



V SEMANA DE
PÓS-GRADUAÇÃO
DE BIOQUÍMICA MÉDICA

SESSÕES ORAIS

Segunda-feira (19/09)

LEGENDA:

BMV - Bioquímica de Microorganismos e Vírus | **BM** - Bioenergética e Membranas | **BF** - Bioquímica de Processos Homeostáticos e Fármacos | **EGD** - Educação e Divulgação

VESÍCULAS EXTRACELULARES DO PATÓGENO FÚNGICO CANDIDA ALBICANS SÃO CAPAZES DE MODULAR A RESPOSTA DE CÉLULAS DO HOSPEDEIRO

Vargas, G.¹, Oliveira, D.L.¹, Rocha, J.D.B.², Albuquerque, P.C.¹, Nosanchuk, J.D.³, Freire-de-Lima, C.G.², Soares Medeiros, L.C.⁴, Miranda, K.R.⁴, Santos, A.L.S.¹, Rodrigues, M.L.¹ e Nimrichter, L.^{1*}

¹Laboratório de Estudos Integrados em Bioquímica Microbiana - IMPPG – UFRJ,

²Biologia Imunitária - Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho – UFRJ,

³Albert Einstein College of Medicine - New York – USA,

⁴Laboratório de Ultraestrutura Celular Hertha Meyer – IBCCF – UFRJ.

Recentemente, foi demonstrado que diferentes espécies fúngicas liberam vesículas contendo fatores de virulência para o meio extracelular. Nosso trabalho visa investigar se leveduras de *C. albicans* utilizam mecanismos similares para secretar fatores de virulência e modular a resposta de células hospedeiras. Vesículas foram isoladas a partir do sobrenadante da cultura por ultracentrifugação. Através de microscopia eletrônica de transmissão observamos compartimentos vesiculares na superfície das leveduras bem como no sobrenadante de cultivo. A presença de Saps, principal fator de virulência desse patógeno, foi observada por ELISA e western-blot. A atividade dessa enzima foi confirmada pela degradação da hemoglobina e bloqueada na presença de pepstatina A, inibidor específico da aspartil proteases. Utilizando ConA em ensaios de western blot, observamos que as vesículas apresentam proteínas contendo unidades de manose. Vesículas marcadas com DiI foram observadas no interior de macrófagos e células dendríticas (DC). Frações vesiculares estimularam macrófagos do tipo RAW 264.7 a produzir de óxido nítrico (NO) e IL-12p40, e também macrófagos derivados de medula induzindo a produção de NO, IL-10, TNF- α e IL12p70, porém não alteram a expressão de MHCII e CD86. Quando incubados com as DCs essas vesículas promovem um aumento na expressão do MHCII, CD86 e induzem a secreção de citocinas como IL-12p40, IL-10, TNF- α e TGF- β . Por imunofluorescência observamos que as vesículas interagem com células HEP2 e alteram a distribuição de actina, sem modificar a viabilidade celular. As vesículas extracelulares demonstraram-se imunogênicas, pois reagiram com soro de camundongo infectado com *C. albicans*. Em resumo, nossos resultados mostram que as vesículas extracelulares liberadas por *C. albicans* carregam seu principal fator de virulência, são internalizadas por células epiteliais, macrófagos e células dendríticas onde exercem efeitos biológicos modulando suas respostas. **Supporte Financeiro:** FAPESP, CNPq e CAPES. **Palavras-chave:** *C. albicans*; vesículas extracelulares; macrófagos, células dendríticas; atividade imunobiológica.

BM08

AVALIACAO DO METABOLISMO DA GLUTAMINA EM LINHAGENS DE PULMÃO

Pérez, J.A., Rodrigues, M.F., Amoedo, N.D. e Rumjanek, F.D.

Instituto de Bioquímica Médica, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

Na década de 20, Otto Warburg identificou que células tumorais apresentavam preferência pelo metabolismo glicolítico acompanhado de uma maior liberação de lactato, mesmo na presença de oxigênio – o chamado “Efeito Warburg” ou “Glicólise aeróbica”, sendo confirmado por muitos trabalhos realizados após esses estudos. No entanto, essas células não deixam de realizar a oxidação de substratos energéticos e obter energia através de processos oxidativos. A glutamina constitui um dos principais substratos oxidáveis utilizados pela célula tumoral. A indução da glutaminólise pelo gene *c-Myc* é dependente da expressão das enzimas glutaminases que catalisam a formação de glutamato a partir da glutamina para entrar no ciclo de Krebs. O catabolismo da glutamina tem sido associado à transformação neoplásica. A alta taxa de glutaminólise nas células tumorais parece ser essencial para a manutenção da capacidade proliferativa. Assim, nosso objetivo é investigar a resposta à glutamina em células tumorais de pulmão em comparação com uma linhagem normal de pulmão, usando meios de cultura contendo glicose e glutamina como controle ou só glicose (25mM) ou glutamina (2mM e 20mM). Nos resultados obtidos observamos que as três linhagens necessitam da presença dos dois substratos no meio para que ocorra a proliferação. As análises de função mitocondrial realizada por respirometria mostram que a célula IMR-90 (fibroblasto immortalizado e não tumorigênico), apresenta uma maior atividade após o estímulo dos diferentes meios de cultura. Os dados mostram também que a atividade mitocondrial é aumentada na presença de glutamina. No entanto, observamos que a linhagem IMR-90 apresenta um maior consumo de oxigênio basal e acoplado a síntese de ATP, além de uma maior atividade do sistema de transporte de elétrons, somente na presença de glutamina. Para avaliar o perfil da atividade mitocondrial analisamos, por PCR em tempo real, a expressão das duas principais isoformas encontradas nos tecidos, mostrando que as células tumorais expressam muito mais a GLS1 que a linhagem IMR-90. As três linhagens expressam menos GLS2 que a isoforma GLS1. Os resultados indicam que apesar dos distintos estágios de diferenciação e perfil metabólico todas as linhagens respondem de forma semelhante à presença da glutamina e consequentemente a modulações do seu metabolismo.

