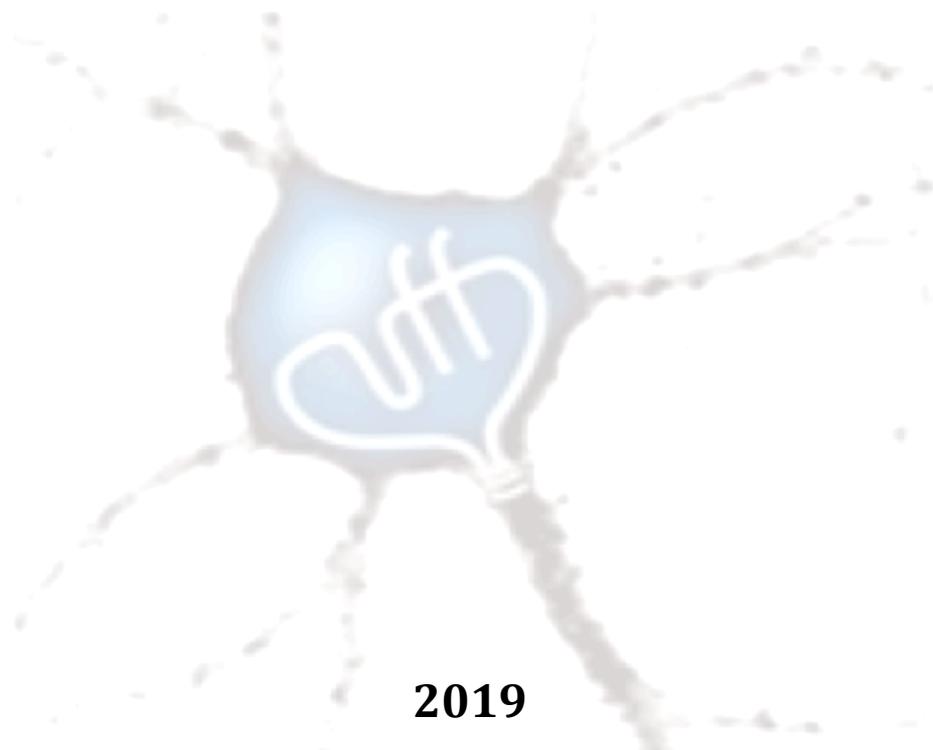




**III SIMPÓSIO DE NEUROCIÊNCIAS UFF – FIOCRUZ
VIII SIMPÓSIO DE NEUROCIÊNCIAS DA UFF**

**Bases Neurais dos Transtornos Mentais:
Aspectos Multidisciplinares**

FIOCRUZ



2019

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
NEUROCIÊNCIAS

1. POSTNATAL ONTOGENESIS OF CANNABINOID RECEPTORS IN RETINAL TISSUE OF MURINE LINES

Daniella Senos Lopes¹, Camila Feitosa Magalhães¹, Adrielle Christina Silva de Paiva¹ & Lucianne Frangel Madeira¹

1- Laboratório de Desenvolvimento e Regeneração Neural, Universidade Federal Fluminense, Brasil.

Endocannabinoid system is composed of receptors, ligands and enzymes of synthesis and degradation. This system has modulatory actions, as well as functions in neurotransmission, synaptic plasticity and neuroprotection in the retina. Our objective was to investigate postnatal ontogenesis of cannabinoid receptors (CB1 e CB2) in retinal tissue of two murine lines: C57Black/6 and PDE6 β rd10, a retinitis pigmentosa animal model. For this, mice retina were collected at different ages (three postnatal days – P3; P5, P9, P15, P19, P21, P25 and P30) and processed for immunohistochemistry, followed by densitometric analysis. We observed that the expression of CB1 receptor seemed to increase gradually as the animals got older, in both models. Expression of CB2 receptor was constant during first postnatal days. However, in PDE6 β rd10 there was an increase in the expression of this receptor at ages that overlaps period of retinal degeneration (P19, P21, P25 and P30). In front of our results, we suggest that endocannabinoid system may play a role in retinal maturation and specialization and that may has an intimate relationship with pathophysiology of retinal diseases such as retinitis pigmentosa. Therefore, endocannabinoid system is a promising target for new research on retinal neurodevelopment and therapeutic research on diseases that lead to retinal degeneration.

2. TRATAMENTO COM CAFEÍNA EM RATOS ADOLESCENTES ALTERA EXPRESSÃO DE SUBUNIDADES DO RECEPTOR NMDA E PERFIL MORFOLÓGICO MICROGLIAL.

Adrienne Dias Campos¹ e Paula Campello-Costa¹

1 - Programa de Pós-graduação em Neurociências – Instituto de Biologia - Universidade Federal Fluminense.

A cafeína é a droga psicoativa mais consumida no mundo. Estudos anteriores do laboratório demonstraram que essa droga induz plasticidade na via retinotectal de ratos em condições normais e após lesões de retina (LRT) tanto dentro quanto fora do período crítico. O objetivo deste trabalho é investigar os mecanismos celulares e moleculares subjacentes a estes efeitos plásticos. Ratos da linhagem Lister Hooded foram divididos em quatro diferentes grupos, sendo eles: animais normais tratados com salina (1) ou cafeína (2), animais submetidos a LRT no dia pós-natal 21 (DPN21) tratados com salina (3) ou cafeína (4). O tratamento com a cafeína (30 mg/kg, ip.) ou salina foi realizado diariamente entre DPN20 e DPN27. Em DPN28 os animais foram eutanasiados com sobredose de anestésico, perfundidos e processados para realização de imunofluorescência e posterior análise em microscópio de deconvolução. A análise com Iba-1, um marcador de células microgliais no cérebro indica que no grupo controle as células microgliais estão ramificadas e com corpo celular reduzido. Por outro lado, o tratamento com a cafeína promove ativação destas células que retraem parcialmente seus prolongamentos. No grupo com lesão de retina, a cafeína parece diminuir a ativação destas células em comparação ao grupo normal com cafeína. Realizamos ainda a imunomarcagem das subunidades GluN1 e GluN2B do receptor de glutamato NMDA. Nossos resultados mostraram que a cafeína aumenta a expressão da subunidade GluN1 na camada visual do colículo superior na condição controle, o que é diferente do grupo que recebeu salina, onde as subunidades se encontram muito mais presentes nas áreas não-visuais profundas. No grupo com LTR a cafeína diminui a expressão dessa subunidade no lado contralateral à LRT. Em relação a subunidade GluN2B, o grupo com LTR e tratamento com a cafeína apresentou aumento na expressão desta subunidade nas camadas visuais do lado contralateral à lesão e diminuição no lado ipsilateral em relação ao grupo com lesão e salina. Nossos resultados preliminares mostram a modulação da cafeína dos marcadores analisados, tanto na plasticidade induzida por lesão de retina temporal, quanto na plasticidade natural do sistema visual. Em conjunto, estes resultados indicam que a cafeína exerce efeitos diferentes em condições normais e com lesão. Além disso, sugerem que a plasticidade induzida pela cafeína envolva as células gliais e o sistema glutamatérgico.

Apoio Financeiro: – CAPES, CNPq, FAPERJ

3. EARLY POSTNATAL HYPOTHYROIDISM ALTERS ANATOMICAL, NEUROCHEMICAL AND NEUROINFLAMMATORY MARKERS DURING DEVELOPMENT OF THE RODENT VISUAL SYSTEM

Ribeiro, N.C.A.R.¹; Barreto A.L.¹; Cardoso L.C.²; Rodrigues Jr, W.S.¹; Oliveira-Silva, P.¹ Serfaty, C.A.¹.

1 – Programa de Neurociências/Universidade Federal Fluminense (UFF)/ Niterói(RJ)

2 - Departamento de Patologia/ UFF

Thyroid hormones (TH) thyroxine (T4) and 3,5,3'-triiodothyronine (T3) are essential for the normal development of the central nervous system (CNS). Congenital hypothyroidism represents the deficiency of TH in humans during the gestational and/or neonatal period and is related to severe forms of mental retardation in children. In this work, we have studied how TH deficiency interferes with neural circuits development using the visual system as a biological model. To induce hypothyroidism, developing rats were exposed postnatally to methimazole, a TH synthesis inhibitor, administered in the drinking water (concentration 0,1%) of dams just after offspring birth, so methimazole was continuously delivered through lactation until postnatal day (P) 14. Control animals received water. T3 and T4 hormones were measured by automated chemiluminescent assay. We used anterograde tracing techniques, biochemical and immunofluorescence essays to evaluate the impact of an early hypothyroidism in the development of visual neural circuits. HRP anterograde labeling revealed a disruption of normal topographical distribution of retinal axons in the ipsilateral superior colliculus. Also, after a unilateral retinal lesion, a decreased plasticity of intact axons was observed in the methimazole groups. Accordingly, an altered content of NMDA subunits GLUN1 and GLN2A, AMPA subunit GLUA1 and PSD 95 was observed after an early methimazole treatment. The early hypothyroidism also altered the phenotypic profile of IBA1 positive microglia in the SC. The data suggest that an early hypothyroidism causes a malformation of retinocollicular projections and decreases axonal plasticity during the critical period of development. Hypothyroidism changed the content of glutamate receptors and induced phenotypic modifications in microglial cells. Therefore, a neonatal hypothyroidism impacts the maturation of anatomical, neurochemical and inflammatory profiles in the developing brain leading to disruption of neural circuitry development.

(CEUA- UFF nº 406)

Funding: CNPQ, CAPES, FAPERJ

4. MODULAÇÃO DA FOSFORILAÇÃO DA AKT E NEUROPROTEÇÃO INDUZIDOS PELA VITAMINA C EM CULTURAS DE CÉLULAS DA RETINA

Aline Teixeira Duarte Silva¹; Roberto Paes de Carvalho¹; Ivan Carlos de Luca Domith Gallo¹

1 – Programa de Neurociências/Universidade Federal Fluminense (UFF)/ Niterói(RJ)

O ácido ascórbico (AA), forma reduzida da vitamina C, é um importante antioxidante encontrado em diversos alimentos que possui funções importantes como síntese de neurotransmissores e modulação da atividade sináptica. O cérebro possui altas concentrações de AA. Seu transporte é promovido através dos co-transportadores de sódio e vitamina C (SVCT), sendo a isoforma 2 (SVCT2) encontrada no sistema nervoso central. A forma oxidada da vitamina C, o desidroascorbato, pode ser transportado por transportadores de glicose (GLUT). Dados anteriores do nosso grupo mostram que o glutamato é capaz de promover a liberação de AA pela reversão do SVCT2, e que o AA é capaz de inibir o transporte de glutamato promovendo seu acúmulo e assim ativando os receptores NMDA. É descrito na literatura que a ativação de receptores NMDA promove o aumento de fosforilação de AKT, uma importante cinase envolvida em diversos processos neuronais como sobrevivência e proliferação celular, e também é capaz de ativar a óxido nítrico sintase (NOS), promovendo assim o aumento da produção de óxido nítrico (NO) a partir de L-arginina. Além disso, já foi observado em trabalhos anteriores que o óxido nítrico (NO) é capaz de promover aumento de fosforilação da AKT. O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito do AA na fosforilação da AKT em culturas mistas de células da retina. Nossos resultados indicam que o AA é capaz de promover o aumento de fosforilação da AKT com a participação de receptores NMDA e do NO neste efeito. Além disso resolvemos avaliar o papel do AA diante de um estímulo tóxico como a alta concentração de glutamato, uma vez que o glutamato é um importante neurotransmissor que em elevadas concentrações leva a morte celular por excitotoxicidade. O tratamento crônico com AA mostrou ter efeito neuroprotetor na excitotoxicidade causada pela alta concentração de glutamato nas culturas de neurônios de retina. Também promoveu o aumento do crescimento e número de ramificações dos processos neuronais.

