis: Prevalence and Its Associated Factors in Primary Schoolchildren Living in Rural and Urban Areas in Kaiseri, Turkey. **Central European Journal of Public Health**, v. 21, n 2, p 104-108, 2013.

LUSTOSA, R, P, B. HAIDAMAK, J. OISHI, Y, C. et al. Vacuuming method as a successful strategy in the diagnosis of active infestation by *Pediculus humanus capitis*. **Journal of the São Paulo Institute of Tropical Medicine**, v. 2, n 2, p 1-7, 2020.

MADKE, B. & KHOPKAR, U. Pediculosis capitis: an update. **Indian Journal of Dermatol Venereol Leprol**, v.70, n 4, p.429-438, 2012.

MOLINA-GARZA, Z. J., & GALAVIZ-SILVA, L. *Pediculus capitis* en niños de escuelas de la zona urbana de Nuevo León, México: análisis de

factores asociados. **Biomédica**, v. 37, n 3, p 333-340, 2017.

OLIVEIRA AF, NORBERG AN, OLIVEIRA JTM, et al. Prevalência de pediculose em estudantes do município de Nova Iguaçu, estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Pensar Acadêmico**. v.15, n.2, p,139-146. 2017.



**Ciências Biológicas**

**PAPEL DA ATIVAÇÃO DA VIA DA CSK/C-SRC POR SULFASSALAZINA E ÁCIDO CAFÉICO NA REDUÇÃO DE VIABILIDADE DE GLIOBLASTOMAS CULTIVADOS.**

**Manuela Vilas Carvalho, Igor Vilaça Romano e Marcelo Cossenza**

**Departamento de Fisiologia e Farmacologia/ Instituto Biomédico/ Laboratório de Farmacologia Molecular**

### **INTRODUÇÃO:**

A retina de embrião de galinha é um excelente modelo de estudo do SNC. O papel da glia de Müller na retina é pouco estudada como modelo de glio-sinalização e em eventos de sinapses tripartite. A glia, quando alterada é uma célula-chave na formação de doenças do SNC. Conhecidamente, glioblastomas multiformes cerebrais (GBM) são tumores incuráveis derivados de astrócitos e levam a óbito normalmente em 12 meses. Muitos esforços têm sido despendidos para o entendimento de sua biologia e busca por novos alvos farmacológicos. Neste sentido, nos últimos anos foi demonstrada a forte ativação da via da c-Src em GBMs e sua relação com crescimento, expansão e migração celular. A inibição da c-Src tem sido proposta como possível alvo terapêutico. A c-Src é constitutivamente inibida, em células saudáveis, pela fosforilação de seu resíduo tirosina 527, que controla seu potencial oncogênico. A enzima responsável por essa inibição é a quinase do C-terminal da Src (Csk), mas tem sido descrito, que em tumores como o GBM, a CSK e c-Src estão com pouca ou

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

### **RESULTADOS E DISCUSSÕES:**

Para determinarmos a atividade da Src e Csk tratamos as células com SAS, CFA e

CGA. No tratamento das células da linhagem U87 com SAS, CFA e CGA nas concentrações de 500 $\mu$ M para o primeiro e 300 $\mu$ M para os dois últimos, esperávamos observar um aumento da expressão da Csk e src 527 fosforiladas, já que desta maneira, a proteína Src estaria inativada. No entanto, observamos um aumento da proporção de YSrc527 quando comparada com a Src total, toda via o erro ainda está grande. Torna-se necessário reproduzirmos esse experimento para apresentarmos dados conclusivos e satisfatórios

Para determinarmos a viabilidade e testarmos o possível efeito sinérgico entre os fármacos, tratamos as células U87 com SAS, CFA e SAS+CFA em diferentes concentrações por 24 e 48h. Conforme mostra a figura 8, tanto a SAS quanto o CFA produziram um efeito dose-dependente na redução da viabilidade celular. Entretanto, a potência aparente desta redução foi mais evidente no tratamento combinado, sugerindo um possível efeito sinérgico.

Pretendemos realizar a determinação da expressão e atividade das proteínas Src e Csk também utilizando estas concentrações e combinação dos fármacos.

Como forma de avaliar os efeitos dos fármacos em condições normais, ou seja, não patológicas, realizamos cultura mista de células de retina de embrião de galinha. Os progenitores da retina originam todos os tipos de neurônios e glia de Müller durante o período de desenvolvimento, sendo um ótimo modelo de estudo. A cultura foi tratada com outro composto derivado do café, o ácido clorogênico (CGA), já

utilizado pelo nosso grupo em dados anteriores, na concentração de 30  $\mu$ M por intervalos de tempo de 5, 15, 30, 45 e 60 minutos para avaliar a expressão da Src e Csk após exposição a esse fármaco. Os resultados obtidos na figura 3 não foram conclusivos, realizaremos novamente os experimentos para ajuste da técnica e novos experimentos serão feitos a fim de confirmar a existência ou não de possíveis alterações na expressão dessas proteínas após tratamento com CGA.

### **CONCLUSÕES:**

Os Tratamentos com CFA isoladamente produz importante redução da viabilidade das U87, de forma dose-dependente. O tratamento combinado da SAS e CFA deslocam a curva dose-resposta para a esquerda, identificando um provável aumento na potência aparente.

Não foi possível, até o momento, correlacionar os efeitos do CFA com a inibição da via da Csk-Src, um efeito observado em publicações anteriores do nosso laboratório de Farmacologia Molecular da UFF. O mesmo ocorreu para os efeitos do CGA na expressão das proteínas Src e Csk no modelo não patológico.

### **AGRADECIMENTOS:**

UFF-PROPPI, CNPQ-PIBIC

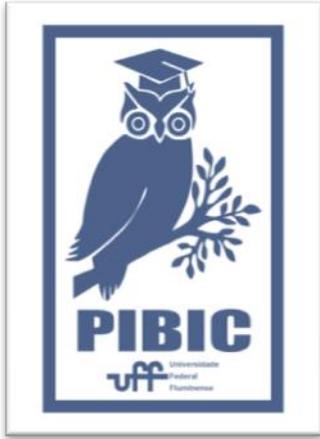


Imagem 1: Imagem PIBIC



**Ciências Biológicas**

**EFEITOS DA HIPÓXIA SOBRE AS RESPOSTAS FISIOLÓGICAS  
EM HOMENS E MULHERES: UM ESTUDO COMPARATIVO**

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

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

**INTRODUÇÃO:**

Com o aumento da população mundial, o número de pessoas que reside em altitudes elevadas (>2.500m) vem aumentando significativamente, ultrapassando a marca de 140 milhões. Nesses locais, devido à baixa pressão atmosférica, o organismo se depara com uma situação conhecida como hipóxia hipobárica, que pode causar diversas respostas fisiológicas. Embora os efeitos da altitude já venham sendo alvo de investigações, ainda são poucos estudos que avaliam se essas respostas clássicas à hipóxia são também recorrentes em mulheres, tendo em vista que a participação destas em ambientes adversos têm aumentado. Além disso, mulheres apresentam diferenças no controle cardiovascular já em condição de normóxia (nível do mar) em comparação aos homens. Recentemente, um estudo comparando as respostas entre homens e mulheres em altitude contratou que mulheres apresentaram menor ativação simpática cardíaca em hipóxia. Entretanto, outro estudo demonstrou respostas cardiorrespiratórias similares entre homens e mulheres expostos a uma altitude simulada de 4.800m (FiO<sub>2</sub> =

11.5%). Neste sentido, as respostas cardiovasculares de repouso durante à hipóxia não estão totalmente elucidadas e eventualmente apresentam resultados controversos. Visto a carência de estudos comparando os gêneros em resposta à hipóxia, faz-se necessário maiores investigações neste importante tema. Nosso estudo contou com 11 voluntários (6H e 5M), os quais foram submetidos a 10 minutos em normóxia e 10 minutos em hipóxia (FiO<sub>2</sub> = 11.5%) e tiveram suas respostas fisiológicas analisadas.