EFEITOS DE D-SERINA EM BAIXAS DOSES NA MEMÓRIA DE RECONHECIMENTO EM CAMUNDONGOS: COMPARAÇÃO COM D-CICLOSERINA E EFEITOS EM MODELO FARMACOLÓGICO DE ESQUIZOFRENIA.

Moulin, T. C.¹, Bado, P.^{2,3}, Madeira, C.³, Vargas-Lopes, C.³, Wasilewska-Sampaio, A.P.³, Maretti, L.³, Oliveira, R.V.¹, Amaral, O. B.¹ e Panizzutti, R.³

¹Instituto de Bioquímica Médica, Universidade Federal do Rio de Janeiro,

²Instituto D'Or de Pesquisa e Ensino,

³Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Introdução: A D-serina é um coagonista endógeno do receptor N-metil-D-aspartato (NMDA) e tem sido sugerida como um potencial tratamento para déficits cognitivos relacionados à esquizofrenia. O presente estudo investiga os efeitos da D-serina sobre a memória de reconhecimento em camundongos normais, comparando estes efeitos com os da D-cicloserina, bem como em camundongos subcronicamente injetados com o antagonista NMDA MK-801, um modelo farmacológico para déficits comportamentais em esquizofrenia. **Métodos:** Foram estudados os efeitos de vários protocolos de administração sistêmica de D-serina (50 mg/kg/dia) em camundongos BALB/c na tarefa de reconhecimento de objetos. Comparamos também os efeitos de D-serina e D-cicloserina em diferentes doses, e investigamos se a D-serina poderia reverter alterações comportamentais induzidas por injeções subcrônicas de MK-801, um antagonista de NMDA. Os níveis de D-serina após as injeções foram medidas por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC). **Resultados:** O tratamento pré-treino com D-serina (50 mg/kg) ou D-cicloserina (20 mg/kg) melhorou significativamente a memória de reconhecimento 24h pós treino, com uma magnitude similar de efeito de ambas as drogas nessas doses. Uma única aplicação de D-serina 30 min (mas não 6 h) após o treino produziu um reforço similar, sugerindo um efeito do tratamento na consolidação da memória. O tratamento diário com D-serina causou melhoras na memória de longo prazo, mas não na memória de curto prazo em camundongos normais. Todavia, a D-serina melhorou déficits na memória de curto prazo de animais tratados com MK-801, um resultado consistente com seu possível efeito em pacientes esquizofrênicos. Os efeitos comportamentais foram acompanhados pelo aumento de D-serina no hipocampo dos animais tratados. **Conclusão:** Nossos resultados mostram que o tratamento com D-serina pode melhorar o desempenho de camundongos em tarefas relacionadas à memória de reconhecimento, sugerindo que esse agente pode ser útil para o tratamento de transtornos que envolvam um declínio nesse domínio cognitivo.

EGD05

SAÚDE NO RÁDIO: DA ERA DO AM E ONDAS CURTAS À INTERNET

Melo, Alves

Instituto de Bioquímica Médica, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

A apresentação se baseia na atividade exercida atualmente como âncora do programa CBN Madrugada, transmitido em rede nacional para 30 emissoras, no qual são incluídas pautas de entrevistas relacionadas a temas como saúde e divulgação científica. O trabalho vai abordar as mudanças ocorridas nas transmissões, as vantagens e desvantagens do rádio em relação aos demais veículos de comunicação, a convergência de mídias e a análise do papel da divulgação científica no rádio. Finalmente, discute o jornalista e radialista no exercício profissional e a percepção das ações na área de saúde.