Apoio Financeiro: – CAPES, CNPq, FAPERJ

5. CAFFEINE MODULATES CHLORIDE CO-TRANSPORTER AND RETINAL EXCITABILITY DURING DEVELOPMENT

Nascimento, A. A., Figueiredo, D. P., Ventura, A. L. M., Brito, R., Calaza, K. C.

1 - Lab. Neurobiologia da Retina – Dept^o. Neurobiologia – Instituto de Biologia
Universidade Federal Fluminense

Most visual deficits are due to eye problems and the retina plays a crucial role in the processing of visual information, as it is the only tissue responsible for translating light information. Gamma-aminobutyric acid (GABA) is the major inhibitory retinal neurotransmitter. However, studies have shown that during development, immature neurons respond to GABA with depolarization. This non-classical response is due to the chloride ion differential gradient throughout development which in turn depends on the expression of two chloride ion co-transporters: NKCC1 and KCC2. Exogenous chemical mediators are known to alter GABAergic signaling during development and may lead to morphological and functional changes in neurons. In this context, exposure to caffeine, a psychoactive agent present in various foods, beverages and medicines, has been shown to promote changes in nervous system development. Earlier results from our group showed that caffeine exposure (embryonic day 14- 16) increased the binding of 3H-MK801, a NMDA receptor pore binder, under unstimulated conditions (without exogenous 2 mM glutamate) but not with glutamate stimulation. Caffeine also promoted a decrease in KCC2 protein content. With these results, the group hypothesized that caffeine could be altering the response of cells to GABA, postponing to some extent the shift from depolarization to hyperpolarization. Thus, the objective of this work is to establish the ontogenesis of the chloride ion co-transporter KCC2 in the retina and to analyze the effect of in vitro caffeine exposure and its impact on retinal excitability. For this, we used embryonic (E) and post-hatched (PE) retinas of the White Leghorn species, according to CEUA/UFF protocol 820/2018. Retinas were subjected to Western blotting and immunostaining approach. Mixed retinal cell cultures, obtained from E10 embryo, were treated with caffeine from the fourth day of culture (C4) to C6 and imaging for fluorescent-calcium sensor (Fluo3-AM) with NMDA (100 μ M) and muscimol (10 μ M) stimulations were obtained. Statistical analysis was performed using GraphPad Prism software, using one sample t-test, ANOVA analysis of variance and Bonferroni's Multiple Comparison Test. The ontogenesis analysis showed an increase in the retinal KCC2 protein content with developmental progress. The immunohistochemical approach showed a significant increase in all retinal layers, with even more robust change in both plexiform layers from E14. In retinal cell culture, caffeine exposure decreased 20% the KCC2 co-transporter. NMDA receptors and Muscimol, GABA agonist, showed greater depolarizing responses in caffeine-treated cultures (NMDA=1.66 \pm 0.12, CAF+NMDA=2.25 \pm 0.21) (Muscimol=1.22 \pm 0.06, CAF+Muscimol=1.45 \pm 0.08). The data suggest that the chloride ion co-transporter KCC2 increases with retinal development with the shift occurring around E14. Caffeine decreased retinal KCC2 content and confirm our hypothesis that caffeine can be altering the response of cells to GABA.

6. OUABAIN PROMOTES M2 MICROGLIA POLARIZATION AND UPREGULATION OF THE TRKB/BDNF PATHWAY IN RAT RETINAL CELL CULTURES

Amanda Candida da Rocha Oliveira¹, Juliana von-Held-Ventura¹ & Elizabeth Giestal-de-Araujo¹,

1 - Neurobiology Department, Neurociences Program, Fluminense Federal University, Niterói – Rio de Janeiro – Brasil. e-mail address: egiestal@vm.uff.br 2INCT-NIM

The retina is originated from the neural ectoderm and its development encompasses different phenomena including a programmed cell death (PCD), where approximately 50% of the neurons initially generated die. Retinal ganglion cell (RGC) progenitors are the first cells to leave the cell cycle and have a well-established PCD period (from P0-P10). In retinal cell cultures 50% of RGCs die after 48 hours. Microglial cells enter in the retina during early development period and are naturally activated by PCD. Microglia polarization is classified in M1 (pro-inflammatory and neurotoxic) and M2 (anti-inflammatory and neuroprotective). Arginase-1 is a marker for M2 microglial phenotype. Ouabain (OUA) is a steroid glycoside with well-known immunomodulatory action. We previously demonstrated the trophic effect of 3nM OUA on RGC survival after 48h in culture; an effect mediated by cytokine production. OUA treatment also regulates microglial activation. The aim of this work is to investigate if OUA promotes M2 microglia polarization. Rats (P2) were killed, their retinas dissected, the cells dissociated, plated at 105 cels/cm² in Petri dishes and maintained in 199 medium (CT) or in the presence of medium and OUA in atmosphere of 5% CO₂ / 95% air at 37 ° C. Levels of proBDNF, BDNF, p75, pTrkB, arginase-1 and pCREB were determined by the Western Blot. The number of RGCs was obtained following the systematic count in light field microscopy. Experimental procedures with animals were approved by the UFF Ethics Committee on Animal Use (00294/12). OUA increases Arginase-1 levels at 15 min and 48h (CT 100% - OUA 161% ± 6,7 n=3 p=0,001; CT 100% OUA 146% ± 5,3 n=3 p=0,001 respectively) and decreases at 24h (CT 100% OUA 65% ± 10,7 n=3 p=0,02). OUA regulates the levels of proBDNF in 15min (CT 100% OUA 136,1 ±4,4 n=3 p=0,02), 24h (CT 100% OUA 130,0±5,3 n=3 p=0,04), 48h (CT 100% OUA 83,4±1,8 n=3 p=0,02) and the levels of BDNF in 15min (CT 100% OUA 88,66 ±2,9 n=3 p=0,08), 24h (CT 100% OUA 61,8±3,1 n=3 p=0,004), 48h (CT 100% OUA 139,5±3,8 n=4 p=0,003). The blockade of MMP-9 decrease BDNF levels (CT 100% OUA 139,5 INIB 112,3 OUA+INIB 74,7 n=3 p=0,003) and increased the proBDNF levels (CT 100% OUA 83,4 INIB 134,4 OUA+INIB 188,5 n=3 p=0,001). Also the inhibition of MMP-9 completely abolished the effect of OUA on the RGCs survival. Moreover at 48h we observed an increase pTrkB (CT 100% OUA 125,0±5,0 n=3 p=0,001) and a Preliminary results (n=2) indicate an increase of 32% in pCREB. Conclusions: Our results demonstrate that the OUA treatment promotes M2- microglial polarization and BDNF/TrkB signaling, leading to an increase in RGC survival.

Funding: CAPES, FAPERJ, CNPq, INCT-NIM.

7. EFFECT OF OUABAIN ON THE MODULATION OF INF γ LEVELS IN RETINAL CELLS OF NEONATAL RATS MAINTAINED IN CULTURE.

Amanda Menezes Souto e Elizabeth Giestal-de-Araujo

1 - Neurobiology Department, Neurociences Program, Fluminense Federal University,

Ouabain is a cardiotonic steroid hormone that at high concentrations (μM), acts as a selective blocker of the Na^+/K^+ ATPase pump, while at low concentrations (nM), it stimulates the sodium and potassium pump as a ligand. In this condition Na^+/K^+ ATPase pump acts as a receptor and when activated induces different cellular responses such as proliferation and survival. In our laboratory, it was observed that ouabain has a trophic effect on retinal ganglion cells; an effect modulated by different cytokines such as IL-1 β and TNF- α . In fact treatment with ouabain modulates the levels of these inflammatory cytokines in different time intervals (15 and 45min and 24and 48h). Based in these previous results the aim of this study was to investigate the role of ouabain modulating INF γ levels, in cultures of retinal cells of neonatal rats, at different time intervals. Our objective is to analyze the role of ouabain as an immunomodulatory agent in retinal cells. Cultures from the retinas of neonates rat (Lister Hooded) at P2 were used in our studies. Animals were killed by decapitation and their retinas dissected in calcium and magnesium-free salt solution. Cellular dissociation were performed in two steps: first cells were chemically dissociated with trypsin 0,1% and in the second step mechanically dissociated was made using a glass Pasteur pipette. Cells were plated in Petri dishes previously coated with poly-L-ornithine (25 $\mu\text{g}/\text{mL}$). The cultures were maintained in 199 culture medium (containing 5 % fetal bovine serum, glutamine and antibiotics) in the presence or not of ouabain and incubated at 37°C in a humidified atmosphere of 5 % CO $_2$ and 95 % air. Cultures were treated with ouabain (3nM) at the times of 15, 45 minutes and 24 and 48 hours. Anti-INF γ antibody at the concentration of 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$, was used for Western blot analysis. Procedures using animals were approved by local committee on Ethics and Animal Use (CEUA/UFF, 726/16). Preliminary data shows that OUA treatment induces an increase in INF γ levels in all time intervals studied. At 15 minutes a 42% increase was obtained (CT 100%; OUA 142% n = 2). At 45 minutes a 27% increase was observed (CT 100%; OUA 127% \pm 8,587 n = 4). At 24 and 48 hours a 43% and 47% increase respectively was identified (CT 100%; OUA 143% n = 2; CT 100% ; OUA 147% \pm 13.51 n = 3). Our results demonstrate that ouabain modulates INF γ levels in retinal cell culture of neonatal rats, during all the times analyzed. The present results are in accordance with those obtained by our group indicating an immunomodulatory role of ouabain in the central nervous system, in particular in the retina.

Financial Support: CAPES, FAPERJ, CNPq, INCT-NIM.