**RESULTADOS E DISCUSSÕES:**

Conforme o esperado, em hipóxia a saturação de oxigênio foi reduzida tanto em H (SPO<sub>2</sub> normóxia: 96 ± 1 vs. SPO<sub>2</sub> hipóxia: 87 ± 2%, p=0,0002) quanto em M (SPO<sub>2</sub> normóxia: 97 ± 1 vs. SPO<sub>2</sub> hipóxia: 85 ± 6%, p<0,0001) e a ventilação aumentou em hipóxia apenas para as M (VE normóxia: 14,83 ± 2,55 vs. VE hipóxia: 16,27 ± 2,59 L/min, p=0,0046) vs. (VE normóxia: 13,40 ± 3,26 vs. VE hipóxia: 13,92 ± 3,83 L/min, p=0,1773). A variabilidade da frequência cardíaca foi avaliada no domínio da frequência para estimar a modulação autonômica cardíaca. O componente de baixa frequência (LF), o qual

representa modulação simpática e parassimpática em repouso, não foi alterado em unidades normalizadas (percentuais) nos H (LF normóxia:  $45,15 \pm 18,25$  vs. LFn hipóxia:  $57,80 \pm 14,81$  u.n.;  $p=0,0447$ ) nem nas M (LFn normóxia:  $40,94 \pm 31,45$  vs. LFn hipóxia:  $38,85 \pm 26,51$  u.n.;  $p=0,7341$ ). O componente de alta frequência, o qual representa a modulação parassimpática cardíaca, também não foi alterado em unidades normalizadas nos H (HF normóxia:  $51,67 \pm 18,52$  vs. HFa hipóxia:  $37,39 \pm 16,16$  u.n.;  $p=0,0357$ ) nem nas M (HF normóxia:  $55,11 \pm 31,12$  vs. HFa hipóxia:  $55,68 \pm 25,56$  u.n.;  $p=0,9308$ ). Dessa forma, o balanço simpátovagal também não apresentou alterações significativas em ambos os sexos H (LF/HF normóxia:  $1,26 \pm 1,58$  vs. LF/HF hipóxia:  $3,14 \pm 4,64$ ;  $p=0,1086$ ) e M (LF/HF normóxia:  $1,24 \pm 1,58$  vs. LF/HF hipóxia:  $1,45 \pm 2,52$ ;  $p=0,8598$ ). Além disso, a sensibilidade barorreflexa espontânea também não apresentou alterações nem em H ( $\alpha$ LF normóxia:  $9,94 \pm 4,39$  vs.  $\alpha$ LF hipóxia:  $8,88 \pm 1,75$  ms/mmHg;  $p=0,2756$ ) nem em M ( $\alpha$ LF normóxia:  $7,86 \pm 4,67$  vs.  $\alpha$ LF hipóxia:  $6,69 \pm 4,84$  ms/mmHg;  $p=0,27$ ). A frequência cardíaca (FC) foi aumentada tanto em H (FC normóxia:  $74 \pm 10$  vs. FC hipóxia:  $79 \pm 11$  bpm;  $p=0,0011$ ) como em M (FC normóxia:  $76 \pm 13$  vs. FC hipóxia:  $83 \pm 11$  bpm;  $p<0,0001$ ). O débito cardíaco (DC) não apresentou alterações em H (DC normóxia:  $6,13 \pm 0,40$  vs. DC hipóxia:  $6,61 \pm 0,49$  l/min;  $p=0,069$ ) nem em M (DC normóxia:  $7,42 \pm 4,07$  vs. DC hipóxia:  $7,74 \pm 3,29$  l/min;  $p=0,2412$ ). O índice do volume sistólico (iVS) também não se alterou nem em H (iVS

normóxia:  $42 \pm 6$  vs. iVS hipóxia:  $43 \pm 5$ ;  $p=0,61$ ) nem em M (iVS normóxia:  $55 \pm 23$  vs. iVS hipóxia:  $52 \pm 18$ ;  $p=0,1992$ ).

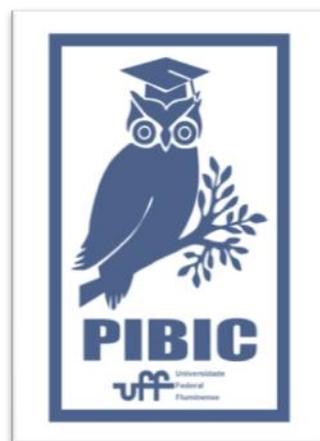
## CONCLUSÕES:

Ao separarmos os voluntários por sexo, verificamos que a diminuição da saturação de oxigênio ocorre em ambos os sexos. No caso das respostas ventilatórias, observamos que apenas as mulheres apresentam um aumento significativo da ventilação minuto em hipóxia, já o volume corrente e a frequência respiratória não apresentam mudanças significativas tanto em homens quanto em mulheres.

Em relação às variáveis hemodinâmicas e autonômicas, a frequência cardíaca aumenta significativamente em hipóxia para ambos os sexos, sendo que as mulheres apresentam um aumento significativamente maior do que o dos homens. As respostas do volume sistólico index, index cardíaco e débito cardíaco para a condição de hipóxia não foram significativas para ambos os sexos. Ao analisarmos a variabilidade da frequência cardíaca, observamos que, embora a frequência cardíaca tenha aumentado em hipóxia tanto em homens como em mulheres, as alterações para ambos os sexos em termos dos componentes de baixa e de alta frequência, balanço simpátovagal e a sensibilidade barorreflexa não demonstraram alterações significativas. Esse resultado se deu provavelmente em função do tamanho reduzido da amostra. Embora tais resultados tenham sido encontrados, é necessário confirmá-los a partir de uma amostra maior.

## **Agradecimentos:**

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





## **Ciências Biológicas**

### **Análise Morfológica e de Diversidade de Cirripedia (Crustacea, Thoracica) da Elevação do Rio Grande e Bacia de Campos**

**Natália da Silva Fontella; Filipe Henrique Piveta Schulz; Fábio Bettini Pitombo**

**Instituto de Biologia / Departamento de Biologia Marinha / Laboratório de Sistemática e Ecologia de Cirripedia.**

#### **INTRODUÇÃO:**

A infraclasse Cirripedia se subdivide em três Superordens: a Superordem Acrothoracica, que compreende as cracas que não possuem placas; a superordem Rhizocephala, que são indivíduos endoparasitas; e a superordem Thoracica, que são as cracas que possuem placas calcáreas envolvendo todo o corpo, sendo assim, consideradas cracas verdadeiras. A superordem Thoracica é dividida em cinco ordens, Cyprilepadiformes, Ibliformes, Lepadiformes, Scalpelliformes e Sessilia.

As cracas são animais filtradores que se encontram fixados na superfície de substratos consolidados, que podem ser costões rochosos, construções humanas como navios e portos, e também na superfície de outros animais como baleias, caranguejos, mexilhões e ostras.

A concha desses animais é composta por diversas placas que se diferenciam de acordo com o grupo. As placas escudos e tergos são móveis em algumas espécies e servem como controle de abertura e fechamento para a cavidade de filtração, parecido com um alçapão, onde estão os cirros (PECHENIK, 2016; RAINBOW, 1984).

Este trabalho tem como objetivo principal ilustrar a diversidade de formas e a morfologia encontradas nos grupos de Cirripedia retirados da região da Elevação do Rio Grande e da Bacia de Campos.

#### **RESULTADOS E DISCUSSÕES:**

*Scillaelepas grimaldii* (Aurivillius, 1898)

Capítulo composto por 13 placas totalmente calcificadas, brancas e sem espaçamentos entre si (fig. 1). O comprimento do capítulo é de 6,8 mm e 4,3 mm de largura. As placas se arranjam em duas camadas no capítulo, com as placas carena, tergos e escudos (maiores) na camada superior, e as placas laterais, rostro e subcarena na camada inferior. Existe, ainda, uma fina cutícula que recobre toda a superfície do animal.

A carena, grande com um formato quase triangular. Seu umbo está localizado no ápice, com linhas de crescimento correndo em direção aos dois lados da base. O tergo possui umbo apical com uma radiação levemente arqueada em direção ao ângulo careno-escudal da placa, que à subdivide em duas porções, sendo a primeira um pouco maior voltada para o escudo, e a segunda um pouco menor voltada para a carena. As linhas de crescimento são bem

marcadas e correm em direção às margens inferiores da placa. O escudo possui umbo apical, com uma radiação arqueada correndo até o meio da margem basal da placa. É possível observar uma saliência bem marcada sob a radiação, seguindo o padrão de curvatura da placa, provocando uma dobra na placa e subdividindo em duas áreas, uma maior voltada para o tergo, e outra menor voltada para a abertura ocludente. As linhas de crescimento são finas, pouco marcadas, correndo em direção à margem basal, com costelas pouco marcadas correndo paralelas à radiação da placa.

### CONCLUSÕES:

Como resultado desse trabalho temos o primeiro registro da espécie *S. grimaldii* no oceano Atlântico sul, o que mostra a grande importância do estudo sobre diversidade de espécies presentes nas cordilheiras e bacias oceânicas do Atlântico Sul, que são muito exploradas por suas riquezas naturais, porém existe pouco investimento em pesquisas nesta região, levando ao descompasso no avanço científico em comparação com outras bacias oceânicas do mundo.

Este trabalho contribuiu para a caracterização da diversidade dos grupos de Cirripedia encontrados na região da Elevação do Rio Grande e da Bacia de Campos, adicionando um novo conhecimento em relação à diversidade e riqueza de espécies.

