

VI Simpósio de Neurociências da UFF / I Simpósio de Neurociências UFF-Fiocruz



Patologias associadas à neuroinflamação

Livro de Resumos

Dia 1: Painéis Ímpares

Dia 2: Painéis Pares



15 e 16
MARÇO

2017

**Local: NAB (Núcleo de Estudos em
Biomassa e Gerenciamento de Águas)**

Campus da Praia Vermelha – UFF



INCT-NIM
INSTITUTO NACIONAL DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
EM NEUROCIÊNCIAS



FAPERJ

PROEX

grupo **a** EDUCAÇÃO



15/Março/2017 (Dia 1)

08:30 – 09:00 *Opening Ceremony*

09:00 – 10:00 *Opening Plenary Lecture*

“A role of aberrant glial cell phenotypes in the clinical progression of neurodegenerative diseases”

Dr. Luis Barbeito – Instituto Pasteur, Uruguai

10:00 – 12:00 *Symposium “Microglia and Neuroinflammation”*

“Age-related cognitive impairment in chronic inflammation: the role of microglia”
Dra. Joana d’Avila – FIOCRUZ

“Regional specificity of resident microglia within the subventricular zone”
Dr. João Menezes – UFRJ

“Microglia activation and neuroinflammation in sepsis and cerebral malaria”
Dr. Hugo Caire – FIOCRUZ

“Retinal lesion induces a microglial dependent plasticity in the rodent visual system”
Dr. Claudio A. Serfaty – UFF

12:00 – 14:00 *Lunch*

14:00 – 16:30 *Academic Symposium*

10 selected graduate students or postdocs to be announced later based on submitted abstracts

16:30 – 17:00 **Coffee Break**

17:00 – 18:30 *Poster Presentations (Odd numbers)*

16/Março/2017 (Dia 2)

09:00 – 10:00 Plenary Lecture

**“New molecular mechanisms in inflammatory pathways involved in stress and depression”
Eduardo Arzt – Instituto de Investigación en Biomedicina de Buenos Aires, Argentina**

10:00 – 12:00 Symposium “Cytokines and Neuroinflammation”

**“Ouabain modulates the cytokines levels in retinal cell cultures”
Dra. Elizabeth Giestal – UFF**

**“Astrocyte – T cell interactions in HTLV-1 associated neuropathy”
Dr. Wilson Savino – FIOCRUZ**

**“Leprosy a unique model of neurological disease”
Euzenir N. Sarno – FIOCRUZ**

**“Effect of Maternal Immune Activation on susceptibility to psychiatric and neurodegenerative disorder”
Dr. Frederico Ferreira – FIOCRUZ**

12:00 – 14:00 Lunch

14:00 – 16:00 Poster Presentations (Even numbers)

16:00 – 16:30 Coffee Break

16:30 – 18:30 Roundtable of Inter-Institutional Graduate Programs

**Wilson Savino – FIOCRUZ
Cecília Hedin Pereira – FIOCRUZ
Milton Ozório Moraes – FIOCRUZ
Claudio A. Serfaty – UFF**

18:30 – 18:45 Closing Ceremony

P-01

FUNCTIONAL AND GENETIC CORRELATION BETWEEN CANDIDATE GENES IN NERVE SAMPLES FROM DIFFERENT ETIOLOGIES

Oliveira-Moraes I¹; Toledo-Pinto TG¹; Raju R¹; Santos PT³; Medeiros RC¹, Antunes SLG²; Jardim MR²; Alvarado-Arnez LE¹; Moraes MO¹.

1.Laboratório de Hanseníase, Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ. 2.Ambulatório Souza Araújo, Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ. 3.Programa de Carcinogênese Molecular, INCA, Rio de Janeiro, RJ

Keywords: Nerve biopsy, neuropathies, leprosy, gene expression.

Neuropathy refers to nerve damage, involving demyelination, perineural fibrosis and epineural infiltrate, such manifestations may be caused by systemic and infectious diseases. Leprosy, caused by *Mycobacterium leprae*, that has tropism for macrophages in skin and Schwann cells in the nerve. Although treatment strategies are available, leprosy remains a public health problem in some countries, including Brazil. Leprosy-related peripheral neuropathy is associated with disabilities and deformities, including the development of a condition called as pure neural leprosy (PNL). The aim of this study is to correlate gene expression and genotyping data in a set of representative genes of the neurogenesis pathway in nerve biopsy samples from individuals with different neuropathies. The individuals included in this study had a clinical diagnosis compatible with non-leprosy peripheral neuropathy (e.g. entrapment neuropathy, neuropathic vasculitis and chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy; N=35; NLN) and patients with pure neural leprosy (N=25; PLN). RNA and DNA were extracted from nerve biopsy samples using TRIzol reagent, following manufacturers' recommendations. cDNA was synthesized and qRT-PCR for representative genes of the neuron generation pathway (GO Term: 0048699): NRP1, HOOK3, CNTN4, SPRY2 and SCN8A were evaluated. In addition, 5 polymorphisms located within these genes were genotyped using Real Time PCR (ViiA-7, Applied Systems) with TaqMan® allelic discrimination technology. The correlation between genotyping and gene expression data was performed using GraphPad Prism 5.0 software, based on $-2\Delta\text{Ct}$ method (Ct, threshold cycle). First, we carried out a comparison between the gene expression levels of samples from PLN and NLN. To assess the possible influence of polymorphisms in these genes, stratification was performed by genotypes or clinical features. Our results indicate that gene expression levels in PLN and NLN, independent of genotype and carriers did not show any significant differences between groups. When stratified concordantly to SNPs, neither genotype nor carrier comparisons presented significance in gene expression levels, except for HOOK3 rs10958734. Individuals that carried A allele in NLN group, showed lower HOOK3 expression (P-value=0.05). HOOK3 is a gene that codes for cytosolic proteins that mediate binding organelles and it is involved with neurogenesis.

Financial Support: (PIBIC/IOC), FAPERJ/CAPES (PAPD/RJ)

P-02

P2Y1 receptor modulates the transition from G1 to S phase of cell cycle of rat retinal progenitor cells

Luana de Almeida Pereira¹, Marinna Garcia Repposi¹, Alfred Sholl-Franco², Ana Lucia Marques Ventura¹ and Lucianne Fragel-Madeira¹

1 Department of Neurobiology, Institute of Biology, Fluminense Federal University; 2 Institute of Biophysics Carlos Chagas Filho, Federal University of Rio de Janeiro.

In vertebrates the retina histogenesis is guided by extrinsic and intrinsic mechanisms, in which ATP has been widely studied as being important to many processes involved with nervous system development. Previous studies from our group demonstrated that endogenous adenine nucleotides are able to regulate the proliferation of retinal progenitor cells in vivo through P2Y1 receptor, a G protein coupled receptor. Based on this data, we evaluated which cell cycle phase is regulated by P2Y1 receptor in the retina of newborn rats. Intravitreal injection of 100 μ M of MRS 2179, a P2Y1 receptor antagonist, in rats at two postnatal days (P2) was performed and after 24 hours the retinal protein extract was analyzed by western blotting. The analysis revealed an increase of approximately 50% in expression of p57KIP2 (control = 0.56 ± 0.16 ; 100 μ M MRS 2179 = 1.02 ± 0.20 ; n=4), whereas no change in p27KIP1 was observed (control = 1.57 ± 0.42 ; 100 μ M MRS 2179 = 1.49 ± 0.36 ; n=4). Furthermore, there was also an increase of 60% in the levels of cyclin D1 (control = 1.07 ± 0.20 ; 100 μ M MRS 2179 = 1.40 ± 0.24 ; n=4) and a reduction of 23% cyclin E (control = 1.29 ± 0.23 ; 100 μ M MRS 2179 = 0.99 ± 0.03 ; n=4). In order to analyze cell cycle phases transitions, BrdU (60mg/Kg) was intraperitoneally injected for 3 hours before the end of treatment with MRS 2179 and was observed a decrease of 18% in BrdU-positive cell number at S-phase stratum (control = 4083 ± 336.7 , 100 μ M MRS 2179 = 3501 ± 249.5 ; n=5) but there was no change in the cell migration through G2 to M phases of cell cycle . This data was also confirmed by phospho-histone H3 immunolabeling in which was not observed change in the number of labeled treated cells compared to control. In conclusion, the P2Y1 receptor controls the transition to G1 from S phase in retinal progenitor cell by p57KIP2 modulation.

Financial Support: Capes, FAPERJ, PROPPI.

P-03

Um novo modelo para o estudo do diabetes mellitus gestacional de camundongos e suas consequências sobre o sistema nervoso central da prole

1Sousa, R.A.L.; 1Salazar, Y.; 1Vasconcellos, E., 1Silva, T.P., 1Silva, R.T., , 1Frost, P; 2Janner, D; 3,4Ferreira, S.T., 4De Felice, F.G., 1Figueiredo, C.P., 1Passos, G.F., 1Clarke, J.R.

1Faculdade de Farmácia; 2Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho; 3Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho; 4Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis; Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Introdução Diabetes mellitus gestacional (DMG) é a intolerância à glicose que ocorre durante a gestação e acomete cerca de 15% das gestantes nos Estados Unidos. Alterações persistentes no metabolismo foram observadas na prole de DMG, incluindo maior propensão à obesidade. Efeitos sobre a memória, neurogênese e outras funções do sistema nervoso central da prole foram sugeridos, porém os mecanismos envolvidos são desconhecidos. Objetivos Estabelecer um modelo de DMG em camundongos e avaliar os efeitos tardios na prole, com e sem exposição a uma dieta rica em lipídeos (HFD). Metodologia Este estudo foi aprovado pelo comitê de ética da UFRJ (protocolo 045/16). Camundongos Swiss (12 semanas, 25 a 40g) receberam do 7º dia gestacional até o parto salina ou S961 (30nmol/kg/dia, s.c.). Testes de tolerância à glicose (TTG) e comportamentais foram feitos. Utilizamos teste t de Student, área sob a curva (AUC), análise de variância de uma e de duas vias e pós-teste de Tukey. Resultados são expressos como média \pm E.P.M e considerados significativos se $p < 0.05$. Resultados Glicemia de jejum, consumo de água e AUC do TTG foram maiores nas mães que tratadas com S961 em relação ao veículo (175.2 \pm 6.66 vs 122.4 \pm 6.65 mg/dL; 221.7 \pm 22.12 vs 150 \pm 21.68 mL; 46763 \pm 6293 vs 18533 \pm 1541 ua), porém a AUC da massa corporal na gestação foi similar até o 20º dia de gestação (26.65 \pm 21.65 ua, $p > 0.05$) e no pós-parto (122.6 \pm 3.591 vs 26.4 \pm 8.03 g, $p > 0.05$). O tratamento com S961 não causou diferença no comportamento maternal, no desenvolvimento físico e reflexo ou no comportamento da prole quando avaliada no campo aberto. Animais machos submetidos à hiperglicemia intrauterina e que receberam HFD apresentaram prejuízo cognitivo no Reconhecimento de Objetos (Veículo-HFD, $p = 0.3701$; S961-HFD, $p = 0.985$) e no Y-maze (S961-HFD, $p = 0.0946$); enquanto as fêmeas nestas condições apresentaram prejuízo cognitivo apenas no Reconhecimento de Objetos (Veículo-HFD, $p = 0.5957$; S961-HFD, $p = 0.5972$). Análises preliminares dos hipocampus sugerem um perfil inflamatório aumentado nos animais oriundos de mães diabéticas, além de uma maior ativação da via da GSK3 β . Conclusão Descrevemos um novo modelo de DMG que reproduz com maior fidelidade as alterações observadas em pacientes. A prole possui comportamento normal quando avaliada na idade adulta, mas responde de forma exagerada quando exposta a HFD, desenvolvendo obesidade e prejuízo cognitivo precocemente.

Apoio Financeiro Capes, CNPQ, Faperj.

P-04

EGF Receptor Activation is Required for ADP-induced proliferation of retinal glial progenitors in culture.

Lopes, C.G., Jacques, F.J., Ornelas, I.M., Ventura, A.L.M., Neurobiology Department, Fluminense Federal University, Niterói/RJ.

Aims: In the adult retina, no effect of EGF is observed in intact tissues, it induces the proliferation of dedifferentiated glia cells from damaged tissues. EGF also induces the proliferation of purified retinal glial cells in culture. During development, ADP, through activation of P2Y receptors, PKC, Akt and ERK pathways induces the proliferation of late developing retinal glial progenitors in culture. In the present work, we investigated if EGF receptor activation (EGFR) is involved in ADP signaling and P2Y-dependent proliferation of retinal glial progenitors in culture. **Methods/Results:** This project was approved by Ethics committee number 00132/09. Cells from retinas of 7-day-old chick embryos were cultured for 1 or 2 days (E7C1-2). Cell proliferation was estimated by the incorporation of [3H]-thymidine. Western blot was used to determine activation of Akt, ERK and CREB signaling pathways. Cultures treated for 24 h with 250 μ M ADP increased [3H]-thymidine incorporation ($213 \pm 15\%$ of control levels, $p < 0.001$, $n=9$), an effect that was prevented by 5 μ M AG1478, an EGF receptor inhibitor ($91 \pm 17\%$ of control levels, $p < 0.01$ compared to ADP, $n=5$). Levels of p-ERK and p-CREB were also increased by treating the cells with 250 μ M ADP (respectively $425 \pm 71\%$, $p < 0.01$ and $152 \pm 1.4\%$, $p < 0.001$ of control levels, $n=3$), a response that was also decreased by the pre-incubation of the cultures with 10 μ M AG1478 for 3 h (p-ERK: $195 \pm 28\%*$ and p-CREB: $80 \pm 4\%***$ of control levels, $*p < 0.05$ and $***p < 0.001$, compared to ADP, $n=3$). In contrast to ADP, 100 ng/ml EGF alone did not induce cell proliferation ($127 \pm 10\%$ of control levels $n=6$) or Akt phosphorylation ($118 \pm 18\%$ of control levels). However, incubation of the cultures with EGF for 5 min increased by $\sim 220\%$ the levels of phospho-ERK ($*p < 0.05$), with a corresponding increase of $\sim 360\%$ in EGF receptor phosphorylation. **Conclusion:** These results suggest that ADP-induced cell proliferation as well as ERK phosphorylation in retinal cultures are dependent on the activation of EGF receptors.

Supported by: CNPq, Faperj, Proppi-UFF, CAPES.

P-05

Role of tnf-alpha in microglia-dependent plasticity induced by monocular enucleation

1Chagas, L.S.**; 1,2Trindade, P.; 1Serfaty, C.A.

1Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense; 2 D'or Institute for Research and Education, Brasil

Keywords: microglia; superior colliculus; plasticity; minocycline; TNF-a.

Lesions in the central nervous system often induce structural reorganization within intact circuits of the brain. However, cellular and molecular mechanisms involved in lesion-induced plasticity remain unknown. Calcineurin (CaN), a phosphatase associated with synaptic pruning and immune function also mediates microglia activation and TNF-a release. Here we evaluated the role of microglia activation and TNF-a in the sprouting of intact retinotectal axons following monocular enucleation (ME). Lister Hooded rats were submitted to ME at P10. Animals received systemic injections of cyclosporin A (50mg/kg, sc) or minocycline (125 mg/kg, sc) 3h following ME. A third experimental group received local delivery (ELVAX) of a TNF-a neutralizing antibody 3 days before ME. Neuroanatomical tracers mapped structural plasticity while immunofluorescence and western blot were used to study microglia morphology, TNF-a and CaN content. A progressive increase of activated microglia in the contralateral superior colliculus (SC) 24h after ME, peaking at 72h presented a temporal correlation with an increase in CaN immunoreactivity. Inhibition of microglia or TNF-a reduced sprouting of intact uncrossed retinotectal axons, amoeboid microglia and TNF-a expression. Taken together our data support the hypothesis that TNF-a released by microglia may regulate neuroplasticity induced by lesions during early brain development. This study was approved by the local animal care committee (CEUA/UFF - protocol 0015109)

P-06

SYSTEM xc- EXPRESSION DURING DIABETIC RETINOPATHY DEVELOPMENT: MODULATION BY NRF2

1Carpi-Santos, R., 2Kowluru, RA., 1Calaza, KC. 1

Department of Neurobiology, Fluminense Federal University, Niteroi, RJ, Brazil 2 Department of Ophthalmology, Wayne State University, Detroit, MI, USA

Introduction: Diabetic retinopathy is one of the main causes of blindness in young adults, and increased oxidative stress is related with its development. System xc-, a glutamate/cystine exchanger, facilitates cystine uptake. In the intracellular medium, cystine is converted to cysteine, which is used for glutathione (GSH) synthesis, an important antioxidant molecule. System xc- is composed by 4FC and xCT proteins, and xCT, the functional subunit of this system, is under regulation of Nrf-2 due to binding at the antioxidant responsive element (ARE) region and its activity is decreased in the retina in diabetic condition. Objective: to investigate the temporal relationship between xCT levels and Nrf2 activity during the progression of diabetic retinopathy. Methods: Diabetes was induced in male Wistar rats weighting 200 g by a streptozotocin injection, and their retinas were collected after 15 days, 1, 2 and 6 months of diabetes induction. Expression of xCT was analyzed by qPCR and by western blot. Reactive oxygen species (ROS) were quantified using DCFH-DA and GSH levels were measured by a commercial kit. Nrf-2 activity was determined by a commercial kit. Nrf2 binding to ARE region was measured by ChIP protocol. Ethic committee protocol #: A 01-04-15. Results: xCT expression (mRNA and protein) in the retina were significantly decreased in PCR ($46 \pm 15\%$, N=4) and western blot ($38 \pm 25\%$, N=5) analyses after 1 month of diabetes. At 2 months, xCT expression return to normal levels, however, at 6 months of diabetes xCT was again reduced (PCR: $46 \pm 15\%$, N=6 / Western blot: $39 \pm 11\%$, N=6). Activity of Nrf-2, an inducer of xCT, was impaired within 15 days of diabetes ($39 \pm 15\%$, N=4) and 1 month ($30 \pm 15\%$, N=4). At 2 months, Nrf2 activity came back to normal levels whereas after 6 months, Nrf-2 activity was decreased ($37 \pm 14\%$, N=6). Confirming the causal relation between Nrf-2 activity and xCT expression, Nrf-2 binding to xCT ARE region was reduced after 1 month ($63 \pm 12\%$, N=4) and 6 months ($73 \pm 7\%$, N=4). Consistent with the role of xc- in protection against oxidative stress due to GSH production, after 1 month, GSH levels were reduced ($33 \pm 12\%$, N=5) and continued to be subnormal until 6 months of diabetes. Also, ROS is increased after 15 days ($105 \pm 94\%$, N=4) and remained altered until later stages. Conclusion: These data show a temporal relationship between xc-, Nrf2, and other parameters implicated in the maintenance of oxidative stress, and suggest that reduced Nrf-2 activity could play a role in impairing proper function of the system xc- during the progression of diabetic retinopathy.

Financial support: Capes, CNPq, FAPERJ.

P-07

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO TRATAMENTO CRÔNICO COM A CAFEÍNA SOBRE OS RECEPTORES DE ADENOSINA E NMDA DE GLUTAMATO NO COLÍCULO SUPERIOR EM RATOS JOVENS E ADULTOS

1Campos, A.D.; 2Serfaty, C.A.; 3Campello-Costa, P.

1, 2, 3 Programa de Neurociências, UFF.

INTRODUÇÃO A via retinotectal é extensamente usada na investigação de estudos em neuroplasticidade. Sabe-se que diversos mecanismos celulares orientam a formação e manutenção das aferências retinianas no colículo superior e que é possível induzir reorganização desta circuitaria mesmo em lesões após o período crítico, no animal adulto. Em estudo anterior, realizado em nosso laboratório, foi demonstrado que a adenosina é um neuromodulador importante na via retinotectal e que o tratamento com cafeína, um antagonista não seletivo dos receptores A1 e A2a de adenosina, em ratos em diferentes estágios do desenvolvimento evoca efeitos plásticos distintos no colículo superior. O glutamato é o principal neurotransmissor desta via e a ativação de seus receptores está envolvida na estabilização sináptica da mesma via. O objetivo deste trabalho foi avaliar se o tratamento crônico com a cafeína modula o conteúdo de receptores purinérgicos e glutamatérgicos, especialmente o receptor NMDA no colículo superior. **MÉTODOS** Foram utilizados ratos Lister Hooded que foram divididos em três grupos experimentais: 1) grupo jovem (tratamento com cafeína de DPN 21-40), 2) grupo adulto (tratamento com cafeína de DPN 21-70) e, 3) grupo reversão (tratamento com cafeína de DPN 21-40 e água de DPN 40-70). Animais controle da mesma idade receberam água ad libitum. Analisamos o perfil de expressão de receptores de adenosina A1 e A2a e das subunidades GluN1 e GluN2b do receptor NMDA no colículo superior por western blot ou imunofluorescência. **RESULTADOS** Os resultados mostraram que a expressão dos receptores A1 no grupo de animais jovens tratados com cafeína parece diminuída em relação ao grupo controle e a expressão do receptor A2a parece aumentada nessa idade. No grupo de animais adultos, o grupo tratado com cafeína parece aumentar a expressão dos receptores A1 e diminuir o A2a. Em relação às subunidades glutamatérgicas, embora o conteúdo global de GluN1 não tenha se modificado entre os grupos, a análise celular demonstrou uma localização distinta nos animais tratados com a cafeína. Para a subunidade GluN2B, dados indicam uma possível diminuição do seu conteúdo global. **CONCLUSÃO** Em conjunto, os dados indicam que a cafeína modula diferentemente a expressão dos receptores de adenosina e de subunidades glutamatérgicas nos diferentes grupos e que estes efeitos possam ser pelo menos parcialmente revertidos com a suspensão do tratamento. Além disso, nossos resultados sugerem que os efeitos plásticos induzidos pela cafeína possam ser decorrentes de alterações diretas no sistema purinérgico e/ou glutamatérgico.

Apoio Financeiro: CAPES, FAPERJ, PROAP-UFF

P-08

Beta-adrenergic activation by isoproterenol increases GABA uptake in the frontal cortex: modulation by CB1 receptors

1MARTINS, R. S., 1SATHLER, M. F., 1PERÓ, A, 2GRIGORIO, I. F., 2SCHITINE, C. S., 2REIS, R. A. M., 3MANHÃES, A. C., 4PEREIRA, M. S., 1KUBRUSLY, R. C. C

1Departamento de Fisiologia e Farmacologia, UFF, RJ. 2Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, UFRJ, RJ. 3Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes, UERJ, RJ. 4Departamento de Fisiologia, USP, Ribeirão Preto, SP.

Introduction: The endocannabinoid system (ECS) may modulate noradrenaline (NA) and GABA transmission in central nervous system. In this study we observed that ECS is able to modulate extracellular GABA levels in the frontal cortex (FC) of adolescent mice, after an “ex vivo” noradrenergic challenge. **Methodology:** FC of Swiss mice PN40 were analyzed after noradrenergic challenge to measure cAMP levels, [3H]-GABA uptake, [3H]-GABA release and western blot assay for GAT1, Beta-adrenergic receptor and cannabinoid receptors (CB1 and CB2) expression. Data are expressed as mean \pm standard error of the mean (SEM), $p < 0.05$ was considered to be statistically significant. The results were analyzed by SPSS. This project was approved by CEUA / 065/2012. **Result:** NA (100 μ M) increased GABA uptake ($t = 6.6$, $df = 20$, $p < 0.001$), and Isoproterenol (ISO) had a significant effect on GABA uptake ($F(2, 32) = 22.0$, $p < 0.001$) while phenylephrine (10 μ M), did not show any effect. And effect of propranolol (PROP) was also analyzed, PROP (100 μ M) also had a robust effect ($F(1, 38) = 16.3$, $p < 0.001$). ISO was not able to increase GABA release ($t = 0.99$, $df = 8$, $p > 0.05$). GAT1 is expressed in FC and functional. The reduction of GABA uptake levels by GAT1 blocker NO-711 in a concentration-dependent manner ($F(3, 37) = 23.9$, $p < 0.001$). The concentration of 100 μ M had the maximum effect ($p < 0.05$). The increase of GABA uptake induced by ISO is also blocked by NO-711 ($F(4, 69) = 29.2$, $p < 0.001$). The GABA release induced by 80mM of KCl was reduced by NO-711 ($F(2, 8) = 12.24$, $p < 0.01$), but not by Ca²⁺ omission. ISO increases cAMP levels ($t = 2.5$, $df = 19$, $p < 0.05$). PKA blocker, could prevent GABA uptake increase induced by ISO ($F(1, 42) = 17.4$, $p < 0.001$) and H-89 (1 μ M) ($F(1, 42) = 25.6$, $p < 0.001$). CB1 and CB2 receptors are expressed in mice FC, and addition of WIN 55212-2 (WIN) (400 nM) avoided the effect of ISO in increasing cAMP levels ISO ($F(1, 20) = 1.3$, $p > 0.05$), WIN ($F(1, 20) = 34.9$, $p < 0.001$), GABA uptake ISO ($F(1, 30) = 4.5$, $p < 0.05$), WIN ($F(1, 30) = 16.37$, $p < 0.01$) and GAT1 expression ISO ($F(1, 10) = 21.5$, $p < 0.001$), WIN ($F(1, 10) = 1.7$, $p > 0.05$). **Conclusion:** GABA transport, in FC of P40 Swiss mice, seems to be mediated by GAT1 and its activity and expression seems to be positively regulated by ISO and negatively regulated by ECS activation.

Financial support: CAPES, FAPERJ, INCT, PROPPI, PRONEX

P-09

MODULAÇÃO DOS NÍVEIS DE IL-6 INDUZIDO PELA OUABAÍNA EM RETINAS EX VIVO.

Azevedo, M.A.1; Giestal-de-Araujo, E1.

1* Departamento de Neurobiologia, Instituto de Biologia, UFF – Niterói, RJ

A ouabaína é um hormônio esteroideal que em altas concentrações (μM) é um bloqueador seletivo da bomba de Na^+/K^+ , no entanto em concentrações mais baixas (nM) é capaz de estimular crescimento, proliferação e sobrevivência celular. Nosso laboratório tem demonstrado que na concentração de 3nM a ouabaína aumenta a sobrevivência de células ganglionares da retina *in vitro*, e que esse efeito é dependente da presença de citocinas pró-inflamatórias: $\text{TNF-}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$ e IL-6 . Também já foi demonstrado que a ouabaína modula temporalmente os níveis dessas citocinas e de seus receptores. No que diz respeito a IL-6 , nossos dados em culturas de células da retina, demonstram um aumento de IL-6 e do receptor de IL-6 (IL-6R) nos tempos de 15 minutos (respectivamente $48,53\% \pm 5,730$ e $14,16\% \pm 3,647$) e 45 minutos ($23,24\% \pm 2,00$ e $38,78\% \pm 5,629$ respectivamente). O objetivo do presente trabalho é comparar os efeitos do tratamento com ouabaína, na modulação dos níveis de IL-6 , em retinas integras mantidas em cultura, com os resultados obtidos em culturas mistas de células da retina. Utilizamos ratos neonatos (de 48 às 72h após o nascimento) que foram sacrificados, tiveram seus olhos removidos e as retinas dissecadas em solução salina. Essas retinas então foram imersas em meio 199 na ausência (controle) ou na presença de 3nM de ouabaína. As culturas *ex vivo* foram mantidas numa atmosfera de $5\% \text{CO}_2$ e 95% de ar a 37°C . Os níveis de IL-6 e de seu receptor foram determinados pela técnica de Western Blot. Todos os experimentos com animais foram aprovados pelo comitê de ética animal – UFF (CEUA 642/15). Nossos resultados mostraram que o tratamento com ouabaína foi capaz de modular os níveis de IL-6 nos tempos de 15 minutos ($18\% \pm 1,528$) e 45 minutos ($25,67\% \pm 4,055$) e também aumentar os níveis de IL-6R no tempo de 15 minutos ($26,67\% \pm 3,383$) e diminuir em 45 minutos ($14\% \pm 2,0$). Nossos resultados sugerem que o efeito da ouabaína, sobre os níveis de IL-6 e do seu receptor IL-6R , independe da organização organotípica do tecido retiniano. Esse resultado nos sugere um importante papel modulador da ouabaína no perfil de citocinas no tecido retiniano.

Apoio financeiro: CAPES, FAPERJ.

EFEITOS DO NEUROPEPTÍDEO S EM UM MODELO ANIMAL DE TRANSTORNO DE DÉFICIT DE ATENÇÃO E HIPERATIVIDADE

1Souza, L.S., 1Siqueira, P.A., 1Rodrigues, A.S., 2Gavioli, E.C., 1Pandolfo, P.

1Laboratório de Neurobiologia do Comportamento Animal, Departamento de Neurobiologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ. 2Departamento de Biofísica e Farmacologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal-RN.

Introdução: O transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) é um transtorno caracterizado por um padrão persistente de desatenção e/ou hiperatividade/impulsividade que interfere no seu desenvolvimento escolar, social e ocupacional. A hipótese mais aceita é a de que ele se origina numa hipofunção dopaminérgica em áreas como o córtex pré-frontal, sistema límbico e estriado. O Neuropeptídeo S (NPS) é um peptídeo formado por 20 aminoácidos e é o ligante endógeno de um receptor excitatório acoplado à proteína G, denominado NPSR. Estudos demonstram que a administração intracerebroventricular (icv) de NPS estimula a liberação de dopamina em áreas envolvidas no TDAH. Objetivo: Avaliar se há envolvimento do sistema NPS nos déficits comportamentais característicos do TDAH. Materiais e métodos: Ratos WKY e SHR machos (200-400g; 8 a 15/grupo) foram submetidos à cirurgia estereotáxica para o implante de uma cânula no ventrículo lateral e, três dias após a cirurgia, receberam via icv um dos seguintes tratamentos: NPS 0,1 nmol, NPS 1 nmol ou salina (controle). Após 5 minutos, os mesmos foram expostos aos testes do campo aberto e labirinto em cruz elevado. Todos os procedimentos foram aprovados pelo CEUA da Universidade Federal Fluminense (Protocolo nº782). As análises estatísticas foram feitas por ANOVA de duas vias seguidas do teste pós-hoc de Fisher e os resultados são apresentados como média ± erro padrão da média. Resultados: No teste do campo aberto, os animais SHR tratados com NPS 0,1 nmol percorreram maior distância (m) durante todo o teste (32,40±3,97) que o SHR controle (21,16±2,33). Animais SHR controle apresentam uma porcentagem de atividade central maior (16,78±1,50) que os WKY controle (5,61±1,28), assim como passam mais tempo (s) no centro do aparato (SHR controle: 83,08±15,78; WKY controle: 12,95±2,91). No teste do labirinto em cruz elevado, animais SHR controle (27,18±4,87) e WKY NPS 1 nmol (38,39±10,34) apresentam porcentagem de tempo significativamente maior nos braços abertos do aparato que os WKY controle (12,32±3,38). Além disso, o grupo WKY 1 nmol apresenta maior porcentagem de entradas nos braços abertos (40,65±7,18) quando comparado com o WKY controle (28,03±3,72). Conclusão: A administração de NPS na dose de 0,1 nmol induz efeito hiperlocomotor nos animais SHR enquanto que a dose de 1 nmol evoca comportamentos do tipo ansiolítico em animais WKY.