8. EFEITOS DO NADO GESTACIONAL EM ASPECTOS COMPORTAMENTAIS E DOPAMINÉRGICOS DE MODELO ANIMAL DO TDAH

Andrea Tosta¹, Priscila de Albuquerque Siqueira¹, Natalia Ribeiro², Claudio Serfaty², Pablo Pandolfo¹

¹ Laboratório de Neurobiologia do Comportamento Animal. ² Laboratório de plasticidade neural. Programa de Pós- Graduação em Neurociências. Universidade Federal Fluminense – Niterói/RJ – Brasil

O transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) é classificado como um distúrbio do neurodesenvolvimento e pode apresentar diferentes combinações de sintomas como a desatenção, hiperatividade e impulsividade. Sua etiologia é multifatorial e está relacionado a fatores genéticos em até pelo menos 80% dos casos. A hipótese neurobiológica mais aceita para esse transtorno é uma hipofunção dopaminérgica em áreas corticais, motoras e límbicas. Os ratos espontaneamente hipertensos (SHR), em comparação ao seu controle Wistar Kyoto (WKY), são os mais utilizados como modelo do TDAH. O exercício físico durante a gravidez é considerado benéfico para a mãe e para o bebê, promovendo a neurogênese e melhorando processos de aprendizagem e memória. O presente estudo investigou os efeitos do nado gestacional (NG) em alterações de neurodesenvolvimento, locomotoras, emocionais e dopaminérgicas exibidas por um modelo animal do TDAH. Ratas grávidas da linhagem WKY e SHR foram submetidas a um protocolo de nado gestacional (NG) desde o primeiro até o último dia gestacional (DG 0-20) por 20 minutos diários e durante cinco vezes semanais. As mães foram divididas em 4 grupos: WKY SED, WKY NADO, SHR SED, SHR NADO. Após o nascimento, nos dias pós-natais (DPN) 07 e 14, a prole realizou testes para avaliar o neurodesenvolvimento (SHIRPA). No DPN 30 foram realizados os testes comportamentais na adolescência e 24 horas após o último teste foram coletadas as estruturas para as análises neuroquímicas através da técnica de western blot. O NG melhorou prejuízos de neurodesenvolvimento em reflexos sensorio-motores analisados nas duas primeiras semanas pós-natal (DPN 7 e DPN 14). No período da adolescência, o NG promoveu a memória de habituação contextual seletivamente em animais SHR. De forma muito interessante, a elevada busca pela novidade exibida pelo modelo animal do TDAH foi prevenida pelo NG. O conteúdo dos transportadores de dopamina (DAT) e da enzima tirosina hidroxilase (TH) no córtex pré-frontal não foram modificados pelo NG em ambas as linhagens estudadas no presente estudo. Os resultados sugerem que o NG causa uma influência benéfica no atraso do neurodesenvolvimento e em algumas características comportamentais apresentadas pelo modelo de TDAH, aparentemente dissociadas da transmissão dopaminérgica do córtex frontal. O NG poderia ser utilizado como um tratamento complementar e promissor para o TDAH.

Auxílio Financeiro: CAPES; CNPq e FAPERJ

9. AVALIAÇÃO DA INTEGRIDADE DE CÉLULAS ENDOTELIAIS MICROVASCULARES CEREBRAIS DURANTE A INFECÇÃO POR TOXOPLASMA GONDII: ESTUDO DA PROPRIEDADE DE BARREIRA BIOLÓGICA E PERFIL MITOCONDRIAL

Anne Caroline Marcos^{1,2}, Joice Stipursky², Jeffrey A. Stuart³, Daniel Adesse¹

1) Laboratório de Biologia Estrutural, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz; 2) Laboratório de Neurobiologia Celular, ICB, UFRJ; 3) Department of Biology, Brock University.

A toxoplasmose congênita é uma doença parasitária, que ocorre devido a transmissão vertical do protozoário *Toxoplasma gondii* durante a gravidez. O parasito atravessa a barreira placentária e atinge o cérebro em desenvolvimento, infectando progenitores gliais, neuronais e células vasculares. A interação entre diversos tipos celulares presentes no cérebro auxilia no desenvolvimento e manutenção da barreira hematoencefálica (BHE) e no controle do fluxo sanguíneo cerebral. Células endoteliais são mecanicamente acopladas por junções ocludentes, que garantem a integridade da BHE e protege o parênquima cerebral. Durante a infecção pelo *T. gondii*, principalmente pela cepa RH, há o recrutamento de algumas organelas pelo vacúolo parasitoforo, dentre elas a mitocôndria. Alguns estudos mostram que alterações no perfil mitocondrial acarretam na perda da permeabilidade da BHE. Investigar o efeito da infecção de células endoteliais microvasculares cerebrais por *T. gondii* na biologia de células endoteliais microvasculares murinas in vitro, com ênfase na fisiologia mitocondrial, analisando marcadores de fusão e fissão, e na propriedade de barreira destas células. Utilizamos uma linhagem celular endotelial microvascular do córtex cerebral de camundongos (bEnd.3). Estas células foram plaqueadas em lamínulas de vidro e infectadas com taquizoítos de *T. gondii* (cepas ME49 e RH). Após 24 horas de infecção, as células foram processadas para imunocitoquímica, com marcação para ZO-1 e MitoTracker. A intensidade da marcação de ZO-1 foi medida pelo software ImageJ. Também foi avaliado pelo ImageJ o perfil de organização da tight junction pelo macro TiJor do ImageJ. Para medir a resistência elétrica transendotelial (TEER) células foram plaqueadas em insertos transwell com poro de 8 para análises por qRT-PCR culturas plaqueadas em placas de petri tiveram seu RNA extraído com Trizol. Foi observado uma redução da imunorreatividade para ZO-1 em culturas infectadas de 35%, acompanhada de uma redução na TEER de 30%. Através de qRT-PCR, nossos dados preliminares sugerem que as culturas infectadas pela cepa RH induziram um aumento dos genes envolvidos na fissão (FIS 1 em 1,68x) e fusão (OPA 1 em 2,3x), no gene de translocase de membrana externa mitocondrial, TOMM 22, em 1,72x e do gene DRL 1 em 3,45x. Entretanto a expressão do gene GLO 1 diminuiu 20%. Enquanto que a infecção pela cepa Me49 induziu uma diminuição da expressão destes genes (FIS 1 em 55%, OPA1 em 50%, TOMM22 em 20%, DRL em 20% e GLO1 em 44%). Através de análises morfométricas utilizando o plugin MINA do software Fiji, verificamos que nas células parasitadas com a Cepa Me49 não houve diferença no número médio de mitocôndrias. Porém houve redução do tamanho médio e da interconectividade tanto nas células parasitadas, quanto das células não parasitadas numa cultura infectada. O alongamento das mitocôndrias numa cultura infectada foi maior em células não parasitadas. Nossos resultados sugerem que a infecção por *T. gondii* levam a uma perda da propriedade de barreira endotelial e alteração na biologia mitocondrial nas células endoteliais.

10. ACUTE EXPOSURE TO NICOTINE REDUCED GABA UPTAKE PROFILE IN CHICKEN EMBRYOS RETINA DURING DEVELOPMENT

Arthur Cardoso Souto¹, Lyslie Azeredo Coutinho Gonçalves¹, Vladimir Pedro Peralva Borges Martins¹, Ricardo Augusto de Melo Reis², Regina Célia Cussa Kubrusly^{1,3}
1 – Programa de PG em Neurociências – UFF, 2 – IBCCF – UFRJ, 3 – Instituto Biomédico – UFF.

Nicotine (NIC) is the main psychoactive component of cigarette smoking, and its mechanism of action is the activation of nicotinic acetylcholine receptors (AChR). During retinal development, these receptors are usually expressed in the retinal layers and interact with GABAergic pathway. The aim is to evaluate if an acute stimulation of AChR is able to modulate [3H]-GABA uptake in chicken embryos retinas staged E11. In the evaluated results, so far, 31 animals were used (62 retinas). Retinas were dissected and [3H]-GABA uptake was performed for 60' in control group, exposed only to saline (Hanks 4). In treated group, NIC in different concentrations (10, 50 and 100 μ M) was added 30' before [3H]-GABA uptake assay. The groups treated with NO-711 (GAT-1 antagonist/GABA uptake inhibitor) 50 μ M, Eserine (acetylcholinesterase inhibitor) 100 μ M or Acetylcholine (ACh) 100 μ M, were pre-incubated 30' before [3H]-GABA uptake. For the time curve, [3H]-GABA uptake was performed in 1', 5', 10', 30' and 60'. One-way ANOVA followed by Bonferroni post-test were performed for results with 3 or more groups and unpaired t-test for results with 2 groups. The results were expressed as mean \pm SEM. Statistical significance was achieved at $p < 0.05$. The project was approved in CEUA#IBCCF038/19. We observed that in the absence of Na⁺ ions, low temperature (4°C) or in the presence of NO-711 50 μ M, [3H]-GABA uptake was completely blocked (Ctrl=175 \pm 19; without Na⁺=26 \pm 2; 4°C=20 \pm 6; NO-711=53 \pm 3; (fmol/mg/hour), $p < 0.05$, n=4). We observed that after 30', the time curve reached an equilibrium of GABA uptake (1'=8 \pm 8; 5'=35 \pm 7; 10'=58 \pm 2; 30'=179 \pm 22; 60'=165 \pm 24; (fmol/mg/hour), $p < 0.05$, n=3). Further, we analyzed GABA uptake in the presence of NIC (10, 50 and 100 μ M), Eserine and ACh. We observed that NIC 50 μ M was able to inhibited 40 % of [3H]-GABA uptake (Ctrl=237 \pm 25; NIC 10 μ M=245 \pm 18; NIC 50 μ M=141 \pm 15; NIC 100 μ M=226 \pm 20; (fmol/mg/hour), $p < 0.05$, n=4). Eserine 100 μ M also reduced 30 % of [3H]-GABA uptake, (Ctrl=253 \pm 27; Eserine 100 μ M=165 \pm 19; (fmol/mg/hour), $p < 0.05$, n=3). Surprisingly, ACh 100 μ M enhanced 70 % of [3H]-GABA uptake (Ctrl=253 \pm 27; ACh 100 μ M=433 \pm 27 (fmol/mg/hour), $p < 0.05$, n=4). We conclude that GABA uptake is mediated by GAT-1 and this transporter can be modulated by nicotinic receptors. However, we also identified that ACh is able to increase GABA uptake levels, opposed to our NIC findings, leading to a possible activation of muscarinic receptors instead, which might also be able to modulate GAT-1 activity.

Financial support: CAPES and Proppi-UFF

11. TEMPORAL-COURSE OF GFAP CONTENT AND POSSIBLE GLIAL-MEDIATOR ACTING IN INTESTINAL EPITHELIAL BARRIER HOMEOSTASIS IN THE MOUSE MODEL OF PARKINSON'S DISEASE INDUCED BY 6- OHDA

Thomasi, B.¹; Valdetaro, L.; Da Silva¹, M¹; Campello-Costa, P¹; Melibeu, A.C.F.¹; Ribeiro, M. G.¹; Moura-Neto, V^{2,3}; Tavares-Gomes, A. L.¹.