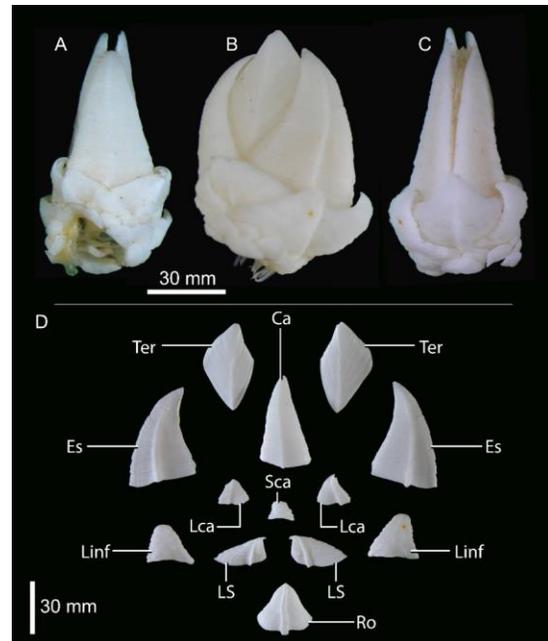


Figura 1. Prancha da morfologia externa de *Scillaelepas grimaldii*, Aurivillius (1898)

### AGRADECIMENTOS:

Agradecemos ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica pela bolsa concedida. Ao Professor Abílio Soares-Gomes por viabilizar o acesso ao material estudado.



## CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

### RESPOSTAS ENDOTELIAIS AO ESTRESSE MENTAL MEDIADAS PELA ANGIOTENSINA II EM INDIVÍDUOS COM SOBREPESO E OBESIDADE

JULIANA MENTZINGER SILVA; HELENA N. M. ROCHA; GABRIEL M. S. BATISTA; AMANDA S. STORCH; VINICIUS P. GARCIA; GABRIEL F. TEIXEIRA; MONIQUE O. CAMPOS; ERIKA A. C. GOMES; ANTONIO C. L. NÓBREGA; NATALIA G.

ROCHA.

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

#### INTRODUÇÃO:

O estresse mental (EM) está relacionado com um quadro de disfunção endotelial em homens com sobrepeso/obesidade grau I. Acredita-se que a angiotensina II mediada pelo receptor AT1 (AT1R), seja a principal via responsável pela disfunção endotelial através do aumento do estresse oxidativo em resposta ao EM nesses indivíduos. Além disso, não se sabe se a administração de um bloqueador do AT1R possa restaurar a função endotelial via balanço oxidativo durante o EM nesses indivíduos. Diante disso, o objetivo do estudo foi determinar as respostas oxidativas e vasculares ao EM em homens com sobrepeso/obesidade grau I.

Quatorze homens com sobrepeso/obesidade ( $27 \pm 2$  anos;  $29,8 \pm 0,7$  kg/m<sup>2</sup>) participaram de duas sessões experimentais randomizadas com

administração oral do bloqueador do receptor AT1 (bloqueio AT1R; olmesartana 40mg) ou placebo. Após duas horas, a função endotelial foi determinada pela dilatação mediada pelo fluxo (DMF) antes (basal), 30 (30EM) e 60 (60EM) minutos após uma sessão de cinco minutos de EM (*Stroop Color Word Test*). O sangue foi coletado antes (basal), durante (EM) e 60 minutos (60EM) após o EM para mensuração de: células progenitoras endoteliais (CPE, citometria de fluxo); nitrito (quimioluminescência); endotelina-1 (ET-1; ensaio imunoenzimático) e estresse oxidativo [peroxidação lipídica (TBARS), oxidação proteica e enzima antioxidante (catalase) por colorimetria]. Os dados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão. O teste ANOVA two-way foi utilizado para comparar medidas das

respostas hemodinâmicas, vasculares e oxidativas ao EM entre as sessões de placebo e bloqueio AT1R. Quando encontrado diferenças significativas para grupo, momento e/ou interação, o teste de Fisher foi utilizado como procedimento post-hoc. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do HUAP/UFF (76594217.0.0000.5243).

### **RESULTADOS E DISCUSSÕES:**

Em condições basais, não foram observadas diferenças nas variáveis hemodinâmicas, DMF, níveis de nitrito, endotelina-1, CPE e carbonilação proteica. As pressões arteriais sistólica (placebo: basal,  $123 \pm 2$  vs. EM,  $137 \pm 3$  mmHg; bloqueio AT1R: basal,  $120 \pm 2$  vs. EM,  $135 \pm 2$  mmHg;  $p < 0,05$ ), diastólica (placebo: basal,  $76 \pm 2$  vs. EM,  $89 \pm 3$  mmHg; bloqueio AT1R: basal,  $76 \pm 3$  vs. EM,  $88 \pm 2$  mmHg;  $p < 0,05$ ) e média (placebo: basal,  $92 \pm 2$  vs. EM,  $105 \pm 3$  mmHg; bloqueio AT1R: basal,  $91 \pm 2$  vs. EM,  $104 \pm 2$  mmHg;  $p < 0,05$ ) e a frequência cardíaca (placebo: basal,  $62 \pm 2$  vs. EM,  $76 \pm 3$  bpm; bloqueio AT1R: basal,  $64 \pm 2$  vs. EM,  $77 \pm 3$  bpm;  $p < 0,05$ ) aumentaram de forma semelhante durante o EM em ambas as sessões. Na sessão placebo, a DMF diminuiu significativamente no momento 30MS (basal,  $8,66 \pm 0,87$  % vs. 30EM,  $6,85 \pm 0,57$  %;  $p = 0,04$ ), os níveis de nitrito diminuíram (basal,  $0,49 \pm$

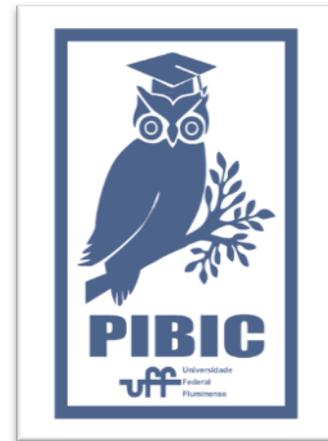
$0,04$   $\mu$ M vs. EM,  $0,43 \pm 0,03$   $\mu$ M;  $p < 0,01$ ) durante a EM, enquanto ET-1 (basal,  $7,05 \pm 0,12$  pg/mL vs. EM,  $7,59 \pm 0,23$  pg/mL;  $p < 0,03$ ), TBARS (basal,  $4,97 \pm 0,32$  nmol/mL vs. EM,  $6,06 \pm 0,61$  nmol/mL;  $p < 0,03$ ), carbonilação de proteínas (basal,  $3,92 \pm 0,81$  nmol/g vs. EM,  $4,51 \pm 0,49$  nmol/g;  $p < 0,01$ ) e catalase (basal,  $68,72 \pm 0,13$  UI/mL vs. EM,  $108,76 \pm 14,95$  UI/mL;  $p < 0,03$ ) aumentaram. Os níveis de TBARS estavam aumentados na sessão placebo (placebo,  $4,97 \pm 0,32$  nmol/mL vs. bloqueio AT1R,  $3,90 \pm 0,27$  nmol/mL;  $p < 0,03$ ) enquanto a atividade da catalase estava diminuída (placebo,  $68,72 \pm 0,13$  UI/mL vs. bloqueio AT1R,  $107,36 \pm 18,11$  UI/mL;  $p < 0,04$ ). Os níveis de CPE não sofreram alterações com tratamento ou tempo. Durante o bloqueio AT1R, a DMF aumentou em 30MS (basal,  $7,30 \pm 0,91$  % vs. 30EM,  $11,33 \pm 1,26$  %;  $p < 0,01$ ; placebo, 30EM  $6,90 \pm 0,59$  % vs. bloqueio AT1R,  $11,33 \pm 1,26$  %;  $p < 0,01$ ). Não foram observadas diferenças nas variáveis ET-1, nitrito, TBARS, carbonilação de proteínas e catalase durante o EM com o bloqueio AT1R. Acredita-se que o bloqueio AT1R melhore a função endotelial em resposta ao EM, via restauração do equilíbrio redox em homens com sobrepeso/obesidade grau I.

### **CONCLUSÕES:**

Os resultados indicam que a administração do bloqueio AT1R parece minimizar os efeitos deletérios do estresse mental na função endotelial, a partir do aumento da vasodilatação mediada pelo fluxo em resposta ao estresse mental. Além disso, o presente estudo fornece evidências sobre o prejuízo na função endotelial estar diretamente associado ao desequilíbrio na homeostase redox e ao aumento de endotelina-1 concomitante a reduzida biodisponibilidade de NO. O bloqueio da via Ang II-AT1R provocou uma redução da peroxidação lipídica e da carbonilação de proteínas, além de atenuar o desequilíbrio de substâncias vasoativas em resposta ao EM, corroborando a hipótese de que a angiotensina II é uma importante mediadora da resposta endotelial após estresse mental agudo em homens com sobrepeso e obesidade grau I.