Apoio financeiro: CAPES, CNPq, FAPERJ.

INTERLEUCINA-2 MODULA OS NÍVEIS DA INTERLEUCINA-10 EM CULTURAS DE CÉLULAS DA RETINA DE RATOS NEONATOS

1,2Colares, T.G., 2Pupp, L. G., 1,3Rabelo, A.A.S., 1,2Giestal-de-Araujo, E.G.

1Programa de Pós-graduação em Neurociências. Universidade Federal Fluminense - UFF, Niterói - Rio de Janeiro - Brasil. 2Dpto de Neurobiologia, Instituto de Biologia. 3Dpto de Fisiologia e Farmacologia, Instituto Biomédico.

Resultados anteriores do nosso laboratório mostraram que a IL-2 (50U/mL) promove o aumento na sobrevivência das células ganglionares da retina (SCHOLL-FRANCO et al., 2001) e que esse efeito trófico é neutralizado pelo anticorpo anti-IL-10, demonstrando que a IL-10 está envolvida no efeito mediado pela IL-2 nas células ganglionares (SOUZA, 2013). O objetivo deste trabalho foi investigar o envolvimento da IL-2 na modulação dos níveis da IL-10 em culturas de células da retina, após diferentes intervalos de tempo. Retinas de ratos neonatos Lister Hooded (24 a 72h após o nascimento), foram dissecadas, dissociadas quimicamente e plaqueadas na densidade de 105 cel/cm² em placas de Petri. As culturas foram mantidas em meio de cultura completo (199 acrescido de soro fetal bovino, glutamina e antibióticos), na presença ou não de IL-2 (50U/mL) e incubadas em atmosfera controlada com 5% de CO₂ e 95% de ar, por 15min, 45min, 24h ou 48h. Os níveis da IL-10 foram analisados pela técnica de Western Blot, sendo os resultados expressos em porcentagem do controle. Os dados compreendem as médias de pelo menos 3 experimentos independentes. Os procedimentos envolvendo os ratos da linhagem Lister Hooded foram aprovados pelo Comitê de Ética e Utilização Animal (CEUA) da Universidade Federal Fluminense (CEUA/UFF, projeto nº 294). Nossos resultados demonstram que o tratamento com IL-2, por 15min não modula os níveis de IL-10 (CT=100%; IL-2= 109% EPM=9,8%). No período de tempo de 45min e 48h, observamos uma diminuição nos níveis da IL-10 (CT=100%; IL-2=78% EPM=7,65% e CT=100; IL-2=70% EPM=7,4%, respectivamente). Entretanto, em 24h, houve um aumento nos níveis da IL-10 (CT=100%; IL-2=130% EPM=10,55%) nas culturas tratadas com IL-2. Podemos concluir que a IL-2 é capaz de regular os níveis da IL-10 com possíveis efeitos no processo de diferenciação do tecido retiniano.

Apoio financeiro: CNPq; CAPES; FAPERJ e PROPPI-UFF.

P-12

FUNCTIONAL STUDY OF ECTONUCLEOTIDASES DURING RAT RETINA DEVELOPMENT

1Repossi, M; 1Pereira, L. A and 1Fragel-Madeira, L

(1) Department of Neurobiology, Fluminense Federal University, Rio de Janeiro, Brazil.

Many studies have been describing the role of adenine nucleotides during the retina development. The adenine nucleotides interact with P2 receptors, and they can be hydrolysed extracellularly by ectonucleotidases, producing nucleosides. Previous results from our group reported that there was an increase in the ectonucleotidase activity during the postnatal period, coinciding with the end of cell proliferation. Based on this, our aim was to analyze if ectonucleotidases were able to modulate the retinal progenitors proliferation during development. This project obtained approval by Ethics Committee on Animal Use (CEUA) under protocol number 547/2014 (n=9). Lister hooded rats at four postnatal days (P4) were anaesthetized by hypothermia and intravitreal injection of ARL 67156 (ectonucleotidases inhibitor) alone or in combination with MRS 2179 50 μ M (P2Y1 adenine nucleotides receptor antagonist) was performed. The proliferation was assessed by Ki-67 immunohistochemistry and cell death by TUNEL. The treatment with 100, 200 or 400 μ M ARL 67156 at P4 rats for 24 hours increased proliferating cell number by approximately 50% compared to control (control = 3921 ± 533.4 , 100 μ M ARL 67156 = 5741 ± 732.6 , 200 μ M ARL 67156 = 6556 ± 119.6 , 400 μ M ARL 67156 = 6122 ± 877.9), but P2Y1 blockage did not change the proliferation rate (control = 4713 ± 182 , 200 μ M ARL 67156 = 6186 ± 193.8 , 200 μ M ARL 67156 + 50 μ M MRS 2179 = 5113 ± 119.6). After 24 hours, 200 μ M ARL decreased cell death by 40%, but after 48 hours of treatment, there was an increase by approximately 70% on TUNEL positive cells compared to control (control 24 hours = 100 ± 11.24 , ARL 67156 24 hours = 59.03 ± 17.02 , control 48 hours = 100 ± 17 , ARL 67156 48 hours = 113.4 ± 18.04 , control 72 hours = 100 ± 18.39 , ARL 67156 72 hours = 170.3 ± 19.66). Our data suggest that ectonucleotidases blockage increased cellular proliferation of rat retinal progenitors independently of P2Y1 receptor and this raise was counterbalanced through cell death.

Financial support: Capes, FAPERJ, CNPq and Proppi-UFF.

ACTIVITY OF ECTONUCLEOTIDASES AND THE INVOLVEMENT OF ADENOSINE IN NUCLEOTIDE-DEPENDENT PROLIFERATION OF LATE DEVELOPING RETINAL GLIAL PROGENITORS IN CULTURE.

Carvalho, P.S., Santana, L.L., Silva, T.M., Ventura, A.L.M.,

Neurobiology Department, Fluminense Federal University, Niterói, RJ.

Introduction: Signaling through adenine nucleotides induces cell proliferation in developing retina. Aims: Here, we investigated the activity of ectonucleotidases in retinal cultures and the involvement of adenosine in the proliferation of glial progenitor cells in chick embryo retina cultures. Methods: This work was approved by the ethical committee (CEPA-00132/09). [3H]-thymidine incorporation was performed in retinal cell cultures from 7-day-old chick embryos cultivated for 2 days. ATPase, ADPase and AMPase activities were estimated by the malachite green assay and the statistical significance by the program GraphPad Prism. Results: When retinal cultures were treated with 100 μ M ATP during 24 h, a significant increase of 83.5% in the [3H]-thymidine incorporation was noticed. Addition of 100 μ M ARL67156, an inhibitor of ectonucleotidase activity, blocked proliferation in the cultures (in cpm/culture: control = 4334 ± 698 ; ATP = 7952 ± 887 ; ARL = 2227 ± 409 ; ATP + ARL = 4113 ± 353 ; $n \leq 4$), suggesting the involvement of ADP and/or adenosine in cell proliferation in the cultures. While incubation of the cultures with ATP increased by 119.7% the [3H]-thymidine incorporation, addition of adenosine to the cultures did not increase cell proliferation, suggesting that adenosine by itself does not affect the proliferation of retinal progenitors. While addition of 10 μ M of the adenosine A2b receptor antagonist PSB 1115 to the cultures did not change significantly the incorporation of [3H]-thymidine induced by ADP, incubation with ADP in the presence of 500 nM of the A2a adenosine antagonist ZM-241385 decreased proliferation by 63.9%, suggesting that activation of A2a, but not A2b, adenosine receptors is required for ADP-induced glial progenitor proliferation. Aiming to verify the possible formation of ADP and adenosine in cultures, the activity of ectonucleotidases was characterized. In nmol Pi/106cell/min, ATPase activity was 0.11 ± 0.04 for cultures at E8C1, 0.23 ± 0.02 for cultures at E8C2 and 0.22 ± 0.04 for cultures at E8C3. ADPase activity was 0.60 ± 0.09 (E8C1), 0.34 ± 0.11 (E8C2) and 0.26 ± 0.01 (E8C3). AMPase activity was 0.03 ± 0.01 (E8C1), 0.03 ± 0.01 (E8C2) and 0.05 ± 0.02 (E8C3). Conclusion: Our results suggest that both ADP and adenosine are required for the proliferation of retinal glial progenitors and that early developing retina cell cultures do express activity of ectonucleotidases that could catalyze the generation of adenosine as well as ADP during the proliferation of late developing retinal glia progenitors in culture.

Financial support: FAPERJ, CAPES, CNPq, PROPPI-UFF.

ACTIVATION OF P2X7 RECEPTORS REGULATES GLIAL CELL ADHESION AND MIGRATION FOLLOWING SCRATCH INJURY OF MONOLAYER CULTURES.

Silva, T.M., Ventura, A.L.M.

Departamento de Neurobiologia, Programa de Neurociências, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, RJ.

Aims: Previously, we have shown that mechanical scratch of retinal cell cultures induces the growth of glial cells over the area devoid of cells through a mechanism dependent on activation of UTP-sensitive receptors, SRC, PI3K, and FAK signaling. Here, we investigated if P2X7 receptors are also involved in the growth of Müller cells in scratched chick embryo retinal monolayer cultures. **Methods:** Retinal cell cultures were cultivated for 7 days, scratched and treated for 3 days. Glia growth was determined by the decrease in the area of the scratch that remained free of cells. Expression of proteins was determined by immunocytochemistry and western blotting. All procedures were approved by the commission of animal care from Fluminense Federal University CEPA/PROPPi-00132/09. **Results:** 2M6 antigen positive glial cells in culture showed high labeling for the P2X7 receptor. The expression of this receptor subtype in cultured glial cells was confirmed by western blotting assays that detected a ~65kDa protein highly stained with the anti-P2X7 antiserum. Calcium imaging experiments with Fluo-3 AM revealed that when cultures were incubated with 100 μ M Bz-ATP or 3 mM ATP, an increase in intracellular Ca²⁺ levels was observed in glial cells at the border of the scratch, suggesting the presence of functional P2X7 receptors in these cells. In contrast, when scratched cultures were treated with 100 μ M Bz-ATP or 3 mM ATP in the presence of 500 μ M of the fluorescent dye sulforhodamine B, no labeled glial cells at the border of the scratch were observed, suggesting that, although these cells do express functional P2X7 receptors, they do not take up fluorescent dyes when stimulated with P2X7 receptor agonists. Incubation of scratched cultures with P2X7 receptor antagonists significantly attenuated the growth of glial cells over the scratched area. While in control cultures the area free of cells represented 26.1% of the original area after 3 days, in cultures treated with 200 μ M oxidized-ATP and 10 μ M BBG, it represented 84.5 and 79.6% of the original area, respectively ($p < 0.01$ and $p < 0.001$, $n = 3$), suggesting that P2X7 receptors regulate the growth of glial cells. While the agonist Bz-ATP decreased attachment of dissociated glial cells to fibronectin-coated dishes to only $34.5 \pm 5\%$ of the control levels ($p < 0.001$, $n = 3$), this agonist increased by ~111% the migration of purified glial cells through transwell membranes. **Conclusion:** These data suggest that activation of P2X7 receptors regulates the growth of glial cells toward the scratched area in mechanically injured retinal cell cultures through mechanisms that control glia adhesion and migration.

Financial support: CAPES, CNPq, PROPPi-UFF, Faperj.

ESTÍMULO À REGENERAÇÃO NERVOSA PERIFÉRICA USANDO CÉLULAS-TRONCO E EXERCÍCIOS

Autores: Santos, DMSA1, Okuyama, MN1, Sá, JA1, Martins, FA2, Martinez, AMB2, Marques, SA1

1 Departamento de Neurobiologia, Instituto de Biologia, UFF; 2 Instituto de Ciências Biomédicas, UFRJ

INTRODUÇÃO: O Sistema Nervoso Periférico (SNP) é capaz de se regenerar após lesão traumática. No entanto, o resultado funcional desta regeneração frequentemente é pobre e limitado, especialmente quando o trauma resulta em transecção completa do nervo ou ocorra longe dos seus alvos. Dano no SNP leva a déficits funcionais permanentes, diminuição da qualidade de vida e conseqüente perdas econômicas. Investigações têm sido feitas objetivando desenvolver novos métodos terapêuticos para melhorar e acelerar a regeneração periférica. O exercício melhora diretamente as condições de atrofia muscular e contraturas articulares, comuns em lesões neurológicas, além de estimular a plasticidade. O emprego de células tronco mesenquimais combina abordagens regenerativas e de reposição tecidual, fornece fatores neurotróficos e substratos necessários à regeneração do SN. **OBJETIVOS:** Avaliar o efeito regenerativo da combinação de terapia celular com células-tronco mesenquimais e exercício de natação em modelo de compressão de nervo isquiático em camundongos. **METODOLOGIA:** Fizemos lesão por compressão do nervo ciático e 7 dias após injetamos células-tronco mesenquimais (na concentração de 1×10^6 , Grupo I e IV) ou DMEM (Grupo II e III), no volume de 300 μ l por via intraperitoneal. Com 14 dias após lesão os animais do Grupo I e II iniciaram o exercício de natação (20 min/dia, 3 vezes por semana, por 6 semanas). As avaliações funcionais, usando o Índice de Função do Ciático (IFC) e a escala de natação de Louisville (LSS), foram realizadas antes da cirurgia e semanalmente após, até o término do tempo de treinamento dos grupos. 8 semanas após lesão os animais foram perfundidos, por via intra cardíaca, com solução fixadora (PA4% em Tampão fosfato pH7,4). O nervo ciático foi dissecado e processado para microscopia eletrônica de transmissão e óptica, para análise qualitativa e quantitativa. **RESULTADOS E DISCUSSÕES:** A análise funcional, utilizando o IFC e LSS, apresentou resultados mais próximos à normalidade nos animais do Grupo I e IV. Na análise morfométrica o Grupo I apresentou maior número de fibras mielínicas ($99,33 \pm 20,5$) e amielínicas ($183,33 \pm 45$) quando comparado aos animais do Grupo II (mielínica $54,67 \pm 8,66$ e amielínica $123,7 \pm 34,28$). Nós estamos em fase de análise ao microscópio eletrônico e óptico para obtenção das fotos e realização das quantificações nos animais restantes. **CONCLUSÕES:** Nossos resultados preliminares apontam para uma tendência benéfica da combinação terapêutica de células-tronco mesenquimais com a atividade física no modelo de lesão nervosa periférica usado neste trabalho, promovendo uma maior preservação de fibras mielínicas e amielínicas e conseqüentemente do desempenho locomotor.

ASPECTOS COMPORTAMENTAIS DE UM MODELO ANIMAL DE AUTISMO

Oliveira, S.M., Marques, H.M., Oliveira, P., Pandolfo, P.

Departamento de Neurobiologia. Programa de Pós-Graduação em Neurociências. Universidade Federal Fluminense. Niterói - RJ.

Introdução: O transtorno do espectro autista é um distúrbio do neurodesenvolvimento que afeta quase 2% da população, sendo mais comum no sexo masculino. É uma doença que afeta os padrões de comportamento, como a interação social, comunicação e estereotipia. A injeção de ácido valpróico (VPA) no período pós-natal tem sido utilizada como um modelo animal de autismo. Este modelo afeta o neurodesenvolvimento, podendo causar prejuízos cognitivos e de interação social, alterações emocionais e estereotipia. Contudo, a literatura carece de estudos que avaliem o papel de moléculas cuja expressão se apresenta alterada nessas condições patológicas, como a Shank-3. **Objetivos:** Padronização comportamental de um modelo animal de autismo. **Métodos:** Ratos da linhagem Lister Hooded (n=4-7 por grupo). VPA(400 mg/Kg, s.c.) foi administrado no 14º dia pós-natal (PN). O grupo controle recebeu salina (NaCl 0,9%). Os testes comportamentais foram realizados entre PN30-45. Os animais foram avaliados no campo aberto (CA), labirinto em cruz elevado (LCE) e placa perfurada (PP). **Análise estatística:** test “t” de student. CEUA/UFF: 783. **Resultados:** No CA, não foram observadas diferenças locomotoras (salina: 4,74±1,44 vs VPA: 5,51±1,11) e relacionadas à ansiedade (%locomção central - salina: 1,34±1,34 vs VPA: 3,53±1,42; tempo no centro - salina: 0,50±0,50 vs VPA: 3,98±1,63) entre os tratamentos. No LCE, também não foram encontradas diferenças significativas (% de entrada nos braços abertos -salina: 30,76±3,30 vs VPA: 20,43±7,35; % de tempo nos braços abertos - salina: 7,67±1,55 vs VPA: 7,67±1,55; entradas nos braços fechados - salina: 5,75±1,60 vs VPA: 4,67±3,38). Na PP, o modelo de autismo apresentou um número de explorações significativamente (p<0,05) maior na área central (salina: 0,00±0,00 vs VPA: 0,75±0,25); mas não de explorações totais (salina: 11,50±2,72 vs VPA: 13,25±0,94). **Conclusão:** Embora os resultados sejam preliminares, a padronização deste modelo animal pode ser uma ferramenta útil para avaliar as alterações comportamentais observadas no autismo. Experimentos futuros serão realizados para investigar o conteúdo de shank-3 em diferentes períodos do desenvolvimento no modelo de autismo utilizado no presente estudo.

Apoio Financeiro: CAPES, CNPq, FAPERJ, PROPPI/UFF

EFFECT OF CAFFEINE ON CHICK EMBRYO RETINA UNDER NORMAL AND ISCHEMIC CONDITIONS

1Pereira-Figueiredo, D., 1,2 Brito, R., 2Paes de Carvalho, R., 1Calaza, KC.

Department of neurobiology, 1Laboratory of retinal neurobiology, 2Laboratory of cellular neurobiology, Federal Fluminense University, Niterói, Rio de Janeiro, Brazil.

Background: Ischemia is a common feature of several retinopathies, such as glaucoma and diabetic retinopathy. Adenosine is a nucleoside that has been described to play protective roles in ischemia by activating A1 receptors. Caffeine is a nonselective adenosine receptor antagonist that blocks mainly A1 and A2A receptors to exert its physiological effects. Objective: In this work, we investigated the effect of caffeine exposure upon E16 chick embryo retinas submitted or not to 50 minutes OGD (oxygen glucose deprivation). Methods: To perform this study, we used western blot to evaluate protein expression, [3H]-MK801 binding assay, measure of extracellular LDH to evaluate cell death and dosage of extracellular glutamate through GDH enzymatic assay of retinas exposed or not to ischemia/caffeine. Statistical analyses were performed using GraphPad Prism 6 One sample T test or One way anova. Ethic committee protocol no 112/09. Results: Single caffeine injection (30 mg/kg) 48 hours before the ischemic insult reduce cellular death induced by a 50 minutes OGD (Control (CTR) $100 \pm 12,76\%$; $n=8$, OGD $221,4 \pm 32,17\%$; $n=6$, Caffeine (CAF) $37,32 \pm 6,9\%$; $n=6$, CAF+OGD $107,7 \pm 31,82\%$; $n=6$). This protective effect seems not to be related to extracellular glutamate levels (CTR 100% ; $n=5$, OGD $182,3 \pm 31,19\%$; $n=4$, CAF $85,90 \pm 16,42\%$; $n=4$, CAF+OGD $196,2 \pm 13,27\%$), or with lower levels of NMDA receptors, as detected by western blot analysis of GluN1 NMDA receptor subunit (CTR $100 \pm 18\%$; $n=7$, CAF $89,35 \pm 19,16\%$; $n=7$), and [3H]-MK801 binding (basal CTR $4,9 \pm 1,8$ femtomoles/mg of protein; $n=3$, stimulated CTR $15,17 \pm 1,1$; $n=3$, basal CAF $18,11 \pm 1,58$; $n=3$, stimulated CAF $19,74 \pm 4,72$; $n=3$) although, we found higher NMDA receptor activity under basal conditions for caffeine treated groups. Finally, we found that caffeine increased the phosphorylation of survival associated proteins such as ERK (CTR $100 \pm 25,49\%$; $n=6$, OGD $21,83 \pm 6,5\%$; $n=6$, CAF $369,6 \pm 40,5\%$; $n=4$, or CAF+OGD $46,38 \pm 19,31\%$; $n=5$), Akt (CTR $100 \pm 20\%$; $n=6$, OGD $39,93 \pm 7,94\%$; $n=6$, CAF $184,6 \pm 18,2\%$; $n=4$ or CAF+OGD $38,11 \pm 11,18\%$; $n=6$), and CREB (CTR $100 \pm 16\%$, $n=6$, OGD $25,89 \pm 4,35\%$, $n=6$, CAF $191 \pm 56\%$, $n=4$ or CAF+OGD $40,81 \pm 12,58\%$; $n=6$). Conclusion: Caffeine changes features of the neurochemistry of the retina decreasing its susceptibility to ischemia, possibly through activation of signaling pathways also involved in ischemia preconditioning that recruits ERK, Akt and CREB, and modulation of NMDA receptor activity. This protective effect seems not to involve regulation of glutamate availability on the extracellular space or lower levels of glutamate NMDA receptors, two major components of excitotoxicity.

Financial support: CAPES, Faperj, CNPq, UFF.

DESENVOLVIMENTO DE UM JOGO DE TABULEIRO PARA A EDUCAÇÃO EM SAÚDE SOBRE DOR CRÔNICA.

1Valentim, J.C.P., 2Costa, A.B.G., 3Santos, L.V., 3Silva, N.N.,4 Fonseca, G.A., 5Nogueira, L., 6Reis, F. J.J.,

Departamento de FISIOTERAPIA, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

Palavras-chave: Dor crônica; Jogos Experimentais; Educação em Saúde; Educação com Base em Neurociência.

Resumo: A dor crônica pode ser definida como aquela que tem duração maior que três meses, podendo estar associada ou não a doenças crônicas. Atualmente é considerada uma das principais demandas para atendimento no sistema de saúde, sendo descrita como um problema de saúde pública em virtude da alta prevalência e os elevados custos. Além disso, a dor provoca limitações físicas e sociais relevantes provocando um impacto negativo na qualidade de vida dos indivíduos e repercutindo nas suas relações pessoais e profissionais. Diante dessa realidade, percebe-se que o tratamento de pessoas com dor crônica deve ir além do domínio físico e englobar características psicossociais. As propostas educativas em dor têm demonstrado eficácia e melhora dos sintomas nessa população, uma vez que permite a construção do saber e o conhecimento por parte dos sujeitos acerca de sua condição de saúde, além de fornecer estratégias para o auto-manejo da dor. O presente estudo tem como objetivo descobrir o contexto adequado para uma eventual aplicação das estratégias educativas em saúde, considerando como hipótese, para este fim, a utilização de jogos educacionais lúdicos. Inicialmente, realizou-se uma revisão da literatura das bases de dados Pubmed, Scielo, Cochrane e Scopus sobre dor crônica, jogos experimentais, educação em saúde e educação com base em neurociência. O resultado desta iniciativa foi o desenvolvimento de um protótipo de jogo de tabuleiro como ferramenta de educação em saúde cuja aplicação é destinada aos pacientes com dor crônica. Para a elaboração do jogo foram confeccionados o layout do tabuleiro, as regras e os demais componentes materiais (dados, cartas, pinos). A próxima etapa do projeto será a avaliação do conteúdo das cartas e do layout do tabuleiro por especialistas nos estudos em dor crônica e por um grupo focal de pacientes quanto à sua usabilidade e aplicabilidade. Até o momento, concluímos que é possível, apesar da escassez de referências na literatura, o desenvolvimento de novas estratégias como esta para facilitar o processo de educação em saúde. Acredita-se que a utilização dessa eventual ferramenta pode proporcionar o aprendizado de forma lúdica. O projeto encontra-se em andamento.

Estímulo crônico com cafeína durante o desenvolvimento altera o perfil GABAérgico e o fenótipo dopaminérgico em cultura de células retinianas de embriões de galinhas

1BORGES-MARTINS, V.P.P., 1 GÜNTER, A., 1FERREIRA, D. D. P., 2REIS, R.A.M., 1KUBRUSLY, R. C. C.

1Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Brasil.
2Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil.

Introdução: A cafeína (Caf) é uma xantina que bloqueia receptores A1 e A2a de adenosina, amplamente presentes na retina. Ela pode regular positivamente a liberação de GABA através de receptores NMDA, assim como pode modular o sistema dopaminérgico durante o desenvolvimento da retina. Objetivo: Avaliar os efeitos da Caf no perfil da liberação de [3H]-GABA mediada por receptores NMDA e no fenótipo dopaminérgico durante o desenvolvimento. Métodos: Culturas mistas de retina de embriões de galinha Leghorn de 7-9 dias foram feitas seguindo o protocolo descrito em Neuroscience;281c:208-15 (2014), e utilizadas para medir a viabilidade celular, os níveis de liberação de [3H]-GABA, expressão de tirosina-hidroxilase (TH) e ensaio de AMPc mediante tratamento crônico com Caf. Foi realizado ANOVA de uma via seguido de pós-teste Bonferroni para resultados com 3 ou mais grupos experimentais e teste t não pareado para resultados com 2 grupos experimentais e expressos como média \pm SEM. A significância estatística foi alcançada em $p \leq 0,05$. O presente projeto foi aprovado no CEUA #IBCCF035 Resultados: O tratamento com Caf 500 μ M durante 24, 48 e 72h não alterou a morte celular ou a densidade das culturas em relação ao controle nos testes de MTT (n=4) e LDH (n=4). O estímulo com D-Aspartato (D-Asp) 500 μ M aumenta a liberação de [3H]-GABA e o tratamento crônico com Caf 72h a potencializa em culturas densas (Basal=1,9 \pm 0,3; D-Asp=4,8 \pm 0,5; Caf=2,5 \pm 0,3; Caf+D-Asp=7 \pm 0,2 % [3H]-GABA liberado; $p < 0,05$; n=4) e diluídas (Basal=2,1 \pm 0,2; D-Asp=7,3 \pm 0,2; Caf=2,0 \pm 0,3; Caf+D-Asp=8,9 \pm 0,09 % [3H]-GABA liberado; $p < 0,05$; n=4). Dados preliminares demonstram que o tratamento crônico com Caf 100 μ M por 72h aumenta a expressão de TH total em culturas (Ctrl=1; Caf 72h=1,2 \pm 0,09 TH/Tubulina U.A.; $p < 0,05$). O tratamento crônico de Caf 72h 100 μ M aumenta os níveis de AMPc comparando ao basal (Basal=5,8 \pm 0,8; Caf 72h=12,3 \pm 1 pmol/mg/h; $p < 0,05$; n=3), assim como o tratamento com DPCPX 72h 100nM (Ctrl basal=33,01 \pm 4,1; DPCPX 72h=76,8 \pm 16,3 pmol/mg/h; $p < 0,06$; n=3). Esse aumento de AMPc não é bloqueado por antagonistas dopaminérgicos como observado em Caf 100 μ M+SCH23390 10 μ M (Basal=33 \pm 4,2; caf+sch23390 72h=72,7 \pm 5 pmol/mg/h; $p < 0,05$; n=2). Conclusão: A liberação de [3H]-GABA estimulada por D-Asp é potencializada pelo tratamento crônico de Caf 72h durante o desenvolvimento em culturas retinianas. O fenótipo dopaminérgico também estará alterado, apresentando um aumento na TH durante o tratamento. Este não está afetando a viabilidade celular.

Apoio financeiro: CNPQ, FAPERJ e Proppi-UFF.

Investigação da expressão de RNAm dos receptores dopaminérgicos D2 e muscarínicos M1 em ratos machos através da técnica de PCR em tempo real

Pereira, A. L.1; Oliveira, J. C. V.2; Santos, R. L.2; Araújo, F. Y. R.1; Oliveira, G. V.1

1Centro Universitário Christus, Fortaleza, CE; 2Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE

A Discinesia Tardia (DT) é - dentre as possíveis - uma das mais temidas consequências indesejáveis do tratamento prolongado com antipsicóticos, uma vez que constitui uma síndrome potencialmente irreversível caracterizada por movimentos hipercinéticos involuntários localizados, na maior parte dos casos, na língua, mandíbula, tronco e extremidades inculindo graus variáveis de incapacitação. O presente trabalho tem como objetivo investigar a expressão de RNAm dos receptores dopaminérgicos D2 e muscarínicos M1 em ratos machos através da técnica de PCR em tempo real. Os animais foram divididos em 4 grupos de tratamento: haloperidol (1mg/kg, via I.P); closapina (25mg/kg, via I.P); complexo B (B1, B6 e B12) com as respectivas doses de 60mg/kg; 60mg/kg e 0.6mg/kg, via S.C + haloperidol (1mg/kg, via I.P) e cobalamina (B12; 0.6mg/kg, via S.C) + haloperidol (1mg/kg, via I.P). Inicialmente foram aplicadas as vitaminas e, após 30 minutos, o haloperidol; as aplicações foram repetidas durante 21 dias. Após o último dia de tratamento, os animais foram sacrificados e foi extraído o núcleo da base para avaliar a expressão dos receptores D2 e M1 através do PCR em tempo real. A análise apontou aumento significativo na expressão dos receptores D2 frente ao tratamento com antipsicóticos típicos e atípicos e diminuição da expressão destes quando o antipsicótico foi administrado em associação com vitaminas do complexo B e cobalamina. Foi evidenciada também uma diminuição da expressão de receptores M1 frente a administração de haloperidol. Os dados estão representados como média \pm EPM. Os testes estatísticos utilizados foram one-way ANOVA e teste de Newman-Keuls; o nível de significância adotado foi $\alpha = 0,05$. Os dados evidenciados nos levam a concluir que o aumento da expressão do receptores D2 induzido por antipsicóticos típicos e atípicos estão relacionados com o bloqueio de receptores dopaminérgicos, o que pode desencadear alteração motora. Ademais, evidenciou-se que a expressão M1, diminuída com a auto regulação dopaminérgica, apresenta aumento quando as administrações de antipsicóticos estão associadas com vitaminas do complexo B e cobalamina; esse achado confere ao complexo B e à cobalamina função neuroplástica por meio da regeneração da bainha de mielina e liberação de neurotransmissores que inibem alterações no sistema extrapiramidal e, conseqüentemente, patologias como a DT.

P-21

EFEITOS DA INGESTÃO DE CAFEÍNA DURANTE A LACTAÇÃO NO DESENVOLVIMENTO DO SISTEMA VISUAL DA PROLE DE RATOS

1Silva, B.T., 1Menezes, G.D.; 1Cabral-Miranda, F. & 1Campello-Costa, P.