¹Programa de Pós-Graduação em Neurociências, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense; ² Instituto de Ciências Biomédicas, UFRJ; ³Instituto Estadual do Cérebro Paulo Niemeyer - RJ

Parkinson's disease(PD) became considered a gastrointestinal disorder in the last years. The enteric nervous system(ENS) present along the gastrointestinal tract shows dysfunctional patterns and affect almost every patient at some stage of the disease. Enteric glia(EG) perform immunomodulation and regulation of intestinal epithelial barrier(IEB) and is founded altered in PD patients. Our previous results working with the mouse model of PD induced by 6-hydroxydopamine(6-OHDA) showed a colonic inflammatory response with increased immunoreactivity of IBA1 and GFAP in colonic mucosal layer one and two weeks post-lesion. We also identify one week post-lesion an increase of IEB protein occludin and GDNF content in the gut layers. The objective of this current work was to study the GFAP – a biomarkers of glial cells, GDNF as well as the content of TNF- α and occludin protein in the colon of the animals submitted to the model of PD in different survival times. The animal model of PD was performed through the unilateral striatal injection of 6-OHDA in adult (2-3months) C57BI6 mice. 6-OHDA promotes specific dopaminergic neuron death mimetizing the degeneration of the nigrostriatal pathway of PD. Another group of animals operated uninjured was used as the control. The animals had 48 hours and 2 weeks of survival time post- lesion. The muscle and mucosal layers were separated in order to obtain samples mainly enriched in neuromuscular and mucosal content and were submitted to Western blotting. We detected 48h after lesion an increase of GFAP content in neuromuscular layer compared with the control group (11772 ± 2855 , N=3, $p=0.0358$). In this time, we have not yet identified alterations of GDNF (8942 ± 8926 N=2, $p=0.8013$) and TNF- α (8750 ± 2027 , N=2, $p=0.7283$) content. One week post-lesion, we identify an increase in TNF- α content in the mucosal layer (19998 ± 1023 N=3, $p=0.0037$). Two weeks post-lesion there is a decrease of occludin ($5598 \pm 517,7$ N=3, $p=0.0589$) and GDNF (10460 ± 1453 N=4, $p=0.0407$) in mucosal layer and no alterations in TNF- α content ($15352 \pm 448,0$ N=2, $p=0.9060$). The enteric response elicited by 6-OHDA promoted a glial response and modulation of occludin protein during the period analyzed. These features became associated with an inflammatory environment after one week post-lesion. It is important to highlight that EG seems to be sensitized only 48h after model induction and could be a precocious enteric reaction. EG is a complex cell that regulates immune interactions in the gut contributing to the inflammatory response. Different from the possible protective response through EG and GDNF detected one week post-lesion, two weeks post-lesion occurs a decrease of GDNF and occludin content which could reflect a compromising of IEB. So, based on our findings it is possible that EG reacts collaborating in different ways for gut physiology during neurodegeneration – which can demonstrate the dual role that EG can manifest in ENS. CEUA UFF 617/2014.

12. EFEITO DO TRATAMENTO COM SELÊNIO E BENZNIDAZOL SOBRE A MICROVASCULOPATIA CEREBRAL EM MODELO EXPERIMENTAL DE DOENÇA DE CHAGAS AGUDA.

Beatriz M. de Souza Gonzaga¹, Vanessa Estato², Hugo C. Castro Faria Neto², Anissa Daliry³, Tania Araujo-Jorge¹, Luciana Ribeiro Garzoni¹.

1 Laboratório de Inovações em Terapias, Ensino e Bioprodutos, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz. 2 Laboratório de Imunofarmacologia, IOC, FIOCRUZ. 3 Laboratório de Investigação Cardiovascular, IOC, FIOCRUZ.

A doença de Chagas (DC) afeta 7 milhões de pessoas no mundo e no Brasil estima-se que 3 milhões de pessoas sejam portadoras do *Trypanosoma cruzi*. Apesar da cardiomiopatia ser a principal manifestação clínica da DC, alterações neurológicas também são observadas. Na fase aguda pode ocorrer a meningoencefalite, principalmente em crianças e pacientes imunossuprimidos, sendo caracterizada por encefalite multifocal com presença de nódulos inflamatórios e de ninhos de parasitas. Na fase crônica podem ocorrer o acidente vascular cerebral isquêmico, associado com alterações da microcirculação cerebral (MCC) ou com eventos tromboembólicos. Evidências mostram que 25% dos casos de AVC em pacientes com DC não estão relacionados com o cardioembolismo. Atualmente, o tratamento tripanossomicida é feito com benznidazol (BZ) ou nifurtimox que apresentam taxa de cura em torno de 80% quando utilizados na fase aguda e 20% na fase crônica. Sendo assim, é necessária a elaboração de estratégias terapêuticas que contribuam para a melhoria das manifestações clínicas da DC tanto na fase aguda como na fase crônica, independente ou não do efeito tripanossomicida. O selênio é um micronutriente essencial a todos os organismos. Evidências demonstram que a suplementação com Se é benéfica em situação de isquemia cerebral, sendo capaz de reduzir a área de infarto, além de proteger a microcirculação em diversos tecidos. Em modelo experimental de infecção aguda pelo *T. cruzi*, demonstramos previamente microvasculopatia cerebral em camundongos, caracterizada por rarefação capilar funcional, aumento de inflamação em vênulas e disfunção endotelial. Avaliamos também em camundongos, o efeito do Se em monoterapia ou em associação ao BZ sobre a microvasculopatia cerebral. Camundongos machos Swiss Webster foram inoculados intraperitonealmente com 104 formas tripomastigotas do *T. cruzi* (cepa Y). Após 24 horas os animais foram tratados por via oral durante 14 dias com 4ppm de selenito de sódio, 50 ou 100 mg/kg/dia BZ e com 4ppm de Se associado a 50 mg/kg/dia BZ. Realizamos avaliação da microcirculação cerebral por microscopia intravital e do fluxo sanguíneo cerebral por Laser Speckle. Nossos resultados demonstram que a monoterapia com Se melhora a microvasculopatia cerebral, impedindo a rarefação capilar funcional e o aumento do rolamento de leucócitos observadas nos animais não tratados. Os tratamentos com BZ em monoterapia ou em combinação com Se foram capazes de reduzir a parasitemia e a mortalidade, impedindo a rarefação capilar funcional, o aumento do rolamento e adesão de leucócitos, e a diminuição do fluxo sanguíneo cerebral.

13. A INGESTÃO DE CAFEÍNA DURANTE A LACTAÇÃO INDUZ ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS E NEUROQUÍMICAS NA PROLE DE RATOS

Bruna Teixeira Silva¹, Paula Campello-Costa¹

1 – Programa de Pós-Graduação em Neurociências, Instituto de Biologia, UFF, Rio de Janeiro

Durante o desenvolvimento, as conexões do sistema nervoso são bastante susceptíveis a influências do meio externo. Nesse contexto a cafeína, droga psicoativa mais consumida no mundo, é capaz de ultrapassar tanto a barreira hematoencefálica, quanto passar através do leite materno, podendo assim modular os circuitos neurais e afetar o desenvolvimento pós-natal da prole. Investigar os efeitos indiretos da cafeína, durante a lactação, no comportamento e plasticidade do hipocampo (HPC) da prole de ratos. O trabalho foi aprovado pelo comitê de ética da UFF (#802). Foram utilizados ratos da linhagem Lister Hooded, e a partir do dia do nascimento dos filhotes, as mães foram submetidas ao tratamento oral com cafeína na concentração de 1g/L até o final do período de lactação no 21º dia pós-natal (DPN). Os animais controle receberam água. A partir do DPN24 foi realizado o teste de campo aberto com a prole. Em seguida, o hipocampo dos animais foi processado para western blot ou imunofluorescência. Os animais cujas mães receberam cafeína apresentaram maior locomoção no teste do campo aberto (machos: nctl:14 ncaf:7; p=0,0571; fêmeas: nctl:6 ncaf:7; p=0,155), além disso demonstraram um perfil mais ansioso, visto que tiveram menor % de locomoção no centro (machos: nctl:14 ncaf:7; p=0,0745; fêmeas: nctl:6 ncaf:7; p=0,0688), maior defecação dos machos (machos: nctl:14 ncaf:7; p=0,0923; fêmeas: nctl:6 ncaf:7; p=0,3122), e ainda apresentaram maior grooming (machos: nctl:14 ncaf:7; p=0,0192; fêmeas: nctl:6 ncaf:7; p=0,2427). Além disso apresentaram um déficit de memória de habituação, uma vez que o nº de rearings foram maiores no segundo dia de teste (machos: nctl:7 ncaf:7; p=0,2213; fêmeas: nctl:6 ncaf:7; p=0,1096). Encontramos uma diminuição da razão entre GluN2A/GluN2B no HPCd (nctl:6 ncaf:6; p=0,0346), um aparente aumento nas subunidades GluA1 (nctl:4 ncaf:5 p=0,1951) e GluA2 (nctl: 2 ncaf:2) no HPCv, e não encontramos diferenças na sinaptofisina (nctl:6 ncaf:6 p=0,2922) no HPC dos animais tratados indiretamente.

Conclusões: Os animais que receberam o tratamento indireto de cafeína apresentaram um perfil tipo ansioso e possíveis prejuízos de memória de longo prazo. Além disso, provocou mudanças neuroquímicas no HPC dos animais comparados ao controle. Com isso, podemos concluir que a ingestão de cafeína durante a lactação leva a alterações prejudiciais no desenvolvimento das conexões e comportamento da prole.

Apoio financeiro: CNPq, FAPERJ, CAPES, PROAP-UFF

14. IMMUNOMODULATORY AND NEUROPROTECTIVE EFFECTS OF OUABAIN ON RAT RETINAL CELLS: INTERLEUKIN-2 AND 10 INVOLVEMENT

Figueiredo, C.S¹, Araujo, E.G¹. 1 - Program of Neurosciences, Institute of Biology, Federal Fluminense University, Rio de Janeiro, Brazil.