**AGRADECIMENTOS:**

CAPES, CNPq, FAPERJ e FINEP





## CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

### A INTERAÇÃO DO SISTEMA PURINÉRGICO COM NEUROMODULADORES DURANTE O DESENVOLVIMENTO DA RETINA

ALÍCIA DE SOUZA CARVALHO, LUANY SOUZA COELHO, THAYANE MARTINS SILVA E ANA LUCIA MARQUES VENTURA

NEUROBIOLOGIA/ INSTITUTO DE BIOLOGIA/  
NEUROQUÍMICA

#### INTRODUÇÃO:

A ativação de receptores canabinóides pelo seu agonista WIN 5212-2 (WIN) é capaz de diminuir a proliferação e a viabilidade de progenitores gliais da retina embrionária de galinha em cultura. Este efeito é inibido por antagonistas de receptores de canabinóides CB1/CB2 e pelo antagonista de receptores de nucleotídeos P2X7 A438079. Neste estudo investigamos a contribuição dos receptores P2X7 na morte induzida por WIN e as vias de sinalização envolvidas.

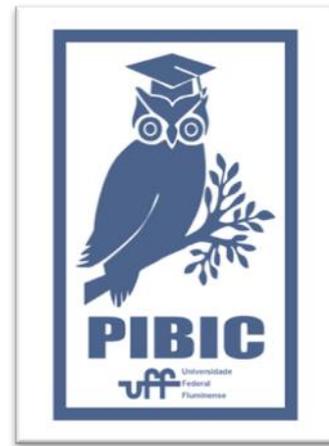
#### RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Culturas obtidas de retinas de embriões de galinha com 7 dias e mantidas por 2 dias (E7C2) foram utilizadas em ensaios de MTT, incorporação de iodeto de propídeo e imunocitoquímica para analisar a viabilidade e a morte celular. Para os experimentos com iodeto de propídeo e de MTT, as células foram pré-tratadas por 24 horas com Bz-ATP 100  $\mu$ M e/ou WIN 55212-2 1 $\mu$ M. Nos ensaios de permeabilização de iodeto de propídeo, a

adição de Bz-ATP e de WIN foi capaz de induzir um aumento de 39,1% e 34,6%, respectivamente, na morte celular. Entretanto, quando as culturas foram tratadas com WIN e Bz-ATP simultaneamente, um aumento de 68,1 % foi observado, sugerindo um efeito aditivo de ambos os tratamentos (em número de células/campo: controle =  $125,0 \pm 7,213$ ; Bz-ATP 100  $\mu$ M =  $173,2 \pm 10,44$ ; WIN 1  $\mu$ M =  $170,1 \pm 9,282$ ; WIN + Bz-ATP =  $211,1 \pm 8,943$ ). No ensaio colorimétrico de viabilidade celular, os resultados também indicam que adição de Bz-ATP e de WIN foi capaz de provocar uma redução de 31,9% e 16,1%, respectivamente, no número de células vivas. Quando tratadas simultaneamente com WIN e Bz-ATP, as culturas apresentaram uma redução de 33,7% na viabilidade celular (em unidades arbitrárias: controle =  $191,1 \pm 14,17$ ; Bz-ATP 100  $\mu$ M =  $130,1 \pm 10,01$ ; WIN 1  $\mu$ M =  $160,3 \pm 10,88$ ; WIN + Bz-ATP =  $126,7 \pm 5,468$ ).

Já nos ensaios de imunocitoquímica, as culturas em E7C2 foram estimuladas

com ATP 3 mM e WIN 1  $\mu$ M por 24 horas, fixadas e marcadas com antissoro anti-2M6 e anti-beta-tubulina III (TUJ1). Os resultados mostraram que em culturas tratadas com WIN, uma diminuição significativa no número de células 2M6+ foi observada. Além disto, as células gliais que restaram após o tratamento eram menores e apresentavam núcleos picnóticos característicos de células em processo de morte celular. Em culturas tratadas com ambos os agonistas, o efeito do WIN pareceu ser potencializado, com poucas células 2M6+ sendo observadas com núcleos picnóticos, sugerindo que a ativação dos receptores P2X7 potencializou a morte de progenitores gliais induzida por canabinóides em nossas culturas.



### **CONCLUSÕES:**

Nossos dados sugerem que uma interação entre receptores de nucleotídeos e de canabinóides capaz de potencializar a morte de células gliais de retina embrionária em cultura.

### **AGRADECIMENTOS:**

CAPES, PROPPi-UFF, CNPq, Faperj



**Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas**

**Título do Projeto: Avaliação dos efeitos de *Clusia criuva* (Clusiaceae) em insetos pragas de grãos**

**Autores: Nayara de Almeida R. Venancio, Luana da Silva S. Freire, Adriana Q. Lobão, Maria Carolina Anholeti e Selma R. de Paiva**

**Departamento/Unidade/Laboratório: Departamento de Biologia**

**Geral/ Instituto de Biologia/ Laboratório de Botânica Estrutural e Funcional**

## **INTRODUÇÃO:**

A utilização contínua de inseticidas para o controle de insetos vem causando problemas, como a seleção de indivíduos resistentes, além de serem tóxicos e causarem prejuízos ao meio ambiente, colocando em risco outras espécies. Estudos visando a obtenção de novos inseticidas a partir de espécies vegetais vêm ganhando impulso, pois têm se mostrado eficazes, menos tóxicos, seguros e menos dispendiosos quando comparados aos produtos sintéticos. Muitos inseticidas atuam sobre o sistema nervoso central (SNC) do inseto, como carbamatos e organofosforados, cujo mecanismo de ação envolve a inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE), um neurotransmissor relacionado à promoção do impulso nervoso. A estimulação ininterrupta do SNC, como ocorre com os organofosforados, pode causar paralisia e levar o inseto à morte (BRAGA E VALLE, 2007). Espécies de Clusiaceae têm se mostrado promissoras para ação inseticida. Estudos do grupo apresentaram bons resultados para espécies como *Clusia fluminensis* e *C. hilariana* (ANHOLETI et al., 2015; ROSADO et al., 2019). Estudos

quimiossistemáticos destacam a ocorrência de sesqui- e triterpenos, benzofenonas poliisopreniladas e flavonoides em plantas desse gênero (VIRGINIO, 2015). Considerando a importância de ampliar o conhecimento a respeito de novas propriedades biológicas de espécies brasileiras e buscar novas alternativas para o controle de insetos, o presente estudo buscou avaliar o potencial inseticida de espécies de *Clusia*, a partir de dados da literatura, bem como a capacidade da inibição da enzima acetilcolinesterase por constituintes de *C. criuva*.

## **RESULTADOS E DISCUSSÕES:**

O levantamento bibliográfico objetivou verificar o potencial inseticida de espécies de *Clusia*. Os trabalhos encontrados versavam sobre as espécies *C. fluminensis*, *C. hilariana*, *C. lanceolata*, *C. palmicida* e *C. paralicola*. As partes mais utilizadas nos estudos foram as folhas e frutos, e os extratos testados eram, em sua maioria, polares (etanol e metanol); entretanto, extratos apolares e de polaridade média também apresentaram resultados significativos. Os testes envolveram os insetos:

*Musca domestica*, *Aedes aegypti*, *Oncopeltus fasciatus* e as pragas agrícolas *Dysdercus peruvianus* e *Callosobruchus maculatus*. Dentre os efeitos causados destacaram-se mortalidade elevada, redução da duração do desenvolvimento e ocorrência de deformações. Os resultados foram promissores quanto à atividade inseticida e, em alguns casos, esse potencial foi correlacionado com a presença de substâncias, como benzofenonas, flavonoides e terpenos. *Clusia criuva* Cambess., é uma espécie nativa e endêmica no Brasil (NASCIMENTO et al., 2020). Os extratos brutos das folhas, cápsulas e sementes foram obtidos por maceração estática com hexano e metanol. O fracionamento do extrato hexânico das folhas de *C. criuva* resultou em 221 frações que, após análise por cromatografia em camada delgada (CCD), foram reunidas em 27. Duas frações foram analisadas por cromatografia com fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM) e revelaram a presença de hidrocarbonetos e terpenos, sendo a 3-oxo-friedelina (Figura 1) um dos componentes majoritários. Os extratos metanólicos de sementes e folhas foram submetidos à partição líquido-líquido, com hexano, diclorometano, acetato de etila e butanol. As frações obtidas foram analisadas por CCD, utilizando reveladores específicos. Os resultados sugerem a presença de substâncias fenólicas, como flavonoides, além de terpenoides e cumarinas. Alguns terpenos possuem efeito alelopático, inseticida e repelente, além da atividade anticolinesterásica. Substâncias fenólicas são responsáveis por diversas atividades biológicas

como a inibição de enzimas, ações antioxidante, bactericida e fungicida (OOTANI et al., 2013).