1Departamento de neurobiologia, UFF, Rio de Janeiro

Introdução: A adenosina é um importante neuromodulador no sistema nervoso central (SNC) e seus efeitos são mediados por receptores metabotrópicos presentes em neurônios e células gliais. A via retinotectal de ratos vem sendo usada como modelo para investigação dos mecanismos que regem o desenvolvimento e a plasticidade no SNC. Em estudos anteriores, nosso grupo demonstrou a presença de receptores A1 e A2a de adenosina no colículo superior (CS) e ainda que a cafeína, um potente antagonista não seletivo destes receptores, altera o desenvolvimento e a plasticidade das conexões visuais em ratos. **Objetivos:** Investigamos os efeitos indiretos da cafeína sobre o desenvolvimento do sistema visual de filhotes de ratas tratadas durante o período de lactação bem como o efeito da suspensão do tratamento. **Metodologia:** O presente estudo foi submetido ao comitê de ética da UFF sob o protocolo no 802. Ratas da linhagem Lister Hooded a partir do dia do nascimento de seus filhotes foram submetidas ao tratamento oral com a cafeína (1g/L) até o dia pós-natal 13, 21 ou 30 (DPN13,21,30) dos filhotes. Um grupo de animais DPN21 teve a administração da cafeína suspensa por 10 dias (grupo reversão). Os animais controle receberam água normal. Estabelecemos padrões de monitoramento de ingestão de líquido pelas lactantes e de ganho de peso dos filhotes, para observar possíveis alterações metabólicas. Após o tratamento, um grupo de animais recebeu injeção intraocular do traçador anterógrado HRP para mapeamento das conexões retinotectais ou foram processados para western blot e imunofluorescência para análise do conteúdo de GFAP, um marcador glial, e para a subunidade GluR1 do receptor NMDA de glutamato. **Resultados:** Nossos resultados demonstraram que o tratamento indireto com a cafeína induz uma desorganização das projeções retinotectais nos filhotes, caracterizados pela presença de mais fibras em regiões atípicas das camadas visuais do CS. O conteúdo de GFAP sofreu uma diminuição significativa na retina (ctl: 4512 ± 586.9 caf: 2858 ± 510.8 n=5) e no colículo superior (ctl: 5849 ± 812.1 caf: 4068 ± 453.3 n=6) dos filhotes em DPN21 tratados com cafeína em relação ao controle. Em relação a subunidade GluN1, observamos um aumento dessa proteína em DPN13 no CS dos animais tratados. Os efeitos são revertidos com a suspensão do tratamento. **Conclusão:** O tratamento sistêmico de lactantes com a cafeína induz a uma ruptura na via visual dos filhotes e leva a uma diminuição na reatividade glial e aumento da transmissão glutamatérgica, o que pode estar correlacionado aos efeitos plásticos observados. Além disso, a interrupção do tratamento reverte parcialmente os efeitos moleculares e anatômicos induzidos pela cafeína.

Auxílios: CNPq, FAPERJ, CAPES, PROAP-UFF.

PLASTICIDADE NO SISTEMA VISUAL: VIAS DE SINALIZAÇÃO MODULADAS PELA ENUCLEAÇÃO MONOCULAR

Vasques, J.F.; Campello-Costa, P.; Serfaty, C.A.; Faria-Melibeu, A.C.

Departamento de Neurobiologia – Universidade Federal Fluminense – RJ.

Introdução: Projeções retinofugais são um excelente modelo de estudo da plasticidade do sistema nervoso. Em ratos, cerca de 95% das aferências retinianas se projetam para alvos contralaterais ao olho de origem, sendo o principal o colículo superior (CS). A enucleação monocular (EM) consiste na remoção do olho, provocando uma denervação quase total do CS contralateral. Após 24h a EM induz intensa reorganização de fibras ipsolaterais do olho intacto, indicando uma exuberante resposta plástica. Várias vias de sinalização modulam respostas que induzem plasticidade, destacando-se a AKT e a ERK. Outra quinase relacionada é a GSK3 β , crucial na coordenação do citoesqueleto. A fosforilação da GSK3 β , inclusive pela ERK e AKT, resulta em sua inativação. **Objetivos:** O objetivo deste trabalho foi analisar o perfil de vias de sinalização relacionadas à plasticidade, como a GSK3 β , AKT e ERK, após a EM. **Métodos:** Ratos da linhagem Lister Hooded foram utilizados nos experimentos, que foram aprovados pelo CEPA (00205/10). A EM foi realizada no décimo dia pós-natal (DPN10). Após a anestesia, a musculatura extrínseca do olho esquerdo foi seccionada e o globo ocular removido. O CS contralateral ao olho removido foi considerado desaferentado e o ipsolateral, controle. A avaliação dos efeitos da EM nas proteínas de interesse foi feita por western blotting. O resultado obtido em cada amostra de CS desaferentado foi normalizado e comparado com a respectiva amostra controle. Foram realizados o teste-t e o pós-teste de Tukey. **Resultados:** A EM não induziu nenhuma alteração na fosforilação da AKT no CS desaferentado, após 24h (85%), 48h (94,45%) ou 72h (101,5%). Porém, após 1 semana da EM detectamos um sutil aumento de cerca de 15% na fosforilação da AKT. A avaliação de ativação da via da ERK foi realizada utilizando um anticorpo que detecta as isoformas das duas principais quinases da via: ERK1 e ERK2. A EM induziu um aumento de quase 75% na fosforilação das isoformas da ERK após 24h de sobrevida. Esse aumento não foi mais detectado nas sobrevidas seguintes, de 48h (105,2%), 72h (109,2%) e 1 semana (115,2%). A EM induz também um aumento de mais de 100% na fosforilação (inativação) da GSK3 β após 24h. Esse aumento persiste, sendo por volta de 80% após 48h da realização da cirurgia. Após 72h não há mais diferença na fosforilação da GSK3 β . **Conclusões:** A intensa inativação da GSK3 β , repressora de crescimento neurítico, assim como o aumento na fosforilação da ERK, coincidem exatamente com o pico de reorganização estrutural induzido pela EM, indicando que essa via de sinalização possivelmente desempenha um papel crítico nas etapas iniciais da reestruturação axonal das projeções ipsolaterais no CS após lesão.

Apoio Financeiro: CNPq, CAPES, PROPPi-UFF.

A SINGLE INTRAVITREAL TREATMENT WITH IL-4 OR IL-6 MODULATES GLUTAMATERGIC AND CHOLINERGIC RECEPTORS IN THE VISUAL SYSTEM

¹Menezes, GD; ¹Serfaty, CA; ¹Campello-Costa, P.

¹Neuroscience Program - Fluminense Federal University, Niterói/RJ.

Interleukins can induce many effects in different areas of the central nervous system (CNS), including retina. Interleukin- 4 (IL-4) and interleukin-6 (IL-6) are classically known as anti-inflammatory and pro-inflammatory cytokines, respectively. Previously we showed that either IL-4 or IL-6 intravitreal treatment leads to, through different signalling pathways, a sprouting in the retinocollicular pathway. This pathway is mainly glutamatergic and modulation on glutamatergic or cholinergic receptors modify the retinotectal map. The aim of this research is to investigate whether IL-4 or IL-6 modulate the content of $\beta 2$ subunits of nicotinic receptor and in the NMDA receptor subunits in the visual system. The project was approved by the ethics committee of Fluminense Federal University under protocol number 129/09. Lister Hooded rats were treated with IL-4 (5 U/ μ L) or IL-6 (50 ng/mL) in the right eye at PND10. Control matched-group received PBS (vehicle) injection. At PND11 or PND14, retinas and superior colliculus (SC) were processed for western blot in order to analyze $\beta 2$, GluN1, GluN2a, GluN2b and pGluA1 contents. Our results showed no difference in GluN1 content (PBS n=7, IL-4 n=3, IL-6 n=7), a constitutive subunit of NMDAR, in the retina of different groups. However, $\beta 2$ (PBS n=5, IL-4 n=3, IL-6 n=3) and GluN2b (PBS n=3, IL-4 n=3, IL-6 n=3) subunits were increased and GluN2a (PBS n=7, IL-4 n=3, IL-6 n=4) was decreased in retinal tissue of both IL-4 and IL-6 treatment compared to PBS treated animals. No difference was found in NMDA receptor subunits in the SC between groups (PBS n \geq 3, IL-4 n \geq 3, IL-6 n \geq 3). However, preliminary data showed that pGluA1 (PBS n=2, IL-4 n=2, IL-6 n=2) is increasing after interleukin treatment. Together, our data provides evidence that cholinergic and glutamatergic receptors could be associated to interleukins effects on retinotectal plasticity.

Financial Support: FAPERJ, CAPES, CNPq, UFF- Proppi

VIMPOCETINA REDUZ HIPERATIVIDADE EM UM MODELO ANIMAL DE DÉFICIT DE ATENÇÃO E HIPERATIVIDADE.

1Siqueira, P.A, 1Souza, L.S., 2Filgueiras, C.C., 1Pandolfo, P.,

1Departamento de Neurociências, UFF, Rio de Janeiro. 2 Departamento de Ciências Fisiológicas, UERJ, Rio de Janeiro.

Introdução: O TDAH é um distúrbio do desenvolvimento caracterizado por desatenção, hiperatividade e impulsividade que atinge 5% da população mundial e a maior parte de diagnósticos tardios está entre as mulheres. Pacientes com TDAH possuem alterações nas vias dopaminérgicas, com destaque para estriado, hipocampo e córtex pré-frontal. A transmissão dopaminérgica encontra-se disfuncional devido a alterações no DAT e VMAT2, na recaptação de dopamina e redução da densidade de receptores dopaminérgicos. O metilfenidato reduz sintomas de TDAH e melhora a funcionalidade, porém há uma preocupação com seus efeitos colaterais e potencial de abuso. Os ratos SHR são muito utilizados como modelo animal de TDAH, pois possuem atenção deficiente e pouca organização comportamental, assim como alterações na função motora e aprendizado. Além da hipofunção dopaminérgica, outros mecanismos estão afetados no SHR, como a formação de AMPc. A vimpocetina atua na inibição de PDE1, aumentando os níveis de AMPc e influenciando a via de sinalização AMPc/PKA, aumentando a síntese de dopamina. Objetivos: Investigar os efeitos da vimpocetina nos comportamentos de fêmeas WKY e SHR. Métodos: Utilizaram-se fêmeas WKY e SHR adultas (PN60-120, n6-18), peso 190-300 e 90-190g, respectivamente. Os procedimentos realizados foram aprovados pelo CEUA-UFF, nº783. Foi administrada vimpocetina via i.p. nas doses de 10 ou 20 mg/kg ou veículo (2 ml/kg), 3h antes dos testes. Em relação ao ciclo, as fêmeas foram agrupadas em fases 1 (proestro e estro) ou 2 (metaestro e diestro) e excluídas caso mudassem de fase durante o experimento. Atividade locomotora, emocionalidade e cognição foram avaliadas através dos testes de Campo Aberto (CA) e Reconhecimento de Objeto. Os dados foram apresentados como média \pm erro padrão da média. As análises foram feitas através de teste t não-pareado e ANOVA de uma via seguida de teste post hoc de Duncan. O nível de significância assumido foi $p < 0,05$. Resultados: Na comparação entre linhagens, SHR apresentou maior distância total percorrida no CA ($29,80 \pm 1,56$), menor latência para a primeira entrada na área central ($24,75 \pm 4,00$), maior tempo no centro nos 5 primeiros min ($48,10 \pm 6,04$) e maior porcentagem de distância percorrida no centro ($20,20 \pm 1,73$). Com vimpocetina 20 mg/kg, houve efeito significativo para distância total percorrida ($20,02 \pm 0,96$) nas SHR, mas não teve efeito na ansiedade em ambas as linhagens. A vimpocetina não teve efeito na memória de curto prazo e não houve diferenças entre as fases do ciclo estral em nenhum parâmetro avaliado. Conclusão: A vimpocetina parece ser eficaz na modulação da hiperatividade através do aumento de AMPc. Apoio Financeiro: CNPQ, CAPES, FAPERJ.

EFEITO DO MYCOBACTERIUM LEPRAE E TGF- β 1 NA EXPRESSÃO/SECREÇÃO DE PDGF PELAS CÉLULAS DE SCHWANN HUMANAS

1,4Athaide, M.M., 1,2Rodrigues, A. C. D. P., 3Petito, R.B., 4Pessolani, M. C. V., 2Amadeu, T. P.

1Laboratório de Hanseníase, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 2Departamento de Patologia Geral, Laboratório de Imunopatologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 3Departamento de Patologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói. 4Laboratório de Microbiologia Celular, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.

Introdução: A fibrose causa danos irreversíveis ao nervo periférico de pacientes com hanseníase e as células de Schwann (CSs) podem estar diretamente envolvidas. Considerando que os pacientes apresentam diferentes graus de inflamação e fibrose, se faz necessário avaliar que mediadores, além do TGF- β 1, poderiam contribuir para este processo. O PDGF tem sido identificado como um dos mediadores da fibrogênese em diversos órgãos, contudo, são necessários estudos sobre a relação entre este fator e as doenças infecciosas caracterizadas por fibrose, como a hanseníase. **Objetivo:** Avaliar a contribuição do PDGF e de seus receptores na lesão neural da hanseníase no modelo in vitro com CSs humanas ST88-14. **Métodos:** CSs foram cultivadas por 1, 3, 6 e 24h, 7 dias sob o estímulo de ML (*Mycobacterium leprae*) (50 μ g/mL), TGF- β 1(10 ng/mL) e ML+TGF- β 1. Os sobrenadantes (n \leq 9) foram coletados para detecção de PDGF-BB por ELISA. Os tempos de 24h e 7 dias foram selecionados para analisar a expressão de PDGF e seus receptores (PDGFR- α e β) por Western blotting (n \leq 2). A expressão dos receptores nas CSs também foi analisada por citometria de fluxo (n=1). Os resultados foram analisados utilizando o software Graphad Prism 6.0. **Resultados:** Um crescente aumento na secreção constitutiva de PDGF-BB pelas CSs foi observado (p<0,05), assim como quando estimuladas com ML (p<0,05) e ML+TGF- β 1 (p<0,05) até 7 dias. Em 7 dias, foi observado um aumento significativo na secreção da mesma na combinação ML+TGF- β 1 em relação ao controle (p<0,05) e em relação ao TGF- β 1 (p<0,001). Os resultados preliminares sugerem que a expressão proteica de PDGF diminui nas CSs em 24h e aumenta após 7 dias sob o estímulo de ML+TGF- β 1. O ML, TGF- β 1 e ML+TGF- β 1 parece aumentar a expressão de PDGFR- β , tanto em 24h quanto em 7 dias. Já o PDGFR- α aumenta somente com TGF- β 1 e ML+TGF- β 1 após 7 dias. A expressão dos receptores verificada por citometria parece estar aumentada pelo estímulo do ML, ML+TGF- β 1 parece aumentar o PDGFR- α , enquanto que o TGF- β 1 parece aumentar a expressão de PDGFR- β . **Conclusão:** Os dados indicam que as CSs ST88-14 liberam PDGF constitutivamente e que o ML+TGF- β 1 modula sua secreção, o que sugere que esses fatores estejam aumentando a expressão dos receptores como uma forma de amplificar o sinal. Visto que juntos estes fatores atuam na fibrogênese, poderemos compreender melhor a patogênese que leva à fibrose neural na hanseníase. Apoio: CNPq; IOC/Fiocruz.

P-26

PAPEL DO CORTEX OCCIPITAL NA MODULAÇÃO DA DOR CRÔNICA INFLAMATÓRIA

1Motta, R.M. da, 1Reis, G. de M., 1Panizzutti, R.A.

1Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Laboratório de neurociência e aprimoramento cerebral (LabNACe)

A estimulação do córtex occipital induz antinocicepção em modelos de dor física e persistente, efeito que, ao menos em parte, depende da participação do núcleo pretectal anterior. Esse estudo (protocolo CEUA número 031/16) tem como objetivo avaliar o papel do córtex occipital na modulação da dor crônica inflamatória em ratos. Ratos Wistar machos (peso entre 150-180g) foram submetidos à cirurgia estereotáxica para implante de cânula-guia e cinco dias depois foi realizada a injeção plantar de complete adjuvant de freund (CFA). Os limiares de retirada de membro posterior foram avaliados com o analgesímetro eletrônico (Von Frey), no 2º, 7º ou 14º dias após a injeção do CFA, 15 minutos após a injeção de lidocaína (anestésico local), metisergida (antagonista não seletivo de serotonina) ou salina no córtex occipital. A injeção de lidocaína ou metisergida no córtex occipital aumentou significativamente a alodinia mecânica na fase de indução (2º dia), mas não na fase de manutenção (7º ou 14º dia após a injeção do CFA) da dor crônica inflamatória. As curvas dos animais tratados com metisergida foram significativamente diferentes quanto ao tratamento $F_{8,296} = 48,06$, tempo $F_{8,296} = 71$ e tratamento/tempo $F_{40,296} = 12,7$, $p < 0,0001$. Conclui-se, portanto, que o córtex occipital exerce uma inibição tônica sobre a dor inflamatória, pelo menos em parte, via receptores de serotonina.

Apoio financeiro: Faperj

REGULATION OF NITRIC OXIDE PRODUCTION BY PROTEIN SYNTHESIS INHIBITION

Gladulich, L.F.H.1*; Jeronymo, L. 3; dos Santos-Rodrigues, A.1,2; Paes de Carvalho, R.1,2; Cossenza, M.1,3

1. Program of Neurosciences, Institute of Biology, Universidade Federal Fluminense. 2. Department of Neurobiology, Institute of Biology, Universidade Federal Fluminense. 3. Department of Physiology and Pharmacology, Biomedical Institute, Universidade Federal Fluminense.

Introduction: NMDA receptors (NMDAR) mediate fast glutamatergic transmission and several aspects of neuronal physiology such as neuronal development, plasticity and survival. Nitric oxide (NO) is a gaseous neuronal messenger that also participates in neuronal physiology. Previous works from our group demonstrated that NMDAR activation decreases protein synthesis increasing free intracellular L-arginine concentrations resulting in high NO production via eEF2 phosphorylation induced by eEF2K activation. Objectives: To further detail the eEF2 phosphorylation induced by NMDAR stimulation and to demonstrate that NMDA-induced protein synthesis inhibition through eEF2K stimulation is a key step in NO formation. Materials and methods: Retinas from 8-day-old chicken (*gallus domesticus*) embryos were used for the preparation of retinal neuronal cultures. Synaptosomes were prepared from 14-day-old chicken embryo retinas, by 4 consecutive centrifugations of 200g, 800g, and two of 25000g. All protocols were approved by Brazilian ethical committee of animal research (CEPA-00146/09). NO levels were determined using DAF-FM-DA imaging normalized by cell count with either DAPI or Hoechst dye. Western blotting was used for the analysis of eEF2 phosphorylation and synaptosomes purification. Data were quantified and analyzed by one-way ANOVA with Bonferroni's post-test using Graph Pad Prism 6®. Results: Short-term NMDA treatments (15 minutes) in cultured retinal cells induced a concentration-dependent increase in eEF2 phosphorylation, indicating higher eEF2 kinase activity. Interestingly, NMDA-induced eEF2 phosphorylation reached a maximum effect in 30 μ M. We also tested the effect of NMDA treatment in different times up to 60 minutes, and found that NMDA stimulation peaks at 15 minutes, decreasing over time, and reaching basal levels in 60 minutes. When we tested the same stimulation protocol in synaptosomes, the same effect was observed. Additionally, we tested NMDA-induced NO formation in the presence of an eEF2K inhibitor, and observed a complete inhibition when eEF2K was inhibited. Conclusions: Overall, we show here that the regulation of protein synthesis couples to the production of NO in an nNOS-dependent fashion. Considering that NOS is classically modulated by NMDA signaling and that the same receptor inhibits protein synthesis in retinal cells, our data strongly suggest that protein synthesis inhibition strengthens activity-dependent NO production. Financial support: FAPERJ, CNPq, PROPPI/UFF, CAPES

AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL E EXPRESSÃO DIFERENCIAL DAS SUBUNIDADES DE RECEPTORES GLUTAMATÉRGICOS NMDA E AMPA NO HIPOCAMPO DE RATOS DE LINHAGENS COM ALTA E BAIXA ANSIEDADE.

*Goulart, V. G1.; Maisonnette, S2.; Rosseti, F2.; Pandolfo, P1.; Landeira-Fernandez, J2.; Campello-Costa, P1.

1- Programa de Pós-graduação em Neurociências, Instituto de Biologia, UFF, RJ; 2-Programa de Pós-graduação do Departamento de Psicologia, PUC, RJ.

A ansiedade é a disfunção emocional que mais aflige a qualidade de vida humana. O glutamato é o principal neurotransmissor excitatório do cérebro de mamíferos e é implicado em condições patológicas como epilepsia, isquemia, depressão e ansiedade. Suas ações são mediadas por diferentes receptores, dentre eles os receptores ionotrópicos do tipo NMDA e AMPA. O objetivo geral deste trabalho foi fazer uma análise comportamental e neuroquímica comparativa de diferentes subunidades destes receptores em modelo animal com uma base genética de ansiedade. Métodos: Ratos Wistar machos (220-300g) foram previamente selecionados e caracterizados com alto (CAC) e baixo (CBC) grau de congelamento em relação aos controles (CTL). Todos os grupos foram submetidos a testes comportamentais para avaliar os níveis de memória, ansiedade e depressão. O conteúdo e a localização das subunidades destes receptores foram realizados através das técnicas de western blot e imunohistoquímica, respectivamente. O presente estudo foi submetido ao comitê de ética da UFF sob o protocolo nº 803/2016. Resultados: O grupo CAC apresentou o fenótipo mais ansioso no teste do labirinto em cruz elevado (n=8 animais por grupo), teve sua memória espacial prejudicada avaliada no teste do labirinto em Y (n=21 animais por grupo) e apresentou um fenótipo depressivo avaliado no teste do nado forçado comparado aos grupos CBC e CTL (n≥4 animais por grupo). Nenhuma diferença estatística foi encontrada entre os grupos nas avaliações da atividade locomotora (n=8 animais por grupo), no teste de memória de reconhecimento de objetos (n= 8 animais por grupo) e no teste de sensibilidade térmica avaliada pelo teste da placa quente (n≥4 animais por grupo). As análises bioquímicas mostraram que o grupo CAC apresentou um aumento significativo do conteúdo da subunidade GluN1 (n=5) e GluN2B (n=4) e uma diminuição da subunidade GluN2A (n=3) de receptores NMDA. Um aumento da subunidade GluA1 de receptores AMPA (n=3) também foi observada nos animais CAC no hipocampo ventral. O grupo CBC também apresentou um aumento do conteúdo da subunidade GluN1 (n=5), entretanto apresentou uma diminuição nos níveis de GluN2B (n=4) de receptores NMDA. Nenhuma diferença foi observada nos níveis de GluN2A (n=3) de receptores NMDA e GluA1 (n=3) de receptores AMPA. Conclusão: Em conjunto, estes resultados suportam a hipótese de que a composição diferencial de subunidades de receptores NMDA e AMPA participa na regulação do comportamento tipo ansioso nestes animais. Suporte Financeiro: CNPq, FAPERJ, CAPES.

CAFEÍNA MODULA A CAPTAÇÃO DE [3H]-GABA EM RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS (SHR)

¹ RITTER, M.N.M.F.; ¹ VALLI, T.R.; ¹ PEREIRA, M.S.; ² SOUZA-MARQUES, R.; ² MANHÃES, A.C.; ¹ KUBRUSLY, R.C.C.

1 Laboratório de Neurofarmacologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ. 2 Laboratório de Neurofisiologia IBRAG, Universidade Estadual do Rio de Janeiro, RJ

Introdução: O Estriado é importante nos sintomas do Transtorno de Déficit de Atenção/Hiperatividade (TDAH), um distúrbio psiquiátrico majoritariamente infantil. O GABA, principal neurotransmissor inibitório do sistema nervoso central, regula a liberação de outros neurotransmissores, inclusive a dopamina. A cafeína pode modular o sistema GABAérgico. Os modelos animais utilizados são os Ratos Espontaneamente Hipertensos (SHR), e o seu controle Wistar-Kyoto (WKY). **Objetivo:** Avaliar os efeitos da exposição aguda de cafeína no sistema GABAérgico em Estriado de SHR e WKY. **Métodos:** O Estriado de ratos SHR e WKY, na idade pós-natal de 25 dias foi isolado para avaliação da Captação de [3H]-GABA, acúmulo de AMPc e Western-Blot. Os resultados foram analisados pelo GraphPad Prism 5. O CEUA de aprovação foi 001/2013. **Resultados:** A captação de [3H]-GABA no estriado dos SHR (69.01 ± 7.619 fmol/mg/hora n=13) é semelhante em WKY (70.33 ± 6.309 fmol/mg/hora n=15), com equilíbrio em 60 minutos, tanto nos SHR (54.09 ± 5.628 fmol/mg/hora n=14), como nos WKY (59.28 ± 4.395 fmol/mg/hora n=17). A Captação de [3H]-GABA em SHR na ausência de sódio (13.33 ± 2.848 % n=3) reduziu em quase 90% comparada às condições anteriores de captação, assim como em baixas temperaturas (20 ± 2.082 % n=3). O mesmo ocorreu em WKY, tanto na ausência de sódio (23.33 ± 1.333 % n=3), como em baixa temperatura (34 ± 8.327 % n=3). A captação de [3H]-GABA, em SHR, na presença de cafeína a 100 μ M (91.75 ± 3.19 % n=4) não gerou alterações comparada ao grupo basal, mas com 200 μ M (132.3 ± 8.434 % n=5) e 500 μ M (139 ± 1 % n=2) os valores basais de captação aumentaram. Em WKY, a cafeína não gerou resultados significativos: 100 μ M (123 ± 13.9 % n=4); 200 μ M (86.67 ± 16.74 % n=4) e 500 μ M (76 ± 26.29 % n=3). O CHA impediu o aumento da captação de [3H]-GABA, em ratos SHR (67.65 ± 4.09 % n=4). Os SHR apresentaram maior expressão de receptor de adenosina A1 (1.525 ± 0.10 % n=2), quando comparados aos ratos WKY (0.525 ± 0.10 % n=2). Os resultados foram considerados significativos quando $p < 0,05$. **Conclusão:** A cinética temporal de Captação de [3H] GABA é semelhante, em WKY e SHR, com equilíbrio em 60 minutos. A cafeína aumentou a Captação de [3H]-GABA somente em SHR, mas não teve efeitos em WKY. O agonista do receptor A1, nos animais SHR, foi capaz de impedir os efeitos da cafeína. O acúmulo basal de AMPc é reduzido em SHR, comparado aos animais WKY, o que condiz com o fato destes animais apresentarem maior expressão do receptor A1. A cafeína aumentou os níveis de AMPc, em SHR. Apoio Financeiro: CAPES, CNPq FAPERJ, PROPPi.

Phosphorylation of S845 regulates clathrin-mediated endocytosis of GluA1

1SATHLER, M.F., ² KATHRI, L., 1KUBRUSLY, R. C. C., ² ZIFF, E.B.

1Departament of Physiology and Pharmacology, Neurosciences Program, Fluminense Federal University, Niterói, Brazil. 2Department of Biochemistry and Molecular Pharmacology, NYU School of Medicine, New York, NY.

Introduction: During scaling-up, AMPARs accumulate at synapses, restoring synaptic strength. In most scaling-up protocols, GluA2-lacking AMPA receptors accumulate selectively at the synapse, despite the fact that the great majority of AMPARs are GluA1/2 heteromers. Although it has been shown that GluA1 S845 phosphorylation reduces endocytosis, the molecular basis for regulation of GluA1 endocytosis is not well understood. Objective: To study how GluA1 S845 phosphorylation regulates clathrin-mediated endocytosis during neuron activity. Methods: Cortical neurons were obtained from E18 Sprague-Dawley rat embryos and cultured as mixed cultures for immunofluorescence and co-immunoprecipitation, after 48h with TTX of chemical LTP induction. Membrane fraction of Sprague-Dawley rat whole brain was used for the GST pull-down assay. Unpaired two-tailed Student's t-tests were used in single comparisons. For multiple comparisons, we used one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Fisher's least significant difference (LSD) test to determine statistical significance. P value < 0.05 was considered statistically significant. CEUA / 005/2012. Results: Previous results from the group have shown that 48h TTX treatment increases GluA1 S845 phosphorylation (Kim and Ziff, 2014). 48h TTX treatment reduces GluA1 endocytosis (CTL=1; TTX=0.63±0.02) and increases surface expression (CTL=1; TTX=1.17±0.04). Blockage of dynamin with 25 µM Dynole increases binding of clathrin adaptor AP2 to GluA1 (CTL=1; DYN=1.46±0.13). 48h TTX treatment reduces B-Adaptin binding to GluA1 (CTL=1; TTX=0.43±0.11). Induction of chemical LTP increases phosphorylation of GluA1 S845 (CTL=1; cLTP=5.55±0.84) and decreases B-Adaptin binding to GluA1 (CTL=1; cLTP=0.24±0.08). GST pull-down assay show less binding of GluA1 to the S845D phosphomutant (GLUA1=1; S845D=0.31±0.06). Conclusion: TTX treatment for 48 hours, a well established scaling up protocol, diminishes GluA1 endocytosis rate and the binding of β-Adaptin, a subunit of the AP2 adaptor, to GluA1. GluA1 S845 phosphorylation decreases the binding of AP2 to the CTD of this AMPA receptor subunit, unveiling a mechanism of phosphorylation-regulated clathrin-mediated endocytosis of GluA1.

References: Kim S, Ziff EB (2014) Calcineurin Mediates Synaptic Scaling Via Synaptic Trafficking of Ca²⁺-Permeable AMPA Receptors. PLoS Biol 12(7): e1001900. doi:10.1371/journal.pbio.1001900

Financial Support: CNPq and NIH grant, 5R01NS061920 (EBZ).

ESTUDO DO ESTRESSE OXIDATIVO APÓS INIBIÇÃO DA ATIVIDADE DA ACETILCOLINESTERASE ESTRIATAL EM MODELO MURINO DA DOENÇA DE PARKINSON

HAYASHIDE, LS1; VILLEGAS, MVR1; CARVALHO, LVB2; LARENTIS, AL; FERNANDES, ACMN3; FARIA-MELIBEU, AC3; SERFATY, CA3; RIBEIRO, MGL1

1Departamento de Biologia Celular e Molecular/UFF. 2 CESTE/ENSP/FIOCRUZ. 3Departamento de Neurobiologia/UFF.