Ouabain (OUA) is a steroid that at high concentrations (μM) inhibits the Na^+/K^+ pump, whereas at lower concentrations (nM) leads the pump to behave as a cell growth, proliferation and survival regulating receptor. Our research group demonstrated the trophic effect of 3nM OUA on retinal ganglion cells (RGC); an effect mediated by IL-1 β and TNF- α . Previous data indicate that OUA treatment also modulates the IL2 and IL-10 levels in retinal cell cultures (RCC). Our aim was to investigate the role of OUA regulating IL-2 and IL-10 levels in RCC and if the trophic effect of OUA was mediated by these interleukins. Animal procedures were approved by Animal Care Ethics and Use Committee of Federal Fluminense University (project 00124/09). Lister Hooded rats (P2) RCC were used. RCC were treated with OUA (3nM) for 5 and 30 minutes in the presence or absence of cycloheximide (1 μM), brefeldin A (30nM), anti-IL-2 (0,2 $\mu\text{g}/\text{mL}$) and anti-IL-10 (0,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) antibodies. The IL-2 and IL-10 levels were obtained by Western Blot. The RGC survival was evaluated after 4 and 48h in vitro. To identify cells expressing IL-2 and IL-10 in RCC we performed an immunocytochemistry. Statistical analyses were done using ANOVA. Values are expressed as mean \pm SEM. Our results show that IL-2 neutralization abolished the trophic effect of OUA on RGC but IL-10 neutralization partially blocked the increase in RGC survival induced by OUA (CT48h=46 \pm 4; OUA=94 \pm 7, Anti-IL-2=49 \pm 3; Anti-IL- 2+Oua=61 \pm 10; Anti-IL-10=52 \pm 6; Anti-IL-10+Oua=92 \pm 16; n=3). Previous data show that the trophic effect of IL-2 on RGC depends on IL-10 and in the present work we show that the trophic effect of IL-10 on RGC was not mediated by IL-2 (CT48h=46 \pm 4; IL-10=77 \pm 8; Anti IL-2=49 \pm 3; Anti IL-2+IL-10=83 \pm 6; n=3). We also demonstrated that both cytokines are present in the RGC and microglia. Analyzing the mechanisms involved in the effect of OUA on interleukin levels in RCC we observed that, after 5min OUA induces an increase in both interleukin synthesis, since CHX treatment abolished the OUA effect on IL-2 (CT=0.10 \pm 0.01; OUA=0.17 \pm 0.03; CHX=0.11 \pm 0.02; CHX+OUA=0.09 \pm 0.02; n=3) and on IL-10 (CT=0.15 \pm 0.03; OUA=0.30 \pm 0.03; CHX=0.19 \pm 0.03; CHX+OUA=0.13 \pm 0.016; n=5) levels. Interestingly, when the cultures were treated for 30min with brefeldin A in the presence of OUA we did not observe a decrease in IL-2 (CT=0.37 \pm 0.02; OUA=0.25 \pm 0.04; BFA=0.34 \pm 0.07; BFA+OUA=0.30 \pm 0.05; n=4) and IL-10 levels (CT=0.35 \pm 0.03; OUA=0.26 \pm 0.05; BFA=0.34 \pm 0.04; BFA+OUA=0.41 \pm 0.04; n=5). In general, our data show that OUA treatment modulates the production and suggest an increase in the release of interleukins, by different cell types in RCC leading to the regulation of inflammatory response. This effect is crucial to restores the homeostasis process involved in the increase in axotomized RGC survival.

Financial Support: CAPES, CNPQ, FAPERJ and INCT-NIM

15. EXPOSURE OF 5 DAYS MODULATES THE TRANSPORTATION OF EXCITATORIAL AMINO ACIDS IN THE HIPPOCAMPUS OF ADOLESCENT MICE.

¹Teixeira, C.H.C., ¹Gonçalves, P.M.M., ¹Martins, R.S., ²Sathler, M.F., ¹Kubrusly, R. C. C.
¹Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil. ²Department of Biomedical Sciences, Colorado State University, Fort Collins, CO, USA.

Caffeine acts as a non-selective antagonist of A1 (A1R) and A2A (A2AR) receptors, widely distributed throughout the central nervous system (CNS), interacting with various neurotransmitter systems, including the glutamatergic system. Glutamate, the main excitatory amino acid, plays a fundamental role in the hippocampus, acting in the learning and memory processes, where its receptors (NMDA and AMPA) and their transporters (EAATs) have direct action in the modulation of these processes. To evaluate whether CAF is able to modulate the transport of excitatory amino acids in the hippocampus after five-day of exposure and its withdrawal. Swiss, male and female mice, aged between 35 and 40 days postnatal are injected subcutaneously once for five days, with 10, 20 and 40 mg/Kg of CAF or vehicle. The experimental groups are divided into four groups: Group 1 (1h treatment = G1); Group 2 (120h of treatment = G2); Group 3 (120h treatment + 120h withdrawal = G3); Group 4 (120 hours of treatment + 120 hours of withdrawal + 1 hour of treatment = G1 + G2 + G3). We analyzed the uptake and release of [³H]-D-ASP from all groups. Univariate ANOVA followed by Bonferroni post-test were performed for results with 3 or more groups and unpaired t-test for results with 2 groups. The results were expressed as mean ± SEM. Statistical significance was achieved with p < 0.05. The project was approved in CEUA 968/2017. In relation to the uptake profile of [³H]-D-ASP, we observed that there was no difference in relation to the control in group 1 (basal = 100.0, CAF 10 mg/Kg = 90.50 ± 6.652, CAF 20 mg/Kg = 87.75 ± 3.881, CAF 40 mg/Kg = 91.50 ± 3.403, p < 0.05, n = 4); However, group 2 showed a decrease in this profile (basal = 100.0, CAF 10 mg/Kg = 85.00 ± 8.926, CAF 20 mg/Kg = 70.43 ± 6.301, CAF 40 mg/Kg = 68.75 ± 8.960, p < 0.05, n = 8), as in group 3 (basal = 100.0, CAF 10 mg/Kg = 87.40 ± 5.528, CAF 20 mg/Kg = 81.20 ± 6.857, and CAF 40 mg/Kg = 73.00 ± 6.675, p < 0.05, n = 12) and group 4 (basal = 100.0, CAF 20 mg/Kg = 88.33 ± 1.716, p < 0.05, n = 10). We also analyzed the release levels of [³H]-D-ASP only at the dose of 20 mg/Kg in group 2 (basal = 7.016 ± 1.311, CAF 20 mg/Kg = 5.362 ± 1.069, p < 0.05, n = 7) and in group 4 (basal = 9,450 ± 0,8549, CAF 20 mg/Kg = 3,717 ± 1,395, p < 0,05, n = 4), both of which presented reduction when compared to control. The excitatory amino acid uptake and release profiles in the hippocampus undergo caffeine modulation after exposure and withdrawal.

Financial Support: FAPERJ, CNPq.

16. METIL-BETA-CICLODEXTRINA (M β CD) REGULA A ATIVIDADE DE ENTs LOCALIZADOS EM LIPID RAFTS EM CULTURAS DE RETINA DE GALINHA

dos Santos, CM ¹; Souza, SBC ¹; Paes-de-Carvalho, R ¹ & dos Santos-Rodrigues, A ¹

¹ Departamento de Neurobiologia, Programa de Pós-Graduação em Neurociências, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói -Brasil

Os transportadores equilibrativos de nucleosídeos (ENTs) são proteínas transmembranares conhecidas por mediar o fluxo celular de nucleosídeos e algumas nucleobases através da membrana. Os ENTs mais bem caracterizados são os transportadores ENT1 e ENT2. A adenosina (Ado) é um neuromodulador importante no sistema nervoso central, tendo importantes papéis na regulação da transmissão e plasticidade sináptica, proliferação e diferenciação celular, além de estar envolvida em processos de reparo celular e neurodegeneração. A participação dos ENTs na sinalização purinérgica no cérebro é de extrema importância, mas o conhecimento sobre sua regulação ainda é limitado. As balsas lipídicas, ou lipid rafts, são microdomínios especializados de membrana ricos em colesterol, glicoesfingolípídeos e proteínas específicas. Esses microdomínios funcionam como plataformas para montagem de moléculas de sinalização e regulação de processos como tráfego intracelular e vias de sinalização celular. Nosso objetivo neste trabalho foi investigar a associação entre a atividade do ENT1 e os lipid rafts a partir do uso do M β CD em culturas mistas de embrião de galinha, composto que depleta o colesterol da membrana, alterando a sua fluidez. Primeiramente, nós observamos que não houve alterações significativas na viabilidade celular em concentrações do fármaco até 5 mM por 45 minutos ($90,7 \pm 3,7\%$, $p=0,8498$, $n=3$) e constatamos a depleção do colesterol das células ($55,5 \pm 4,6\%$, $n=2$) e um aumento no meio extracelular ($625 \pm 25\%$, $n=2$) em tratamento com o fármaco (5 mM) por 45 minutos. Em seguida, os ensaios de captação de ³[H] adenosina permitiram medir a atividade de ENTs e nós demonstramos que o tratamento com M β CD (5 mM) por 45 minutos diminuiu significativamente a captação de adenosina ($50,5 \pm 11,0\%$, $p<0,05$, $n=3$). Os resultados demonstram uma possível interação do ENT1 com o colesterol da membrana e, além disso, o colesterol pode ter um papel regulador do ENT1 pela manutenção da fluidez da membrana celular, podendo modular também diversos processos celulares.

Apoio Financeiro: Capes, FAPERJ e CNPq.

17. PARTICIPAÇÃO DOS RECEPTORES DE ADENOSINA NAS ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS CAUSADAS PELO DECANOATO DE NANDROLONA EM RATOS

Penna, D.B.S.¹; Raony, I.¹; Jardim-Messeder, D.¹; dos Santos-Rodrigues, A.²; Pandolfo, P.¹.
1 - Laboratório de Neurobiologia do Comportamento Animal. 2 - Laboratório de Neurobiologia das Interações Celulares. Departamento de Neurobiologia. Programa de Pós-Graduação em Neurociências. Universidade Federal Fluminense. Niterói – RJ

Os derivados do hormônio masculino testosterona são denominados esteroides androgênicos anabólicos (EAA). Os efeitos dos EAA são o ganho de massa muscular (efeito anabólico) e a masculinização (efeito androgênico), além de afetarem diretamente diversos sistemas fisiológicos. A cafeína é um antagonista não seletivo dos receptores de adenosina e é encontrada em diversos alimentos e bebidas. Frequentemente tanto os anabolizantes quanto a cafeína podem ser consumidos concomitantemente, no entanto, na literatura não há estudos que avaliem o uso crônico de ambas substâncias e seus efeitos comportamentais. O objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos cognitivos e emocionais resultantes da interação de baixas doses de cafeína (0,1 g/L por 9 semanas) e do anabólico Decanoato de Nandrolona (DN, 10 mg/kg por 8 semanas I.M) em ratos Lister Hooded. Uma semana após o término do tratamento com DN, os animais foram submetidos aos testes comportamentais. No primeiro dia, comportamentos relacionados à ansiedade foram avaliados no labirinto elevado em cruz (LCE). No segundo e terceiro dias, os animais foram expostos ao campo aberto para ser avaliado a emocionalidade (dia 1) e a memória de habituação (dia 2). No quarto dia, a tarefa de reconhecimento de objetos, onde é possível avaliar a capacidade discriminativa dos animais e sua memória espacial. No quinto e sexto dia, a tarefa de esQUIVA passiva (EP) para avaliar a memória emocional. A última tarefa foi a placa-quente para avaliar a nocicepção térmica. CEUA n° 783. O tratamento com DN aumentou a porcentagem do tempo gasto nos braços abertos do LCE (LCE - 13.11 ± 13.11 , n = 9 vs 50.65 ± 7.16 , n = 7; p < 0.001) e a latência para descida da plataforma na esQUIVA-passiva (EP - 43.49 ± 18.33 , n = 8 vs 178.59 ± 18.33 , n = 7 p < 0.01), seletivamente em machos. Os animais que receberam cafeína e DN não apresentaram diferenças em relação ao controle nos testes LCE e esQUIVA passiva (respectivamente, 3.21 ± 7.16 , vs 13.11 ± 6.32 e 17.21 ± 18.33 vs 43.49 ± 18.33 , n = 5-9 por grupo). Os dados do presente estudo sugerem que os receptores de adenosina participam das mudanças cognitivas e emocionais causadas pelo anabolizante DN.

Auxílio Financeiro: FAPERJ; CAPES; CNPq.