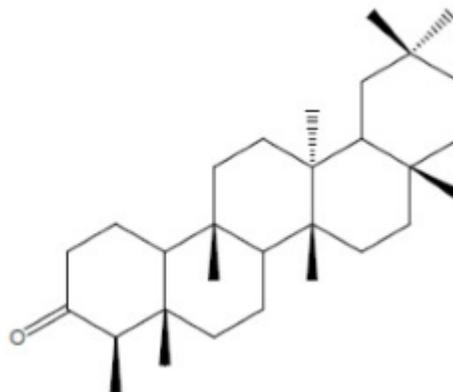


Figura 1. Estrutura da 3-oxo-friedelina, um dos componentes majoritários presentes na fração 2 obtida por cromatografia em coluna do extrato hexânico bruto de folhas de *Clusia criuva*.

Foi realizado o ensaio qualitativo de inibição da enzima AChE, conforme as metodologias de Ellman, 1961 e Rhee et al. 2001. Todos os extratos analisados, exceto o extrato metanólico das cápsulas, apresentaram resultado positivo na inibição da AChE. Vale ressaltar, que a intensidade do halo formado foi menor nos extratos metanólicos quando comparados aos extratos hexânicos.

## CONCLUSÕES:

A prospecção química de extratos e frações de folhas, cápsulas e sementes de *C. criuva* sugeriu a presença de flavonoides, cumarinas e terpenoides. A análise por CG/EM das frações obtidas a partir do extrato hexânico das folhas evidenciou a presença de hidrocarbonetos e terpenos. O ensaio da atividade anticolinesterásica apresentou excelente resultado para os extratos hexânicos. O

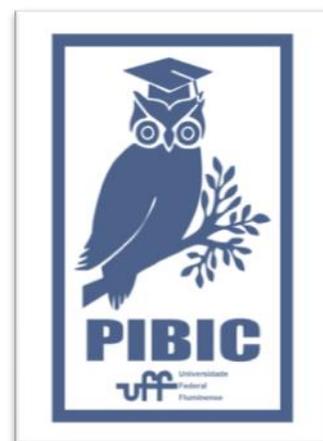
levantamento bibliográfico mostrou que algumas espécies de *Clusia* já vêm sendo estudadas quanto ao seu potencial inseticida e/ou repelente. Não foi possível estabelecer um extrato ou substância mais eficaz, mas os resultados se mostraram promissores reafirmando a potencial ação inseticida presente nas espécies estudadas.

## AGRADECIMENTOS:

À UFF e ao PIBIC/CNPq.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- ANHOLETI, M.C. et al. 2015. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 110(5): 629-635.
- BRAGA, I. A.; VALLE, D. 2007. Epidemiol. Serv. Saúde, 16(4):279-293.
- ELLMAN, G. L. et al. 1961. Biochemical Pharmacology, 7: 88-95.
- NASCIMENTO JR, J.E.; ALENCAR, A.C. *Clusia* in Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB6832>>. Acesso em: 05 set. 2020.
- OOTANI, M.A et al. 2013. Biotec. Biodivers., 4(2): 162-175.
- RHEE, K. I., VAN RIJN, M. R.; VERPOORTE, R. 2001. Phytochem. Analysis, 14: 127-131.
- ROSADO, H.C. et al. 2019. Revista Brasileira de Farmacognosia, 29(6): 801-806.
- VIRGINIO, M. C. A. S. 2015. Estudo Quimiosistemático do Gênero *Clusia* L. e Prospecção Químico-Biológica de *Clusia fluminensis* Planch. Triana e *Clusia lanceolata* Cambess. (Clusiaceae). Tese. IPPN, UFRJ.





**Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas**

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

**Autores: Caio H. da Silva Teixeira, Sandra Fonseca, Gina Peres L. dos Santos, Silvia M. Baeta Cavalcanti, Claudia Lamarca Vitral**

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

### **INTRODUÇÃO:**

A imunização é uma das intervenções mais efetivas na promoção de saúde e prevenção de doenças. Alguns estudos investigaram o estado vacinal dos profissionais de saúde, mas poucos abordaram estudantes em formação. O objetivo foi avaliar a situação vacinal e o conhecimento sobre infecções imunopreveníveis entre graduandos dos dois primeiros anos da área da saúde da Universidade Federal Fluminense, UFF. Participaram 478 alunos dos cursos de Medicina, Biomedicina, Enfermagem, Farmácia, Odontologia e Biologia (média 21,8 anos, 75,7% do sexo feminino). De posse da carteira de vacinação, os alunos responderam a um questionário relativo às vacinas estudadas, doenças associadas e formas de transmissão.

### **RESULTADOS E DISCUSSÃO:**

Apenas uma pequena parcela dos alunos afirmou que sua carteira de vacinação já tinha sido solicitada em algum momento da graduação (31,2%), embora 68,6% tenham sido

anteriormente orientados sobre a necessidade de vacinação, com diferença entre os cursos ( $p=0,000$ ). Poucos relataram doenças imunopreveníveis, com exceção de caxumba (7,1%) e varicela (65%). Lacunas importantes foram observadas em relação ao conhecimento das formas de transmissão de algumas doenças imunopreveníveis, como sarampo e difteria, cuja transmissão por contato com secreções respiratórias foi desconhecida pela maior parte dos participantes (53,1% e 78,5%, respectivamente). Poucos alunos reconheceram a possibilidade de transmissão da hepatite B por meio de ferimentos ou lesões na pele (21,4%) e pela via vertical (35,8%). Conceitos errados foram também observados, como a transmissão do sarampo pelo sangue (5,0%), pela via sexual (1,9%), vertical (8,8%), ou mesmo por ferimentos ou lesões na pele (18,0%), sem diferença entre os cursos. História de exposição a material potencialmente contaminado foi relatada por 42,9%, sendo mais frequente entre os alunos de enfermagem (60,4%) e odontologia (44,4%) ( $p=0,016$ ). Apenas 24,3% dos alunos

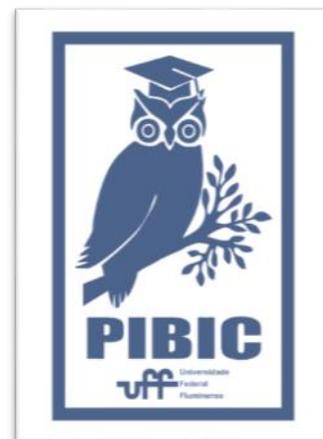
souberam informar quais vacinas devem estar em dia para o profissional de saúde, tendo maior índice de acertos os alunos de Medicina, Biomedicina e Biologia ( $p=0,000$ ). Embora 39,1% dos alunos afirmassem estar com a carteira de vacinação em dia, apenas 5,2% de fato estavam, sem diferença entre os cursos. Considerando apenas as vacinas disponíveis no SUS, esse percentual subiu para 26,2%, um pouco mais elevado para os cursos Farmácia (35%) e Enfermagem (33%), ( $p=0,001$ ). Quando analisadas individualmente, as vacinas com menor cobertura foram gripe (43,1%) e dT (62,1%), com diferença favorável aos cursos de Farmácia e Enfermagem ( $p=0,015$  e  $0,000$ , respectivamente para cada vacina). Entre os alunos que tinham conhecimento sobre o reforço da dT a cada 10 anos, 70% estavam com a vacina dT em dia ( $p=0,037$ ). O mesmo foi observado em relação à vacina da gripe, com maior taxa de vacinação em dia entre os alunos que reconhecem o esquema anual de revacinação.

### **CONCLUSÕES:**

O estudo apontou baixa completude vacinal entre alunos da área da saúde, acompanhada de baixo conhecimento sobre a transmissibilidade das infecções imunopreveníveis e do calendário vacinal. Considerando o risco de exposição destes profissionais, e que em breve serão responsáveis por orientar a população, os resultados são preocupantes. As abordagens do ensino do tema e outras estratégias, como campanhas e acesso a vacinas não disponíveis no SUS, devem ser reforçadas.

### **Agradecimentos:**

Apoio financeiro: CNPq, Proex





**GRANDE ÁREA DO CONHECIMENTO: CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**II**

**TÍTULO DO PROJETO: AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO CONSUMO DE CAFEÍNA NO COMPORTAMENTO DE RATOS PREVIAMENTE SELECIONADOS SELECIONADOS PELO CONGELAMENTO**

**AUTORES: ANA GABRIELA DA SILVA SANTOS, SOFIA LATGE TOVAR COSTA, YASMIN OLIVEIRA DE NAZARETH, MARIA CAROLINA PEIXOTO RODRIGUES, VANESSA GAMA GOULART, PAULA CAMPELLO COSTA LOPES**

**DEPARTAMENTO/UNIDADE/LABORATÓRIO: NEUROBIOLOGIA, INSTITUTO DE BIOLOGIA, LABORATÓRIO DE NEUROPLASTICIDADE**

## **1 - INTRODUÇÃO:**

A ansiedade é um estado emocional que faz parte do espectro normal das experiências humanas, sendo, em determinados níveis, propulsora do desempenho. Todavia, níveis exageradamente baixos ou elevados de ansiedade prejudicam a execução de tarefas, caracterizando-se o estado patológico.