Introdução: A doença de Parkinson (DP) afeta a neurotransmissão de diversos sistemas, sendo um deles o sistema colinérgico. A acetilcolina (ACh) no estriado (Str) atua modulando a transmissão de dopamina, principal neurotransmissor afetado na DP. Dados prévios mostraram que a acetilcolinesterase (AChE) é ativada no Str controle de modelo murino da DP induzida pela administração de 6-hidroxidopamina (6-OHDA). Um dos principais mecanismos envolvidos na morte de células dopaminérgicas na DP é o desbalanço entre a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e o sistema de defesa antioxidante. Assim, investigamos a relação entre a transmissão colinérgica estriatal e a geração de ROS nesse modelo de DP. **Objetivos:** Analisar bioindicadores de estresse oxidativo no Str após tratamento crônico de 1 semana (1w) com neostigmina (NEO), um inibidor da AChE, em modelo murino de DP. **Métodos:** Camundongos C57Bl6 adultos foram submetidos à injeção unilateral de 6-OHDA no Str esquerdo e uma cânula foi implantada no ventrículo esquerdo. Animais controle (SHAM) passaram por todas as etapas cirúrgicas mas não receberam injeção de 6-OHDA. Os animais foram subdivididos em 4 grupos: os que receberam injeção única diária de 2 µL de brometo de NEO (6-OHDA + NEO e SHAM + NEO) ou 2 µL de salina (6-OHDA + sal e SHAM + sal). Os Strs foram dissecados e homogeneizados 1w após tratamento com salina ou NEO e foram feitas análise da atividade da Glutathione S Transferase (GST) e Superóxido Dismutase e detecção de malondialdeído (MDA) e grupamentos tiol (GSH). Os procedimentos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFF (n° 617/2014). **Resultados:** Os Strs lesionados dos grupos 6-OHDA + NEO e 6-OHDA + sal apresentaram diminuição expressiva de MDA em comparação com seus respectivos controles internos. Os Strs lesionados dos animais SHAM + NEO apresentaram redução significativa de MDA em comparação com seu controle interno. Atividade da GST não foi diferente entre os grupos SHAM + NEO e SHAM + sal e o tratamento com 6-OHDA não provocou efeitos sobre a atividade. O conteúdo de GSH seguiu o padrão obtido para a atividade da GST. **Conclusão:** Os dados sugerem que a lesão por 6-OHDA juntamente com o tratamento crônico com NEO induz uma redução no nível de MDA nos animais SHAM provavelmente pela ação anti-inflamatória da ACh através da ativação de vias de neuroproteção. Já os níveis de GSH e a atividade de GST aparentemente sofreram uma redução nesses animais. Esses dados sugerem que NEO reduz a capacidade do Str em responder aos efeitos causados pela 6-OHDA. **Apoio Financeiro:** CAPES, PROPPi-UFF; FAPERJ

Programação Durante o Desenvolvimento: Infecção Neonatal e Susceptibilidade ao Efeito dos Oligômeros de Beta-Amiloide

Paula S. Frost¹, Giselle F. Passos¹, Grasielle C. Kincheski², Sergio T. Ferreira², Fernanda G. De Felice², Julia R Clarke¹, Claudia P Figueiredo¹.

1. Faculdade de Farmácia, 2. Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis, CCS, UFRJ.

INTRODUÇÃO Experiências vividas no período perinatal alteram de forma persistente os circuitos neurais em desenvolvimento, levando a alterações que podem persistir durante toda a vida, um fenômeno chamado de “programação”. Insultos inflamatórios nesse período levam a uma exacerbada resposta após exposição a um segundo estímulo inflamatório na vida adulta. A doença de Alzheimer (DA) é caracterizada pela presença de agregados proteicos de beta-amiloide (A β) no meio extracelular, sendo que a inflamação parece desempenhar um papel central na degeneração crônica que acompanha a doença. **OBJETIVO** Investigar se um evento inflamatório no início da vida pode aumentar a susceptibilidade à DA durante a vida adulta. **MATERIAIS E MÉTODOS** Aprovação pelo Comitê de Ética no Uso de Animais: 049/14 – UFRJ. Camundongos Swiss machos receberam injeções subcutâneas de *Escherichia coli* (0,5x10⁶ UFC) ou PBS aos 4 (P4) ou aos 21 (P21) dias de vida. Aos 60 dias eles receberam uma injeção intracerebroventricular de oligômeros de A β (A β Os) e foi realizado o teste de reconhecimento de objetos (RO). Avaliando as porcentagens de exploração dos objetos usados na sessão de teste (teste t, comparando a um valor fixo de 50%). Outro grupo experimental submetido ao mesmo protocolo foi utilizado para coleta de amostra, para avaliação de moléculas relacionadas à inflamação através dos testes de ELISA, para TNF- α e IL-1 β (Teste t). Em um terceiro grupo de amostras foi feita a extração de RNA e síntese de cDNA para aferir a expressão do gene proteobactéria gamma (PG) em um PCR de tempo real (teste t). **RESULTADOS** O grupo que recebeu *E. coli* em P4 apresentou aumento de TNF- α cerebral 1h (1.83 \pm 0.50 *E. coli*, 0.16 \pm 0.16 PBS, p=0.01) e 6h (6.33 \pm 1.13 *E. coli*, 3.80 \pm 0.76 PBS, p=0.10) após a injeção (n=3-6); enquanto que os níveis de IL-1 β foram semelhantes entre os grupos experimentais (n=4-8). Na expressão de PG, o grupo que recebeu *E. coli* apresentou aumento 1h após (2.94 \pm 0.94 *E. coli*, 0.72 \pm 0.19 p=0.03; n=3-6). Nas análises comportamentais, animais infectados em P4, mas não em P21, que receberam A β Os na idade adulta apresentaram prejuízo cognitivo no teste de reconhecimento de objetos (%exploração objeto novo 53.89 \pm 4.29 *E. coli* +A1). **CONCLUSÃO** Ao atingirem a idade adulta, os animais infectados aos 4 dias de vida são mais suscetíveis à toxicidade induzida por A β Os, enquanto que os infectados em P21 não o são. A infecção por si só não gera dano cognitivo na idade adulta. A injeção de *E. coli* em P4 subcutâneo leva a chegada da bactéria no cérebro e a um aumento do perfil pró-inflamatório no SNC.

APOIO FINANCEIRO CnPQ, CAPES, FAPERJ

M. leprae-infected schwann cells induce axonal damage and myelin degradation

Authors: Mietto BS, Junqueira B, Vasconcellos KGC, Antunes SLG, Rosa PS, Pessolani MCV, Sarno EN and Lara FA.

Affiliations: Leprosy Lab – Fiocruz

Introduction: Leprosy is a chronic infectious disease caused by the pathogen *Mycobacterium leprae* (ML), which disturbs Schwann cell responses, leading to progressive axonal and myelin loss. Whether axonal damage and demyelination are caused by Schwann cells dysbalance is still under intense debate. Recent reports demonstrated the role of myelinophagy in mediating myelin degradation in injured Schwann cells. In addition, our group demonstrated that ML-infected Schwann cells (iSC) have abnormal glucose metabolism with a drastically reduce in lactate generation. Objective: Taking into consideration that axons require constant supply of lactate from their wrapping glia and that myelin destruction was reported to be influenced by autophagic pathways, we evaluated, in the present study, the enrollment of iSC in two experimental models: a) in vitro neuronal growth and b) in vitro myelinophagy. Methods: dissociated sensory neurons (P1 mice) were cultured and treated for 24 hours in either uninfected or iSC-derived supernatant. Neuritis outgrowth and complexity were evaluated by the Image J software. Second, in vitro Schwann cells myelinophagy was achieved by culturing glial cells harvested from adult mice peripheral nerves for 3 days. For in vivo analysis, we used nerve biopsies from non-leprosy and leprosy patients and looked the expression of autophagy-related (ATG) genes by qRT-PCR. Results: 24-hours after treatment with iSC-derived supernatant, we observed a marked impairment in neurites complexity as compared to medium obtained from uninfected Schwann cells. By fractioning the infected supernatant by HPLC, we observed that the range 30kDa – 40 kDa was the only fraction toxic to neurons, if compared to the other fractions obtained from the same supernatant. For the demyelination studies, we observed that viable ML (MOI 1:100) was able to infected 96% of S100+ Schwann cells in vitro, leading to a significantly decrease in myelin contents when compared to uninfected Schwann cells. In vivo, nerve biopsies from patients with leprosy neuropathy have augmented expression of mRNA for several autophagic genes (ATG5, ATG7, BECLIN1/ATG6 and LC3B/ATG8) as compared with control non-leprosy nerves. Conclusion: Our results points to the notion that low levels of lactate content along with the presence of toxic mediators in iSC are able to disturb neuronal integrity and growth responses. In addition, ML accelerated myelin breakdown in infected Schwann cells and, in vivo, nerves from leprosy patients expressed high levels of autophagic genes. Collectively, these data indicates that disturbed responses of iSC could underlie axonal and myelin damage during the course of leprosy neuropathy.

Subversion of Schwann cell glucose metabolism by *Mycobacterium leprae*: the pentose pathway as a new target for control of leprosy infection

Rychelle C. A. Medeiros¹, Karina G. do C. de Vasconcelos¹, Fernanda K. L. Cardoso¹, Bruno de S. Mieto², Thiago G. de T. Pinto², Lilian S. Gomez³, Luciana S. Rodrigues⁴, Mariana Gandini¹, Julio J. Amaral⁵, Sérgio L. G. Antunes², Suzana Corte-Real⁶, Patricia S. Rosa⁷, Maria C. V. Pessolani¹, José A. da C. Nery², Euzenir N. Sarno², Leonardo R. B. Silva², Mauro Sola-Penna³, Marcus F. de Oliveira⁸, Milton O. Moraes² and Flavio A. Lara¹.

1) Lab. de Microbiologia Celular, IOC, FIOCRUZ, Rio de Janeiro-RJ, Brazil; 2) Lab. de Hanseníase, IOC, FIOCRUZ, Rio de Janeiro-RJ, Brazil; 3) Lab. de Enzimologia e controle do metabolismo, UFRJ, RJ, Brazil, 4) Lab. de Imunopatologia, Medical Science Faculty, UERJ, Rio de Janeiro-RJ, Brazil; 5) National Institute of Metrology, Quality and Technology INMETRO, Rio de Janeiro-RJ, Brazil; 6) Lab. de Biologia Estrutural, IOC, FIOCRUZ, Rio de Janeiro-RJ, Brazil; 7) Lauro de Souza Lima Institute, Deptment of Biology, Bauru-SP, Brazil; 8) Lab. de Bioquímica de Resposta ao Estresse, Federal University of Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

Mycobacterium leprae, the intracellular etiological agent of leprosy, infects Schwann promoting irreversible physical disabilities and deformities. These cells are responsible for myelination and maintenance of axonal energy metabolism through export of metabolites, such as lactate and pyruvate. In the present work, we observed that infected Schwann cells increase glucose uptake with a concomitant increase in glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) activity, the key enzyme of the oxidative pentose pathway. We also observed a mitochondria shutdown in infected cells and mitochondrial swelling in pure neural leprosy nerves. The classic Warburg effect described in macrophages infected by *M. avium* was not observed in our model, which presented a drastic reduction in lactate generation and release by infected Schwann cells. This effect was followed by a decrease in lactate dehydrogenase isoform M (LDH-M) activity and an increase in cellular protection against hydrogen peroxide insult in a pentose phosphate pathway (PPP)- and glutathione reductase (GSR)-dependent manner. *M. leprae* infection success was also dependent of the glutathione antioxidant system and its main reducing power source, the pentose pathway, as demonstrated by a 50% and 70% drop in intracellular viability after treatment with the GSH synthesis inhibitor buthionine sulfoximine (BSO); and aminonicotinamide (6-ANAM), an inhibitor of G6PDH 6-ANAM, respectively. We concluded that *M. leprae* could modulate host cell glucose metabolism to increase the cellular reducing power generation, facilitating glutathione regeneration and consequently free-radical control. The impact of this regulation in leprosy neuropathy is discussed.

Modelo murino da doença de Parkinson induzida por 6-OHDA altera o conteúdo da proteína GFAP no compartimento neuromuscular entérico

1Thomasi, B.; 1Valdetaro, L.; 1Mussauer, A.; 1Nascimento, G.G.; 1Fernandes, A.C.M.N.; 1Serfaty, C.A.; 1Campello, P.; 1Melibeu, A.C.; 1Ribeiro, M.G.; 2,3Moura-Neto, V; 1Tavares Gomes, A.L. 1 Departamento de Neurobiologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, RJ; 2 Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ; 3 Instituto Estadual do Cérebro Paulo Niemeyer, RJ.

Introdução: A doença de Parkinson (DP) é uma doença multicêntrica afetando outras áreas além do sistema nervoso central. Sintomas gastrointestinais ocorrem em paciente com DP, demonstrando o envolvimento do sistema nervoso entérico (SNE). Através do modelo murino da DP induzida por 6-hidroxidopamina (6-OHDA), resultados prévios do nosso grupo apontam para um quadro de dismotilidade e inflamação no cólon destes animais. Objetivo: Estudar a glia entérica (GE) no modelo da DP induzida por 6-OHDA. Métodos: Camundongos C57Bl6 machos adultos foram submetidos à administração unilateral de 6-OHDA no estriado por cirurgia estereotáxica. Outro grupo de animais operados não lesionados foi utilizado como controle. Os grupos tiveram sobrevidas de 1, 2, 4 e 8 semanas (1, 2, 4 e 8w) pós-cirurgia. O cólon dos animais foi removido, dividido em porção oral e anal e processado para técnica de western blotting para detecção da proteína GFAP (biomarcador de células gliais). Os experimentos foram realizados com o compartimento neuromuscular – onde fica abrigado o principal plexo nervoso do SNE e a camada muscular. A análise estatística foi feita pelo teste t não-pareado ($p < 0,05$ para dados significativos). Os procedimentos experimentais descritos foram aprovados pelo CEPA da UFF no projeto “Caracterização enzimática do estriado de camundongos submetidos à lesão por 6-OHDA: estudo da Acetilcolinesterase e da Colina acetil-transferase em modelo animal da doença de Parkinson” sob o número de protocolo 617.) Resultados: No compartimento neuromuscular, em ambas as porções do cólon de animais modelo da DP com 1w de sobrevida, houve aumento do conteúdo de GFAP (N=3). Com 2w, a porção oral não mais apresentou alterações (N=3) enquanto na porção anal houve um aparente aumento de GFAP (N=2). Em 4w, o conteúdo proteico de GFAP voltou a mostrar-se aumentado em ambas as porções do cólon (N=3). Na sobrevida mais tardia avaliada de 8w, a porção oral apresentou uma diminuição do conteúdo de GFAP e a porção anal permaneceu apresentando aumento do conteúdo desta proteína glial (N=3). Conclusão: Os resultados demonstram alterações na GE presente no compartimento neuromuscular colônico de animais modelo da DP nas sobrevidas concedidas. É possível que o comprometimento desta célula do SNE esteja relacionado à disfunção da motilidade gastrointestinal e ao quadro inflamatório encontrado no modelo animal da DP.

Apoio financeiro: FAPERJ, PROAP, PROPPI, CNPQ e CAPES.

TRATAMENTO COM CAFEÍNA MELHORA O DESEMPENHO DE RATOS EM TESTE DE MEMÓRIA E ALTERA A REATIVIDADE ASTROCITÁRIA

Peixoto-Rodrigues, M.C. , Pandolfo, P. , Faria-Melibeu, A.C. , Campello-Costa, P.

Universidade Federal Fluminense

INTRODUÇÃO: O desenvolvimento do sistema nervoso central (SNC) é marcado por etapas que vão desde a geração das células neurais até a formação de redes neurais apropriadamente conectadas. A organização da conectividade neural é um processo dinâmico que envolve diversos mecanismos que garantirão as funções sensorial, motora e cognitiva. A capacidade de alterar esta organização confere ao sistema nervoso uma propriedade chamada de plasticidade neural, a qual pode ser induzida ou modulada pelo tratamento com diversas drogas. A cafeína é a droga psicoativa mais consumida na sociedade e exerce seus efeitos principalmente pelo bloqueio de receptores de adenosina, que são encontrados em células neuronais e gliais. Estudos demonstram que o tratamento com a cafeína pode alterar a plasticidade de circuitarias como a retinotectal, por exemplo. Adicionalmente, o maior consumo de cafeína vem sendo associado a um papel neuroprotetor sobre diversas doenças degenerativas. Os astrócitos são as mais abundantes células da neuroglia no SNC e possuem um papel extremamente importante no funcionamento e estabilização de sinapses. Estudos demonstram que, no hipocampo e no córtex, o papel dos astrócitos pode ser tão importante quanto o dos neurônios quando se trata de aprendizado e memória. **OBJETIVO:** Avaliar se o tratamento crônico com a cafeína induz alterações na cognição e na reatividade astrocitária no hipocampo de ratos. **MÉTODOS:** Neste trabalho ratos da linhagem Lister Hooded foram submetidos a tratamento oral com a cafeína (1 mg/mL) ou com água (controle) por 20 ou 50 dias e submetidos a análise comportamental. Alternativamente, um grupo de animais tratados com cafeína teve suspenso o tratamento para avaliar se seus efeitos podem ser revertidos. Cortes do hipocampo foram feitos para avaliar a reatividade astrocitária através de imunofluorescência. **RESULTADOS:** Os dados obtidos mostraram que o tratamento com cafeína promove uma melhora significativa no desempenho dos animais na tarefa de reconhecimento de objetos (n=25) e altera, de maneira irreversível, a reatividade astrocitária (n=4) no hipocampo em ambas as idades.

THE IMPACT OF OMEGA-3 FATTY ACIDS IN THE DEVELOPMENT OF VISUAL RETINOFUGAL CONNECTIONS

Poliana Capucho Sandre¹; Patricia Coelho de Velasco²; Luana da Silva Chagas¹; Claudio Alberto Serfaty¹.

¹ Universidade Federal Fluminense (UFF), Instituto de Biologia, RJ. ² Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Instituto de Nutrição Josué de Castro (INJC), RJ.

O correto desenvolvimento do sistema visual de mamíferos é resultado da organização dos seus contatos sinápticos que resultam em mapas topograficamente organizados, onde as fases de formação e especificação dos circuitos visuais se estendem até o período pós-natal. A privação de precursores dos ácidos graxos essenciais (AGEs), como o ácido docosahexaenóico (DHA), podem acarretar sérios prejuízos no desenvolvimento do sistema nervoso central (SNC). Antes da experiência visual, o padrão de atividade elétrica espontânea na retina tem um importante papel no refinamento axonal. Além disso, a microglia também contribui para esse refinamento sináptico, participando da remoção de fragmentos proteicos e neuronais, manutenção das conexões sinápticas e remodelamento sináptico. Neste trabalho, estudamos o impacto de uma restrição dietética de DHA na especificidade topográfica da via retinocolicular. Também estudamos o impacto dessa restrição em marcadores colinérgicos na retina e na população microglial na retina e no colículo superior (CS). Fêmeas de ratos pigmentados foram alimentadas por 5 semanas antes do acasalamento com uma dieta controle (óleo de soja) ou com uma dieta restrita em AGEs (óleo de coco). Após o nascimento, as ninhadas continuaram sendo alimentadas até o dia pós-natal de estudo. Em várias idades pós-natais, os filhotes receberam injeções intraoculares de marcadores neuronais para visualizar os axônios das células ganglionares da retina (CGR) nos seus alvos centrais. A análise do perfil de ácidos graxos indicou que a dieta experimental levou a uma redução seletiva no conteúdo de DHA no CS. A restrição induziu também um aumento na densidade dos axônios das CGR nas camadas superficiais do CS. Por sua vez, a suplementação precoce com óleo de peixe (DHA e EPA), mas não tardia, foi eficaz na restauração desse padrão topográfico anormal. Também estudamos possíveis mecanismos envolvidos nesta alta densidade de axônios retinianos nas camadas visuais do CS. Descrevemos que a restrição de ômega-3 conduz uma redução da subunidade $\beta 2$ do receptor nicotínico de acetilcolina, um marcador do sistema colinérgico na retina, e um aumento da população microglial na retina e no CS. Os dados indicam, portanto, que a restrição dietética crônica de DHA atrasa a eliminação axonal, o que pode ser resultado de perturbações no sistema colinérgico e no desenvolvimento microglial, levando ao rompimento da organização topográfica e ao aumento da capacidade plástica dos axônios retinianos, consistente com o papel dos AGEs como precursores de moduladores sinápticos envolvidos na estabilização de conexões no sistema visual.

ESTUDO DAS VIAS DE SINALIZAÇÃO ENVOLVIDAS NA MODULAÇÃO NEUROQUÍMICA EM ANIMAIS MODELO 6-OHDA

Fernandes, A.C.M.N; Ribeiro, M.G.L., Serfaty, C.A.; Campello-Costa, P; Faria-Melibeu, A.C.

Universidade Federal Fluminense

A Doença de Parkinson (DP) é uma doença neurodegenerativa em que há severo comprometimento motor devido à degeneração progressiva e específica de neurônios dopaminérgicos A9 da substância nigra compacta. A acetilcolina está presente no estriado e foi observado que a atividade colinérgica regula a liberação de dopamina através dos receptores nicotínicos (nAChR). Resultados anteriores do nosso grupo mostraram que ocorre um rearranjo de nAChRs no estriado lesionado com um aumento na subunidade $\alpha 7$ sugerindo a existência de uma maquinaria bioquímica que pode estar envolvida na resposta ao dano tecidual em uma janela de tempo determinada. Dados da literatura mostram que a fosforilação de Akt é capaz de induzir a regeneração axonal em uma lesão aguda no SNC e que a ativação da via das MAPKinasestá envolvida com sobrevivência celular mediada por receptores nicotínicos que possuam a subunidade $\alpha 7$. Sendo assim, nosso objetivo foi investigar os níveis proteicos e a fosforilação destas duas proteínas sinalizadoras chave durante diferentes períodos de sobrevida, a fim de investigar quais vias de sinalização estão envolvidas na resposta à lesão por 6-OHDA. Todos os procedimentos experimentais foram aprovados e conduzidos em acordo com o Comitê de Ética de Pesquisa Animal (CEPA/No. 244/14). Camundongos adultos C57Bl6 foram anestesiados e submetidos à injeção unilateral de 6-OHDA (2 μ l a uma taxa de 0,5 μ l / 5 min) utilizando procedimentos estereotáxicos. Foi realizado o teste de comportamento rotacional com apomorfina. Em seguida, os camundongos foram eutanasiados e o estriado dissecado para análise através de Western blot. Nossos dados mostram que ao longo da janela temporal estudada, durante a análise comportamental, os camundongos apresentam rotação contralateral e dificuldades notáveis na coordenação motora durante as primeiras 2 semanas, com diminuição na quarta semana. Na análise bioquímica, vimos um aumento nos níveis de pAKT e pERK nas 3 sobrevidas avaliadas. Esses dados sugerem que a ativação das vias AKT e ERK seguida de aumento dos níveis de subunidade $\alpha 7$ podem contribuir para a melhora parcial do comportamento motor observado em animais submetidos à lesão 6-OHDA.

ALTERAÇÃO DOS RECEPTORES CANABINOIDES E DA MICROGLIA AO LONGO DO DESENVOLVIMENTO DA RETINA EM MODELO DE RETINOSE PIGMENTAR

Senos, D.L.1, Magalhães, C.F.1 e Fragel-Madeira, L.1

1Departamento de Neurobiologia – Universidade Federal Fluminense, RJ, Brasil

A Retinose Pigmentar é uma doença neurodegenerativa de caráter hereditário, ainda sem cura, que acarreta na progressiva morte dos fotorreceptores. Um dos modelos animais para essa doença é o camundongo PDE6 β rd10 (rd10) e neste modelo já foram mostradas diversas alterações, dentre elas, a infiltração da microglia através das camadas da retina. É sabido que o sistema endocanabinoide se altera em diversos modelos neurodegenerativos. No entanto, a sua presença na retina de camundongos permanece pouco conhecida durante o desenvolvimento. Neste projeto utilizamos o modelo para a retinose pigmentar, o camundongo rd10, a fim de saber se a degeneração dos fotorreceptores altera a expressão dos receptores canabinoides, bem como a expressão e infiltração da microglia. Nosso objetivo foi analisar a presença de receptores CB1 e CB2 e infiltração da microglia na retina em camundongos rd10 e comparar com o equivalente genético saudável, o camundongo C57/Bl6. Os camundongos C57/Bl6 e rd10 com 3, 5 ou 9 dias pós-natal (P3, P5 ou P9 - estágio inicial) e P19, P21, P25 ou P30 (estágio tardio) tiveram as suas retinas processadas para imunohistoquímica. Os dados mostraram que a expressão de CB1 nos animais rd10 começa a partir de P9, enquanto nos animais controle está presente desde de P3, porém, há um decaimento da marcação ao longo do desenvolvimento em ambos os animais. O receptor CB-2 está presente desde os estágios iniciais e decai com o desenvolvimento em animais controle enquanto que, em animais rd10 está pouco presente em estágios iniciais e aumenta sua expressão em estágios tardios. Podemos concluir que a expressão de CB1 diminui com o tempo, enquanto que a expressão de CB2 aumenta. Entretanto, ambos os resultados ocorrem de forma mais acentuada nos animais rd10. Assim, a expressão de receptores canabinoides parece estar alterada na retina de camundongos rd10 quando comparada aos animais controle provavelmente pelas modificações sofridas com a morte dos fotorreceptores. Quando analisamos a presença da microglia, através do marcador Iba-1, verificamos que há um aumento da infiltração microglial na camada nuclear externa nas idades de P21 e P23, decaindo em P25 e P30, bem como um aumento na microglia em toda a retina no mesmo período. Apesar de já ter sido descrito na literatura que o pico de infiltração microglial ocorre em P21, no nosso modelo o pico ocorre em P23. Com isso, é possível sugerir que a microglia atua na degeneração desse modelo, uma vez que pelos dados prévios do grupo, os picos de degeneração e infiltração microglial coincidem. Comitê de Ética em Uso de Animais (CEUA) protocolo número 679/2015.

Apoio: Capes, FAPERJ, CNPq e Propri-UFF.

REGULATION OF A2A ADENOSINE RECEPTOR EXPRESSION BY NITRIC OXIDE IN RETINAL CULTURES

1Haidamus, A.B.*, 2Brito, R., 3Paes-de-Carvalho, R., 1Pereira, M.R.

1Laboratório de Sinalização Química do Sistema Nervoso, Programa de Pós-graduação em Neurociências, UFF, Niterói. 2Instituto de Saúde e Biotecnologia, UFAM, Coari. 3Laboratório de Neurobiologia Celular, Programa de Pós-graduação em Neurociências, UFF, Niterói.

Adenosine is a neuromodulator with important roles in the central nervous system (CNS) such as modulation of neurotransmitter release and neuroprotection. The physiological actions of adenosine are mediated through activation of its metabotropic receptors A1, A2a, A2b and A3. A1 and A3 receptors are negatively coupled to adenylyl cyclase inhibiting cAMP intracellular levels whereas A2a and A2b receptors are positively coupled to the enzyme increasing cAMP levels. The A2a adenosine receptors are involved in several events in CNS, including synaptic plasticity and neuroprotection. In purified cultures of retinal neurons, chronic activation of A2a receptors induces neuroprotection from glutamate excitotoxicity. Nitric oxide (NO) is a gaseous mediator synthesized from L-arginine aminoacid through NO synthase enzyme. In CNS, this molecule acts regulating cell death and survival and synaptic plasticity. Moreover, NO regulates A1 receptors expression in PC12 or cortical neurons cultures. Then, it is possible that NO also regulates A2a receptors expression, a mechanism that could be involved in its neuromodulatory effects. In this sense, the objective of this work was to evaluate the role of NO in the regulation of A2a receptor expression. This work was approved by Ethics Committee on Animal Research of UFF (00146/09). Mixed cultures were prepared from 8 day-old (E8) chicken embryo retinas. . After the treatments, proteins were extracted and A2a receptor levels were analyzed by Western Blot. Neuronal/glial mixed retinal cultures were treated with different concentrations of L-arginine for 48 hours and it was observed that 1 mM of this aminoacid reduced the protein levels of A2a receptors (control: $100 \pm 2.5\%$; L-arginine: $54 \pm 12.5\%$; $n=3$; $p < 0.05$). This effect was blocked by 7-NI, a selective NO sintase inhibitor (control: $100 \pm 11.0\%$; L-arginine: $51.8 \pm 7.5\%$; 7-NI: 119.7 ± 13.3 ; L-arginine + 7-NI: 131 ± 11.5 , $n=3$; $p < 0.05$). In addition, SNAP, a NO donor, also reduced the A2a receptor protein levels (control: $100 \pm 8.1\%$; 20 μM SNAP: $51.3 \pm 14.2\%$; 50 μM SNAP: 53.7 ± 11.4 ; 100 μM SNAP: 49 ± 7.6 , $n=3$; $p < 0.05$). Altogether, these results indicate that treatment of retinal cultures with L-arginine induces NO production and regulation of A2a receptor expression.

Financial support: FAPERJ, CNPQ, PROPPI, CAPES, PRONEX-MCT.

IDENTIFICATION OF MYELIN-RELATED PATHWAYS IN ASTROCYTES AND THEIR IMPACT ON SYNAPTOGENESIS

Espírito-Santo, S.A.1; Costa, V. G. C.1; Dezonno, R. S.1; Fuss, B.2; Gomes, F.C.A.1

1-Instituto de Ciências Biomédicas, UFRJ, RJ; 2-Department of Anatomy and Neurobiology, VCU, VA.

Synapse formation and plasticity are controlled by several developmental cues provided mainly by cellular interactions. Whereas astrocytes are known to induce synapse formation, myelination acts as a neuroplasticity inhibitor. However, the effect of myelination on astrocyte function remains unknown. One of the most relevant components of myelin in plasticity restriction is the protein Nogo-A. Therefore, our work aimed to identify Nogo-A-related pathways in astrocytes and their impact on synaptogenesis. To do this, 25 neonatal (P0-2) and 10 embryonic (E14) mice from lineage C57Bl/6 were used (CEUA number: 01200.001568/2013-87). We first characterized by immunostaining the distribution of some myelin receptors in astrocytes of the rodent visual cortex *in vitro* and *in vivo*. We also accessed, by western blotting or immunostaining, protein changes in astrocytes treated with Nogo-A; and pre-(synaptophysin) and post- (PSD-95) synaptic proteins in neuronal cultures incubated with astrocytes conditioned medium, which were previously treated with Nogo-A. We showed that astrocytes express the NgR receptor before and after myelination, although the non-classical myelin pathway receptor, S1PR2, was not expressed, at least in the pre-myelination period. Treatment of cultured astrocytes with Nogo-A increased the levels of phosphorylated RhoA (by 38%), a protein downstream to myelin receptors, suggesting that astrocytes are responsive to myelin proteins. Consistent with RhoA activation, treatment of astrocytes with Nogo-A induced cytoskeleton remodeling, reducing polymerized actin (F-actin) (18%) immunostaining, with no effect in GFAP expression. Furthermore, we also observed that treatment with Nogo-A reduced GLAST expression (50%), as well as the ratio between phosphorylated and non-phosphorylated connexin 43 (Cx43), indicating changes in glutamate uptake and communication between astrocytes, respectively. We also demonstrated that Nogo-A reduced hevin levels (29%), an astrocyte-released synaptogenic factor, and enhanced Sparc levels (54%), a hevin antagonist, suggesting the negative role of Nogo-A on astrocyte-mediated synaptogenesis. Consistently, the treatment of neuronal cultures with conditioned medium of astrocyte previously treated with Nogo-A induced a reduction in synapse number (32%). Together, our data suggest the ability of astrocytes to respond to myelin with changes in their morphology and, possibly, in their function. This interaction could be implicated with astrocyte alterations and plasticity restriction throughout developmental myelination and adult life.