18. ALTERATION OF CANNABINOID RECEPTORS AND MICROGLIA THROUGH THE DEVELOPMENT OF THE RETINA IN A MURINE MODEL OF RETINITIS PIGMENTOSA

Senos, D. L. , Fragel-Madeira, L.
Neurobiologia - Universidade Federal Fluminense

Retinitis Pigmentosa is a hereditary neurodegenerative disease that causes death of photoreceptors, resulting in a progressive loss of vision. Despite advances, this disease remains without cure. For this study, we used the PDE6 β rd10/rd10 murine model, in which it is possible to mimic the progressive loss of photoreceptors as well as other characteristic processes, such as microglial infiltration through retinal layers and reactive gliosis. The endocannabinoid system has already been shown to be altered in other neurodegenerative models, such as Alzheimer and Parkinson diseases. In many cases its modulation have a neuroprotective effect. The presence of endocannabinoid system components in adult murine retina under physiological conditions was already studied but remains unknown during retinal development or pathological conditions such Retinitis Pigmentosa. This project aims to analyze the presence of endocannabinoid system components in a murine model of Retinitis Pigmentosa PDE6 β rd10/rd10 (rd10) and compare them to C57Black/6 (Bl6) mice in physiological conditions. Bl6 and rd10 mice at three postnatal days (P3), P5, P9, P15, P17, P19, P21, P23, P25 and P30 ages had their retinas processed for immunohistochemistry. In sequence retina were labeled to cannabinoid receptor type 1 (CB1), cannabinoid receptor type 2 (CB2) and Ionized calcium binding adaptor molecule 1 (Iba-1), a marker of microglial cells. Quantitative data was perform by ImageJ v1.51h and GraphPad Prisma v7.0, using a One-Way ANOVA and Tukey post-test or Two- Way ANOVA and Dunnetts post-test and p values less than 0.05 was considered significant. Ethics Committee on Animal Use (CEUA) protocol number 679/2015. The presence of CB1 receptor expression in rd10 mice was similar at different ages during retinal development when compared to control animals, labeling throughout retina, mainly plexiform layers. CB2 receptor became more expressed according to retina development in rd10 mice when compared to Bl6 mice, presenting a immunostaining pattern similar to CB1 receptor, but at degeneration periods in rd10 mice, nuclear layers also appeared marked. When we analyzed the presence of microglia, we noted an increase on microglial infiltration in photoreceptors nuclei layer at P23 (48.6 \pm 6.93), with a subsequent decrease at P25 (46.3 \pm 13.3), whereas the number of microglia in total retina remained the same. According to literature data, the peak of microglial infiltration is at P21, however, in our experimental conditions, this peak was at P23. We can conclude that CB1 expression did not change while CB2 receptor is upregulated rd10 compared to control animals. The increase of CB2 expression coincided with increase of microglial infiltration and death of photoreceptors cells, suggesting a possible involvement of them into retinal neurodegeneration. Our next steps are to apply an eye drop containing a CB2 antagonist (AM630) and analyze its effects on disease progression. Support: Capes, FAPERJ, CNPq and Proppi-UFF.

19. PAPEL DE RECEPTORES CANABINOIDES NO COMPORTAMENTO DE RETIRADA AO ETANOL EM CAMUNDONGOS

Jardim-Messeder, D; Raony, I; Pandolfo, P.

Programa de Pós-Graduação em Neurociências, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Brasil.

A adolescência é um período de susceptibilidade para o início do uso e abuso de etanol, o qual pode causar alterações comportamentais. A exposição gestacional ao álcool também pode promover danos ao desenvolvimento encefálico e causar consequências comportamentais que se estendem ao longo da vida. Uma vez que o sistema endocanabinoide é capaz de modular os efeitos hedônicos do etanol, os canabinoides poderiam ter um uso promissor para o controle de comportamentos relacionados ao consumo e à retirada de etanol. O objetivo foi avaliar o possível papel do sistema endocanabinoide na modulação dos comportamentos observados após a retirada de etanol em camundongos adultos expostos ao etanol durante a adolescência e/ou no período neonatal. Camundongos Swiss de ambos sexos receberam três injeções intraperitoneais (ip) de solução salina (NaCl 0,9%) ou etanol 2g/kg entre os dias 4 e 8 pós-natal (PN). Entre os dias PN35 e 49, os animais foram submetidos a um protocolo de consumo crônico de etanol 10% por livre-escolha. Os animais dos grupos controles receberam apenas água. Entre os dias PN50 e 53, os camundongos foram avaliados nos testes labirinto em cruz elevado (LCE), campo aberto (CA) e reconhecimento de objetos (RO); 30 minutos antes de cada teste foram tratados com o agonista não seletivo para os receptores CB1 e CB2 (WIN55,212-2, 0,25 mg/kg, ip), ou o antagonista CB1 (AM251, 1 mg/kg ip), ou apenas solução veículo (NaCl 0,9%, DMSO 10% e Tween80 0,1%). As análises estatísticas foram realizadas utilizando a ANOVA de 4 vias, adotou-se $p < 0,05$ e os resultados foram expressos como média \pm EPM. No LCE, a exposição neonatal ao etanol causou um maior número de entradas nos braços fechados nas fêmeas (Não expostas: $9,12 \pm 0,46$ vs. Expostas: $10,03 \pm 0,48$), enquanto que o WIN aumentou a porcentagem de entradas e de tempo nos braços abertos apenas em fêmeas não expostas ao etanol durante o período neonatal (Não expostas veículo: $39,19 \pm 2,26\%$ e $31,23 \pm 3,89\%$ vs. Não expostas WIN: $44,52 \pm 2,88\%$ e $43,09 \pm 5,48$). No CA, fêmeas apresentam uma maior distância total em relação aos machos, independente dos tratamentos (M: $125,87 \pm 2,70$ m vs. F: $134,56 \pm 3,21$ m), e a exposição neonatal ao etanol aumentou a porcentagem de distância na região central (Não expostos: $20,66 \pm 0,72\%$ vs. Expostos: $23,29 \pm 0,73\%$) e prejudicou a memória de habituação (Não expostos: $0,10 \pm 0,02$ vs. Expostos: $0,04 \pm 0,01$) apenas em machos. O WIN aumentou a latência para 1ª entrada na região central seletivamente em machos (M veículo: $13,26 \pm 1,99$ s vs. M WIN: $37,61 \pm 8,96$ s) e melhorou a memória de habituação em fêmeas (F veículo: $0,06 \pm 0,02$ vs. F WIN: $0,11 \pm 0,02$), independente de exposições prévias ao etanol. Dessa forma, tanto o período no qual ocorre a exposição ao etanol (neonatal ou adolescência) quanto o sexo são determinantes para a modulação que o sistema endocanabinoide exerce sobre alterações comportamentais decorrentes do etanol.

Auxílio Financeiro: CAPES, CNPq, FAPERJ.

20. PAPEL DOS ENDOCANIBINOIDES NO DESENVOLVIMENTO DA RETINA

Cosendey Bockmann, E, Ventura, ALM, França, GR, Calaza, KC. Departamento de neurobiologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Rio de Janeiro

O sistema canabinoide está presente e regula fenômenos do desenvolvimento do sistema nervoso central. Na retina de embrião de galinha também já foi demonstrado a presença dos componentes do sistema canabinoide e seus receptores. Contudo, seu funcionamento e papel durante o desenvolvimento da retina ainda é desconhecido. O objetivo deste trabalho foi investigar o papel dos endocanabinoides (Ecs) no desenvolvimento da retina, identificar os receptores envolvidos e possíveis mecanismos envolvidos nos resultados. Aprovação comitê de ética no 197. Para avaliar proliferação celular, culturas de células de retina embrionária (E) de galinha E7 foram tratadas por 24 h com URB597 (inibidor da enzima FAAH; 0,01 uM, 0,1 uM, 1 uM), URB602 (inibidor enzima MAGL; 10 uM, 50 uM, 100 uM) e os antagonistas CB1 AM251 (1 uM) e CB2 AM630 (1 uM). As concentrações desses inibidores foram baseadas na literatura que mostra aumento da disponibilidade de Ecs. Incubamos as culturas com [3H]-timidina (0,2 µCi) por 1h e medimos a radioatividade por cintilação líquida. Para avaliar a morte celular utilizamos o mesmo protocolo de tratamento e realizamos o ensaio colorimétrico de atividade de MTT. Para verificar a possível causa da morte celular pelos efeitos do tratamento com os inibidores URB602 e URB597 e o agonista WIN55212-2, foi realizado o mesmo procedimento de cultura e 24 horas após o tratamento, as células foram lavadas e incubadas por 45 minutos com DAF com a intenção de verificar possíveis alterações na liberação de óxido nítrico. O teste estatístico utilizado foi o One-way ANOVA, com $p < 0,05$ sendo considerado significativo. O tratamento com o URB597 (0,01 uM, 0,1 uM) não altera a proliferação, contudo na concentração de 1 uM é visto uma diferença significativa em relação ao controle (n=6). Já o tratamento com o URB602 (10 uM, 50 uM, 100 uM) é visto a inibição da proliferação celular nas concentrações de 50 uM e 100 uM (n=5). O dado preliminar utilizando antagonistas de receptores CB1 (AM251, 1 uM) ou CB2 (AM630, 1 uM) indica que o efeito deve depender do receptor CB2 (n=1). O tratamento com URB602 50 uM (n=4) e URB597 1 uM (n=6), induz morte celular. Dados preliminares avaliando a liberação de óxido nítrico, indicam uma possível diminuição na produção de NO com os tratamentos por URB602, URB597 e WIN (n=1). O tratamento com URB602 e URB597 diminui a proliferação e induz morte de células de retina em cultura. Os efeitos do URB602 foram sempre maiores que URB597 sugerindo que o 2-AG (que é hidrolisado pela MAGL) tem um papel predominante no desenvolvimento da retina. Uma das possíveis vias relacionadas com esse efeito pode ser a do NO, contudo é necessário repetir os experimentos e avaliar a curva temporal de modulação da produção de NO para comprovar esta possibilidade.

Apoio Financeiro: CNPq, Faperj, Capes, PIBIC/UFF.

21. ESTUDO TEMPORAL DA SEPSE NEONATAL BACTERIANA: O EFEITO NA BARREIRA HEMATOENCEFÁLICA

Copello, A. L.1; Salles, G. E. B. 1; Aragão, L. F. 1; Pádua, G. S. 1; Ferreira, N. R. 1; Crespo, M. M. Q. 1; Santos, I.

C. B. 1; Oliva, R.; Neto, H. C. C. F.2; Granja, M. G.2 [1] Estudantes do Curso de Medicina da UNESA [2] Pesquisadores do Laboratório de Farmacologia, Fiocruz, RJ.