A resposta clássica ao estresse caracteriza-se por mudanças que envolvem o sistema nervoso simpático e o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA). Os neurônios hipotalâmicos são regulados pela amígdala e pelo hipocampo. O hipocampo é muito sensível a eventos estressantes da vida e é subdividido em duas principais regiões: dorsal, relacionada à memória espacial e a ventral, relacionada à ansiedade. As ações da adenosina são mediadas por receptores que se relacionam a várias desordens de ansiedade. Em situações de estresse agudo ocorre uma perda de A<sub>2a</sub>AR. A cafeína, a droga psicoativa mais consumida, age como antagonista de receptores A<sub>1</sub> e A<sub>2a</sub> de adenosina. O consumo de cafeína é

relacionado com mecanismos de aprendizado e memória e com efeitos ansiogênicos ou ansiolíticos.

Os modelos animais de ansiedade têm sido úteis na compreensão dos mecanismos patofisiológicos destes transtornos. A resposta de congelamento associada aos estímulos contextuais é uma reação característica de medo do rato. Agentes ansiolíticos, mostraram-se eficazes em diminuir ou abolir a resposta de congelamento dos animais frente a um contexto aversivo. No Laboratório de Neurociência Comportamental da PUC-Rio foram desenvolvidos duas linhagens de ratos - "Cariocas com Alto Congelamento - CAC" e "Cariocas com Baixo Congelamento - CBC.

## **2 - OBJETIVOS**

Os objetivos gerais deste trabalho foram realizar análises comparativas em linhagens de ratos CAC e CBC em relação aos animais normais, controles (CTL) submetidos ao tratamento crônico com a cafeína. Avaliamos: (1) O comportamento relacionado à ansiedade, locomoção e memória; (2) O conteúdo e

localização de receptores A2a de adenosina e o perfil de astrócitos e microglia no hipocampo dos diferentes grupos.

### **3 - RESULTADOS E DISCUSSÕES:**

#### **3.1. ANÁLISES COMPORTAMENTAIS**

Os animais utilizados neste estudo confirmaram o comportamento típico para os seus respectivos fenótipos. No teste de labirinto em cruz elevado, usado para avaliar ansiedade, não foram encontradas diferenças com relação ao número de entradas em braços abertos e fechados. Os animais CAC/cafeína apresentaram uma tendência a visitarem e passarem mais tempo nos braços abertos, indicando um possível efeito ansiolítico da cafeína. Os animais CTL/cafeína tiveram uma tendência a entrar menos nos braços abertos, mas permaneceram o mesmo tempo que os CTL/água, indicando uma provável diminuição do comportamento do tipo ansioso. Nenhuma diferença foi observada nos grupos CBCs. A cafeína não alterou o padrão locomotor observado no campo aberto nos animais CBC e CTL. No entanto, os animais CAC/cafeína apresentaram redução na distância percorrida. Não observamos diferenças no número de entradas no centro do aparato, mas aparentemente os animais CBC visitaram mais o centro e os CAC/cafeína visitam menos o centro. O comportamento de autolimpeza (*grooming*) é considerado um comportamento repetitivo que pode aliviar o estado de ansiedade e estresse, mas está negativamente relacionado ao comportamento de congelamento, diminuindo sua frequência nos animais. Os CBC e CAC água realizaram mais *grooming* que os CTL água. Os animais

CBC/cafeína apresentaram mais *grooming* que os animais CTL/cafeína, e os animais CAC/cafeína realizaram menos *grooming*. A memória de habituação foi analisada e revelou uma tendência de habituação do CAC/cafeína. No teste de reconhecimento de objetos, onde se avalia a memória declarativa, não foram observadas diferenças entre os animais tratados com cafeína a não ser o CAC/cafeína que explorou mais o objeto novo na segunda sessão.

#### **3.2. ANÁLISES NEUROQUÍMICAS**

O A2aAR parece mais prevalente na região dorsal do hipocampo. No grupo CBC/cafeína não houve diferença nas regiões analisadas. No entanto, o grupo CTL/cafeína parece diminuir os níveis de A2aAR no hipocampo dorsal e ventral. De maneira interessante, no grupo CAC, observamos uma diminuição no seu conteúdo no hipocampo ventral e um aumento no dorsal.

A análise do GFAP, um marcador astrocitário não se mostrou diferente entre os grupos. O tratamento com a cafeína indica que possa haver uma diminuição de GFAP no grupo CTL.

A análise do número de células iba-1 positivas no hipocampo revela que, nos animais que só tomaram água, os grupos CBC e CAC apresentam células microgliais mais ramificadas em relação ao CTL. O tratamento com cafeína parece não alterar este perfil morfológico nos grupos CBC e CAC mas parece aumentar o número de células ramificadas no grupo CTL.

### **4 - CONCLUSÕES:**

O presente trabalho suger que a cafeína possa modular diferencialmente os comportamentos

analisados, bem como o conteúdo de subunidades de receptores A2a de adenosina e de células gliais, o que torna pertinente a continuação deste estudo.

## **5 - AGRADECIMENTOS:**

Ao CNPq (Bolsa PIBIC-UFF, PQ2), FAPERJ (CNE), CAPES (bolsas de mestrado e doutorado). Ao Dr Pablo Pandolfo (UFF) que cedeu seu Laboratório para os estudos comportamentais. Dr Landeira-Fernandez (PUC-RJ) por ceder os animais experimentais. Dra Silvia Maissonette e Flávia Rosseti com a ajuda na fenotipagem.



**Ciências Biológicas**

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

**1Vaz, L.C. \*, 1Haidamus, A.B., 2Paes-de-Carvalho, R., 1Pereira,  
M.R.**

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

**2Laboratório 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:  $99.7 \pm 8.1$ , L-arginina:  $137.0 \pm 5.2$ , 7-NI:  $93.3 \pm 19.4$ , L-arginina + 7-NI:  $97.7 \pm 13.3$ ,  $n = 3$ ; \*  $p < 0.05$ ). Também foi observado aumento dos níveis de RNAm do receptor A1 após o tratamento com L-arginina (controle:  $1.0 \pm 0.1$ , L-arginina:  $3.5 \pm 0.8$ ,  $n = 2$ ). Além disso, ZM 241385, antagonista do receptor A2a, bloqueia o aumento e diminuição dos receptores A1 e A2a, respectivamente (A1R, controle: 100, L-arginina: 134, ZM241385: 114, L-arginina + ZM241385: 106,  $n=1$ ; A2aR, controle: 100, L-arginina: 68, ZM241385: 99, L-arginina+ ZM241385: 91,  $n=1$ ).

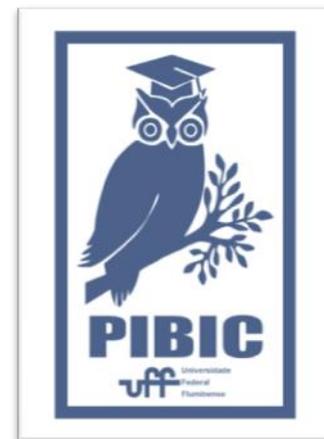
Para avaliar se o aumento da expressão do receptor A1 está envolvido no efeito neuroprotetor da L-arginina, culturas purificadas de neurônios de retinas de embrião de 8 dias (E8) foram tratadas com L-arginina, seguido de tratamento com  $H_2O_2$  para indução de morte neuronal. Foi observada uma tendência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

## CONCLUSÕES:

Os resultados obtidos neste trabalho sugerem que a L-arginina é convertida em NO através da enzima NO sintase neuronal e aumenta a expressão dos receptores A1 nas culturas mistas de embrião de galinha. Esse efeito parece estar envolvido na neuroproteção induzida por L-arginina contra a morte por

estresse oxidativo. Além disso, nossos dados sugerem que o aumento da expressão do A1 por L-arginina é dependente da redução da expressão de A2a.

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





## Ciências Biológicas

**Morfologia da genitália masculina em Leiodidae (Coleoptera, Staphylinoidea): ferramenta para a identificação de táxons e subsídio para a reconstrução filogenética**

**Pedro Candido Rodrigues de Carvalho Rapozo e Caio Antunes de Carvalho**

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

### INTRODUÇÃO:

Com distribuição cosmopolita e mais de 4200 espécies descritas, a família Leiodidae inclui besouros capazes de explorar um eclético repertório de habitats e recursos alimentares. Em geral, contudo, leiodídeos vivem em áreas de floresta e podem ser saprófagos alimentando-se de algum tipo de matéria orgânica animal ou vegetal em decomposição (e.g., serapilheira, fezes, carcaças), ou micófagos, associando-se a diferentes grupos de fungos.