EFEITO MODULATÓRIO DA NICOTINA SOBRE O COMPORTAMENTO E A NEUROQUÍMICA DOPAMINÉRGICA NO MODELO ANIMAL 6-HIDROXIDOPAMINA

¹Figueiredo,R.C.; ¹Fernandes, A.C.M.N ; ¹Campello-Costa,P.; ¹Pandolfo, P.; ¹Faria-Melibeu, A. C.;

¹Programa de Neurociências, Departamento de Neurobiologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil.

A doença de Parkinson é caracterizada pela degeneração progressiva e específica de neurônios dopaminérgicos, levando a sintomas motores característicos como bradicinesia e instabilidade postural, além de sintomas não-motores como depressão, alterações olfativas e déficits cognitivos. Nosso grupo vem estudando o curso temporal das alterações bioquímicas e comportamentais que ocorrem após a lesão dopaminérgica característica do modelo 6-hidroxidopamina (6-OHDA), que apresenta tanto déficits motores, vistos no teste rotacional induzido por apomorfina, quanto cognitivos, vistos no teste de reconhecimento de objetos. E apesar da nicotina, a principal substância psicoativa do tabaco, estar ligada a efeitos controversos, vários estudos indicam que ela tem um efeito neuroprotetor e a utilizam como alvo terapêutico. Neste trabalho, nosso objetivo foi avaliar as alterações neuroquímicas e comportamentais no modelo após a administração intracerebroventricular (icv) de nicotina. Camundongos adultos C57Bl6 foram anestesiados e submetidos à injeção unilateral de 6-OHDA (2 µl a uma taxa de 0,5 µl/5 min) utilizando procedimentos estereotáxicos. Após um dia de intervalo, os animais receberam nicotina (100ng/10µl a uma taxa de 1µl/min) ou salina via canulação no ventrículo lateral esquerdo por cinco dias, totalizando uma semana após a cirurgia. Para as análises comportamentais, realizamos o teste rotacional induzido por apomorfina, quantificando o número de rotações para o lado contralateral após a administração de apomorfina (0,5mg/kg) via intraperitoneal. Na sequência, realizamos a avaliação da memória de trabalho pelo teste de alternância espontânea e a avaliação da memória de reconhecimento e aprendizagem através do teste de reconhecimento de objetos. Análises neuroquímicas foram realizadas através da técnica de western blotting. Nossos resultados demonstram que a nicotina foi capaz de melhorar o desempenho dos animais 6-OHDA tanto no teste de alternância espontânea (n=4), quanto no teste de reconhecimento de objetos (n=4) apresentando um índice de discriminação mais positivo em relação aos animais controle. Dados neuroquímicos preliminares sugerem que, em animais 6-OHDA submetidos ao tratamento com nicotina (n=2), ocorra uma redução nos níveis de tirosina hidroxilase no estriado afetado quando comparado com o estriado controle. No teste motor de apomorfina, o tratamento com nicotina não demonstrou melhoras no comportamento motor, sugerindo que, apesar de não ser capaz de reverter a perda dopaminérgica, a nicotina pode conseguir melhorar o desempenho cognitivo dos animais deste modelo animal.

AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL DOS EFEITOS DA ACUPUNTURA EM UM MODELO ANIMAL DO TDAH

¹Mendonça, P.C., ¹Geraldo, A.S., ¹Portes, A.G., ¹Pandolfo, P.

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

Introdução: O Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH) é caracterizado por sintomas de desatenção, hiperatividade e impulsividade, que parecem resultar de desequilíbrios dopaminérgicos no estriado e córtex pré-frontal. Estudos mostram que a acupuntura no acuponto Shenmen (HT7) pode modular os níveis de dopamina no núcleo accumbens através do receptor GABA B, porém faltam estudos sobre os seus efeitos comportamentais em modelos animais de TDAH. Um dos modelos animais mais utilizados para o estudo do TDAH é o rato espontaneamente hipertenso (SHR) quando comparado aos ratos Wistar Kyoto (WKY). **Objetivo:** O objetivo deste estudo foi investigar os efeitos comportamentais da acupuntura manual em um modelo animal de TDAH. **Metodologia:** Machos adultos SHR e WKY (200-450g; 2 a 12/grupo) foram separados nos grupos controle de linhagem (NAIVE), controle da contenção (SHAM), acuponto (HT7) e falso acuponto (TAIL) e manipulados por três dias consecutivos para facilitar os tratamentos realizados sem anestesia. O tratamento consistiu em acupuntura manual por 3 minutos nos grupos HT7 e TAIL, 3 minutos somente de contenção no grupo SHAM, e nenhum tratamento no grupo NAIVE. Este protocolo de tratamento foi realizado todos os dias 30 minutos antes das tarefas comportamentais. Os animais passaram por um protocolo de 5 dias consecutivos de tarefas comportamentais nesta ordem: Campo Aberto (CA), Reconhecimento de objetos (RO), Labirinto em Y (LY) e Labirinto em Cruz Elevado (LCE). As análises estatísticas foram feitas por ANOVA de duas vias seguidas do teste pós-hoc de Fisher e os resultados são apresentados como média \pm erro padrão da média. **Resultados:** Este estudo mostrou que a acupuntura no acuponto HT7 aumentou o percentual de locomoção central no teste de CA na linhagem SHR (14.03 ± 0.96) em comparação ao grupo NAIVE da mesma linhagem ($13,56 \pm 0,70$). Acupuntura no ponto HT7 dessa linhagem também diminuiu o tempo de investigação (s) de objetos iguais na primeira fase do teste RO (19.16 ± 2.97) em comparação ao seu grupo NAIVE (20.00 ± 5.34). Na linhagem WKY a acupuntura no ponto HT7 aumentou o percentual de tempo nos braços abertos no LCE (24.91 ± 8.28) em comparação ao seu grupo NAIVE (4.62 ± 1.90) e aumentou também o percentual de visitas no braço novo do LY (42.93 ± 2.65) em relação ao seu grupo NAIVE (32.78 ± 2.52). **Conclusão:** Este estudo sugere que a acupuntura no ponto HT7 causou efeitos tipo ansiolíticos em ambas as linhagens. Além disso, a acupuntura no HT7 melhorou a memória espacial em ratos da linhagem WKY e diminuiu o impacto a novidade nos animais modelos de TDAH.

Apoio financeiro: PROPPI-UFF, CAPES, CNPq, FAPERJ.

Development of the visual system in a hypothyroidism model

Ribeiro, N.C.A.R.¹; Rodrigues Junior, W.S.²; Cardoso L.C.³; Oliveira-Silva P.¹; Serfaty, C.A.
¹Instituto de Biologia/Universidade Federal Fluminense 2 Universidade Estadual do Rio de Janeiro

Thyroid hormone deficiency during postnatal development has been associated with abnormal brain maturation, intellectual deficits and in some cases neurological impairment. We evaluated the development of neural circuits using the visual system as a biological model. Rats were treated with methimazole, an anti-thyroid drug, (0,1% in drinking water) or vehicle from P0 until P14. T3 and T4 hormones were measured by chemiluminescent immunoassay. Anterograde neuroanatomical tracer mapped retinal projections to the superior colliculus. Western blot evaluated the content of NMDAR subunits (GluN1, GluN2B and GluN2A), AMPAR subunit GluR1, PSD 95 and GAD65. Methimazole treatment promoted a reduction on T3 and T4 levels in serum which resulted in marked reduction in the density of retinal axons in the SC in P14. These results were reversed in P28 after treatment withdrawal at P14. Changes in the pattern of binocular segregation in the lateral geniculate nucleus at P14 was also observed. Western blot analysis showed a increased in the content of GluR1 at P7, decreased in the content of GluR1 at P14 , and decreased in the content of GluN2A and PSD95 at P21. These results show that thyroid hormones are important for the refinement and topographic establishment of the retinocollicular pathway. The data are consistent with the fact that the recovery of the hormonal levels reestablish the formation of this topography and the deprivation of the hormones during their critical period of development causes a delay and an immature pattern in the formation of these connections.

INIBIÇÃO DA ENZIMA ADAM10 INTERFERE NA PLASTICIDADE DAS PROJEÇÕES RETINOTECTAIS DE ROEDORES: PAPEL DA APP NA PLASTICIDADE INDUZIDA POR LESÃO

¹Heringer, P.; ¹Vasques, J. F.; ¹Gonçalves, R. G.; ¹Serfaty, C. A., ¹Faria-Melibeu, A. C.

¹Programa de Neurociências, Departamento de Neurobiologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil

A fisiopatologia da Doença de Alzheimer está associada a um desbalanço no processamento proteolítico da APP (Proteína Precursora do Amilóide) resultando em um aumento do peptídeo A β , proveniente da atividade da BACE1, enzima com função β -secretase, e na redução dos níveis da forma solúvel (sAPP α), produzida principalmente pela atividade da ADAM10, principal enzima α -secretase. Diversos estudos relacionam a APP e sAPP α com funções como, sobrevivência celular, sinaptogênese e plasticidade sináptica, ressaltando sua importância fisiológica no desenvolvimento. Nosso grupo vem buscando decifrar o papel da APP na plasticidade das conexões retinocoliculares utilizando o sistema visual de roedores. Nossos dados prévios mostram que os níveis da APP no CS, no modelo de enucleação monocular (EM) sofrem redução transitória, assim como há um favorecimento da via não-amiloidogênica, levando a um aumento dos níveis da sAPP α . Este trabalho visa investigar os efeitos da inibição da ADAM10 no CS de ratos submetidos à EM e sobre os níveis das principais proteínas envolvidas no processamento da APP. O presente estudo obteve a aprovação do Comitê de Ética (n°205/10). Ratos Lister Hooded foram submetidos ao implante intracraniano de ELVAX contendo GI204523X, um inibidor da enzima ADAM10, na concentração de 10 e 20mM ou veículo (DMSO) em DPN7. Em DPN10, os animais, implantados ou não, foram anestesiados e submetidos à EM. Após a cirurgia, a distribuição dos terminais ipsolaterais foi examinada em cortes coronais após a injeção intraocular de HRP em DPN11 ou DPN14. As análises quantitativas e qualitativas dos níveis de diferentes proteínas foram realizadas através da técnica de Western blot (WB). Em DPN11, Animais implantados com o inibidor apresentaram clusters bem delimitados e poucas fibras nas regiões mais dorsais, padrão diferente do observado em animais apenas enucleados, sem implante ou implantados com o veículo (DMSO) que exibiram uma robusta expansão dorsal das fibras retinotectais (DPN11:ENU n=4, DMSO n=3, GI10 n=3, GI20 n=2). Em DPN14, uma semana após o implante de ELVAX, o efeito da inibição ainda pôde ser visto, mostrando que os animais enucleados que receberam o inibidor também apresentaram poucas fibras e clusters delimitados (DPN14:ENU n=1, DMSO n=1, GI10 n=1, GI20 n=1). Também foi visto, por WB, uma diminuição dos níveis de ADAM10 (n=3), e sAPP α (n=2). Nosso trabalho sugere que a proteína sAPP α tenha papel crucial na plasticidade das fibras retinocoliculares, dado que sua inibição restringe a plasticidade induzida pela EM vista nos animais controle. Auxílios: PROPPI-UFF, FAPERJ, CNPQ e CAPES.

P-46

Evaluation of the quality of life of patients with Amyotrophic Lateral Sclerosis using the SF-36

1Oliveira,L; 2 Freitas, M; 3 Sá, SP;

1 Departamento de neurologia HUAP; 2 Departamento de neurologia HUAP; 3 Escola de Enfermagem; UFF, Rio de Janeiro.

The ALS involves complex physical, mental and social issues, it is helpful to have an integrated team of doctors trained in many areas and other health care professionals provide your care. Having an integrated team of doctors and other health care professionals manage your ALS care may prolong your survival and improve your quality of life. Neurodegenerative diseases affect millions of people worldwide. Progressive damage or loss of neurons, neurodegeneration, has serious consequences on mental and physical health of a patient. Despite all the scientific community efforts, there is currently no cure or form of slowing the progression of degeneration. The aim of this investigation was to evaluate of the quality of life of patients with Amyotrophic Lateral Sclerosis using the SF-36. The research presented initially with 20 patients, 8 excluded of the Hospital Universitário Antônio Pedro.

Keyword: quality of life, amyotrophic lateral sclerosis, motor neuron disease, SF-36.

Versão em português

A Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA) questões físicas, mentais e sociais complexas, é útil ter uma equipe integrada de médicos formados em muitas áreas e outros profissionais de saúde fornecer os seus cuidados. Ter uma equipe integrada de médicos e outros profissionais de saúde gerenciar a sua assistência ALS pode prolongar a sua sobrevivência e melhorar a sua qualidade de vida. AS doenças neurodegenerativas afetam milhões de pessoas em todo o mundo. Danos progressivos ou perda de neurônios, neurodegeneração apresentam sérias consequências sobre a saúde mental e física de um paciente. Apesar de todos os esforços da comunidade científica, não há atualmente nenhuma cura ou forma de retardar a progressão da degeneração. O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade de vida de pacientes com ELA o SF-36. A pesquisa apresentada inicialmente com 20 pacientes, 8 excluídos do Hospital Universitário Antônio Pedro

Palavras-chave: qualidade de vida, esclerose lateral amiotrófica, doença do neurônio motor, SF-36

Dopamine regulates CREB nuclear activity via EPAC2 in retinal cells

Caio E. Nogueira, Roberto Paes-de-Carvalho and Renato Socodato

Universidade Federal Fluminense

Introduction: Cell communication in the CNS occurs mainly at synapses where electrical signals in the pre-synaptic terminal are translated in the release of neurotransmitters and activation of post-synaptic receptors. Synapses undergo dramatic morphological and biochemical modifications and such synaptic plasticity occurs in many neurological functions like learning, memory and cognition. Dopamine is an important neurotransmitter in several CNS areas and previous works showed its ability in regulating neurite outgrowth and growth cone motility in retinal neurons. Dopamine regulates two classes of receptors classified as D1-like and D2-like receptors, which are respectively coupled to activation or inhibition of adenylyl cyclase and cAMP accumulation. A classical cAMP/PKA pathway promotes the phosphorylation of the transcription factor CREB. The accumulation of cAMP also stimulates the guanine nucleotide exchange factor EPAC2 which regulates ERK activity through the small GTPase Rap1. Therefore, this pathway could potentially modulate CREB activation. Objectives: The aim of the present work was to study the signaling pathways involved in CREB phosphorylation induced by dopamine in retinal cells. Retinal cells were obtained from 8-day-old chick embryos and cultured for 3 days. Methods: Eight day-old chicken embryos were used for the preparation of retinal cell cultures. CREB activity was assessed by western blotting. Quantitative confocal microscopy was used to determine the ratio of CREB phosphorylation within the nuclei of cultured retinal cells upon dopamine treatment. EPAC2 loss-of-function was achieved using lentiviruses-mediated shRNAs delivery in retinal cells. Results: Cultures were incubated for different times with dopamine and then processed for western blot or fixed for immunocytochemistry and confocal image analysis. Dopamine stimulated CREB phosphorylation at Ser133 in a concentration and time-dependent manner. Maximal stimulation was attained with 1 μ M dopamine after 15 minutes of incubation. The same phosphorylation level was observed after 30 minutes but completely disappeared after 45 or 60 minutes. Confocal microscopy showed that dopamine increased pCREB in cell nuclei and that this effect was reduced by infection of cultures with lentiviruses carrying shRNAs specific for EPAC2. Interestingly, ERK2 phosphorylation also increased in cell nuclei after stimulation with dopamine and could be inhibited by knocking down EPAC2. Moreover, CREB phosphorylation was completely inhibited when ERK2 was knocked down with specific shRNAs. Conclusion: In conclusion, our present data show that dopamine increases CREB phosphorylation in cultured retinal cells and that EPAC2 is part of a signaling pathway promoting activation and migration of ERK2 into the cell nucleus where it activates the transcription factor CREB.

O USO DO NADO GESTACIONAL EM RATAS MODELO DE TDAH COMO ALTERNATIVA DE NEUROPROTEÇÃO NA PROLE

Andréa Tosta¹⁻³, Krista Wartchow¹, João Paulo Almeida dos Santos¹, Eduardo Sanches¹, Caren Bernardi², Carlos Alberto Saraiva Gonçalves¹

1Departamento de Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS jpadossantos@hotmail.com, kristawartchow@hotmail.com, dadasanches@ibest.com.br, casg@ufrgs.br 2Universidade Federal de Ciências da Saúde – UFCSPA carenbernardi@hotmail.com 3Universidade Federal Fluminense tosta.andrea@gmail.com

INTRODUÇÃO: Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH) é uma desordem psiquiátrica caracterizada por desatenção, hiperatividade e impulsividade. Estudos em animais demonstraram que o TDAH provoca atrasos na maturação de reflexos e desordens cognitivas. Os Ratos Espontaneamente Hipertensivos –SHR constituem o modelo experimental mais utilizado. Alguns estudos mostram que a atividade física aumenta as funções cognitivas e a neurogênese hipocampal. **OBJETIVO:** O objetivo deste trabalho é avaliar o efeito neuroprotetor do nado gestacional na prole de ratas SHR sobre parâmetros bioquímicos e comportamentais no hipocampo. **METODOLOGIA:** A partir dos 60 dias ratas prenhas foram submetidas a um protocolo de nado gestacional e divididas em 4 grupos (SHR NADO e SHR SED e KWY NADO e KWY SED), totalizando 10 ratas por grupo. Após a confirmação da gravidez, o protocolo de natação (20 minutos para cada fêmea, diariamente durante toda a gravidez) foi realizada num tanque circular (100cm) encheu-se com (32°C) de água quente (30 cm de altura) durante 20 minutos. Geotaxia negativa, reflexo de endireitamento e testes olfativos foram avaliadas. A partir do 30º dia, foram realizadas labirinto em cruz elevado e testes de campo aberto. No 45º foi realizado a eutanásia e blottings para análise bioquímica. Na análise estatística machos e fêmeas foram analisados juntos. **RESULTADOS:** As análises de desenvolvimento sensorio motor não demonstraram efeito do nado gestacional. Verificou-se que o nado materno não teve efeito sobre o comportamento hiperativo dos animais, porém, promoveu a redução da impulsividade, além de induzir alterações astrocitárias no hipocampo da prole, como o aumento das concentrações de GFAP e da captação de glutamato. Entretanto, não houve melhora nos demais parâmetros comportamentais de hiperatividade e de memória de curta duração, que se relaciona com os níveis de BDNF hipocampal que também não foram alterados. **CONCLUSÃO:** Podemos concluir que apesar de ter evidência do nado gestacional sobre a captação de glutamato e envolvimento dos astrócitos na neuroproteção mais estudos devem ser realizados para finalizar este trabalho.

A VISÃO PODE REFLETIR O HUMOR? O ESTRESSE NEONATAL MODULA O DESENVOLVIMENTO DO SISTEMA DOPAMINÉRGICO RETINIANO

1Souza A. M., 1Araujo E. G.

1 Departamento de Neurobiologia, UFF, Niterói, RJ – Brasil.

Já na década de 1950 a investigação apontava que a privação materna neonatal poderia influenciar o desenvolvimento de forma duradoura. Harlow, pioneiro nestas observações, descreveu filhotes de macaco privados da mãe como retraídos e pouco inclinados para a exploração visual e ambiental. Somado a isso, a investigação clínica assinalava uma clara relação entre adversidades no início da vida e predisposição para psicopatologias como a depressão. Neste contexto, a investigação neuroquímica veio contribuir evidenciando o desenvolvimento de um fenótipo de predisposição para depressão relacionado a privação materna. Inicialmente as atenções se voltaram para regiões límbicas e cognitivas. Contudo, mais uma vez a investigação clínica veio demonstrar algo: Não apenas o humor e a cognição estão alterados nos casos da depressão endógena, mas a função visual também. Pessoas com depressão endógena apresentam redução na atividade elétrica retiniana e na capacidade para visualizar contraste. Sendo sugerida uma redução na sinalização dopaminérgica. Com base nesta hipótese, privamos ratos da linhagem Lister Hooded das mães durante 7 dias, 6 horas cada dia, iniciando no dia 2 pós-natal até o dia 8 pós-natal. Durante a privação os animais foram mantidos em temperatura controlada de 37°C. No dia 30 pós-natal os animais foram sacrificados, as retinas e o colículo superior foram dissecados e alocados em tampão de amostra para a extração de proteínas. Estas foram desnaturadas e dosadas pelo método de Bradford. Todo o procedimento foi feito de acordo com o comitê de ética e pesquisa animal da UFF (projeto # 00196/10). Os níveis do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), interleucina-1 β (IL-1 β) e o receptor (IL-1R), tirosina hidroxilase (TH) e do transportador de dopamina (DAT) foram avaliados através da técnica de Western blot. Na análise estatística empregamos o teste t para dados não paramétricos. Os resultados indicam que a privação materna induz um aumento de 37% nos níveis de IL-1 β (n=16/p= 0,0242) e de 55% em IL-1R (n=16/p= 0,0022) na retina dos animais em p30. Encontramos uma redução de 30% nos níveis de TH (n=16/p= 0,0162) e 24.8% nos níveis de DAT (n=16/p= 0,0261). Houve um aumento de 50% dos níveis de BDNF (n= de 16/p= 0,0002). No colículo sup. observamos redução de 40% nos níveis de TH (n=8/p= 0,0149). Aumento nos níveis de BDNF sugere uma possível resposta adaptativa do tecido. Alterações nos níveis de TH e DAT indicam alterações na atividade e/ou na concentração de fibras dopaminérgicas. Esses dados mostram que o estresse neonatal, além dos efeitos descritos em outras regiões cerebrais, pode atuar no desenvolvimento do sistema visual. Corroborando que além do humor, a visão também pode ser afetada pela privação materna, por ter suas estruturas afetadas.

RECEPTORES CANABINÓIDES MODULAM OS NÍVEIS EXTRACELULARES DE d-SERINA E GLUTAMATO NO CÓRTEX PRÉ-FRONTAL DE CAMUNDONGOS

Rangel, I.F.¹, Oliveira-poleto, A. L.¹, Panizzutti, R.¹ 1

Laboratório de Neurociência e Aprimoramento Cerebral, Instituto de Ciências Biomédicas, UFRJ, Rio de Janeiro

Introdução: Disfunções na neurotransmissão têm sido relacionadas com a fisiopatologia da esquizofrenia, incluindo alterações na função dos receptores de glutamato do tipo N-metil-D-aspartato (NMDA) e na neuromodulação por endocanabinóides. Nesse contexto, foram encontrados níveis reduzidos de d-serina, um co-agonista do receptor NMDA, o que pode contribuir para uma hipofunção destes receptores. Outros estudos observaram níveis elevados dos endocanabinóides no líquido cerebro espinal de indivíduos com esquizofrenia. Por outro lado, pouco se sabe sobre a modulação dos receptores de NMDA pelos endocanabinóides. Objetivos: Investigar se o sistema endocanabinoide modula os níveis extracelulares dos aminoácidos neurotransmissores glutamato e D-serina no córtex pré-frontal in vivo. Métodos: Administramos o agonista de receptores canabinóides AEA (6 mg/kg), o antagonista dos receptores canabinóides do tipo 1 AM251 (3 mg/kg) ou o veículo (5% etanol, 5% água destilada, 90% salina) através de injeção intraperitoneal em camundongos machos da linhagem C57Bl/6 (18-28g). Coletamos amostras do dialisado do líquido extracelular através de uma membrana de microdialise inserida em uma cânula-guia implantada por cirurgia estereotáxica no córtex pré-frontal. O dialisado foi coletado de 30 em 30 minutos sendo AEA (n=4) ou AM251 (n=2) ou veículo (n=4) administrado no minuto 90. Os aminoácidos neurotransmissores foram medidos por cromatografia líquida de alta performance (HPLC). Os resultados são mostrados pela mediana e seu intervalo interquartil (IQR). Resultados: Observamos uma tendência de queda nos níveis de d-serina no córtex pré-frontal 60 min após a administração de AEA (-29,54%, IQR= 52,90) que foi mantida até 180 min após a injeção (-33,32%, IQR= 60,45), sendo que a administração do AM251 levou a um efeito oposto no mesmo período (+39,06%, IQR= 168,39). Houve uma tendência de queda dos níveis de glutamato até 60 min após a administração das drogas (AEA: -24,61%, IQR= 34,40; AM251: -26,62%, IQR= 9,11), revertida em seguida pelo AM251 (180min: -0,03%, IQR= 37,35) e mantida pela AEA até 180 min após a injeção (180min: -33,43%, IQR= 38,00; 210min: -36,27%, IQR= 43,26; 240min: -36,97%, IQR= 42,19). Quando administrado veículo, há uma leve tendência de queda nos níveis de d-serina (-25,43%, IQR= 24,90) e glutamato (-16,92%, IQR= 15,58) 30 min após a injeção, revertidos em seguida (+32,85%, IQR= 56,76 e +1,10%, IQR= 93,80; respectivamente). Conclusão: Esses dados sugerem uma possível modulação da liberação do glutamato e da d-serina pelos receptores canabinóides do córtex pré-frontal.

Apoio Financeiro: FAPERJ, CNPQ, CAPES.

P-51

Toxoplasma gondii acquired infection leads to sustained cerebral microcirculation damage, increased leukocyte-endothelial adhesion and BBB breakdown in mice

Vanessa Estado¹, Tally Chalolachvilli Mergener², Edwards Frazão-Teixeira², Fabiana Gomes¹, Eduardo Tibiriçá¹, Helene Santos Barbosa², Daniel Adesse²

1) Laboratório de Investigação Cardiovascular, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz 2) Laboratório de Biologia Estrutural, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz

Toxoplasmosis is a worldwide spread zoonosis caused by *Toxoplasma gondii*, an obligate intracellular protozoan that affects all warm-blooded animals, including humans. *T. gondii* persists during the chronic phase of the disease in the form of tissue cysts, mainly in brain and skeletal muscle. Cognitive and behavioral alterations were already reported in infected hosts. The brain has a highly regulated microenvironment, mainly maintained by the Blood-Brain Barrier (BBB), composed by endothelial cells, astrocytes and pericytes. Damage to BBB has been shown in various disease models, accompanied with inflammatory cells infiltration to the brain parenchyma and neurotoxicity. Increased expression of adhesion molecules have been described in brains of *T. gondii*-infected mice, suggesting an increase in leukocyte rolling/adhesion, resulting in neuroinflammation. The purpose of this study is to analyze the cerebral microcirculation during acute and chronic infection of mice by *T. gondii* (ME49 strain). Using Laser Speckle, we observed that infected animals had a significant reduction in cerebral blood flow after 10, 40 and 180 days of infection, corresponding to acute and chronic stages of the disease. Intravital microscopy imaging revealed that infected animals showed a progressive cerebral capillary rarefaction, with 30, 43 and 17% less spontaneously perfused capillaries, at 10 ($p < 0.01$), 40 ($p < 0.001$) and 180 dpi ($p < 0.01$). Infection increased drastically the number of rolling and adhered leukocytes, especially at 40 dpi. Although leukocyte adherence normalized at 180 dpi, rolling was found to be equally increased. Vascular response to Acetylcholine (Ach) was impaired in infected animals. While uninfected animals showed increase in arteriolar caliber, chronically infected animals showed vasoconstriction after Ach stimulus. Evan's blue dye injection revealed that BBB permeability was increased at 40 dpi, consistent with a neuroinflammatory state, as revealed by all other parameters analyzed in this work. Sulfadiazine treatment was able to restore cerebral microcirculatory damages at 40 dpi. Our data indicate that *T. gondii* infection induces capillary rarefaction and dysfunction of the vascular endothelium cells, as a result of neuroinflammation, leading to BBB breakdown and neurodegeneration. These results will contribute to a better understanding of the mechanisms involved in the pathogenesis of cerebral toxoplasmosis.

Financial support: CNPq (Edital Universal), PAPES VII/Fiocruz.

ATIVIDADE E EXPRESSÃO DIFERENCIADAS DE GLAST EM CULTURA DE ASTRÓCITOS CORTICAIS DO MODELO ANIMAL DE TDAH

Souza-Marques, R.1, Fernandes, A.1, Cardoso, F.3, Valli, T. R.1, Freitas, H. R.2, Reis, R. A. M.2, Ferreira, G. C.3, Manhães, A. C.4, Santos-Pereira, M.,5, Kubrusly, R. C. C1

1 Laboratório de Neurofarmacologia, MFL, UFF, Niterói, Brasil. 2 Laboratório de Neuroquímica, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, UFRJ, Brasil. 3 Laboratório de Bioenergética, Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis, UFRJ, Brasil. 4 Laboratório de Neurofisiologia, IBRAG, UERJ, Rio de Janeiro, Brasil. 5 Laboratório de Neurofisiologia Molecular, Departamento de Fisiologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP, Ribeirão Preto, Brasil

Introdução: O Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH) é caracterizado por sintomas como desatenção, hiperatividade e impulsividade. O córtex frontal (CF) é a principal região acometida no TDAH, e a hipótese principal é a hipofunção dopaminérgica, tanto em humanos, quanto no modelo animal da doença, o rato espontaneamente hipertenso (SHR). Porém, novos achados mostram uma disfunção na homeostase sináptica glutamatérgica na região do CF. **Objetivo:** Caracterizar as diferenças na atividade e expressão dos transportadores de aminoácidos excitatórios (EAAT's) na região do CF entre animais SHR e seu controle Wistar (WIS). **Métodos:** Foi utilizado CF de ratos machos SHR e WIS p25 para analisar expressão de EAAT's por Western Blot (WB). Foram preparadas culturas de CF de animais SHR e WIS em p0 ou p1, de 20 dias (C20), enriquecidas em astrócitos para ensaios de WB, captação e liberação de [3H]-D-Aspartato (D-asp). Os resultados foram analisados através da análise de variância e testes t, com pós-teste Bonferroni e expressos como média \pm SEM. Os resultados foram estatisticamente significativos quando $p \leq 0,05$. Projeto aprovado por CEUA 001/2013. **Resultados:** O transportador do tipo EAAT 1 mostrou-se menos expresso em animais SHR em comparação com o WIS (u.a.) em tecido ($0,82 \pm 0,09$ e $1,33 \pm 0,04$; $n=3$) e em cultura ($0,27 \pm 0,01$ e $0,49 \pm 0,01$; $n=2$). O SHR teve a captação de D-asp menor que o WIS [$F(2, 20) = 11,7$, $p = 0,0004$], e esta foi bloqueada na ausência de Na^+ e na presença de DL-TBOA ($100 \mu M$) [$F(1, 20) = 4,27$, $p = 0,05$]. No ensaio de liberação de D-asp, o SHR mostrou valores basais quase 50% maiores que o WIS [$F(1, 13) = 30$, $p = 0,0001$], entretanto, frente a um estímulo com L-aspartato ($2 mM$), os níveis de D-asp liberados aumentaram, porém em menor amplitude no SHR [$F(1, 13) = 153,9$, $p < 0,0001$]. **Conclusão:** O SHR apresentou menor expressão e atividade do transportador EAAT 1 em comparação ao WIS, e estas alterações ocorrem na glia. O SHR apresentou maior nível de liberação basal de D-asp em comparação ao WIS e, portanto, respondeu menos ao estímulo feito com L-aspartato.

Apoio financeiro: CNPQ, FAPERJ e Proppi-UFF.