A sepsé é uma alarmante condição ligada à falência de múltiplos sistemas e à alta mortalidade. Sabe-se que a inflamação sistêmica pode causar disfunções neuronais, como encefalopatia associada a sepsé. Nesse contexto, a avaliação de dados práticos é essencial para ratificar ou não os modelos teóricos acerca de sua fisiopatologia, além de testar a eficácia do tratamento atual. O nosso objetivo foi Avaliar o nível de quebra da barreira hematoencefálica e a mortalidade em amostras animais de modelos de sepsé neonatal. Após submissão e aprovação pelo Comitê de Ética em Uso de Animais do Instituto Oswaldo Cruz (CEUA- IOC), número CEUA/IOC-L18/2017, foram utilizados camundongos Swiss Webster, provenientes do Instituto de Ciências e Tecnologia em Biomodelos (ICTB) da FIOCRUZ, do gênero masculino, com 1 dia de vida, pesando uma média 2,3g, mantidos a 25 °C, com ciclo de 12 horas claro/escuro. Estes foram divididos em um grupo composto por 50 animais com 1 dias de vida, em que 10 foram submetidos à injeção intraperitoneal de solução salina estéril; 20 foram submetidos à injeção intraperitoneal de *Streptococcus agalactiae*; e 20 receberam o *Streptococcus agalactiae* e tratamento intraperitoneal com meropenem 10mg/Kg. Entre 24h e 96h após a infecção, os animais tiveram os parâmetros de peso e temperatura analisados. Ademais, foi feita injeção retro-orbital do corante azul de Evans com 24h de experimento, de modo que, após 1h da injeção, os cérebros foram removidos e adicionados à solução de formamida por 24 horas em estufa a 37 °C. Em seguida, foi realizada a leitura em espectrofotometria com 650 de absorvância. Com o uso de meropenem, se evidenciou nas amostras com 4.10^8 UFC, um aumento da sobrevivência de 67,5% (sem o uso) para 88%. Além disso o antibiótico propiciou um ganho de peso em todas as amostras, especialmente na amostra com 7.10^8 UFC de 2,44g, e um aumento na temperatura, especialmente na amostra de 4.10^8 UFC para 37°C. No que tange à avaliação da quebra da barreira hematoencefálica, se observou um aumento do índice de absorção do azul de Evans após 48h, atingindo-se o valor entre 4 e 5 nas amostras com 4.10^8 UFC e 5.10^8 UFC, após 96h. Concluímos que o uso de meropenem preveniu a caquexia e hipotermia induzidas pela sepsé, além de aumentar a sobrevivência nas amostras com 4.10^8 UFC. Todavia, a quebra da barreira hematoencefálica ocorreu precocemente, após 48h da infecção, mesmo com o uso de antibiótico, evento crítico para a indução da encefalopatia associada à sepsé.

Apoio Financeiro: O presente trabalho foi financiado por recursos da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz).

22. AÇÕES QUE CONECTAM A EDUCAÇÃO BÁSICA E A UNIVERSIDADE ATRAVÉS DAS NEUROCIÊNCIAS?

Giovanna Vicenta de Oliveira Braga¹, Luana da Silva Chagas^{1,2}, Poliana Capucho Sandre¹, Bruna Teixeira Silva¹, Thalita Mázala¹ e Priscilla Oliveira Silva Bomfim^{1,2,3}.

1- NuPEDEN- Núcleo de Pesquisa, Ensino, Divulgação e Extensão em Neurociências da UFF. 2 - PPG em Neurociências/UFF. 3-INCT-NIM

A neurociência é um ramo raras vezes abordado nas escolas brasileira, despertando a curiosidade, muitas vezes, daqueles que desejam seguir carreiras científicas. Contudo, as neurociências fazem parte do nosso dia a dia regulando nosso comportamento, cognição, emoções, dentre tantos outros processos fisiológicos. Assim, reconhecendo a importância desse conteúdo para a educação (para a cognição, por ex) seja no nível básico, ou até mesmo no superior (vide a importância dos conceitos dessa ciência na formação de professores) nossa proposta é promover a conexão fundamental entre a educação básica e a superior, envolvendo alunos e professores de ambos os níveis em diferentes ações, gerando troca de saberes. Para isso, diversos eventos, dentro e fora das escolas, são organizados anualmente, como por exemplo: (1) o Neurocine, onde realizamos uma sessão de cinema com alunos de escolas públicas, preferencialmente, discutindo posteriormente o tema do filme com uma banca de especialistas; (2) a Semana do Cérebro- exposição de inúmeras oficinas interativas de neurociências e áreas afins; (3) o Curso de Inverno (férias), onde licenciandos de diferentes áreas, alunos do ensino médio e professores do ensino básico assistem aulas sobre neurociências, além de participarem de oficinas interativas; (4) Participação e/ou criação em eventos escolares, levando para alunos entre 12 e 18 anos oficinas que promovem um ensino dinâmico, divertido e interativo; (5) Palestras de capacitação de professores do ensino básico, onde procuramos atualizar o conhecimento dos mesmos sobre neurociências a fim de que possam usar o conhecimento adquirido em benefício da educação de jovens e adultos. A partir desses eventos, temos o objetivo de popularizar e tornar as neurociências acessíveis para os alunos de ensino fundamental e médio, professores do ensino básico e licenciandos, promovendo a democratização do ensino e possibilitando uma maior abrangência das diversas áreas das ciências nas escolas.

Apoio financeiro: Agir/UFF, Proex/UFF e INCT-NIM.

23. EFFECT OF INTERLEUKIN-6 IN A MOUSE MODEL OF RETINITIS PIGMENTOSA

Menezes, GD., Vieira, FB., Campello-Costa, P.

Programa de Pós-Graduação em Neurociências – Universidade Federal Fluminense

Retinitis Pigmentosa (RP) is a hereditary disease without cure that leads to blindness. It is caused by several genetic mutations that induce a gradual degeneration of photoreceptors. Several models, including RD10, have been used in order to understand the cellular and molecular mechanisms involved in the development and progression of the disease. Interleukin-6 is a cytokine with different effects on the nervous system, including neuroprotection and neuroplasticity. Therefore, the aim of our work is to investigate whether intravitreal injections of IL-6 lead to cell survival in a mouse model of RP. Experiments were approved by the Local Animal Care Committee (CEUA-UFF) under protocol number 00129/09. RD10 mice were injected in both eyes with IL-6 (50 ng/mL) or PBS as vehicle in postnatal day (P) 14, one day before the beginning of the photoreceptor death. Retinas were processed for Nissl staining at P15 and P25. Retinas from untreated C57BL/6J (Bl6) mice were used in both ages as control group. Photomicrography apparently showed no difference in retinal thickness in all treatments at P15. On the other hand, RD10 animals presented outer nuclear layer (ONL) thicker comparing to Bl6 animals at P25 in accordance to the literature. In that same age, PBS and IL-6-treated animals presented ONL layers larger than RD10 animals without treatment. We then conclude that injections with PBS or IL-6 seems to increase the survival of photoreceptors. At P15 or P25 retinas and superior colliculus were processed to western blot for EGR1 and GFAP proteins in order to analyze neuronal and astrocytic activity, respectively. Our preliminary data did not show a significant difference in the EGR of all the animals analyzed. However, a difference in the GFAP content in the retina of both PBS- and IL-6-treated animals at P15 was observed (Mean \pm SE: Bl6 = 1733 \pm 317,6, n=3; RD10 =1958 \pm 765,1, n=3; PBS = 5642 \pm 2276, n=3, Significant P < 0.05; IL-6 = 4937 \pm 1297, n=3, Significant P < 0.05). Although at this age the astrocyte appears to be no longer activated in the RD10 animals compared to the Bl6, in the animals that received both injections it appears to increase the glial activity one day after the treatments. At P25 black/white transition box was used to detect the ability of animal to respond to illuminance. RD10 animals spend less time in black box compared to Bl6. Moreover, RD10 animals treated with both PBS or IL-6 presented the same behavior. Collectively these data indicate that this mutated animal had damaged vision and lost the ability to respond the illuminance, which is not improved by a single intravitreal treatment. Our data suggest that the intravitreal injection itself could lead to an inflammatory response which could in turn induces astrogliosis in the retina. Together, we conclude that although IL-6 increases RGCs survival, this increase did not improve the vision of these animals.

Support: CAPES, CNPq, FAPERJ, PROAP-UFF

24. AGONISTA CANABINOIDE WIN-55,212-2 INDUZ A MORTE DE CÉLULAS DA RETINA DE RATOS NEO NATOS EM CULTURA VIA RECEPTORES CB1

Stelzer, G.T.^{1,2}, Mazala-de-Oliveira, T.², Giestal-de-Araújo, E.^{1,2}, Ventura, A.L.M.^{1,2} França, G.R.³. 1 - Laboratório de Neuroquímica, UFF, RJ. 2 - Laboratório de Cultura de Tecidos Hertha Meyer, UFF, RJ. 3 - Departamento de Ciências Fisiológicas, UNIRIO, RJ.

O sistema endocanabinoide (SE) é formado por enzimas de síntese e degradação de endocanabinoides, transportadores de membrana e receptores canabinoides majoritariamente do tipo CB1 e CB2 (CB1R e CB2R), ambos acoplados principalmente à proteína Gi. Pode ser encontrado tanto no tecido nervoso em desenvolvimento, quanto nos terminais sinápticos em adultos. Classicamente, o SE é responsável pela regulação da neurotransmissão através de sinalização retrógrada a partir do neurônio pós-sináptico, reduzindo a liberação de neurotransmissores por exocitose. Além disso, o sistema endocanabinoide está associado à modulação de diversos eventos celulares, tais como sobrevivência, proliferação, diferenciação, entre outros. Essa modulação, por sua vez, pode ocorrer de formas diferentes dependentes da metodologia empregada, dificultando o estabelecimento de funções claras do SE. Apesar da ampla associação de canabinoides à neuroproteção, dados recentes do nosso grupo sugerem que os canabinoides, no modelo de cultura de células da retina, induzem morte celular. Nossos objetivos foram estudar a morte celular em culturas de células de retina de ratos neo natos tratadas com agonistas e antagonistas canabinoides. Culturas de células de retina de ratos neo natos da linhagem Lister-hooded foram tratadas em P1C4 (um dia pós natal, cultivadas por 4 dias) com concentrações crescentes de WIN-55,212-2 (0,1, 0,5 e 1 μ M), um agonista de CB1R e CB2R, e AM251 1 μ M, antagonista seletivo para CB1R. Foram então armazenadas em estufa à 37° e 95% ar / 5% CO₂, por 24h. Em seguida as células foram processadas para ensaio de viabilidade celular por MTT e incorporação de iodeto de propídeo. A morte celular também foi investigada por detecção de caspase-3 por ensaio de imunofluorescência. Este projeto possui aprovação pelo comitê de ética, protocolo nº 726, CEUA- UFF. WIN 1 μ M reduziu a viabilidade de células de retina em ~30,3% (p<0,0001; n=3), um efeito que foi totalmente inibido pelo antagonista de CB1R, AM251. Nestas mesmas condições, WIN promoveu um aumento na incorporação de iodeto de propídeo em ~50,2% (n=2). Culturas de células em P1C4 foram tratadas com Win 1 μ M por 24 h e processadas para ensaio de imunofluorescência utilizando anticorpos contra caspase-3 clivada e neurofilamento-L. WIN aumentou o número de células caspase-3 positivas/DAPI em 192% em 24h (n=1). Além disso, células caspase-3 positivas foram neurofilamento-L negativas. Nossos resultados em conjunto sugerem que a ativação de CB1R induz a morte de células não neuronais da retina de ratos neo natos em cultura.