Terça-feira (20/09)

LEGENDA:

BMV - Bioquímica de Microorganismos e Vírus | **BC** - Biologia Celular | **BP** - Bioquímica de Plantas | **EGD** - Educação e Divulgação

ANÁLISE DO CONTEÚDO REPETITIVO DO GENOMA DE CANA-DE-AÇÚCAR ATRAVÉS DE SEQUENCIAMENTO ILLUMINA**Grativol, C.¹, Vicentini, R.², Hemerly, A.S.¹ e Ferreira, P.C.G.¹**¹*Instituto de Bioquímica Médica, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brasil,*²*Laboratório de Bioinformática e Biologia de Sistemas, Centro de Biologia molecular e Engenharia Genética, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.*

Espécies de gramíneas da família Poaceae têm grande importância como fonte de alimentos, fibras e combustível. As principais culturas desta família são o milho, arroz e cana-de-açúcar. Devido a sua importância econômica global têm sido o foco de estudos com o objetivo de descobrir a estrutura de seu genoma. Cultivares modernas de cana são híbridos do cruzamento entre *Saccharum officinarum* e *Saccharum spontaneum*. Estes híbridos têm genomas complexos que dificultam estudos de estrutura e organização do genoma. A identificação de elementos repetitivos por ferramentas de bioinformática pode fornecer informações sobre repetições com alta importância biológica. No presente estudo, utilizamos sequenciamento Illumina para analisar o conteúdo repetitivo do genoma da cana-de-açúcar. O DNA genômico foi extraído de núcleos isolados de folhas do cultivar SP70-1143 de acordo com Zhang et al.1995 e sequenciado em Cold Spring Harbor Laboratory, EUA. Obtivemos 29.968.028 reads que foram filtrados para obter 90% de bases com um Q20 de qualidade com cobertura estimada em 3x o genoma haplóide. Comparamos as seqüências com o banco de dados Plant Repeat database (PRD) (<http://plantrepeats.plantbiology.msu.edu/>) para classificar cada read com base na similaridade de seqüência. Dez por cento do total de reads tiveram hits significativos no BLAST (10-6). Esta baixa proporção de hits é provavelmente devido à ausência de seqüências repetitivas de cana-de-açúcar no PRD. Os elementos repetitivos mais abundantes no genoma da cana foram retrotransposons com 54%, seguido por 27% de seqüências ribossomais. Em conclusão, a abordagem computacional para a identificação de elementos repetitivos no genoma complexo da cana-de-açúcar foi eficiente e possibilitou encontrar elementos repetitivos de grande importância biológica. Este estudo é um primeiro passo para a descoberta da estrutura e organização do genoma da cana.

BMV14

MONITORANDO OS EVENTOS INICIAIS DE INFECÇÃO DE UM VÍRUS EMERGENTE EM CÉLULAS VIVAS: QUÃO RÁPIDA PODE SER A ENTRADA VIRAL?**Carvalho, C.A.M., Silva, J.L. e Gomes, A.M.O.***Instituto de Bioquímica Médica, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.*

O vírus Mayaro (MAYV) é um alfavírus endêmico na América do Sul e representa um caso interessante a se considerar quanto ao potencial para emergência urbana. A entrada dos alfavírus em células-alvo é proposta ocorrer por endocitose mediada por receptor seguida de fusão entre o envelope viral e a membrana endossomal, ainda que uma penetração não endocítica do material genético viral no citoplasma sem fusão de membranas tenha sido também sugerida. O objetivo deste trabalho foi analisar o comportamento de partículas de MAYV durante sua entrada em células susceptíveis. O MAYV foi marcado fluorescentemente sem prejuízo à infecciosidade viral e os sinais fluorescentes foram rastreados nas células hospedeiras por microscopia de fluorescência confocal de escaneamento a laser. Nossos resultados mostram que a entrada do MAYV nas células ocorre através de um mecanismo endocítico que envolve uma internalização rápida do material endocitado, uma vez que os sinais fluorescentes das partículas virais marcadas puderam ser visualizados dentro das células poucos minutos após a ligação viral aos receptores na superfície da célula. A compreensão da dinâmica da infecção viral pode elucidar questões importantes para o desenvolvimento de estratégias antivirais.

FIBRAS AMILÓIDES INDUZEM A LIBERAÇÃO DE REDES EXTRACELULARES DE NEUTRÓFILOS

Estefania P. C. Azevedo¹, Anderson B. Guimarães-Costa², Guilherme Torezani¹, Carolina Braga¹, Fernando Palhano^{1,3}, Elvira Saraiva² e Débora Foguel¹

¹Instituto de Bioquímica Médica,

²Instituto de Microbiologia Prof. Paulo de Góes, CCS, UFRJ, Rio de Janeiro, Brasil,

³The Scripps Research Institute, La Jolla, CA, EUA.