MECANISMOS NEUROQUÍMICOS ENVOLVIDOS NA PLASTICIDADE INDUZIDA PELA EXPOSIÇÃO LOCAL À NICOTINA NA VIA RETINOCOLICULAR DE RATOS: MODULAÇÃO DA PROTEÍNA PRECURSORA AMILÓIDE

Gonçalves, R.G.J., Serfaty, C.A., Campello-Costa, P., Faria-Melibeu, A.C.

Departamento de Neurobiologia, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro.

A Proteína Precursora Amilóide (APP) é uma glicoproteína amplamente expressa em todo sistema nervoso, onde influencia ativamente diferentes etapas do desenvolvimento neuronal. Nós mostramos anteriormente que a regulação dos níveis de APP e de seus metabólitos nas camadas visuais do colículo superior (CS) ocorre em correlação temporal com o período crítico para o refinamento topográfico das aferências retinianas, sugerindo o envolvimento desta proteína com os eventos que levam à formação do padrão maduro de conectividade da via retinocolicular. Demonstramos ainda que a exposição local à nicotina entre os dias pós-natal (DPN) 7 e 14 provoca uma robusta arborização dos terminais retinianos e aumenta, concomitantemente, os níveis proteicos de α APPs nas camadas visuais do CS. Ambos os efeitos são transitórios e requerem a atividade de receptores NMDA. Neste trabalho, investigamos os mecanismos neuroquímicos envolvidos na plasticidade induzida pela nicotina na via retinocolicular. O projeto obteve a aprovação do CEPA sob o número 00205/10. No DPN7, ratos Lister Hooded foram submetidos ao implante intracranial de elvax contendo nicotina (100mM) ou veículo (PBS). As análises quantitativas e qualitativas dos níveis e/ou atividade de diferentes proteínas foram realizadas através das técnicas de Western blot e imunohistoquímica no DPN14. As análises estatísticas foram feitas através de teste-t não-pareado. Nossos resultados mostraram que o tratamento com nicotina promoveu um aumento na atividade da ADAM10, principal enzima com atividade α -secretase em neurônios ($n=4$; $p=0,005$) e não alterou os níveis de BACE1 (β -secretase) ($n=6$; $p=0,3109$) e presenilina1 (γ -secretase) ($n=4$; $p=0,3213$) nas camadas visuais do CS, indicando uma modulação positiva da via não-amiloidogênica de processamento da APP, que coincide com o aumento nos níveis de α APPs observado anteriormente. Em relação às vias de sinalização intracelulares, a exposição à nicotina induziu um aumento na atividade da ERK ($n=3$; $p=0,038$) e da Akt ($n=10$; $p=0,0332$) e uma redução na atividade da GSK3 β ($n=6$; $p=0,0023$) nas camadas visuais do CS. Alterações pré-sinápticas foram detectadas pelo aumento nos níveis de sinapsina 1 ($n=3$; $p=0,0476$) e VGluT2 ($n=1$), e pós-sinápticas, pelo aumento no conteúdo das subunidades GluN1 ($n=4$; $p=0,04$) e GluN2B ($n=3$; $p=0,047$), indicando um aumento na densidade de contatos, na neurotransmissão e na potenciação sináptica. Em conjunto, nossos dados sugerem que a nicotina potencia a atividade sináptica na via retinocolicular e indicam que a α APPs possa atuar como um sinal capaz de influenciar o crescimento dos aferentes retinianos.

CAPES, CNPq e PROPPI-UFF.

HUMAN TDP-43 IN FAMILIAL AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS – IN SILICO ANALYSIS AND MOLECULAR DYNAMICS OF K263E VARIANT

1Salerno, J.A.C.; 1Silvestre, V.A.; 1De Mesquita, J.F.

1 - Bioinformatics and Computational Biology Group, UNIRIO, RJ, Brazil

INTRODUCTION: Variants of TDP-43 were reported in patients with familial Amyotrophic Lateral Sclerosis (fALS), which is a late-onset and progressive neurodegenerative disease characterized by loss of both upper and lower motor neurons. These variants act enhancing TDP-43 cytoplasmic mislocalization – causing loss of nuclear normal functions and gain of cytotoxicity – and overexpressing its full-length form, impairing clearance and extending its half-life. TDP-43 aggregates are believed to be related to the pathogenesis of fALS, frontotemporal dementia, and other diseases. K263E variant is attributed to the phenotype of strongest pathological ubiquitination of TDP-43. **OBJECTIVES:** Evaluate the impact of non-synonymous Single Nucleotide Variants (nsSNV) on TDP-43 and understand the role of K263E variant on fALS development. **METHODS:** In silico functional analysis of 42 nsSNVs linked to fALS was performed using 13 different algorithms to evaluate the impact on protein structure and stability. TDP-43 model structures were created using both ab initio and comparative modeling methods, with I-Tasser, Phyre2 and Robetta algorithms. The structures were optimized through refinement protocols and validated by algorithms such as PROCHECK and RAMPAGE. To confirm models' accuracy, they were aligned with experimentally obtained fragments of TDP-43, accessible at Protein Data Bank (PDB). The in silico mutagenesis was performed using VMD 1.9.3 mutator plugin. Both wild-type and mutant models undergone molecular dynamics simulations using GROMACS package version 5.0.7 with AMBER-99SB force field. **RESULTS AND DISCUSSION:** All algorithms failed to predict all 42 variants as deleterious, but all them were predicted to be harmful by at least of the algorithms. Most of mutations are inside Glycine-rich domain, which is not considered a highly conserved region. K263E mutation leads the protein to increase its overall dimension and the solvent accessible area; seems to affect protein stability and increase the flexibility, particularly of C-terminal Glycine-rich end. **CONCLUSION:** The variants affect its structure and functionality what provides further clues on TDP-43 role in fALS, supporting further research on novel molecular diagnosis, drug design and precision medicine.

Financial Support: UNIRIO, FAPERJ, CNPq.

Efeito do tratamento com Ouabaína sobre os níveis de receptores muscarínicos M3 em células da retina de ratos mantidos em cultura

^{1,2}Michele Rodrigues dos Santos, ^{1,2}Amanda Candida da Rocha Oliveira, ^{1,2}Elizabeth Giestal-de-Araujo.

1Programa de Pós-Graduação em Neurociências da Universidade Federal Fluminense;
2Departamento de Neurobiologia, Instituto de Biologia da Universidade Federal Fluminense, Niterói – RJ, Brasil

O tratamento com baixas doses de ouabaína (OUA) é capaz de impedir a morte das células ganglionares (CGR) após axotomia em culturas de 48 horas. Dados prévios demonstraram que o tratamento com OUA (3nM), induz um aumento de IL-4 em 15min, 24h e 48h. Recentemente o nosso grupo demonstrou que o tratamento com IL 4 promove um aumento dos níveis de receptores muscarínicos M3 após 48h de tratamento. Baseados nesses resultados, objetivamos investigar os níveis de receptores M3 em culturas tratadas com OUA por diferentes intervalos de tempo. Ratos da linhagem Lister Hooded (P0-P2) foram mortos, suas retinas dissecadas e as células dissociadas e plaqueadas na densidade de 10^5 cels/cm₂ em placas de Petri. As culturas foram mantidas em meio 199 (CT) ou na presença de meio e OUA numa atmosfera de 5% CO₂ /95% ar à 37°C. Os níveis de M3 foram determinados pela técnica de Western Blot. Os procedimentos experimentais com animais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFF (00294/12). Nossos resultados mostram que o tratamento com OUA modula os níveis de M3, reduzindo esses níveis no tempo inicial de 15 minutos ($-21,30 \pm 1,266$), aumentando os mesmos nos tempos de 45 minutos ($41,47 \pm 8,151$), 24 horas ($18,82 \pm 9,133$) e voltando a reduzir no tempo final de 48 horas ($-17,04 \pm 5,238$). Esses resultados demonstram que o tratamento com OUA é capaz de modular o tempo dessa produção do receptor, indicando a possível correlação entre o aumento da IL-4 com o aumento do M3.

IL-13 modula o efeito proliferativo do EGF em células da retina de ratos mantidas em cultura: Possível envolvimento da p38 e do BDNF

1Teixeira, T.D, 1,2Braga, L.E.G.,1Araujo, E.G.

1Departamento de Neurobiologia, Instituto de Biologia, UFF, Niterói, RJ. 2Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Instituto Biomédico, UFF, Niterói, RJ.

O fator de crescimento epidermal (EGF) e a interleucina 13 (IL-13) pertencem a grande família das citocinas e são capazes de modular diferentes tipos de respostas em diferentes populações celulares. Trabalhos anteriores do nosso laboratório demonstraram que tanto o EGF como a IL-13 são capazes de aumentar a proliferação de células da retina de ratos mantidas em cultura por 48h. Entretanto, o co-tratamento com EGF e IL-13 induz uma diminuição do efeito proliferativo de EGF. O objetivo deste trabalho foi investigar as vias de sinalização envolvidas no efeito proliferativo dessas duas moléculas tanto em tratamentos isolados como em conjunto dando especial ênfase à proteína p38 e ao fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF). Ratos Lister Hooded (P0-P2) foram mortos por decapitação, suas retinas dissecadas, incubadas com tripsina e as células dissociadas mecanicamente com uma pipeta Pasteur. As células foram plaqueadas ($1,0 \times 10^5$ células/cm²) em placas de Petri previamente tratadas com poli-L-ornitina. Os níveis de BDNF e de p38 foram determinados através da técnica de Western blot. Os procedimentos experimentais foram previamente aprovados pela Comissão Ética de Pesquisa Animal da UFF (00124/09). Nossos dados demonstram que o tratamento com IL-13 (1ng/ml) induziu um aumento de ($50,8\% \pm 6,445$) nos níveis de p38 e o tratamento com EGF aumentou os níveis de p38 em ($99,5\% \pm 11,17$) após 48h em cultura. No entanto, as culturas tratadas com EGF e IL-13 simultaneamente, apresentaram um aumento de ($48,9\% \pm 5,042$) nos níveis de p38. Com relação aos níveis de BDNF nossos resultados demonstram que o tratamento com EGF aumentou os níveis de BDNF em ($64,13\% \pm 9,520$), mas o tratamento tanto com a IL-13 ($20,03\% \pm 2,727$) como com EGF e IL-13 não alterou os níveis desta neurotrofina ($18,03\% \pm 10,49$). Em conjunto nossos resultados sugerem que a p38 e o BDNF modulem a resposta proliferativa do EGF em culturas de células da retina de ratos.

Suporte financeiro: CAPES, CNPq, FAPERJ, PROPPI AND PRONEX.

Isoformas da PKC da classe convencional modulam os níveis de receptores muscarínicos M5 em culturas de células da retina de ratos neonatos

Thaylini Querino dos Santos Conceição², Luís Eduardo Gomes Braga², Elizabeth Giestal de Araujo¹, Aline Araujo dos Santos²

¹Departamento de Neurobiologia, Instituto de Biologia, UFF, Rio de Janeiro ²Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Instituto Biomédico, UFF, Rio de Janeiro

Introdução : Resultados anteriores do laboratório demonstraram que o PMA, um ativador da PKC, modula o fenótipo colinérgico de células da retina de ratos neonatos mantidas em cultura, incluindo uma mudança na expressão de receptores muscarínicos. O objetivo deste trabalho foi analisar os níveis do receptor muscarínico M5 (M5R) durante o desenvolvimento pós natal da retina e nas culturas de células da retina tratadas com PMA 50ng/ml por diferentes intervalos de tempo. **Métodos:** Realizamos culturas de células da retina de ratos neonatos (P2) da linhagem Lister- Hooded. As retinas foram plaqueadas em placas de Petri de 35mm a uma densidade de 105cells/cm². Culturas controle e tratadas com PMA foram mantidas em estufa a 37°C por 45min, 24h ou 48h. Amostras de tecido retiniano de ratos no período pós-natal nas idades de 0 a 30 (P0-P30) também foram obtidas. Os níveis M5R foram determinados pela técnica de Western blot. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa da UFF (CEUA nº 642/15). **Resultados:** A análise dos níveis M5R no tecido retiniano demonstram que há um aumento em P2 e uma diminuição gradual até P14, retornando em P30 aos níveis observados em P0 (P0 100%, P2 220,5%, P7 201,6%, P14 165,2%, P30 104,5% n=3). O tratamento das culturas com PMA por 45 min (CT 100%,PMA 165,1%n=3), 24h (CT100%,PMA 165,1% n=3) e 48h (CT 100%,PMA 174,2% n=3) aumenta os níveis do M5R. A presença de GO6976 13nM, inibidor das PKCs da classe convencional, bloqueia o aumento dos níveis do M5R induzido pelo tratamento com PMA em 24h (CT 100%, PMA 154,17%, GO13nM 108,92%, PMA+GO 55,03% n:3). **Conclusão:** Esses resultados demonstram que há um aumento transitório nos níveis de M5 na retina de ratos durante período pós-natal. Esse aumento é mimetizado pelo tratamento com PMA, sendo dependente da ativação de isoformas da PKC da classe convencional.

EFICÁCIA DOS ANTIPSICÓTICOS EM CAMUNDONGOS DO MODELO ESPONTÂNEO DE AGRESSIVIDADE (MEA)

Renata Machado Felipe¹, Luanda Yanaan Hoppe¹, Tânia Cremonini de Araújo-Jorge ¹, Marcos José de Azevedo ¹, Jerônimo Diego de Souza Campos ², Célia Martins Cortez ³, Gabriel Melo de Oliveira ², Viviane Muniz da Silva Fragoso ¹.

1 Laboratório de Inovações em Terapias, Ensino e Bioprodutos, IOC/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ; 2 Laboratório de Biologia Celular, IOC/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ; ³ Departamento de Matemática Aplicada, UERJ/Rio de Janeiro, RJ.

Introdução: A agressão é definida como um comportamento hostil que resulta em lesões, morte ou danos psicológicos. A agressividade associada a vários distúrbios psiquiátricos pode ser controlada pelo uso de haloperidol e a risperidona. **Objetivos:** Obter e avaliar o comportamento agressivo de camundongos do MEA, antes e após tratamento com antipsicóticos. **Métodos:** O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto Oswaldo Cruz sob o número de licença (011/2014). Os camundongos machos da linhagem Swiss webster (n = 96) foram divididos aleatoriamente em 16 grupos (A1-A16) e realizados testes comportamentais: etograma, teste de suspensão da cauda (TSC) e teste do campo aberto (TCA) antes e após o reagrupamento dos animais. Na 10ª semana de vida, parte dos animais foi reagrupada como harmônico (Har), placebo (PLA), agressores (AgR) e subordinados (AgD) e não reagrupados (NR). O tratamento foi realizado por 10 dias consecutivos na 16ª semana de vida, com veículo nos indivíduos AgR, PLA e doses crescentes de haloperidol (0,5 mg - 1,0 mg / kg) e risperidona (0,2 - 0,4 mg / kg) nos AgR. Os testes comportamentais foram realizados novamente antes do tratamento (BTT), no 10º dia do tratamento (ATT) e 10 dias após a descontinuação do tratamento farmacológico (PTT). A análise estatística foi realizada pelo teste de Mann-Whitney não paramétrico (SPSS Software versão 8.0), sendo $p \leq 0,05$. **Resultados:** Na avaliação do haloperidol e da risperidona, o etograma em BTT, os animais AgR demonstraram alto número de ataques nos indivíduos subordinados: 63 e 92, respectivamente. Entretanto, o grupo tratado com haloperidol, no ATT houve queda em 63% da agressividade dos AgR (6) e aumento do grupo Pla de 17 para 27 ataques. A risperidona também promoveu queda do nível de agressividade dos animais AgR, de aproximadamente 95%, reduzindo a agressão à 04 ataques. Na medição da extensão da lesão, o tratamento com o haloperidol, no ATT ($2,3 \pm 0,4$), os AgD apresentaram redução significativa da extensão das lesões em comparação ao BTT ($3,8 \pm 0,5$). No tratamento com a risperidona houve diminuição significativa da lesão dos AgD (BTT: $3,5 \pm 0,5$ cm²; ATT: $1,5 \pm 0,2$ cm²) quando comparado com os animais dos grupos Pla (BTT: $4,0 \pm 0,5$; ATT: $3,8 \pm 0,4$ cm²). **Conclusão:** Os antipsicóticos foram eficazes para reverter o fenótipo agressivo, reduzindo o número de ataques dos animais agressivos a extensão das lesões dos subordinados. **Dados publicados:** <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2015.12.010>.

Apoio Financeiro: FAPERJ e FIOCRUZ.

P-59

O envolvimento da interleucina 4 e do BDNF no aumento da sobrevida de células ganglionares da retina induzido pelo carbacol em culturas de células da retina

Sula Vieira Bitencourt, Marcelo Gomes Granja, Aline Araujo dos Santos Elizabeth Giestal de Araujo

Departamento de Neurobiologia, Instituto de Biologia, UFF, RJ

Dados anteriores do nosso laboratório demonstram que tanto o tratamento com carbacol (CBO), um análogo não hidrolizável de acetilcolina, como o tratamento com a IL-4 aumenta a sobrevida das células ganglionares da retina; sendo este efeito mediado pelos receptores muscarínicos M1 e pela ativação dos receptores de BDNF (TrkB). O objetivo do nosso trabalho foi analisar o envolvimento do BDNF e interleucina 4 no efeito trófico do carbacol na sobrevida das células ganglionares da retina mantidas em cultura por 48h. Métodos: As células ganglionares foram identificadas através do transporte retrógrado de peroxidase (HRP) previamente injetada no colículo superior dos ratos, da linhagem Lister Hooded, recém nascidos (P0 a P2). Após 16h da injeção, os animais foram sacrificados, suas retinas dissecadas, as células isoladas e plaqueadas em lamínulas previamente tratadas com poli-L-ornitina. Após 4h de cultura algumas lamínulas foram fixadas e as demais culturas tratadas com carbacol 25 μ M ou apenas receberam o meio de cultura. A peroxidase foi revelada pelo método de Mesulan. Os procedimentos experimentais foram previamente aprovados pela Comissão Ética de Pesquisa Animal da UFF (00124/09). Nossos resultados demonstram que tanto a neutralização do BDNF 0,25 μ g/ml (CT4h – 100%, CT48h – 53,76% \pm 5,299, CBO – 84,77% \pm 5,692, Anti BDNF- 56,93% \pm 5,956, CBO+Anti BDNF – 59,59% \pm 8,896) como da IL-4 0,2mg/ml (CT4h – 100%, CT48h – 53,76% \pm 5,299, CBO – 84,77% \pm 5,692, Anti IL-4- 59,14% \pm 4,040, CBO+Anti IL-4 – 58,93% \pm 5,181) induzem uma perda do efeito trófico do carbacol na população de células ganglionares da retina de ratos. Conclusão: O efeito do carbacol na sobrevida de células ganglionares é dependente da interleucina 4 e do BDNF. Esses resultados também indicam um “crosstalk” entre a sinalização colinérgica e diferentes citocinas, na sobrevida das células ganglionares da retina.

P-60

Neuroprotective Potential of Sulfated Polysaccharides from Red Seaweed *Gracilaria cornea* in Parkinson's model in rats

¹FROTA, A.F., ¹SOUSA, R.M., ¹SOARES, V.V.M., ¹ANDRADE, R.M., ²FROTA, F.J., ¹SILVA JÚNIOR, P.N., ³AGUIAR, L.M.V.¹BENEVIDES, N.M.B.

¹Department of Biochemistry and Molecular Biology - Federal University of Ceará - UFC-CE. ²University of Fortaleza – CE. ³Physiology and Neuroscience Laboratory, Federal University of Ceará.

Introduction: Sulfated Polysaccharides (SP) agarane type, obtained from the marine macroalgae *Gracilaria cornea*, has demonstrated central and peripheral action, anti-inflammatory effect, and absence of toxicity in vivo, which indicates a possible neuroprotective effect and a potential application in studies related to neurological disorders. However, analysis of the effects from oral administration of these polysaccharides are still required. Objectives: The present study aims to analyze the possible effects of oral administration of sulfated agar of *G. cornea* on the behavior and brain levels of nitrite in hemiparkinsonian rats. Methods: This study is identified under number 45/13 by Ethics Committee of Animal Research of the UFC. The alga was collected on the Flecheiras beach, Trairí-Ce Brazil. SP was obtained by enzymatic digestion and precipitation with a cationic reagent. Male Wistar rats (250-300 g) were randomly divided in five groups (n = 7 animals per group). Rats were anesthetized and submitted to unilateral intrastriatal injection of 6-OHDA (21 µg) or Saline (0.9%) (Sham group). 24 hour after, animals were treated with SP 0.3; 3.0 or 30 mg/Kg or saline (0.9%) per gavage, daily by 14 days, and maintained under ad libitum feeding conditions. At 14st day, all animals were submitted to behavioral tests (Open-field test, Cylinder test and Rotation test induced by apomorphine [3 mg/Kg, i.p.]). After, animals were euthanized and striatum was removed and used for neurochemical analysis. ANOVA Bonferroni test was used for statistical analysis. Results: In Open-field test, SP (0.3 mg/Kg) increased the locomotor activity (40.2±5.8 number of crossing lines), in relation to 6-OHDA group (34.2±3.4 number of crossing lines). In SP 0.3 mg/Kg group, the treated animals appeared to perform (p<0.05) better in the cylinder test than those in control group (3.2±0.9 and 0.3±0.1% use of left paw, respectively). Rotational test SP (0.3; 3.0 and 30 mg/Kg) decreased (p<0.001 and p<0,01) number of rotations in 94, 73 and 45%, respectively, in comparison with 6-OHDA group. Analysis of nitrite/nitrate revealed a return to basal conditions in parkinsonian's rats treated with SP 0.3 mg/Kg in comparison Sham group. SP (0.3; 3.0 and 30 mg/kg) reduced levels of nitrite/nitrate (0.9±0.1; 1.0±0.08 and 1.1±0.1, respectively) but did not reach statistical significance with 6-OHDA group (1.3±0.1). Conclusions: SP exhibited neuroprotective effects against locomotor, neurochemical disorders induced by 6-OHDA in rats.

Support by CAPES and CNPq.

P-61

Autofagia e a sobrevivência das células ganglionares da retina: o papel do receptor de adenosina A1

Mayra Santos da Silva¹, Gustavo de Rezende Corrêa¹, Elizabeth Giestal-de-Araujo¹

¹Departamento de Neurobiologia, Programa de Neurociências, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói – Rio de Janeiro – Brasil

A Interleucina 6 (IL-6) é uma citocina pleiotrópica envolvida em muitas funções durante o desenvolvimento. Trabalhos prévios do nosso grupo demonstraram, *in vitro*, que a IL-6 é capaz de evitar a morte de células ganglionares da retina (CGR) após axotomia e que essa sobrevivência é dependente da autofagia. Outro trabalho do nosso grupo demonstrou que esse efeito trófico também se mostrou dependente da ativação do receptor de adenosina A1 (A1R). Avaliar o papel do A1R no efeito trófico da IL-6 sobre as CGR mediado pela autofagia. Todos os procedimentos realizados nos animais obtiveram a aprovação do comitê de ética e utilização animal (CEUA) da Universidade Federal Fluminense (projeto # 00124/09). Utilizamos ratos neo-natos (P0-P2) da linhagem Lister Hooded. Realizamos uma cultura de células mistas da retina para obtenção das amostras e depois tratamos essas culturas com o agonista seletivo do A1R, o CHA, na concentração de 1nM nos tempos de 45 minutos e 48 horas. As amostras foram utilizadas na técnica de Westernblot para avaliação dos níveis dos componentes pertencentes à via autofágica (Beclina 1 e LC3) e também do componente modulador da via, o fator de transcrição NF-kB, em gel de poliacrilamida. Na análise estatística, a intensidade das bandas foi analisada pelo programa ImageJ e expressas em percentual do controle. Os resultados foram expressos na forma de histograma e na apresentação das bandas reveladas na membrana. Os experimentos foram representados graficamente utilizando o programa GraphPad Prism. Os valores demonstrados representam a média \pm erro padrão. As diferenças entre dois grupos foram analisadas pelo teste-t Student. Os dados foram considerados significativos quando $p < 0,05$. A ativação do A1R alterou os níveis de LC3 reduzindo-os em 45 min (CT=100%; LC3=70% \pm 3,78 n=3) e os aumentando em 48 hr (CT=100%; LC3=203% \pm 33 n=3). Provocou um aumento nos níveis de Beclina 1 em 45 min (CT=100%; BECN1=194 \pm 26 n=3), que se mantiveram elevados em 48 horas (CT=100%; BECN1=142 \pm 10,97 n=3). Em relação ao NF-kB, a ativação do A1R gerou uma redução em seus níveis em 45 min (CT=100%; NF-kB= 70,1% \pm 9,02 n=3) e uma tendência de aumento em 48 hr (CT=100%; NF-kB=212% \pm 9 n=2). Baseados em nossos resultados podemos observar que a ativação do receptor de adenosina A1 nas células da retina foi capaz de alterar os níveis de componentes envolvidos diretamente na via autofágica como a BECN1 e a LC3, e indiretamente, como o fator de transcrição NF-kB. Esses dados, portanto, nos permite sugerir um possível participação do receptor de adenosina A1 no efeito trófico da IL-6 sobre as CGR mediado pela autofagia.

CAPES, FAPERJ, CNPQ e Fundação Araújo

BLOCKADE OF FAAH ENZYME ALTERS PHOTORECEPTOR CELLS NUMBER AND CELL DEATH IN A MURINE MODEL OF RETINITIS PIGMENTOSA

Magalhães, C. F, Senos, D. L and Frigel-Madeira, L.

Department of Neurobiology, Fluminense Federal University, Rio de Janeiro.

Retinitis pigmentosa is an inherited disease manifested by progressive degeneration of photoreceptors cells, which can cause blindness and does not have cure yet. Among the molecules with neuroprotective activity, cannabinoids became known for its beneficial effects in the central nervous system diseases, more specifically in retinal injuries. The endocannabinoid system is compound by two principal ligands (anandamide and 2-arachidonoylglycerol), receptors for these lipids, synthesis and degradation enzymes and carriers. Among the degradation enzymes, the Fatty Acid Amide Hydrolase (FAAH) is responsible for anandamide catabolism producing arachidonic acid and ethanolamine. Our work aimed to modulate pharmacologically the anandamide levels in a murine model of retinitis pigmentosa, the Pde6 β rd10 (rd10), in order to prolong the survival of photoreceptors cells. This project agrees with the Ethical Principles for Animal Experimentation and obtained approval for implementation by Ethics Committee on Animal Use (CEUA) under protocol number 679/2015. Thus, we performed daily treatment with intraperitoneal injections of 0.3mg/kg URB597, an inhibitor of FAAH. The treatment began when the animals opened their eyes and finished at 19 or 25 postnatal days (P19 or P25, respectively). After, the photoreceptor cells amount were evaluated by immunofluorescence for recoverin and to analyze cell death we used a TUNEL assay. All the quantitative data was perform by GraphPad Prism v.6.01 using unpaired Student t test with Welch's correction and the p values minors than 0.05 was considered significantly different. The number of photoreceptor cells increased, in the treated animals (496.5 ± 2.6) when compared which control (331.5 ± 35.6) at P19 and treated animals (320.0 ± 43.5) versus control (280.4 ± 36.9) at P25. The same occurred with the thickness (mm²) of the outer nuclear layer (ONL), where photoreceptor cells are found, which showed an increase about 50% compared to controls animals at P19 (control= 0.0017 ± 0.003 , URB597= 0.0025 ± 0.003), but this effect was lost at P25 animals (control= 0.0015 ± 0.001 , URB597= 0.0016 ± 0.002). Concurrent with the photoreceptors cells number increase, was also seen a decrease of cell death in the ONL at P25 animals (control= 0.010 ± 0.0005 , URB597= 0.019 ± 0.002). Interestingly, in P19 animals the number of apoptotic cell remained equal (control= 0.023 ± 0.004 , URB= 0.019 ± 0.007). We conclude that anandamide may provide a neuroprotector effect, increased the photoreceptor number and decrease the cell marker for apoptosis in the ONL. Therefore, the endocannabinoid system can be an interesting target of research in the context of retinitis pigmentosa.

The funding support was made by Capes, FAPERJ, CNPq and Propri-UFF.

EFEITO DO MEIO CONDICIONADO DOS MACRÓFAGOS NAS CÉLULAS DE SCHWANN HUMANAS

1,2Rodrigues, A. C. D. P., 1Athaide, M. M., 1Pinheiro, R. O., 3Petito, R.B., 2Amadeu, T. P.

1Laboratório de Hanseníase, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 2Departamento de Patologia Geral, Laboratório de Imunopatologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 3Departamento de Patologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói.

Introdução: A hanseníase é a principal causa de neuropatias não traumáticas do mundo. O *Mycobacterium leprae* (ML) infecta as células de Schwann (CSs) e os macrófagos do nervo periférico e pele. As CSs infectadas podem sofrer degeneração e a persistência da micobactéria leva a inflamação crônica com proliferação e quimiotaxia de macrófagos, a transdiferenciação miofibroblástica de CSs, além da secreção de citocinas e fatores de crescimento. Estes geram o acúmulo excessivo de componentes de matriz extracelular (MEC), levando à incapacidade e deformidade física em pacientes com hanseníase. **Objetivo:** Investigar o efeito in vitro do meio condicionado de macrófagos nas culturas de CSs humanas da linhagem ST88-14. **Métodos:** O estudo possui autorização do Comitê de Ética e Pesquisa do Instituto Oswaldo Cruz (nº 538/09). Células mononucleares do sangue periférico de doadores saudáveis foram cultivadas na presença de fator estimulador de monócitos-granulócitos (GMCSF) ou de fator estimulador de monócitos (MCSF) (50 ng/mL), por 6 dias, para a diferenciação dos macrófagos. Os macrófagos foram estimulados ou não com ML (10 µg/mL) por 24h para a coleta dos sobrenadantes, que foram usados nas culturas de CSs por 24h. A secreção de PDGF-BB (fator de crescimento derivado de plaquetas) foi avaliada no meio condicionado de macrófagos, estimulados ou não com ML por ELISA (n=4). Também foi analisada a secreção/deposição de MEC pelas CSs estimuladas ou não com o meio condicionado dos macrófagos por ELISA indireto (n=4). Os resultados foram analisados no Graphpad Prism (teste Kruskal-Wallis). **Resultados:** Os sobrenadantes de macrófagos GMCSF não estimulados pelo ML apresentaram concentrações maiores de PDGF-BB em comparação com os sobrenadantes de macrófagos não diferenciados, porém estimulados com ML (p<0,05). Além disso, verificamos a diminuição da secreção de PDGF-BB no sobrenadante de células GMCSF estimuladas pelo ML quando comparadas com o sobrenadante de células GMCSF sem estímulo pelo ML. A análise de MEC mostrou que o ML induz à secreção/deposição de fibronectina nas CSs estimuladas com meio condicionado de macrófagos GMCSF e MCSF. **Conclusão:** Podemos sugerir que o fator fibrótico PDGF-BB é secretado por macrófagos e que o ML esteja induzindo sua secreção. Além disso, os sobrenadantes dos macrófagos com ML podem estar modulando a secreção/deposição de fibronectina pelas CSs. Esperamos trazer uma melhor compreensão do distúrbio que impede a regeneração neural em pacientes com hanseníase.