Leiodidae contempla 463 espécies na região Neotropical. Esse número, contudo, não reflete a diversidade de espécies com precisão, existindo relatos e indicativos de muitas espécies a serem descritas.

O gênero *Aglyptinus* Cockerell é o mais diverso dentro da tribo Scotocryptini, reunindo 41 espécies viventes e uma fóssil. Estão distribuídos pelas regiões Neotropical, Neártica, bem como na Inglaterra e Nova Guiné. Adultos e larvas de *Aglyptinus* são encontrados em fungos epígeos, geralmente Polyporaceae, do qual se alimentam.

O gênero tem sido negligenciado por estudos taxonômicos, e diferentes autores têm relatado a existência de diversas espécies não descritas para *Aglyptinus*, indicando que o número de espécies é provavelmente muito maior do que o registrado atualmente. No Brasil são registradas cinco espécies de *Aglyptinus*.

O objetivo deste trabalho é descrever duas novas espécies de *Aglyptinus* para o Brasil, descobertas a partir do estudo dos exemplares pertencentes ao Canadian Museum of Nature.

### RESULTADOS E DISCUSSÕES:

*Aglyptinus* sp. 1 e *Aglyptinus* sp. 2 se diferem das demais espécies do gênero principalmente com base na morfologia da genitália masculina.

*Aglyptinus* sp. 1 possui um edeago alongado, curvado dorsoventralmente de maneira uniforme ao longo da maior parte de seu comprimento, sendo recurvado no quinto distal. Em vista dorsal, o lobo mediano apresenta a porção apical fortemente estreitada. Os parâmeros possuem forma triangular e se restringem ao 1/5 basal do comprimento do

edeago. Esta configuração da genitália masculina se assemelha àquela de *Aglyptinus dimorphicus* Peck, 1972 que apesar da semelhança em vista lateral, não deixa dúvidas quando comparados os ápices do lobo mediano em vista dorsal, uma vez que *Aglyptinus* sp. 1 apresenta essa região do edeago mais afilada e longa. Similaridades no contorno do edeago de *Aglyptinus* sp. 1 são encontradas em *Aglyptinus martiniquensis* Peck e Cook, 2014. Contudo, este não apresenta o ápice do edeago recurvado ventralmente, e carrega um estreitamento menos pronunciado da porção apical quando comparado em vista dorsal à *Aglyptinus* sp. 1, refutando a hipótese de serem a mesma espécie. *Aglyptinus biseriatus* Peck e Cook, 2014 e *Aglyptinus luciae* Peck e Cook, 2014, também apresentam similaridades com *Aglyptinus* sp. 1 na estrutura do edeago. Entretanto, o endofalo característico e a curvatura uniforme do edeago de *A. biseriatus*, e a leve reentrância na margem lateral anterior ao estreitamento apical do edeado de *A. luciae*, compõem evidências suficientes para a distinção dessas espécies.

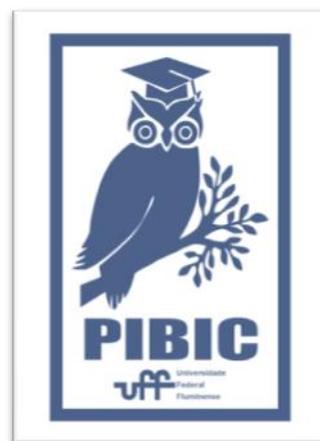
Similarmente, *Aglyptinus* sp. 2 apresenta um edeago alongado, curvado dorsoventralmente de maneira uniforme ao longo da maior parte de sua extensão, mas reto no 1/5 distal. Em vista dorsal, o ápice do lobo mediano tem forma triangular, e apresenta uma emarginação sutil na margem lateral direita da porção apical. Esse tipo de assimetria, observado em vista dorsal, não é encontrada nos demais representantes do gênero, sendo uma característica diagnóstica dessa espécie.

## CONCLUSÕES:

Os resultados encontrados neste trabalho implicam na ampliação do total de espécies descritas em *Aglyptinus* de 42 para 44, alterando também a quantidade de espécies brasileiras de 5 para 7.

## AGRADECIMENTOS:

Agradecemos à Stewart Peck (Carleton University, Ottawa, Canada) e François Génier (Canadian Museum of Nature) pela seleção e envio de espécimes de *Aglyptinus*.





**Grande área do conhecimento: Ciências Biológicas**

**CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE *BABESIA* SP. E DE OUTROS PIROPLASMÍDEOS EM AMOSTRAS DE SANGUE DE CÃES DOMÉSTICOS (*CANIS FAMILIARES*) ENCAMINHADAS AO LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS EM NITERÓI, RJ.**

**Lucas Fernandes Lobão, Fernanda Barbosa dos Santos, João Pedro Palmer, Laís Lisboa Corrêa, Laís Verdan Dib, Claudia**

**Maria Antunes Uchôa, Otilio Machado Pereira Bastos, Alynne da Silva Barbosa**

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

### **INTRODUÇÃO:**

A piroplasmose canina é uma infecção causada por protozoários intraeritrocitários, *Babesia* sp. e *Rangelia* sp., que são transmitidos para o cão por ixodídeos. As manifestações clínicas dessas infecções incluem febre, icterícia, anemia, que podem determinar no animal letargia e prostração. Devido a importância dessa temática este estudo objetivou analisar a frequência de piroplasmídeos em amostras de sangue de cães por meio de técnicas moleculares, bem como analisar os fatores de risco associados as infecções. O estudo foi aprovado pela CEUA/UFF nº 6876140318. Ao todo foram incluídos no mesmo 438 amostras de sangue de cães encaminhadas a um laboratório particular de Análises Clínicas em Niterói, Rio de Janeiro. As amostras de sangue foram divididas em 2 grupos, o primeiro grupo foi constituído por amostras de sangue total já sabidamente positivas na leitura da lâmina de distensão delgada para piroplasmídeos que estavam estocadas em freezer do laboratório, sendo totalizadas 31 amostras de sangue. Este grupo amostral foi denominado neste estudo de “amostras retrospectivas”. O segundo grupo de amostras de sangue incluídas no estudo foram

aqueles que chegaram ao laboratório entre junho de 2018 a maio de 2019, totalizando 407 amostras de sangue. Este grupo amostral foi nomeado de “amostras prospectivas”. As amostras de sangue dos cães foram submetidas as técnicas de coloração de distensão delgada e espessa coradas por solução de Giemsa e por *kit* de coloração rápido do tipo Panótico. Todas as lâminas de microscopia foram submetidas a leitura em microscópio óptico com objetiva de imersão.

As amostras de sangue dos cães destinadas a análises moleculares foram aquelas que apresentaram formas evolutivas de piroplasmídeos nas lâminas e/ou alterações na membrana dos eritrócitos em lâmina de microscopia associada a observação de trombocitopenia no hemograma.

A extração de DNA das amostras de sangue foi realizada com Kit High Pure PCR Template Preparation. Na realização da PCR foi utilizado o master mix PCR com primers que amplificam o fragmento do DNA que codifica o rRNA 18S para piroplasmídeos. Todas as amostras foram sequenciadas e as sequências foram editadas com software SeqMan (DNASTAR, Larsegene, versão 7.0) e alinhadas com sequências de

referências depositadas no Genbank. Ao final os resultados foram analisados por frequência descritiva e análise estatística univariada.

### **RESULTADOS E DISCUSSÕES:**

Dentre as 31 amostras de cães retrospectivas que foram positivas por meio da distensão delgada para piroplasmídeos, 28 amplificaram com *primer* utilizado. Destas, quatro não apresentaram sequências nucleotídicas adequadas para interpretação, permanecendo nas análises 24 (77,4%) amostras que apresentaram identidade variando entre 95,23% a 100% ao serem comparadas com sequências do Genbank de *Babesia vogeli*, sendo nomeadas de *B. vogeli* RJ – ME (Rio de Janeiro, região metropolitana) e foram depositadas no Genbank com número de acesso MN912639 – MN912662. A maioria das amostras de sangue detectados com *B. c. vogeli* eram de cães machos (62,5%), com raça definida (54,2%), que foram atendidos em clínicas médicas veterinárias em São Gonçalo (58,3%), apresentaram no hemograma anemia (62,5%), trombocitopenia (95,8%) e contagem de leucócitos normais (62,5%). Das 407 amostras de sangue de cães prospectivas, positividade para piroplasmídeos foram evidenciados em 38 amostras (9%) a partir da associação das técnicas parasitológicas microscópicas e das análises moleculares. A PCR seguida pelo sequenciamento foi realizada nas 32 amostras que foram positivas em lâminas de microscopia para piroplasmídeos. Destas, 27 apresentaram sequências nucleotídicas adequadas para interpretação compatível com *Babesia vogeli* com uma identidade maior que 90% ao se

comparar com as sequências depositadas no Genbank de piroplasmídeos obtidas de amostras de sangue de cães da China (MK881094) e do Brasil (MK881094). Além destas amostras positivas para piroplasmídeos em lâmina, também foram submetidas a análise molecular 26 amostras de sangue que foram denominadas como suspeitas, ou seja, apresentaram trombocitopenia e alterações na morfologia do eritrócito. Destas, seis amostras apresentaram produtos que amplificaram na PCR e sequências nucleotídicas adequadas para interpretação, sendo estas também compatíveis com *B. vogeli*. Desta forma, ao se totalizar todas as amostras prospectivas que apresentaram sequências nucleotídicas, pode-se verificar que 33 foram positivas para *B. vogeli*.