As amiloidoses são doenças incuráveis e em sua maioria fatais, caracterizadas pelo acúmulo de fibras amilóides em órgãos e tecidos. Estas doenças afetam mais de 500.000 pessoas por ano mundialmente. Uma potencial associação entre neutrófilos e fibras amilóides foi sugerida quando proteases derivadas de neutrófilos, mas não células íntegras, foram encontradas associadas aos depósitos amilóides. No entanto, ainda é desconhecido se o sistema imune possui um papel nas amiloidoses. Um importante mecanismo efetor imune foi descrito recentemente onde redes extracelulares de neutrófilos (NETs), constituídas de redes de DNA decorado com proteínas, como a elastase e histonas, são liberadas, retém e eliminam micróbios. Utilizando fibras amilóides derivadas de 4 modelos protéicos distintos, nós nos perguntamos se as NETs eram induzidas genericamente por fibras amilóides e ainda, procuramos pelas NETs em tecidos de pacientes com amiloidose. Nós observamos que as fibras amilóides eram capazes de induzir NETs em um processo dependente das características morfofintórias das fibras e parcialmente dependente da geração de espécies reativas de oxigênio. Adicionalmente, a elastase associada às NETs era capaz de digerir as fibras amilóides gerando espécies menores, oligoméricas e citotóxicas. Finalmente, as NETs foram observadas em depósitos amilóides de pacientes com amiloidose sistêmica primária. Interessantemente, a presença de fibras amilóides não foi encontrada quando observamos elastase no tecido, sugerindo que a proteólise que demonstramos *in vitro* também ocorra *in vivo*. Nossos dados sugerem que as NETs possuem uma relevância fisiológica nas amiloidoses e devem ser investigadas em condições relacionadas com fibras amilóides.

BUSCA POR UM MODELO ANIMAL PARA O ESTUDO DA AMILOIDOSE LEPTOMENINGEAL: A VARIANTE A25T DA TRANSTIRRETINA

Guilherme Torezani¹, Estefania Azevedo¹, Fernando Palhano¹, Gustavo Dubois², Vivaldo Moura Neto² e Debora Foguel¹

¹Inst. Bioq. Médica,

²Depto. de Anatomia, ICB, UFRJ, Rio de Janeiro, Brasil.

A Transtirretina (TTR) é uma proteína homotetramérica de 127 resíduos que transporta tiroxina (T4) no sangue e no líquido cefalorraquidiano (LCR). Sob determinadas condições, a TTR forma fibras amilóides, muitas das quais já foram relacionadas a várias doenças amilóides. A A25T, a variante mais instável dentre todas descritas até o momento, foi primeiramente descrita em um paciente Japonês que foi diagnosticado com amiloidose leptomeningeal (LA), amiloidoses raras de herança autossômica dominante sendo caracterizadas patologicamente por depósitos de TTR (transtirretina) nos vasos das leptomeninges, no parênquima cerebral ao redor do sistema ventricular e na retina. Esses depósitos levam à demência progressiva, desordem locomotora, infartos cerebrais, isquemia, derrame, coma e morte. Devido ao extenso comprometimento neurológico que cursa com demência e múltiplas hemorragias intracranianas e evolução ao óbito e à falta de tratamentos eficazes, o desenvolvimento de um modelo animal torna-se uma importante ferramenta para o estudo da LA e de seus mecanismos patológicos. Por estereotaxia foram injetados agregados fibrilares de A25T, formados *in vitro* e caracterizados morfologicamente por AFM, no sistema líquor de camundongos Balb/c, visando mimetizar a amiloidogênese intracerebral. Cortes histológicos foram, então, submetidos à análise por imunohistoquímica. Nossos resultados apontam para a deposição dos agregados em leptomeninges e para a migração da TTR do LCR para o parênquima cerebral, com deposição na parede de vasos sanguíneos. Esses resultados também sugerem uma possível seletividade desses agregados por certas estruturas encefálicas, uma vez que não é significativa a quantidade encontrada em outras regiões. Nosso grupo também estuda o mecanismo pelo qual as fibras induzem neurodegeneração utilizando culturas primárias de microglia e neurônios. O meio condicionado da microglia ativada pelas fibras de A25T, mas não as fibras sozinhas, induziram morte neuronal em 24h. Haveria, portanto, a manutenção de fibras amilóides em parênquima cerebral, perpetuando um estímulo incitador de ativação microglial e desestabilização da vasculatura do parênquima cerebral. **Palavras-chave:** amiloide, leptomeningeal, camundongos, microglia, neurodegeneração transtirretina. **Apoio:** CNPq and FAPERJ.

Quarta-feira (21/09)

LEGENDA:

BM - Bioenergética e Membranas | **BE** - Bioquímica Estrutural | **BC** - Biologia Celular

BC06

O ENVOLVIMENTO DA MIRISTOILAÇÃO NA PROGRESSÃO DA LEUCEMIA MIELOÍDE CRÔNICA (LMC): REGULAÇÃO X ANCORAMENTO**Ferretti, G.D.S.**, Oliveira, G.A.P., Freitas, A.P., Carvalho, C.A.M., Gomes, A.M.O. e Silva, J.L.*Laboratório de Termodinâmica de Proteínas e Estruturas Virais Gregorio Weber, IBqM, UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.*