Apoio: FAPERJ; IOC/FIOCRUZ; CNPq.

INTERAÇÃO DO CLONAZEPAM E HALOPERIDOL ÀS ALBUMINAS PLASMÁTICAS

1Fragoso, V.M.S*, 2Coura, C.P.M., 1Paulino, E.T., 3Valdez, E.C.N., 1Felippe, R.M., 4Silva, D., 2,4Cortez, C.M.

1Laboratório de Inovações em Terapias, Ensino e Bioprodutos, IOC/FIOCRUZ, Mangueiras/RJ, 2Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas, UERJ, Rio de Janeiro/RJ, 3Universidade Estácio de Sá, Rio de Janeiro/RJ, 4Departamento de Matemática Aplicada, UERJ, Rio de Janeiro/RJ.

Introdução: O clonazepam e o haloperidol são agentes psicotrópicos indicados para distúrbios psiquiátricos. Ambos se ligam a albumina humana (HSA) e bovina (BSA). A ligação à albumina sérica destas drogas desempenha um papel importante na farmacocinética e nos seus efeitos clínicos. O triptofano é um fluoróforo natural presente na albumina e emite fluorescência quando excitado por luz UV, na gama de 280-295nm. Objetivos: O objetivo deste estudo foi quantificar a ligação do clonazepam e do haloperidol com as albuminas do soro bovino e humano através da aplicação de um modelo computacional baseado no conhecimento de espectrofluorimetria, matemática e estatística. Métodos: No protocolo experimental para a determinação da supressão da fluorescência, foi utilizado 2 mL de solução de albumina de 6 μ M (em tampão fosfato, pH 7,4) com adição de um volume crescente de alíquotas de 1 μ L de 5 ng/mL de solução estoque de haloperidol e clonazepam à 25 °C. Os espectros de fluorescência foram registados na gama de 300-400 nm, e o comprimento de onda de excitação foi de 290 nm. Ambas as larguras de emissão e de excitação das bandas foram obtidas em 2,5 nm. Foram aplicadas fórmulas matemáticas para análise do intervalo de concentração das drogas utilizadas e da variação da intensidade de fluorescência emitida por cada resíduo de triptofano de BSA e HSA, durante a interação com as drogas e para o haloperidol a análise de Stern-Volmer plot. Resultados: A intensidade da supressão da fluorescência do clonazepam é maior para BSA em comparação a HSA. A proporção da ligação de clonazepam/albumina é igual a 1:100, o fármaco ansiolítico suprime cerca de 25% e 50% da fluorescência emitida por HSA e BSA, respectivamente. Em relação ao haloperidol, pela razão molar de haloperidol/albumina de 1: 100, a taxa de supressão calculado foi de 2,4 (\pm 0,3) e 3,6% (\pm 0,2)% em HSA e BSA, respectivamente, para a relação de 1/25 utilizado, a taxa calculada foi de 5,9 (\pm 1,2) e 7,4 (\pm 1,1). Conclusão: Os resultados sugerem que o local de ligação do haloperidol e do clonazepam estão localizados no subdomínio IB do HSA e BSA. A constante de supressão da fluorescência da albumina pelo haloperidol foram da ordem de 10^6 , cerca de 100 vezes superior ao estimado para a clorpromazina e sulpirida. Foi observada grande interação entre o clonazepam e as albuminas, que confirmam a informação da literatura em relação à alta afinidade deste com a proteína do plasma.

Apoio Financeiro: IOC/FIOCRUZ e UERJ.

TRATAMENTO QUIMIOTERÁPICO ANTINEOPLÁSICO – UMA ABORDAGEM DOS EFEITOS NEUROTÓXICOS ADVINDOS DO USO DA CISPLATINA

1 DOMINGUES, G. D., 2 EHRHARDT, A.

1. Acadêmica do curso de Biomedicina, 2. Docente do Curso de Biomedicina – ULBRA – Carazinho/RS

INTRODUÇÃO Sintetizada pela primeira vez em 1893 por Alfred Werner, e descoberta sua ação antineoplásica na década de 1960, a Cisplatina foi um divisor de águas no tratamento anticâncer, tendo sido utilizada para esse fim pela primeira vez em 1971. A neurotoxicidade advinda deste tratamento é cada vez mais frequente nos pacientes, e é um fator restritivo para o sucesso do mesmo, já que se torna limitante à dose administrada, pois, não há terapêutica específica ou profilática, sendo possível apenas o combate aos sintomas. **OBJETIVOS** Através deste estudo objetivou-se demonstrar a importância da identificação e atenuação dos efeitos adversos advindos do tratamento. **MÉTODOS** O presente estudo trata-se de uma revisão bibliográfica. A busca dos artigos foi realizada nas bases de dados SCIELO e PUBMED, sendo incluídos artigos publicados a partir do ano de 2000 e que apresentassem os seguintes cruzamentos: síndrome neurotóxica, compostos de platina e quimioterápicos, bem como seus correspondentes em língua inglesa. **RESULTADOS** Pacientes que passam por ciclos completos de quimioterapia com a Cisplatina demonstram de forma clinicamente evidente sua neurotoxicidade, sendo sua severidade influenciada pela duração da terapia e a dose cumulativa do fármaco. Esta toxicidade se apresenta principalmente através de neuropatias periféricas, que acabam afetando o tratamento e a sua qualidade de vida. Donzelli et al. (2004) e McWhinney, Goldberg e McLeod (2009) em suas pesquisas, relatam a neurotoxicidade periférica como o principal efeito colateral dose-limitante dos compostos derivados de platina. McWhinney et al. (2009) ainda traça o perfil de toxicidade gerada por este fármaco, caracterizando a neuropatia principalmente por parestesias dolorosas e dormências, que ocorrem geralmente nos primeiros ciclos da droga, e a perda da sensação de vibração e ataxia após vários ciclos de tratamento. Ele também ressalta que se não tomadas as devidas precauções, a droga induz a nefrotoxicidade grave, além de ototoxicidade e hematotoxicidade. O mecanismo da neurotoxicidade não está elucidado por completo, entretanto parece estar ligado a perda da integridade dos axônios nos neurônios sensoriais, que são particularmente susceptíveis aos danos causados pelo fármaco. **CONCLUSÃO** A utilização dos compostos de platina é de suma importância no tratamento de vários tipos de câncer, porém as adversidades impostas pela terapêutica tendem a ser limitantes e influenciar de forma negativa na qualidade e duração da resposta ao método, sendo assim, torna-se imprescindível que haja a atenuação dos efeitos colaterais tóxicos que este provoca no paciente, através de sua detecção por meios acessíveis e que torne possível o combate a estas intercorrências.

COMO ANDA A QUALIDADE DO SONO DOS ACADÊMICOS DO CURSO DE MEDICINA EM UMA CIDADE DO PARANÁ?

Sônia Trannin de Mello¹, Departamento de Ciências Morfológicas da Universidade Estadual de Maringá¹; Bruna Jordana de Mello², Acadêmica do curso de Medicina da Universidade Estadual de Maringá (bolsista PIBIC-AF)²

Uma boa noite de sono permite que muitas funções orgânicas e psicológicas ocorram, como reparação celular e tecidual, liberação de hormônios, crescimento corporal, plasticidade neural, consolidação da memória e a aprendizagem. Por outro lado, a privação do sono pode contribuir para diversas alterações tais como insônia, distúrbios cardiovasculares e gastrointestinais, obesidade, depressão, ansiedade, estresse, desregulação dos ritmos metabólicos e endócrinos. As demandas acadêmicas dos estudantes de medicina comumente interferem no ciclo sono e vigília, comprometendo substancialmente a qualidade de vida, o aprendizado e a memória. Nosso objetivo foi avaliar a qualidade do sono de acadêmicos do primeiro ano de medicina de uma Universidade Estadual na cidade de Maringá-PR. Utilizamos o índice de qualidade de sono de Pittsburgh (PSQI-BR), que permite análise da qualidade subjetiva do sono, latência, duração, eficiência, disfunções e distúrbios. Nossa amostra foi composta por 31 estudantes, que receberam os termos de anuência para participação na pesquisa (COPEP N° 01220012.9.0000.0104) e as devidas orientações sobre os objetivos. Os questionários foram aplicados no início do 4º bimestre e todos o levaram para responder em casa, devendo devolvê-lo em 1 semana. Foi necessário uma nova abordagem para definição de um novo prazo para a entrega, já que a não devolução no prazo, ocorreu, segundo eles, por excesso de atividades aliado ao cansaço diário. Dentro do novo prazo estipulado todos entregaram os questionários respondidos. Destes, 7 (22,6%) apresentaram boa qualidade de sono, com um aluno pontuando 2 no PSQI e dois deles pontuaram 4. Obtiveram valores indicativos de qualidade de sono ruim 19 (61,3%) estudantes, sendo que 2 alunos pontuaram 10 pontos e 1 pontuou 9. Finalmente, 5 (16,1%) se enquadraram na categoria distúrbio de sono, com 4 pessoas pontuando 11 no PSQI e uma, 12 pontos. Os resultados chamam a atenção para a necessidade de intervenções destinadas à promoção de ações preventivas e de autocuidado sobre a importância do sono para o bem estar físico, psicológico e cognitivo. Fica também evidente que aspectos dos ritmos circadianos e do ciclo sono e vigília devem integrar os processos de diagnósticos psicopedagógicos do curso de medicina, que comumente tem levado em consideração apenas os conteúdos da grade curricular, caminhando, a nosso ver, na contra mão do ensino, já que situações potencialmente estressoras como a dessincronização crônica causada pelas alterações no ciclo sono/vigília, aumentam os níveis de cortisol interferindo na capacidade de concentração e memória, entre outros.

Apoio Financeiro: PIBIC-AF

P-67

EFEITO DA EXPOSIÇÃO GESTACIONAL AO ETANOL NA INTERAÇÃO ENDOTÉLIO-ASTRÓCITOS NO CORTEX CEREBRAL EMBRIONÁRIO

1Siqueira, M.S & 1Stipursky, J.

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

O consumo de álcool no período pré-natal está associado à indução de danos no sistema nervoso central (SNC). Dentre as anomalias do espectro de desordens fetais alcoólicas, a Síndrome Alcoólica Fetal (SAF) é considerada a mais grave. O correto desenvolvimento do SNC está atrelado ao processo de vascularização por angiogênese, seguido do estabelecimento da barreira hematoencefálica (BHE). A BHE, constituída primariamente pelo endotélio vascular associado à astrócitos, controla o transporte de moléculas entre o sangue e o parênquima. Os astrócitos são capazes de modular a sobrevivência, maturação e sinaptogênese neuronal. Assim, a exposição gestacional ao etanol poderia impactar diretamente o desenvolvimento vascular, maturação astrocitária, culminando com déficits na formação das sinapses neuronais e, conseqüentemente o estabelecimento de déficits cognitivos observados em portadores da SAF. Neste trabalho caracterizamos os déficits endoteliais induzidos pela exposição ao etanol e os impactos deste evento no potencial sinaptogênico astrocitário. Culturas primárias de células endoteliais de microcapilares cerebrais murinos, MBEC(CEUA 067-16) e culturas da linhagem humana HBMEC foram tratadas com etanol 50mM por 2 horas e processadas para imunocitoquímica e in cell Western para análise da proteína transportadora de glicose do tipo 1 (GLUT-1), da proteína associada à resistência múltipla a drogas 1 (MRP1), e da enzima Catalase. Adicionalmente, culturas de MBEC tratadas ou não por 2h com etanol foram após o tratamento, lavadas e incubadas por 24hs adicionais em meio DMEM/F12 para obtenção do meio condicionado (MC). O MC endotelial foi submetido à análise Proteômica (R&D), para avaliação do perfil de moléculas relacionadas à angiogênese. Avaliamos também o efeito do MC endotelial no potencial sinaptogênico astrocitário por RT-qPCR. As células endoteliais expostas ao etanol apresentaram redução de 35% dos níveis de GLUT-1 e aumento de 40% dos níveis de Catalase, sem alterar os níveis MRP1. O perfil de proteínas relacionadas à angiogênese no MC foi alterado pelo etanol, levando ao aumento dos níveis de 17 proteínas (citocinas e proteínas de matriz extracelular). Ainda, o MC de células endoteliais expostas ao etanol promove um desbalanço na expressão dos genes astrocitários GFAP, TGF- β 1, SPARC, HEVINA e Trombospondina. Nossos dados sugerem que a exposição do endotélio ao etanol promove disfunções na fisiologia dessas células, que por sua vez podem alterar o potencial sinaptogênico astrocitário. Estes resultados poderão contribuir para o entendimento de mecanismos relacionados à morfogênese das redes vasculares cerebrais e aos déficits sinaptogênicos observados no contexto da SAF.

FAPERJ e International Society for Neurochemistry (ISN).

ESTUDO DO DESENVOLVIMENTO RETINOTÓPICO VISUAL SUBCORTICAL E DE MARCADORES COLINÉRGICOS E GLUTAMATÉRGICOS EM MODELO DE DEGENERAÇÃO DE RETINA(RDS)

1Vieira, B. Fernanda., 2 Menezes, D. Grasielle., 3 Campello-Costa, Paula.

Departamento de Neurobiologia, Universidade Federal Fluminense-RJ.

Introdução: O processamento visual tem início na retina, mais precisamente nas células fotorreceptoras, que transmitem os sinais visuais através das células ganglionares para alvos subcorticais como núcleo geniculado lateral dorsal (NGLd) e colículo superior (CS). A retinose pigmentar (RP) refere-se a um grupo de doenças genéticas hereditárias que causam à degeneração dos fotorreceptores e do epitélio pigmentar. Inicialmente o paciente apresenta perda da visão periférica e progressivamente perde da visão central. O modelo animal avaliado neste trabalho, foi o camundongo RDS (slow retinal degeneration), estes apresentam a perda progressiva do fotorreceptor nas duas primeiras semanas pós-natal, sendo o pico de degeneração no dia pós-natal 18 (DPN18). O eletroretinograma destes animais apresenta-se sempre diminuído e se torna ausente em 4 semanas. Objetivos: Avaliar as projeções retinofugais em animais RDS comparando-os aos animais controles em diferentes etapas do desenvolvimento e avaliar a maturação sináptica na retina e no colículo superior, através da expressão e conteúdo de subunidades de receptores glutamatérgicos do tipo NMDA (GluN1, GluN2b); além do EGR, um gene relacionado a atividade neural. Metodologia: Animais em diferentes idades pós-natal receberam injeção intravítrea de HRP, um traçador neuroanatômico ou foram eutanasiados para análise de conteúdo proteico por western blotting. Resultados: Nossos resultados demonstraram que as projeções retinofugais são normalmente formadas e mantidas incluindo na idade adulta, mesmo após a total degeneração do fotorreceptor, sugerindo que a manutenção prolongada destas vias possa contribuir para manutenção da ativação cortical. A avaliação de EGR mostrou um aumento no seu conteúdo na retina dos animais RDS em DPN14 e no colículo em DPN14 e 60, sugerindo que a despeito da redução de fotorreceptores, a atividade elétrica na retina está preservada por circuitos intrínsecos. A análise dos receptores glutamatérgicos mostrou que não há diferença no conteúdo da subunidade GluN1 entre os diferentes grupos animais e uma diminuição de GluN2b na retina em DPN14. Por outro lado, na mesma idade, o conteúdo de GluN2b (sinapses imaturas) no colículo apresenta um aumento transitório na sua expressão. Conclusões: Os dados sugerem que os animais RDS apresentam um atraso no desenvolvimento das projeções retinotectais, o que poderia contribuir para a manutenção da ativação cortical em animais jovens porem não na fase adulta.

Apoio financeiro: Capes.

THE EFFECT OF OUABAIN ON RETINAL GANGLION CELL SURVIVAL DEPENDS ON CASPASE-1 ACTIVATION AND IL-1BETA RELEASE

Oliveira, A.C.R ; von-Held Ventura, J.S; Gonçalves-de-Albuquerque, C.F; Castro-Faria-Neto, H.C; Giestal-de-Araujo, E.

1Programa de Pós-Graduação em Neurociências da Universidade Federal Fluminense.
2Departamento de Neurobiologia, Instituto de Biologia da Universidade Federal Fluminense, Niterói – RJ, Brasil.

Treatment with 3nM ouabain increases retinal ganglion cells (RGC) survival in mixed retinal cell cultures by activation of PKC, Src, EGF receptor, PKC delta and JNK. IL-1 beta which is cleaved by caspase-1 mediates this effect and ouabain induces IL-1 beta release at 24h reaching a peak at 48h. The aim of this study is to clarify the mechanisms by which ouabain regulates IL-1 beta synthesis and release and the signaling pathways activated by this cytokine involved in RGC survival. Neonatal rats were killed, retinae dissected, treated with trypsin and mechanically dissociated. Cultures were maintained in 5%CO₂-95% air in 37°C in 199 medium and/or Ouabain (3nM). Caspase-1 levels were determined by Western blot analysis and RGC survival evaluated after 48h in vitro. Experimental procedures were approved by Ethical Commission of Animal Research-UFF (00124/09). We previously demonstrated that ouabain treatment induces an increase of 50% in IL-1 beta levels after 15min while at 24h and 48h the levels decreased 60%. Activated Caspase-1 levels increase 30% at 15min (CT 100% OUA 30,16±2,18 n=3) and 75% at 45min (CT 100% OUA 75,13±8,5 n=3), but decreased 23% at 24h (CT 100% OUA 23,13±2,1 n=3), and 11% at 48h (CT 100% OUA 11,56±3,6 n=3). The blockage of PKC (chelerythrine chloride-1,25µM), Src (PP1-1 µM) and EGF receptors (AG1478-2,5 µM) abolished IL-1 beta effect on RGC survival. Our results show the involvement of caspase 1 activation and IL-1 beta release following ouabain treatment. Moreover, most of the pathways activated by IL-1 beta to induce RGC survival are the same activated by ouabain. Taken together these results indicate an involvement of IL-1 beta in the trophic effect of ouabain on RGC.

Financial support: CAPES, CNPq, FAPERJ, PRONEX, PROAES, PROPPI.

DIMINUIÇÃO NA REDE NEURONAL ENTÉRICA NO COLÓN DE CAMUNDONGOS MODELO DA DOENÇA DE PARKINSON INDUZIDO PELO TRATAMENTO COM 6-OHDA

Valdetaro¹, Luisa; Thomasi¹, Beatriz; Fernandes¹, Ana Carolina; Mussauer¹, Amanda; Nascimento¹, Gustavo; Serfaty¹, Claudio; Melibeu¹, Adriana; Campello-Costa¹, Paula; Ribeiro¹, Manuel Gustavo; Moura-Neto^{2,3}, Vivaldo; Tavares-Gomes¹, Ana Lúcia

¹Departamento de Neurobiologia, Universidade Federal Fluminense, RJ; ²Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal Rio de Janeiro, RJ; ³Instituto Estadual do Cérebro Paulo Niemeyer, RJ

Introdução: A doença de Parkinson(DP) é uma das principais doenças neurodegenerativas, caracterizada por uma disfunção motora decorrente da degeneração da via nigroestriatal dopaminérgica. Na DP, outras áreas do Sistema Nervoso são afetadas, como o Sistema Nervoso Entérico(SNE). O SNE é responsável por diversas funções gastrointestinais, como o controle da motilidade. Alterações da peristalse podem induzir constipação, o principal sintoma não-motor da DP. A injeção estriatal de 6-hidroxidopamina(6-OHDA), uma droga capaz de causar degeneração da via nigroestriatal dopaminérgica, é um modelo experimental utilizado para estudar a DP. **Objetivo:** O objetivo deste estudo é investigar a rede neuronal entérica do cólon de animais modelo da DP e o trânsito gastrointestinal nestes animais. **Métodos:** Os procedimentos experimentais descritos aqui foram aprovados pelo Comitê de Ética de Pesquisa com Animais da UFF sob o número de protocolo 617. Um grupo de camundongos C57BL6 machos foi submetido à cirurgia estereotáxica para administração unilateral de 6-OHDA no estriado. Outro grupo de camundongos operados não-lesionados foi usado como controle. Após uma semana, foi realizado o teste de constipação para determinar a porcentagem de água nas fezes. O cólon dos animais foi coletado e dividido nas porções proximal e distal. Foi realizada a técnica de imunofluorescência, onde foram utilizados os anticorpos anti-B-tubulina III, um marcador neuronal clássico, e anti- α -sinucleína, um marcador pré-sináptico. A análise estatística foi feita pelo teste t não-pareado, onde consideramos dados significativos quando $p < 0,05$. **Resultados:** Houve diminuição da marcação para B-tubulina III nas camadas mucosa e muscular do cólon dos animais 6-OHDA. A marcação para α -sinucleína revelou uma redução significativa em ambas as camadas do cólon dos animais modelo da DP. A avaliação do teste de constipação revelou uma porcentagem reduzida de água nas fezes dos animais tratados em relação ao controle. **Conclusões:** Os resultados indicam que a rede neuronal entérica apresentou um número reduzido tanto de células, quanto de terminais pré-sinápticos. Dessa forma é possível que a administração estriatal de 6-OHDA possa promover uma ruptura da citoarquitetura neuronal entérica, podendo assim estar envolvida com a dismotilidade gastrointestinal observada neste modelo da DP.

Apoio financeiro: FAPERJ, PROAP, PROPPI, CNPQ e CAPES.

METODOLOGIAS ATIVAS: JOGO DE NEUROCIÊNCIAS BÁSICA

Larissa Renata de Oliveira Bianchi

Docente de anatomia humana- Universidade Estadual de Maringá

Introdução: Para que ocorra a aprendizagem é indispensável que o novo saber faça sentido para o aluno e que os conceitos já existentes interajam com os novos em um processo de (re)construção do conhecimento. O ensino por meio de jogos possibilita uma integração em grupo e por meio da motivação dos estudantes, desenvolve o aprendizado por etapas gradualmente mais difíceis, estimula a formação emocional e intelectual, possibilita troca de ideias e experiências, dentre outros. Objetivo: O presente trabalho trata do tema Neurociência em jogos, na busca de estimular o aluno e possibilitar o aprendizado de forma efetiva. Métodos: Nas metodologias ativas, uma das maneiras de ensinar é por jogos. Após os alunos de graduação terem acesso ao conteúdo de neuroanatomia (prática e teórica). O jogo “Barreira”, que trata da função da barreira hematoencefálica, permite dois participantes um de cada lado do tabuleiro. De um lado esta o Sistema Nervoso Central e do outro a corrente sanguínea. Cada peão corresponde a uma substância (nicotina, cafeína, etanol, dopamina, serotonina, adrenalina). Seguindo as normas pré-estabelecidas, cada jogador pode fazer um único movimento por rodada, escolhendo andar um espaço ou colocar uma barreira. Para conseguir jogar é necessário um conhecimento prévio do conteúdo. Resultados: Foi visível a interação do alunos de graduação com o método, bem como o entendimento do conteúdo e discussão a cerca do tema. O ensino por meio de jogos possibilitou uma integração e por meio da motivação dos estudantes desenvolveu o aprendizado por etapas gradualmente mais difíceis, estimulou a formação intelectual e a troca de ideias e experiências. Serviu também para motivar os alunos a cooperarem e, com isso, desenvolver competências de trabalho em grupo, cooperação para solução de problemas e espírito colaborativo, uma grande dificuldade da geração atual que esta chegando e saindo da universidade. Conclusões: Os jogos são ferramentas auxiliadoras no processo de ensino. Pode-se perceber que a aprendizagem é a transformação na capacidade de construir e defender ideias, onde o professor se torna também um aluno quando busca novas metodologias de forma a alcançar melhores resultados em sala de aula.

DIMINUIÇÃO DA IMUNOMARCAÇÃO PARA S100B NO COLÓN DE CAMUNDONGOS MODELO DA DOENÇA DE PARKINSON INDUZIDO PELA ADMINISTRAÇÃO DE 6-OHDA

1Nascimento, G.; 1Thomasi, B.; 1Valdetaro, L.; 1Mussauer, A.; 1Fernandes, A.C.M.N.; 1Serfaty, C.A.; 1Campello, P.; 1Melibeu, A.C.; 1Ribeiro, M.G.; 2-3Moura-neto, V.; 1Tavares Gomes, A.L.

1Departamento de Neurobiologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, RJ. 2 Instituto de ciências biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ; 3 Instituto Estadual do Cérebro Paulo Niemeyer, RJ.

Introdução: Atualmente, a literatura vem apresentando a Doença de Parkinson (DP) também como uma doença entérica, devido aos sintomas gastrointestinais apresentados por mais de 80% dos pacientes. O funcionamento adequado do trato gastrointestinal é ditado diretamente pelo sistema nervoso entérico (SNE), composto principalmente por células gliais entéricas (GE) e neurônios entéricos. A GE é colocada pela literatura como tendo um papel central na homeostase do trato gastrointestinal, avaliado através de seus marcadores, como a proteína S100 β . Estudos recentes sugerem envolvimento da proteína S100 β em processos inflamatórios ocorridos no intestino, ressaltando a importância da GE na homeostase intestinal. Objetivos: O objetivo deste projeto é investigar se camundongo tratado com 6-OHDA, modelo da DP, apresenta alteração na imunomarcação para S100 β , um importante marcador glial. Métodos: Camundongos C57Bl6 machos adultos foram submetidos à administração unilateral de 6-OHDA no estriado por cirurgia estereotáxica para indução do modelo da DP. Outro grupo de animais operados não lesionados foi utilizado como controle. Após as dadas sobrevidas (1, 2 e 4 semanas), o cólon dos animais foi removido e processado para técnica de imunofluorescência para o marcador glial S100 β , uma proteína localizada no citoplasma, onde sua função está relacionada à regulação da estrutura do citoesqueleto, participando também da homeostase do Ca²⁺. Os procedimentos experimentais descritos foram aprovados pelo Comitê de Ética de Pesquisa com Animais da UFF no projeto “Caracterização enzimática do estriado de camundongos submetidos à lesão por 6-OHDA: estudo da Acetilcolinesterase e da Colina acetil-transferase em modelo animal da doença de Parkinson” sob o número de protocolo 617. Resultados: Na camada mucosa nas três sobrevidas avaliadas (1, 2 e 4 semanas) a imunomarcação para S100 β não sofreu alterações comparando animais controle e tratados. Já na camada muscular nota-se uma aparente diminuição na imunomarcação para S100 β nos animais tratados com 6-OHDA. Conclusão: Os dados demonstram que a diminuição na imunomarcação para S100 β se encontra na camada neuromuscular, que compreende o gânglio mioentérico e as camadas musculares. Diante do exposto, é necessário continuarmos a investigar se a GE está envolvida com processos inflamatórios na camada neuromuscular, possivelmente mediado pela proteína S100 β . Apoio: FAPERJ, PROAP, PROPPI, CNPQ e CAPES.

EFEITO DE WIN 55,212-2 SOBRE A PROLIFERAÇÃO CELULAR INDUZIDA POR ATP NA RETINA DE AVES EM CULTURA

1Diniz, G.O.F; 2Calaza, K. C, 2Ventura, A.L.M; 1França, G.R.

1Departamento de Ciências Fisiológicas - UNIRIO, Rio de Janeiro. Departamento de Neurobiologia-UFF, Rio de Janeiro.

Na retina de galinha, em fases mais tardias do desenvolvimento, o ATP estimula a proliferação de precursores retinianos, através da ativação de receptores P2Y, de forma dependente das vias da PLC, MAPK e PI3K/Akt. Este efeito é detectado durante uma janela específica do desenvolvimento e a medida em que essas células interrompem o ciclo de mitoses, fatores solúveis são liberados no meio extracelular, e inibem a proliferação celular induzida por ATP (Int. J. Devl. Neuroscience. 25; 2007. 283–291). Já o sistema canabinoide, foi demonstrado que agonistas dos receptores CB1 podem aumentar a fotossensibilidade e estimular a liberação de dopamina da retina de cobaias. Os receptores CB2, nas células de Müller, protegem neurônios da exposição ao excesso de glutamato, aumentam a proliferação de células da microglia e reduzem a liberação de TNF e produção de radicais livres. Este trabalho tem como objetivo investigar a ação do canabinoide sintético WIN 55,212-2 sobre a proliferação e morte de células de retina de galinha em cultura e a sua relação com o efeito proliferativo do ATP. Este trabalho possui aprovação em comitê de ética: CEUA-UNIRIO 2016.02. Culturas mistas de células de retina foram obtidas de embriões de galinha White-Leghorn em E7. As células foram semeadas em placas de petri estéril na densidade de 4160 células por mm² e cultivadas por 24 horas em estufa à 37°C com de 5% de CO₂. O tratamento com WIN 0,5 uM, durante 24 horas, inibiu significativamente (p<0,05) a proliferação celular induzida por ATP 100 uM (% de efeito em relação ao controle ± erro padrão. Controle = 100 ± 0,63; ATP 100 uM = 212 ± 32,23; WIN 0,5 uM = 63,83 ± 7,91; ATP + WIN = 120,2 ± 11,87. n = 3). A redução da incorporação de timidina determinada pela exposição das células ao WIN 55,212-2 pode ter sido resultado de morte celular. Neste sentido, culturas de células de retina de galinha em E7C1 foram tratadas com concentrações crescentes de WIN 55,212-2 (0,5, 1,0 e 5,0 µM) durante 24 horas, e submetidas ao ensaio de viabilidade celular (MTT). Apenas as concentrações de 1,0 e 5,0 uM de WIN foram capazes de reduzir significativamente (p<0,01) a viabilidade celular (% de efeito em relação ao controle ± erro padrão. Controle = 100 ± 2,3; WIN 0,5 µM = 98 ± 7,0; WIN 1 µM = 64 ± 2,3; WIN 5,0 µM = 40 ± 2,6. n = 4). Nossos resultados sugerem que WIN 55,212-2, um agonista misto de receptores canabinoides CB1 e CB2, inibe a proliferação celular induzida por ATP. Além disso, sugerimos também que este efeito não aconteça pela morte de progenitores retinianos.

Apoio financeiro: CAPES, FAPERJ, CNPQ.

EFEITO DE WIN 55,212-2 SOBRE A PROLIFERAÇÃO E A VIABILIDADE DE CÉLULAS DE RETINA DE AVES EM CULTURA

1Dabdab, Y.S; 2Calaza, K. C, 2Ventura, A.L.M; 1França, G.R.

1Departamento de Ciências Fiológicas - UNIRIO, Rio de Janeiro. 2Departamento de Neurobiologia - UFF, Rio de Janeiro.