### **CONCLUSÕES:**

Nas amostras prospectivas de sangue dos cães, foram detectados 9% de positividade para piroplasmídeos associando as técnicas parasitológicas microscópicas e moleculares. Já as amostras retrospectivas apresentaram uma positividade de 77,4%.

### **AGRADECIMENTOS:**

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





## **Ciências Biológicas**

### **Dendroecologia de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze no limite norte de distribuição natural da espécie**

**Davi Neves de Lemos, Arno Fritz das Neves Brandes**

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

## **INTRODUÇÃO**

A dendrocronologia é a ciência que estuda os anéis de crescimento existentes no lenho das árvores, os quais registram dados importantes de longo prazo, tanto ecológicos como ambientais. Muitos trabalhos vêm demonstrando a viabilidade do estudo dendrocronológico em ambientes tropicais e subtropicais.

Dentre as espécies tropicais com potencial dendrocronológico está *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze. Atualmente a espécie é encontrada principalmente na região Sul do Brasil na Floresta Ombrófila Mista (Mata de Araucárias), ocorrendo também na Floresta Estacional Semidecidual e Campos de Altitude e em manchas menores nos limites de distribuição. Nos dias atuais a espécie encontra-se ameaçada de extinção (em perigo), devido a exploração excessiva de sua madeira.

Diversos estudos dendrocronológicos foram desenvolvidos com *A. angustifolia* na região subtropical e nas regiões centrais de distribuição, contudo nenhum foi conduzido no limite norte de distribuição da espécie. O crescimento radial da espécie pode ser influenciado positivamente e negativamente pela temperatura e precipitação. Outros fatores que afetam o crescimento de *A. angustifolia* são: duração da luminosidade durante o dia,

evaporação, inundação, poluição, ou a periodicidade de manchas solares.

O objetivo deste estudo foi testar as hipóteses: (1) a oscilação no crescimento radial é sincrônica em indivíduos da espécie no limite norte de distribuição; e (2) a dinâmica de crescimento está relacionada com variáveis climáticas.

## **METODOLOGIAS**

Foram coletadas amostras do lenho de 40 indivíduos da espécie *A. angustifolia* com uso de trado de incremento manual.

A coleta foi realizada no Parque Nacional do Itatiaia (PNI), na localidade Brejo da Lapa (BL) (22° 21'S e 44° 44' W, 2164 m), no município de Itamonte, Minas Gerais. O clima na faixa altitudinal de coleta é subtropical úmido, com inverno seco e verão ameno, sendo classificada como Cwb pelo sistema de Köppen-Geiger.

A preparação das amostras para análise seguiu procedimentos convencionais para dendrocronologia (polimento, captura de imagens, medições).

Foi realizada a datação cruzada das séries temporais utilizando o software CDendro e COFECHA, e construída cronologia da largura dos anéis de crescimento com o software ARSTAN. A relação crescimento-clima foi

avaliada através de testes de correlação de Pearson utilizando software Statistica. Foram realizados cálculos de taxa de incremento radial e incremento de área basal, bem como, feita a avaliação etária.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi realizada a datação cruzada de 32 séries temporais de 19 árvores de *A. angustifolia*, com valor 0,610 de intercorrelação e 0,279 de sensibilidade média.

Com as séries codatadas foi construída a cronologia standard. Os valores de EPS e R-bar foram 0,939 e 0,346, respectivamente (Fig. 1). Estudos estabelecem que EPS acima de 0,85 indicam forte sinal comum nas séries sendo possível análises climáticas.

Foram detectadas correlações significativas entre a cronologia da largura dos anéis de crescimento e variáveis climáticas (temperatura e precipitação). Correlações positivas com temperatura média e máxima do outono, abril e maio do período corrente, e da temperatura mínima do verão, dezembro e janeiro do período corrente com a cronologia standard. O crescimento da espécie respondeu negativamente de maneira significativa apenas a precipitação de dezembro do período prévio. Temperatura mostrou-se um fator meteorológico com grande influência no crescimento da espécie.

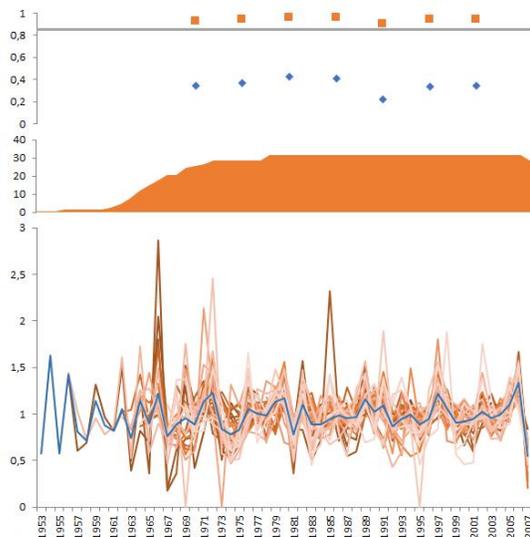


Figura 1: Cronologia da largura dos anéis de crescimento de *A. angustifolia*, BL, PNI (linha azul); séries individuais estandardizadas (linhas laranja); número de amostras (área laranja); R-bar (losango azul); e EPS (quadrado laranja).

A idade dos indivíduos analisados variou entre 38 – 70 anos, com média de 48 anos. Sessenta e sete por cento dos indivíduos apresentaram entre 41-50 anos (Fig. 2). Resultado que indica um possível plantio da espécie na área estudada.

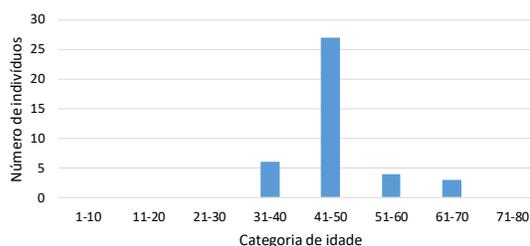


Figura 2: Distribuição etária dos indivíduos analisados de *A. angustifolia*.

A taxa de incremento radial de *A. angustifolia* no BL, PNI, foi 3,7 mm/ano (DP  $\pm 1,8$ ), e variou entre 0,4 – 13,9 mm/ano. Com a análise do incremento radial é possível perceber

redução na taxa de incremento com a idade (Fig. 3).

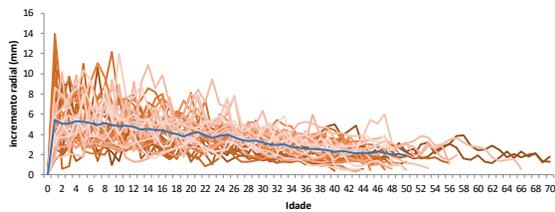


Figura 3: Incremento radial de *A. angustifolia*. Séries (linhas laranja), média das séries (linha azul).

O incremento de área basal médio foi 2118,7 mm<sup>2</sup>/ano (DP ±1349,3), e variou entre 6,6 – 8285.9 mm<sup>2</sup>/ano. Observa-se uma tendência de aumento de incremento de área basal com o aumento de idade e com redução a partir dos 25 anos (Fig. 4).

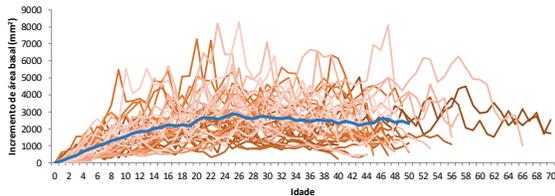


Figura 4: Incremento de área basal. Séries individuais (linhas laranja), média das séries (linha azul).

## CONCLUSÕES

Neste estudo foi possível a sincronização das séries temporais da largura dos anéis de crescimento, que permitiu a datação cruzada das mesmas e a criação de uma cronologia da largura dos anéis de crescimento para a espécie *A. angustifolia*. Foi possível identificar que o crescimento da espécie é influenciado principalmente pela temperatura no limite norte de distribuição. Com base no padrão etário da população,

possivelmente a população estudada é proveniente de plantio.