Polipeptídios recém sintetizados sofrem mudanças que podem afetar sua estabilidade, localização e atividade biológica. No câncer, diversas oncoproteínas sofrem modificações tornando-se ativas e funcionais. A proteína ABL, envolvida no desenvolvimento da leucemia mielóide crônica (LMC) é expressa nas isoformas 1A (não miristoilada) e 1B que sofre incorporação de um miristato no resíduo de glicina amino-terminal (G2). Em células leucêmicas, o gene bcr se funde ao gene abl, originando um gene quimérico que codifica para uma proteína desregulada não miristoilada. Nossos objetivos visam investigar o impacto da miristoilação na regulação e localização do ABL e sua importância na leucemia. Verificamos que o miristoil está envolvido na localização do ABL na célula, porém, não é limitante para tal. Análises realizadas por microscopia confocal de super expressão, por transfecção transiente, das isoformas ativas do ABL em células HEK293 evidenciaram marcação citosólica difusa e em regiões de membrana plasmática para a isoforma miristoilada, e marcação pontual para a isoforma não-miristoilada. A inibição das isoformas, via droga-dependente (10uM STI-571), revelam compartimentagem vesicular em regiões de retículo nos níveis endógenos e após super expressão. Ensaios de mutagênese (G2A) da isoforma miristoilada, evidenciam papel da miristoilação no ancoramento em membranas. Análises por western blotting indicam efeito pró-apoptótico da proteína Abl via BAX e p53 dependente. Diminuição nos níveis de RNAm de moléculas envolvidas em adesão (ADAMs) mediante inibição do ABL com STI-571 e alta expressão dessas moléculas em linhagem leucêmica K562 sugerem possível envolvimento do ABL em sua regulação e novo mecanismo para perda de adesão ao estroma medular. Compreendendo melhor a função dessas modificações, teremos melhor esclarecimento acerca dos mecanismos de ação durante o desenvolvimento de neoplasias e uma potente estratégia para futuras intervenções terapêuticas.

BM04

EFEITO DO EBSELEN NO METABOLISMO MITOCONDRIAL DE CÉREBRO DE CAMUNDONGO**Paes-Pereira P.R.**, Camacho-Pereira J. and Galina, A.*Instituto de Bioquímica Médica, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.*

O Ebselen (Ebs), também chamado de PZ51, é uma droga de selênio orgânico com uma variedade de propriedades farmacológicas e terapêuticas que têm sido associado a atividade da glutathione peroxidase e da tioredoxina. Yamaguchi et al, 1998 demonstrou que o Ebselen protegeria contra a deterioração da função cerebral em pacientes com infarto cerebral ou hemorragia subaracnóide. O Ebs passou por diversos ensaios clínicos e atualmente é considerado como uma droga potencial antioxidante para o tratamento de doenças associadas ao excesso de estresse oxidativo, mas estudos ainda são necessários para estabelecer o limiar das doses que produzem a diminuição de espécies reativas de oxigênio (EROS). Este trabalho tem como intuito avaliar a atividade de enzimas importantes do metabolismo celular e a geração de EROS em mitocôndrias isoladas de cérebro de camundongo. Mostramos neste trabalho que Ebs é capaz de inibir a enzima importante do metabolismo como a hexocinase, que fosforila glicose em glicose-6-fosfato. Medindo a atividade da enzima hexocinase por espectrofotometria, em mitocôndrias isoladas de cérebro de camundongo, observamos que sua atividade foi reduzida em quase 50 %, com 25 µM do composto em 5 min de reação. Avaliamos também o efeito do Ebs na geração de EROS mitocondrial. O composto produziu um efeito duplo, pois nas concentrações iniciais de 1 µM e 3 µM ocorreu aumento na produção de ROS e nas concentrações de 5 µM, 7 µM e 10 µM ocasionou uma redução. Através deste estudo foi possível verificar que o composto é capaz de alterar a atividade de uma enzima importante do metabolismo como a hexocinase e que possui um efeito duplo que depende da dose para funcionar como antioxidante. Esses dados sugerem que o Ebselen pode ser um importante inibidor do metabolismo celular, mesmo em baixas doses, e que esse dado é importante com relação à toxicidade que o composto pode vir a causar quando usado para tratamento antitumoral.

ESTUDOS DE INTERAÇÃO ENTRE A PROTEÍNA FKBP12 DE TRYPANOSOMA BRUCEI E COMPOSTOS ORGÂNICOS POR RMN

D'Andréa, É.D.¹, Aido-Machado, R.¹, Piovesan, L.A.², Flores, A.F.C.², Barreiro, E.J.³ e Pires, J.R.M.¹

¹Instituto de Bioquímica Médica, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil,

²Núcleo de Química de Heterociclos, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Brasil,

³Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

A proteína FKBP12 é uma peptidil-prolil-cistrans-isomerase, alvo clássico de fármacos imunossupressores como FK506 e rapamicina em humanos. Em *Trypanosoma brucei*, estudos de interferência de RNA demonstraram que a existência de um gene codificador de uma proteína homóloga à FKBP12 humana é essencial para o desenvolvimento deste parasita. Estes resultados sugerem que fármacos análogos ao FK506 e à rapamicina poderiam ter um efeito anti-tripanosomatídeos. O entendimento da função de macromoléculas requer o conhecimento de suas estruturas tridimensionais. Um dos métodos experimentais capazes de fornecer uma descrição completa da estrutura de macromoléculas a nível atômico é a espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN). As análises por RMN são feitas em solução, possibilitando a investigação de interações entre macromoléculas e pequenas moléculas orgânicas. Empregando-se a metodologia denominada relação estrutura atividade por ressonância magnética nuclear ("SAR by NMR"), pequenas moléculas orgânicas que se ligam com baixa afinidade a sítios vizinhos de uma proteína são identificados, otimizados e conectados para produzir ligantes de mais alta afinidade. Neste contexto, o objetivo do presente trabalho é estudar interações entre a FKBP12 de *Trypanosoma brucei* e compostos orgânicos por RMN. Como resultados, foram realizadas análises da FKBP12 com compostos provenientes de colaborações com os grupos NUQUIMHE-UFSM e LASSBio-UFRJ. A análise dos resultados mostrou que os compostos interagiram de forma fraca com a FKBP12. Foi realizado o mapeamento destas interações, mostrando que elas se realizam no sítio de ligação ao FK506. Foi também realizado o estudo da interação FKBP12/FK506 e a dinâmica deste complexo, mostrando que este fármaco é um ligante forte. O mapeamento mostrou tanto interações no sítio de ligação ao FK506, quanto em outras regiões da FKBP12.

EGD06

ANÁLISE DE FATORES ASSOCIADOS À SÍNDROME DE BURNOUT (SB) EM PROFESSORES DA EDUCAÇÃO BÁSICA NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

Barbosa, Josemar Moreira e Lannes, Denise

Instituto de Bioquímica Médica, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

O estado da arte sobre a Síndrome de Burnout revela que entre os trabalhos sobre o tema, somente 10% estão relacionados à categoria de professores. O objetivo deste trabalho é levantar fatores de risco da síndrome de Burnout em um estudo de caso com os professores da educação básica, do sistema público de ensino, do município de Mangaratiba (Escola Municipal Caetano de Oliveira) e do município do Rio de Janeiro (Escola Estadual Halfeld), no estado do Rio de Janeiro. Para isso, buscamos medir o nível de Burnout nos sujeitos da pesquisa, através da Lista Maslach de Características do Desgaste Físico e Emocional (MBI - Maslach Burnout Inventory), em suas três dimensões. Estes resultados serão, posteriormente, relacionados às características sócio-econômica-demográficas e à rotina profissional diária dos mesmos. Segundo França (1987, p. 197), Burnout é uma síndrome caracterizada por sintomas e sinais de exaustão física, psíquica e emocional, em decorrência da má adaptação do indivíduo a um trabalho prolongado, altamente estressante e com grande carga tensional. As análises preliminares mostram que a maioria dos docentes investigados obteve pontuações elevadas no MBI. Esta pontuação indica que estes sujeitos já se encontram em fase inicial da síndrome de Burnout, a qual requer ajuda profissional para debelar os sintomas e garantir, assim, a qualidade no seu desempenho profissional e a sua qualidade de vida (Maslach e Leiter, 1999). Mesmo em caráter preliminar e restrito a um estudo de caso, estes resultados sugerem a relevância do tema, considerando ser uma área de pesquisa pouco explorada, mas de grande repercussão social. Alertando, também, para uma situação que requer providências urgentes no sentido de considerar as necessidades dos docentes e prevenir o estado de exaustão profissional em que se encontram.

Quinta-feira (22/09)

LEGENDA:

BE - Bioquímica Estrutural | BC - Biologia Celular

PROTEOMA E TRANSCRIPTOMA DE ESPÉCIES DO GÊNERO MICRURUS: CONSTRUÇÃO DE UMA BASE DE DADOS PARA A PRODUÇÃO DE ANTIVENENOS A PARTIR DE ANTÍGENOS SINTÉTICOS

Correa-Netto, C.^{1,2}, Junqueira-de-Azevedo, I.L.M.⁴, Andrade, D.⁴, Araújo-Leitão, M.³, Foguel, D.², Ho, P.L.⁴, Sanz, L.⁵, Zingali, R.B.² and Calvete, J.J.⁵

¹Laboratório de Anticorpos Monoclonais, Instituto Vital Brasil, RJ, Brazil,

²Instituto de Bioquímica Médica e Instituto Nacional de Biologia Estrutural e Bioimagem (INBEB), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil,

³Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil,

⁴Centro de Biotecnologia, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil,

⁵Instituto de Biomedicina de Valencia, CSIC, Valencia, Espanha.