Em diversos tecidos, canabinoides podem controlar o ciclo celular, a diferenciação, migração e a apoptose, incluindo o sistema nervoso central. Este trabalho tem como objetivo investigar a ação do canabinoide sintético WIN 55,212-2, um agonista de receptores CB1 e CB2, sobre a proliferação e a viabilidade de células de retina de galinha em cultura, durante o desenvolvimento. Este trabalho possui aprovação em comitê de ética: CEUA-UNIRIO 2016.02. Culturas mistas de células de retina foram obtidas de embriões de galinha White-Leghorn em E7 e E8. As células foram semeadas em placas de petri estéril na densidade de 4160 células por mm² e cultivadas por 24 horas em estufa à 37°C com 5% de CO₂. Em E7C1, concentrações crescentes de WIN (0,5, 1,0 e 5 µM) foi administrada e após 24 horas de incubação, todas as concentrações de WIN inibiram significativamente a incorporação de [3H]-timidina (% de efeito em relação ao controle ± erro padrão. Controle = 100 ± 4,6; WIN 0,5 µM = 66 ± 6,7; WIN 1 µM = 32 ± 5; WIN 5,0 µM = 14 ± 3. n = 4). Em seguida, culturas de células de retina de galinha em E7C1 e E8C2 foram tratadas com concentrações crescentes de WIN 55,212-2 (0,5, 1,0 e 5,0 µM) durante 24 horas, e submetidas ao ensaio de viabilidade celular (MTT). Somente as concentrações de 1,0 e 5,0 µM, em E7C1, reduziram de forma significativa a viabilidade celular. Em E8C2 nenhuma alteração na viabilidade celular foi detectada (% de efeito em relação ao controle ± erro padrão. E7C1: Controle = 100 ± 2,3; WIN 0,5 µM = 98 ± 7,0; WIN 1 µM = 64 ± 2,3; WIN 5,0 µM = 40 ± 2,6. n = 4. E8C2: Controle = 100 ± 2,5; WIN 0,5 µM = 101 ± 2,2; WIN 1 µM = 91 ± 1,2; WIN 5,0 µM = 94,3 ± 2,1. n = 3). Com o objetivo de estudar a morte de progenitores, culturas de células de retina em E7C1 foram pré-incubadas com 0,25 µCi de [3H]-timidina por duas horas. Sendo assim, as células que estivessem na fase S do ciclo celular estariam marcadas com o nucleotídeo radioativo. Após isto, a [3H]-timidina não incorporada foi removida por lavagem das células, e concentrações crescentes de WIN (0,5 µM; 1,0 µM e 5,0 µM) foram adicionadas as culturas. Após 24h de incubação com WIN, a quantificação por cintilação líquida, foi realizada. O tratamento com WIN não diminuiu a quantidade de [3H]-timidina previamente incorporada aos progenitores da retina (% de efeito em relação ao controle ± erro padrão. Controle = 100 ± 4,2; WIN 0,5 µM = 102,8 ± 11; WIN 1 µM = 137,5 ± 12,6; WIN 5,0 µM = 143,5 ± 13,5. n = 5. p<0,05). Estes dados em conjunto sugerem que WIN inibe a proliferação de precursores tardios e causa a morte de células da retina que já saíram do ciclo celular.

Apoio financeiro: CAPES, FAPERJ, CNPQ.

EFEITOS DO ÁCIDO ASCÓRBICO E ÁCIDO DEHIDROASCÓRBICO SOBRE A FOSFORILAÇÃO DA CREB E REGULAÇÃO DA SÍNTESE PROTEICA

Jeronymo, L.³; Gladulich L.F.H.¹; Paes de Carvalho, R.^{1 2}; Cossenza, M. ^{1 3}.

1. Programa de Neurociências, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense. 2. Departamento de Neurobiologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense. 3. Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Instituto Biomédico, Universidade Federal Fluminense.

Introdução: o ácido ascórbico (AA), popularmente conhecido como vitamina C, é encontrado em alta concentração no cérebro. Além de ser um importante antioxidante, no sistema nervoso central (SNC) já foi relacionado com processos de ansiedade, memória, fadiga e estado de humor. Por ser antioxidante, o AA evita possíveis distúrbios neuropsicológicos e beneficia funções cognitivas relacionadas ao processo de envelhecimento. Quando oxidado, o AA é convertido em ácido dehidroascórbico (DHA). Apesar de não ser antioxidante, existem evidências de efeitos fisiológicos do DHA no sistema nervoso central. Objetivo: analisar os efeitos do AA e do DHA sobre as vias de sinalização relacionadas a CREB e a síntese proteica. Materiais e métodos: foram usadas culturas feitas com retinas de embrião de pintos (*Gallus domesticus*) de 8 dias. O experimento com AA e DHA foi realizado com 3 concentrações diferentes: 1 μ M, 0.1 μ M e 0.01 μ M durante 15 minutos de tratamento. Os níveis de p-eEF2, eEF2, p-CREB e CREB foram avaliados pela técnica de western blotting. Resultados: o tratamento com AA em cultura de células de retina induziu o aumento da fosforilação do eEF2 nas concentrações 1 μ M e 0.1 μ M, e não apresentou efeitos sobre a fosforilação da CREB em nenhuma das concentrações testadas. Já o tratamento com DHA induziu a fosforilação do eEF2 nas concentrações 0.1 e 0.01 μ M, e a fosforilação da CREB em todas as concentrações testadas, sendo mais evidenciada com a concentração de 0.01 μ M. Conclusão: Outros trabalhos do nosso grupo mostram que o AA é capaz de aumentar os níveis de glutamato extracelular. Este trabalho, demonstra pela primeira vez a capacidade do AA e do DHA de regular a taxa de síntese proteica, observado através da modulação da fosforilação do eEF2. Além disso, o DHA também mostrou-se capaz de induzir a fosforilação da CREB. Possivelmente, essa fosforilação ocorre devido a ativação das vias de sinalização proveniente da interação do glutamato com receptores glutamatérgicos.

Apoio Financeiro: FAPERJ, CNPq, PROPPI/UFF, CAPES

ATIVACÃO DA PKC AUMENTA A SOBREVIVÊNCIA DAS CÉLULAS GANGLIONARES DA RETINA: ENVOLVIMENTO DO TNF-ALFA E INIBIÇÃO DA APOPTOSE

¹ ²Érica Camila Ferreira, ¹ ²Carlos Gustavo Garcia, ¹ ²Marcelo Cossenza Pettezzoni de Almeida, ¹ ³Elizabeth Giestal-de-Araujo, ¹ ²Aline Araujo dos Santos

1-Programa pós-Graduação em Neurociências da Universidade Federal Fluminense; 2-Departamento Fisiologia e Farmacologia do Instituto Biomédico da Universidade Federal Fluminense – RJ, Brasil; 3-Departamento de Neurobiologia do Instituto de Biologia Universidade Federal Fluminense, Niterói - RJ, Brasil.

O tratamento de células da retina de ratos com PMA 50 ng/ml, um ativador de proteína cinase C, aumenta a sobrevivência das células ganglionares da retina (CGR) após 48 horas em cultura. Observamos também que esse tratamento promove uma liberação de TNF- α em cultura após 24 horas. O objetivo deste trabalho foi analisar o envolvimento de TNF- α na sobrevivência das CGR mediada pelo PMA e da influência desse tratamento sobre a viabilidade celular, níveis da caspase 3 ativa e inativa, influência sobre os níveis de TNFR1 e TNFR2 e sobre o estresse oxidativo. Culturas de células da retina de ratos neonatos (P2) da linhagem Lister-Hooded foram realizadas e mantidas a 37°C em 5% de CO₂ e 95% de ar, na presença de meio 199 e/ou os diversos tratamentos. Os níveis de proteína foram determinadas por Western blot. A sobrevivência de células ganglionares da retina (CGR) foi avaliada após 48h em cultura através da injeção de peroxidase no colículo superior para marcação das CGRs. O ensaio de viabilidade celular (relação das células vivas/células mortas) foi avaliado após 24h in vitro. O método para análise do estresse oxidativo foi feito por incorporação de DHE. Todos os procedimentos foram realizados em triplicata e expressos como % do controle. Os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética em Pesquisa Animal da UFF (642/15). Os resultados demonstram que a neutralização do TNF- α , utilizando anticorpo anti-TNF- α 0,1 ng/mL, suprime o efeito do PMA no aumento da sobrevivência das CGR (CT4h 100%, CT 48h 42,8% \pm 3,2, PMA 92,5% \pm 6,2, anti-TNF alfa 47% \pm 3,7, PMA + anti-TNF alfa 42,23 % \pm 3,8. n=3). O tratamento com PMA promove aumento de 27,9% sobre os níveis de TNFR2 (CT 100%, PMA 127,9 \pm 2,4. n=3) e uma diminuição de 28,2% nos níveis de TNFR1 (CT 100% , PMA 71,8% \pm 2,2. n=3) após 24h. O PMA em 24 horas diminui os níveis da caspase-3 ativa e inativa em 33,6% (CT 100%, PMA 66,4% \pm 2,4. n=3) e 21% (CT 100%, PMA 79% \pm 5. n=5), respectivamente. A relação de células vivas/mortas é de 1,3 para o controle e 3,5 (\pm 0,09 \pm 0,21 respectivamente. n= 5) para o tratamento com PMA após 24h em cultura. Em relação ao estresse oxidativo foi observado uma diminuição dos níveis de espécies reativas de oxigênio de 36,7% (CT 100%, PMA 63,3% \pm 7 n=3) em 15min, de 33,13%(CT 100%, PMA 66,87% \pm 5,7. n=3) em 3h e de 23,17% (CT 100%, PMA 76,83% \pm 6,6. n=3) em 24h. Estes dados sugerem que a liberação de TNF- α , a inibição da via da apoptose e a diminuição do estresse oxidativo estão relacionados ao aumento da sobrevivência das células ganglionares da retina induzido pela ativação da proteína cinase C. Apoio Financeiro: CAPES, FAPERJ, PROPPI.

TERAPIA CELULAR E ATIVIDADE FÍSICA EM MODELO DE LESÃO DE MEDULA ESPINAL EM CAMUNDONGOS

Santos, A. C. R1.; Massoto, T. B1.; Almeida, F. M2; Martinez, A.M.B2; Marques, S.A1

1Laboratório de Regeneração Neural e Função, Departamento de Neurobiologia, IB, UFF

2Laboratorio de Neurodegeneração e Reparo, Faculdade de Medicina, UFRJ.

INTRODUÇÃO: Lesão medular traumática é um grave distúrbio clínico que promove alterações das funções sensoriais e motoras. A terapia celular é um recurso promissor para o tratamento de lesão do sistema nervoso. Atualmente, a reabilitação física é a única realidade para os indivíduos lesados. Um estudo utilizando terapia celular associada à atividade física em modelos animais fornece boa oportunidade para testar novas estratégias terapêuticas. **OBJETIVO:** Avaliar a influência do tratamento com esteira ergométrica associado à terapia celular com células-tronco mesenquimais, na regeneração nervosa e recuperação funcional após lesão medular compressiva em camundongos. **MÉTODOS:** Neste projeto aprovado pelo CEUA/UFF (número 00122/09), realizamos laminectomia em T9 e lesão medular por compressão extradural (clipe vascular, 30g, por 10') em camundongos fêmeas jovens, C57/B16. Avaliamos 6 grupos: SHAM (apenas laminectomia); SCI (lesão); DMEM (lesado tratado com DMEM); DMEM+TMT (lesado tratado com DMEM+exercícios em esteira); MSCT (lesado tratado com células-tronco mesenquimais) e MSCT+TMT (lesado tratado com células-tronco mesenquimais+exercício em esteira). Iniciamos o treino 14 dias após lesão, 3x/semana (velocidade de 6 a 12 m/min). Avaliações motoras (BMS) foram realizadas durante 8 semanas. Avaliamos por microscopia de luz e microscopia eletrônica de transmissão a quantidade de substância branca preservada e o número de fibras nervosas mielínicas. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. **RESULTADOS:** O BMS ($n=12$) dos grupos tratados com células (MSCT $2,375 \pm 0,309856$ e MSCT+TMT $2,542 \pm 0,3915$) obtiveram recuperação precoce com diferença estatística ($p < 0,05$) em relação aos outros grupos (DMEM $1,000 \pm 0,2780$ e SCI $0,8571 \pm 0,3891$); e com 28 dias, o grupo MSCT+TMT foi significativo em relação aos grupos MSCT ($1,182 \pm 0,2882$), DMEM ($1,500 \pm 0,2780$) e SCI ($0,7857 \pm 0,2405$). 56 dias após lesão, todos os grupos tratados (MSCT $2,727 \pm 0,1236$, MSCT+TMT $3,583 \pm 0,2941$ e DMEM+TMT $3,063 \pm 0,0625$) apresentaram melhor desempenho locomotor em relação aos controles (DMEM $1,409 \pm 0,3290$ e SCI $1,714 \pm 0,3595$), porém não foram diferentes entre si. O grupo MSCT+TMT ($43,04 \pm 2,219$) apresentou diferença estatística ($p < 0,05$) na preservação de substância branca ($n=3$) rostral ao epicentro da lesão (0,5mm) em relação ao grupo MSCT ($22,09 \pm 3,511$). MSCT+TMT ($1245 \pm 17,29$), MSCT ($1158 \pm 73,58$) e DMEM+TMT ($962,0 \pm 136,3$) apresentaram diferença estatística quanto ao número de fibras mielínicas ($n=6$) em relação aos controles (DMEM $571,3 \pm 115,6$ e SCI $199,7 \pm 20,66$). **CONCLUSÃO:** Nossos resultados funcionais e morfológicos apontam para uma tendência benéfica da associação terapêutica testada.

EFEITOS DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL EM UM MODELO ANIMAL DE TRANSTORNOS DO ESPECTRO ALCÓOLICO FETAL

¹Ashley, M. A., ²Gonzalez, E.M.C, ²Serfaty, C. A., ¹Pandolfo, P. ¹Laboratório de Neurobiologia do Comportamento Animal, Departamento de Neurobiologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ. ²Laboratório de Plasticidade Neural, Departamento de Neurobiologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ.

A exposição pré-natal ao álcool (PAE) pode causar o desenvolvimento de Transtornos do Espectro Alcoólico Fetal que, dependendo do período gestacional e a quantidade de etanol (EtOH) ingerido, acarreta alterações neurológicas que incluem anormalidades morfológicas, fisiológicas, neuroquímicas, cognitivas e comportamentais. Evidências mostram que o enriquecimento ambiental (EA) altera níveis de neurotrofinas e estimula positivamente processos neurais, como neurogênese, gliogênese e arborização dendrítica. Além disso, o EA melhora prejuízos cognitivos em diferentes condições patológicas. Entretanto, os efeitos do EA ainda não foram investigados em modelos de transtornos do espectro alcóolico fetal induzidos por baixas doses de EtOH durante o equivalente ao terceiro trimestre gestacional em humanos. **Objetivo:** O objetivo deste estudo é investigar os efeitos comportamentais do EA em um modelo animal de Transtornos do Espectro Alcoólico Fetal. **Metodologia:** Ratos machos Lister Hooded receberam injeções intraperitoneais (i.p.) de 1g/kg de EtOH 25% ou NaCl 0,9% (salina) nos dias pós-natais (PND) 4, 6 e 8. A partir do desmame (~PND22), os ratos foram mantidos em gaiolas de EA ou ambiente padrão (AP), sendo divididos nos seguintes grupos: Salina-AP (SP); EtOH-AP (EP); Salina-EA (SE); EtOH-AE (EE). Em ~PND65, cada rato passou por uma bateria de tarefas comportamentais. O campo aberto foi realizado no dia 1 (CA1) e dia 2 (CA2) durante 10 min. No dia 3 o reconhecimento de objetos (RO) foi realizado em duas sessões de 5 min, intervaladas por 30 min. As análises estatísticas foram feitas por Teste-t pareado para avaliar habituação e ANOVA de duas vias para avaliar índice de discriminação e análise de locomoção total, seguida de teste pós-hoc de Bonferroni. Os resultados são apresentados como média \pm erro padrão da média. **Resultados:** Este estudo mostrou que os animais EE (10,25 \pm 0,99) e EP (12,00 \pm 2,07) apresentaram maior locomoção em comparação com os animais do grupo SE (9,24 \pm 0,72) e SP (7,50 \pm 0,97). Também houve redução da locomoção de CA2 no grupo EE (6,60 \pm 0,82) comparado com o CA1 de EE (10,25 \pm 0,99) e do CA2 de SE (1,97 \pm 1,00) com relação ao CA1 de SE (9,24 \pm 0,72). Não houve resultados significativos no RO, mas EP (-0,34 \pm 0,07) apresentou índice de discriminação negativo, enquanto que os demais grupos o apresentaram positivos. **Conclusão:** O presente estudo está em andamento e sugere que estímulos ambientais durante o desenvolvimento podem melhorar prejuízos cognitivos causados pela exposição precoce ao etanol. Apoio financeiro: CAPES, CNPq, FAPERJ, ProppiUFF.

ASSOCIAÇÃO DE VITAMINA D COM DECLÍNIO COGNITIVO EM IDOSOS COM DOENÇAS CARDIOVASCULARES

1-Peçanha, D. O; 2-Paula, L.S; 3- Huguenin, G.V.B. 4- Santos, E. M. 5- Marotto, D. 6- Moreira, A. B.

1; 2; 5-Instituto de Nutrição (UERJ); 3-Faculdade de Nutrição (UFF); Instituto Nacional de Cardiologia 4-Instituto Nacional de Cardiologia; 6- Instituto de Nutrição (UERJ); Instituto Nacional de Cardiologia

Introdução: A vitamina D tem papel importante no metabolismo ósseo, porém atualmente ela está sendo associada com algumas patologias prevalentes na população idosa como os transtornos cognitivos. Em níveis adequados ela atua na formação de neurônios e na eliminação da β -amilóide, diminuindo o processo de degeneração cerebral, prevenindo e controlando os sintomas dos transtornos cognitivos. Objetivo: Avaliar o consumo e o nível sérico de vitamina D e sua relação em idosos com declínio cognitivo em tratamento secundário para doenças cardiovasculares. Métodos: Estudo transversal realizado com 76 indivíduos idosos (idade ≥ 60 anos), de ambos os sexos, com história documentada de doença aterosclerótica, com declínio cognitivo e participantes do ensaio clínico multicêntrico DICA-BR acompanhados no Instituto Nacional de Cardiologia do Rio de Janeiro (INC). Foram realizadas avaliação da função cognitiva através da aplicação do Mini Exame de Saúde Mental (MMME), avaliação antropométrica, bioquímica, e do consumo alimentar através da aplicação do questionário de frequência alimentar. O cálculo do consumo de nutrientes foi realizado através do programa Food Processor®. Os dados foram analisados estatisticamente pelo software SPSS® 21.0 e o nível de significância aceito foi de 5%. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Nacional de Cardiologia pelo protocolo nº 03218512.0.2006.5272. Resultados: dos pacientes avaliados 67,1% eram do sexo masculino, com idade média de 69,06 anos (DP $\pm 6,88$), 32,9% tinham o ensino fundamental incompleto, apresentando pontuação média de $22,94 \pm 4,09$ no resultado do MMME. O nível sérico de vitamina D encontrava-se com média de 28,54 ng/ml.(DP $\pm 9,37$), considerada pela literatura como insuficiente. Com relação ao consumo de vitamina D, 96,5% dos indivíduos apresentavam baixo consumo da vitamina, conseqüentemente não atingindo as recomendações estabelecidas pelas EAR para idade. Conclusão: Concluímos que os idosos com declínio cognitivo avaliados pelo presente estudo apresentaram nível sérico insuficiente e consumo inadequado de vitamina D podendo contribuir para a progressão do declínio cognitivo. Porém, outros fatores como o envelhecimento, o estilo de vida, a presença de doenças cardiovasculares e outros nutrientes envolvidos no metabolismo de neurotransmissores também podem estar alterados nesta população. Sendo assim um planejamento alimentar que atenda às recomendações desses nutrientes pode atuar tanto na prevenção e no controle dos sintomas do declínio cognitivo. Apoio Financeiro: FUNDACOR; HCOR; FAPERJ

Role of radial glia cell infection by *Toxoplasma gondii* on brain microvascular endothelium integrity: impacts on neurovascular interactions

Joice Stipursky 1, Anne Caroline da Silva Braga Marcos 2, Daniel Adesse 2

1) Laboratório de Neurobiologia Celular, ICB, UFRJ; 2) Laboratório de Biologia Estrutural, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz.

Background: Congenital toxoplasmosis occurs due to vertical transmission of the protozoan *Toxoplasma gondii* during pregnancy. The parasite is capable of crossing the placental barrier and reach developing brain tissue, where can infect progenitor, glial, neuronal and vascular cells types. Congenital toxoplasmosis (CT) can lead to severe damage to central nervous system (CNS) including microcephaly, deafness, visual, motor and cognitive impairments. The correct CNS development process directly depends on vascularization events that occurs early in embryonic development, by interactions between neural stem cells, known as Radial Glia (RG) and blood vessel endothelial cells. Although many is known on the role of CT deleterious effect on CNS malformations establishment, little is known about the role of *T. gondii* infection on RG and endothelial cell physiology and neurovascular interactions. **Objectives:** In the present work, we investigated whether infection of RG cells by *T. gondii* would impact on their proliferation and differentiation into astrocytes or neurons, and how infected RG cells affect the physiology of interacting microvascular endothelial cells. **Methods:** RG cells were isolated and cultivated for 24 h. Cultures were infected with tachyzoite forms of *T. gondii* (ME49 strain) for 24 h to generate the conditioned medium (RG-CM-TgInf or RG-CM-Control). Cells were fixed with PFA 4% for immunocytochemistry. **Results:** Infection with *T. gondii* decreased by 25% the number of nestin+/Ki67+ cells when compared to non-infected ones. Murine brain endothelial cell line bEnd3 were cultivated in DMEM/F12 with 10% SFB, and after reaching confluence, cells were treated with RG-CM. We observed that RG-CM-Control treatment induced a 1.5-fold increase on tight junction protein ZO-1 immunoreactivity and organization compared with control condition (DMEM/F12). However, RG-CM-TgInf treatment or direct infection of bEnd.3 cells with *T. gondii* reduced drastically ZO-1 staining, when compared to untreated/uninfected control culture. **Conclusions:** Our preliminary results suggest that infection with *T. gondii* alters RG cells physiology and secretory profile, since CM from infected RG impaired microvascular endothelia barrier formation. Moreover, direct parasitism of endothelial cells may also affect BBB integrity. These data will contribute to the better understanding of cellular mechanisms underlying neural stem cells-vascular interactions in the developing brain in the context of CT.

Support: FAPERJ (J.S.) e International Society for Neurochemistry (ISN, J.S.), CNPq (Edital Universal 2014-D.A.), PAPES-VII (Fiocruz/CNPq, D.A.).

P-81

Regulação da liberação de Vitamina C em resposta à despolarização

Munis A.F.1, Portugal C.C.2, Paes-de-Carvalho R.1

1Departamento de Neurobiologia e Programa de Pós-Graduação em Neurociências, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, Brasil 2Instituto de Investigação e Inovação em Saúde (i3S) e Instituto de Biologia Celular e Molecular (IBMC), Universidade do Porto, Porto, Portugal

Introdução: O ascorbato, forma reduzida da vitamina C, é transportada no cérebro pelos co-transportadores de vitamina C e sódio (SVCT2) enquanto o desidroascorbato, forma oxidada, pelos transportadores de glicose do tipo GLUT. O ascorbato é capaz de exercer diversas funções no sistema nervoso como auxiliar na formação da bainha de mielina, além de induzir maturação sináptica. Em respeito à liberação da vitamina C, já foi descrito que estímulos despolarizantes foram capazes de induzir a liberação do ascorbato. Porém, o mecanismo dessa liberação ainda é desconhecido. **Objetivos:** Levando em consideração a relação da vitamina C com o desenvolvimento do sistema nervoso, nos propusemos a estudar a liberação de vitamina C por estímulos despolarizantes em cultura de células de retina de pinto e o mecanismo pelo qual ocorre essa liberação. **Métodos:** Culturas mistas de neurônios e células gliais foram obtidas a partir de retinas de embriões de galinha de oito dias (protocolo de aprovação: 146/09). Após 3/4 dias em cultura as células foram incubadas com [¹⁴C] Vitamina C por 40 minutos. Em seguida, as culturas foram lavadas com HBSS, incubadas por períodos sucessivos com salina contendo diferentes fármacos e essas frações recolhidas. No final do experimento, as células foram lisadas com TCA 5% e essa fração foi armazenada para a determinação da radioatividade intracelular juntamente com as frações liberadas em resposta aos diferentes estímulos. A radioatividade foi determinada por cintilação líquida sendo os valores calculados como fração de liberação, ou seja, a quantidade de radioatividade liberada em relação àquela presente dentro da célula em cada momento. **Resultados:** Glutamato 100µM, usado como controle positivo, aumentou a liberação para 201,8% ± 18,8 (n =7). A despolarização com KCl 45mM ou por ativação de canais de sódio voltagem-dependentes com Veratridina 100 µM também aumentaram a liberação de vitamina C (182,5% ± 6,5; n =10 para KCl e 157,9% ± 5,2; n =6 para a Veratridina). Porém, esses estímulos despolarizantes não foram inibidos por H89 25 µM, bloqueador da PKA, ou SCH 23390 100 nM, antagonista de receptores D1 de dopamina (168,7% ± 11,0; n = 3 para KCl + H89; 196,5% ± 16,0; n = 3 para KCl + SCH; 147,8% ± 9,7; n = 3 para Veratridina + H89 e 154,2% ± 5,2; n = 3 para Veratridina + SCH). **Conclusão:** Os resultados demonstram que a despolarização causada por KCl e veratridina induz liberação de vitamina C no nosso modelo, e esse efeito é independente de PKA e de receptores D1 de dopamina.

Apoio financeiro: CNPq, FAPERJ, PROPPI, CAPES

P-82

CARACTERIZAÇÃO DA VIA DE SINALIZAÇÃO INDUZIDA PELA ATIVAÇÃO DO RECEPTOR A1 DE ADENOSINA EM CULTURAS DE CÉLULAS DA RETINA DE EMBRIÃO DE GALINHA

1,2Rodrigues, S.A., 1,2dos-Santos-Rodrigues, 1,2A., Pereira, M.R.,1,2Paes-de-Carvalho, R.

1Departamento de Neurobiologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, Brasil. 2Programa de Pós-Graduação em Neurociências, Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, Brasil.

Introdução: A adenosina é um importante neuromodulador, atuando através de seus receptores metabotrópicos, sendo divididos em quatro subtipos: A1, A2A, A2B e A3. Apesar de ser amplamente estudada, ainda não foi caracterizada a via de sinalização envolvida na ativação de seus receptores no sistema nervoso central. Objetivos: Caracterizar a via de sinalização

envolvida na ativação do receptor A1 de adenosina. Métodos: Retinas de embriões de galinha de 8 dias embrionários foram utilizadas para a obtenção de culturas mistas (células neuronais e gliais). Para o preparo de culturas de células gliais nós utilizamos embriões de galinha de 11 dias embrionários (protocolo de aprovação: 146/09). As retinas foram dissecadas, dissociadas e suas células cultivadas em meio MEM com 5% de soro fetal bovino por 3 dias a 37°C. Após a realização dos experimentos, os extratos foram recolhidos em tampão de amostra e processadas pelo método de western blot. As membranas foram incubadas com anticorpos anti p-ERK e ERK-total e reveladas por quimioluminescência. Os programas ImageLab, Excel e ImageJ foram utilizados para a quantificação dos resultados. Resultados: Resultados: A estimulação do receptor A 1 por 3 minutos com o agonista seletivo CHA (100nM), em culturas de glia, levou a um aumento da fosforilação da ERK, sendo tal efeito inibido por U0126 10µM e Cheliritrina 100nM (inibidores das proteínas MEK e PKC, respectivamente). O peptídeo inibidor da PKA não alterou a ativação da ERK. Em culturas mistas, também se observou o aumento da fosforilação da ERK pelo estímulo com CHA 100nM. Conclusão: Os resultados demonstram que a ativação do receptor A1 leva a um aumento da ativação da ERK em culturas de glia, sendo esta via dependente de MEK e PKC e independente de PKA. Em culturas mistas também foi possível observar o aumento da fosforilação da ERK pelo mesmo receptor, porém ainda não foram caracterizadas as proteínas intracelulares envolvidas nesta via.

Apoio Financeiro: CNPq, FAPERJ, PROPPI, CAPES.

Influência da modulação serotoninérgica no conteúdo e processamento da APP no colículo superior de ratos

Oliveira, A.V.S., Serfaty, C.A., Campello-Costa, P., Faria-Melibeu, A.C.

Departamento de Neurobiologia, UFF, Niterói/RJ.

A proteína precursora do amilóide (APP) tem um papel importante no sistema nervoso central (SNC). A via retinocolicular tem sido amplamente usada para o estudo da especificação dos circuitos neurais sensoriais durante o desenvolvimento pós-natal precoce, com profundas implicações para outros circuitos no sistema nervoso central. Nosso grupo vem investigando a relação entre a APP e a plasticidade das conexões visuais. O processamento da APP pode seguir duas vias: a via amiloidogênica e a via não-amiloidogênica. No processamento pela via amiloidogênica, a β -secretase realiza a clivagem da APP, gerando um fragmento solúvel da APP (sAPP) e um fragmento de membrana. Este fragmento de membrana, é processado pela γ -secretase gerando um peptídeo solúvel chamado A β . No processamento pela via não-amiloidogênica, a α -secretase realiza a clivagem da APP gerando um fragmento solúvel da APP (sAPP) e um fragmento de membrana. O fragmento de membrana resultante dessa clivagem, sofre o processamento pela γ -secretase, originando um fragmento solúvel chamado peptídeo P3. A serotonina, é um neurotransmissor bem conhecido que tem um papel importante nas funções cognitivas, bem como na plasticidade retinotectal natural. Ela é produzida a partir do aminoácido essencial triptofano. A literatura vem demonstrando que a modulação do sistema serotoninérgico interfere com o processamento da APP. Neste contexto, o objetivo geral deste trabalho é avaliar a expressão da APP nas camadas visuais do CS de ratos pigmentados tratados com fluoxetina, um conhecido inibidor da recaptção de serotonina, durante o desenvolvimento. Desta forma, pretendemos estabelecer uma correlação entre modulação do sistema serotoninérgico e expressão da APP no sistema visual de ratos. Ratos Lister hooded foram injetados intraperitonealmente com fluoxetina diariamente entre DPN3 até DPN10. Foi realizada eutanásia nos animais e a camada superficial do CS foi extraída e processada para análise em western blot usando anticorpos específicos para as proteínas APP, ADAM-10 (α -secretase), sAPP, BACE-1 (β -secretase) e A β . Todos os procedimentos experimentais foram aprovados e conduzidos em acordo com o Comitê de Ética de Pesquisa Animal (CEPA/No. 00205/10). O tratamento sistêmico com a fluoxetina parece levar à uma diminuição dos níveis de APP de membrana. Os níveis de ADAM-10 parecem permanecer sem alterações, porém parece haver um aumento nos níveis de sAPP. Os níveis de BACE-1 parecem aumentar em resposta ao tratamento, porém não foram detectadas alterações nos níveis de A β . Estes resultados sugerem que o bloqueio da recaptção de serotonina seja capaz de alterar o processamento da APP.

Apoio Financeiro: Proppi-UFF, CNPQ, Faperj, CAPES