O gênero *Micrurus* (cobra-coral) compreende serpentes com veneno neurotóxico encontradas desde o sudoeste dos Estados Unidos, chegando ao sul da América do sul. Esses venenos atuam principalmente impedindo a transmissão neuromuscular podendo levar a vítima a óbito por insuficiência respiratória aguda. A incidência dos acidentes causados por esse gênero é pequena, mas quando ocorrem são graves. No Brasil, as espécies do gênero *Micrurus* estão distribuídas em todo país, tornando necessária a produção de antivenenos para o tratamento desses acidentes. Por outro lado, manter e reproduzir essas espécies em cativeiro ainda constitui um desafio para os serpentários no Brasil, o que dificulta a obtenção de venenos em quantidades suficientes para a produção de soros. Para identificar os principais componentes tóxicos dos venenos de *Micrurus*, como também para desenhar um antiveneno alternativo, baseado na imunização de peptídeos sintéticos determinados a partir da estrutura 3D das principais toxinas presentes nesses venenos, foi caracterizado o proteoma de *M. altirostris* (Ma) e *M. corallinus* (Mc) e o transcriptoma da glândula de veneno de *M. altirostris*. As famílias de toxinas presentes no proteoma desses venenos são “three finger toxins” (~80%) e PLA2s (~13%). Algumas diferenças foram observadas em algumas famílias de proteínas como inibidores tipo Kunitz (Ma 2%; Mc 0%), PIII-SVMs (Ma 1%, Mc 2.4%), CRISP (Ma <0.1%; Mc 0%), Lipase (Ma 2.6%; Mc 0%) e Serinoprotease (Ma 0%; Mc 0.8%). O transcriptoma foi realizado a partir de uma mistura de glândulas de um adulto e um neonato, o qual gerou 946 ESTs agrupados dentro de 384 clusters. Os dados de proteoma e transcriptoma geraram um grande número de seqüências de aminoácidos das principais toxinas encontradas e essas informações foram utilizadas para o desenho de peptídeos com potencial imunogênico. O antiveneno produzido foi eficaz em reconhecer epítopos das principais neurotoxinas de *M. altirostris* e a capacidade neutralizante das principais atividades tóxicas do veneno de *Micrurus* está sendo investigada em nossos laboratórios. **Financiamento:** CNPq, FAPERJ e INCiTs. **Palavras Chaves:** *Micrurus*, proteoma de veneno de serpente, transcriptoma do veneno de serpente, produção de antiveneno, peptídeos sintéticos.

A ADMINISTRAÇÃO INTRACEREBROVENTRICULAR AGUDA DE OLIGÔMEROS DO PEPTÍDEO B-AMILÓIDE RESULTA EM PREJUÍZOS COGNITIVOS PERSISTENTES EM CAMUNDONGOS

Motta-Sales, A.P.B.¹, Ribeiro, F.C.², Figueiredo, C.P.³, De Felice, F.G.⁴ e Ferreira, S.T.⁴

¹Programa de Ciências Morfológicas, Instituto de Ciências Biomédicas,

²Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho,

³Faculdade de Farmácia,

⁴Instituto de Bioquímica Médica, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

A fisiopatologia da doença de Alzheimer é complexa e envolve diversas vias bioquímicas distintas, incluindo alterações no metabolismo da proteína precursora amilóide (APP), neuroinflamação, estresse oxidativo e disfunção mitocondrial. Inúmeros estudos demonstram que os sintomas iniciais da doença de Alzheimer estão associados com a toxicidade induzida pelo peptídeo β amilóide (A β). Os oligômeros solúveis do peptídeo A β , também denominados “ligantes difusíveis derivados do peptídeo A β ” (ADDLs), ligam-se com alta afinidade em regiões específicas de determinadas sinapses. A ligação dos oligômeros nas sinapses inibe a potenciação de longa duração (LTP), um modelo de plasticidade sináptica amplamente aceito como correlato celular da formação de memórias, resultando em prejuízo cognitivo. Este estudo avaliou o prejuízo cognitivo e sináptico induzido por uma única injeção intracerebroventricular (i.c.v.) de ADDLs (10 ou 50 pmol/sítio), em camundongos adultos jovens, por meio do teste de reconhecimento de objetos, um paradigma clássico de avaliação de memória espacial. Os animais tratados com uma única administração i.c.v. de ADDLs (10 e 50 pmol/sítio) apresentaram prejuízo cognitivo significativo, 24 h, 7 dias, e 14 dias após o tratamento, como verificado pelos menor tempo de exploração no objeto novo, durante as sessões de teste do paradigma do reconhecimento de objeto. Após realização dos testes comportamentais, os animais foram submetidos à perfusão cardíaca, seguido de eutanásia, e remoção dos cérebros para realização de análises histopatológicas e imuno-histoquímicas. Grupos de animais foram decapitados, os hipocampus dissecados e o sangue total coletado, para realização de análises bioquímicas e moleculares. Em conjunto, estes resultados demonstram que uma única administração i.c.v. de ADDLs em camundongos resulta em prejuízos cognitivos característicos da doença de Alzheimer, podendo ser utilizado como modelo de toxicidade induzida pelo peptídeo A β . A utilização deste modelo experimental auxiliará na elucidação dos mecanismos fisiopatológicos da doença de Alzheimer, podendo contribuir para desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas.

O PAPEL DA TRANSATIVAÇÃO DO RECEPTOR DE EGF NA PROLIFERAÇÃO CELULAR INDUZIDA POR ADP EM CÉLULAS DE RETINA EM CULTURA

Jacques F.J., Ornelas I.M., Rocha R.M. e Ventura A.L.M.

Departamento de Neurobiologia – Lab. Neuroquímica, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ.

Objetivo: O receptor purinérgico P2Y quando ativado por nucleotídeos (ADP e ATP) é capaz de induzir a proliferação das células de retina de galinha em cultura, através da ativação de vias de sinalização como das MAPKs. Neste trabalho investigamos se o feito mitogênico do ADP em células de retina em cultura é dependente da transativação do receptor de EGF. **Métodos:** Foram utilizadas culturas mistas de embriões de galinha com 7 dias, cultivadas por 1 ou 2 dias. Para estimar a proliferação celular realizamos experimentos de incorporação de [³H]-timidina em culturas previamente tratadas por 24 horas com ADP, EGF e/ou inibidores. Os níveis de receptor de EGF e ERK fosforilados foram medidos por imunoblot. **Resultados:** Culturas tratadas com ADP (250 µM) apresentaram um aumento da proliferação celular que foi prevenido pela administração concomitante do inibidor de receptor de EGF, AG 1478 (5 µM). Culturas tratadas com EGF e ADP por 5 min mostraram um aumento nos níveis de receptores de EGF fosforilados. Como metaloproteases têm sido implicadas na transativação de receptores de EGF investigamos se a proliferação celular induzida por ADP envolveria a atividade dessas enzimas. Para isso tratamos as culturas com ADP na presença do inibidor de metaloproteases, SB-3CT. Culturas tratadas com ADP + SB-3CT (25 µM) apresentaram incorporação semelhante aos níveis basais. Como o receptor de EGF fosforilado tem sido implicado na ativação da proteína MAPK ERK que medeia respostas de proliferação celular investigamos se este retorno é dependente desta via MAPK. Os níveis de ERK fosforilada estimulada com ADP na presença de SB-3CT ou ADP com AG1478 vimos que as condições de ERK fosforilada não diminuíram na presença dos inibidores. **Conclusão:** Nossos resultados sugerem que a proliferação de progenitores de células de retina em cultura induzida por ADP está associada com a transativação do EGFR que provavelmente ocorre através da ativação de metaloproteases. **Suporte financeiro:** FAPERJ, CNPq, CAPES, Proppi-UFF.

ASTRÓCITOS HUMANOS REGULAM A CONECTIVIDADE SINÁPTICA ATRAVÉS DO FATOR DE CRESCIMENTO TRANSFORMANTE BETA 1 NO CÓRTEX CEREBRAL

Luan Pereira Diniz¹, Juliana Carvalho Almeida¹, Vanessa Tortelli¹, Charles Vargas Lopes¹, Pedro Peirdigão¹, Luciana Romão¹, Joice Stipusky¹, Suzana Kahn¹, Newton Castro¹, Jorge Marcondes², Soniza Alves², Rogério Arena Panizzutti¹ e Flávia Carvalho Alcantara Gomes¹

¹Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro de Janeiro,

²Hospital Universitário Clementino Fraga Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro de Janeiro.

Objetivos: O cérebro humano contém mais de 100 trilhões conexões sinápticas que formam todos os seus circuitos neurais. Nas últimas décadas diversos trabalhos demonstraram que as células astrocitárias são importantes reguladores da formação, plasticidade, funcionamento, estabilização e eliminação sináptica. Apesar desses grandes avanços, o papel dos astrócitos humanos nesse cenário é incerto, dentro desse contexto, o objetivo do nosso trabalho será investigar o papel dos astrócitos humanos e murinos na formação das sinapses. **Metodologia e Resultados:** Verificamos por imunocitoquímica que o Meio Condicionado Astrocitário Humano e murino aumentaram a formação das sinapses excitatórias (250% e 200%, respectivamente) e que a indução sináptica foi revertida na presença de um antagonista de TGFβ-1. Observamos por imunocitoquímica (150%), microscopia eletrônica de transmissão (133%), eletrofisiologia e Western blotting (100%) que o TGF-β1 induziu a formação das sinapses excitatórias, independente da regulação do crescimento neurítico e sobrevivência neuronal. Além disso, verificamos que o TGFβ-1 aumentou os níveis extracelular de D-serina (principal co-agonista do receptor NMDA) tanto em astrócitos (150%), quanto em neurônios (80%). Verificamos por imunocitoquímica (250%), microscopia eletrônica de transmissão (150%), eletrofisiologia e Western blotting (100%) que a D-serina aumentou a sinaptogênese. A degradação e/ou a inibição da produção de D-serina, em neurônios tratados com TGFβ-1, inibiu completamente a indução sináptica observada anteriormente. **Conclusão:** Nossos resultados descrevem um novo mecanismo pelo qual os astrócitos regulam a formação das sinapses, corroborando com o conceito emergente de que os astrócitos são componentes dinâmicos do cérebro, além de lançar luz sobre novos alvos para o tratamento de doenças neurológicas humanas.