Apoio financeiro: CAPES, FAPERJ, PROP-UFF e CNPq.

25. MODULAÇÃO DA SINALIZAÇÃO PURINÉRGICA NO MODELO MURINO DE RETINOSE PIGMENTAR PDE6BRD10/RD10

Cruz, H.¹, Senos, D.¹, Magalhães, C.¹, Petrs-Silva, H.², Fragel-Madeira, L.¹.

1 - Departamento de Neurobiologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, Brasil. 2 - Departamento de Neurobiologia, IBCCF – UFRJ.

A microglia, a célula imune residente no sistema nervoso central, desempenha um papel importante na regulação de funções neuronais sendo responsável por exemplo pela vigília do tecido e homeostase bem como pela sobrevivência dos diferentes tipos de células neurais. Vem sendo mostrada a possível participação da microglia na progressão de doenças degenerativas da retina. Uma vez que há um aumento de estressores no tecido retiniano, como os DAMPs, a microglia pode assumir um perfil mais inflamatório participando da fagocitose de fotorreceptores e possivelmente liberando citocinas que aceleram a progressão de doenças degenerativas. Por outro lado, a inibição da atividade microglial têm sido mostradas como neuroprotetora em modelos experimentais de degeneração da retina como no camundongo Rd10, um modelo de Retinose pigmentar. A Retinose pigmentar é a distrofia retiniana hereditária mais frequente no Brasil com incidência de 1 em 4000 e ainda não possui cura. Seus sintomas incluem a perda da visão em baixa luminosidade, visão tunelar e cegueira. Esta doença está associada a diversas mutações gênicas podendo ou não está associada a outras síndromes. Possuem perfil de transmissão autossômica recessiva, dominante e ligada ao X. Estas alterações genéticas levam a disfunções na atividade das células sensíveis à luz presentes do olho, os fotorreceptores, e consequentemente desencadeiam a morte progressiva deste tipo celular. A morte celular, por sua vez pode levar a liberação de nucleotídeos de adenina que são sinalizadores extracelulares importantes. Estes nucleotídeos desempenham seus efeitos através de receptores de membrana, os canais iônicos da família P2X e receptores acoplados a proteína G da família P2Y e P1. Os receptores purinérgicos P2Y12 e P2X7 já foram mostrados sendo importantes reguladores da atividade fagocítica e da motilidade microglial, enquanto modelos Knock out do receptor P2Y1 microglial exibem pior prognóstico nos modelos de isquemia e reperfusão na retina. Desta forma, este trabalho tem como objetivo investigar o papel da sinalização purinérgica na degeneração dos fotorreceptores e no comportamento microglial em no modelo murino de Retinose pigmentar PDE6βrd10/rd10. Para isso animais rd10 com 18 ou 24 dias pós- natal foram anestesiados e injetados via intravitrea com antagonista dos receptores P2Y1, P2Y12 e P2X7, o MRS2179, o PSB0739 e o A438079 respectivamente. Como controle utilizamos a solução de PBS 0,1 M. Foi dada 24h de sobrevida e então estes animais foram mortos e seus olhos sofreram processamento histológico e seguida foram obtidas lâminas nas quais foram imunomarcadas recoverina presente em bastonetes ou para Iba1 presente nas microglias e sem seguidas foram analisadas. Os achados preliminares sugerem que o bloqueio do receptor P2Y1 pelo MRS2179 leva a uma diminuição do número de microglias nas idade de P19 (Controle = 190; 10 μM = 111; 50 μM = 102; 100 μM = 92). O bloqueio do P2Y12 pelo PSB0739 leva a um aumento no número de células marcadas para recoverina na idade de P25 (Controle = 172,5 ± 0,7; 1 μM = 141; 10 μM = 210 ± 2; 50 μM = 263) e o tratamento com o antagonista A438079 em P19 não gerou alterações no número de bastonetes em P19 (Controle = 235 ± 4,2; 1 μM = 227 ± 47; 10 μM = 234,5 ± 14,5; 50 μM = 235,5 ± 5,0). Nossos resultados preliminares apontam para o possível envolvimento dos receptores purinérgicos na progressão da doença no modelo murino rd10.

26. O IMPACTO DA BAIXA DOSE DE ETANOL SOBRE AS INTERAÇÕES NEUROIMUNES DO SISTEMA VISUAL DE RATOS DURANTE DESENVOLVIMENTO

Henrique Marcondes; Ericka Margelis; Luana Chagas; Claudio A. Serfaty

Programa de Pós-Graduação em Neurociências – Universidade Federal Fluminense

Uma das principais causas de retardo mental no mundo está relacionada ao consumo de etanol durante a gestação e estão relacionadas ao espectro de desordens alcoólicas fetais, termo que engloba vários achados clínicos em indivíduos expostos ao etanol durante períodos precoces do desenvolvimento. Várias dessas desordens são associadas a déficits na plasticidade. O presente estudo utiliza as conexões retinocoliculares de roedores como modelo para avaliar se a exposição ao etanol durante a primeira semana pós-natal em ratos, equivalente ao terceiro trimestre gestacional em humanos, altera aspectos fundamentais na formação estrutural da circuitaria dos sistemas sensoriais. Ratos pigmentados Lister Hooded foram expostos nos dias 4, 6 e 8 pós-natal, a baixas doses de etanol, que mimetiza o consumo social de álcool por humanos. A literatura mostra que o álcool é capaz de provocar alterações no perfil da microglia e astrócitos, de forma que a dose e tempo de exposição é crucial na indução de diferentes perfis de ativação glial. O etanol durante o desenvolvimento provoca a ativação das células gliais e gera um ambiente pró-inflamatório que pode levar consequências no curto e longo prazo. Nossos resultados de Western blotting mostram expressão aumentada de Iba1 no colículo superior de animais expostos ao etanol em p8 comparado ao grupo controle e nenhuma diferença entre grupos em p10. As análises de imunohistoquímica revelam uma possível reatividade microglial aumentada no grupo etanol em DPN 8 e DPN 10 comparado ao controle. Além desses dados, a imuno reatividade para GFAP parece aumentada no grupo exposto ao álcool nas idades p10 e p 14. As projeções retinianas para o colículo superior e núcleo geniculado lateral (NGL) foram analisadas nos dias pós-natal (DPN) 10, 14 e 21 e 100 após a injeção intraocular do traçador neuroanatômico HRP. O etanol induziu atraso no refinamento sináptico na região do colículo superior em DPN 10 e 21. Além disso, os animais do grupo EtOH em DPN 21 apresentaram significativa diminuição na densidade óptica das fibras em toda a extensão do SGS bem como perda do padrão topográfico no eixo médio-lateral. No núcleo geniculado lateral (NGL) observamos, em DPN 14, um aumento da razão ipso/contralateral dos campos terminais olho-específicos indicando um atraso na eliminação sináptica. Esta diferença entre o grupo experimental e EtOH se manteve em DPN 21 e em DPN 100 os animais estavam semelhantes ao controle. As mudanças nas funções gliais, induzidas pelo etanol durante o desenvolvimento, parecem promover as alterações de conectividade neural encontradas. Além disso, parece existir uma ação diferente sobre os astrócitos e microglia, de forma que a reatividade dessas células se encontra aumentadas em momentos diferentes. O etanol, mesmo em baixas doses, foi capaz provocar alteração na conectividade neural que por sua vez pode ser decorrente das alterações gliais desencadeadas pela exposição alcoólica

27. TRACE AMINE-ASSOCIATED RECEPTOR 1 MODULATES BEHAVIOR IN AN ANIMAL MODEL OF ATTENTION-DEFICIT/HYPERACTIVITY DISORDER

Raony, I. Domith, I. Paes-de-Carvalho, R. Pandolfo, P. Program of Neurosciences, Institute of Biology, Federal Fluminense University, Niterói, Rio de Janeiro, Brazil.

Spontaneously hypertensive rats (SHR) are widely used for the study of attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD), as they mimic behavioral and neurobiological characteristics of the disorder. The trace amine-associated receptor 1 (TAAR1) can be found in the striatum (ST), prefrontal cortex (PFC) and hippocampus (HIP), regions that appear to be involved in ADHD. Despite TAAR1 modulates dopaminergic transmission which is unregulated in ADHD, studies relating this receptor class to this disorder are lacking. This project aimed to evaluating a possible involvement of TAAR1 in the behavioral characteristics of an ADHD animal model. Samples processed from the ST, PFC and HIP of 10 male rats (n = 5 WKY; 5 SHR) between 80-120 days of age were used to quantify TAAR1 levels by western blotting (approved by CEUA UFF, nº 783). Additionally, 35 WKY and 27 SHR rats were evaluated in the elevated plus maze (EPM), open field (OF) and spontaneous alternation (SA) tests. Ten minutes before each task, the animals received 10 µl intracerebroventricular solution containing 50 µg of RO5256390 or EPPTB, respectively TAAR1 agonist or antagonist. Control group animals received vehicle solution only (0.9% NaCl; 10% DMSO; 1% Tween20). Statistical analyzes were performed using Student's t-test or ANOVA, and significance level was set at $p < 0.05$. Values are expressed as means \pm S.E.M. TAAR1 levels found in ST, PFC and HIP was significantly lower in SHR than in WKY rats (ST: WKY 100.0 \pm 7.8% vs. SHR 65.6 \pm 3.9%, $p < 0.01$; PFC: WKY 100.0 \pm 8.0%; SHR 60.8 \pm 13.2%, $p < 0.05$; HIP: WKY 100.0 \pm 2.7%; SHR 63.1 \pm 11.1%, $p < 0.01$). In EPM test, RO5256390 increased SHR risk behavior (SHR Veh 53.8 \pm 4.5% vs SHR RO 70.1 \pm 3.4%, $p < 0.05$), while EPPTB increased WKY risk behavior (WKY Veh 16.3 \pm 3.5% vs WKY EPPTB 29.3 \pm 6.6%, $p < 0.05$). In OF test, RO5256390 reduced risk behavior of WKY rats (WKY Veh 15.0 \pm 3.0% vs WKY RO 4.9 \pm 1.5%, $p < 0.05$) and hyperactivity of SHR (SHR Veh 22.7 \pm 1.7 m vs SHR RO 8.7 \pm 2.1 m, $p < 0.001$), while EPPTB only increased risk behavior of SHR (SHR Veh 18.6 \pm 1.3% vs SHR EPPTB 29.9 \pm 5.5%, $p < 0.05$). In SA test, EPPTB decreased the percentage of spontaneous alternations (i.e., decreased cognitive performance) of WKY rats (WKY Veh 46.0 \pm 6.9% vs WKY EPPTB 23.7 \pm 7.7%, $p < 0.01$). In this study, it was shown that SHR have an underexpression of TAAR1 in regions of the mesocorticolimbic dopaminergic pathway participating in the pathophysiology of ADHD. In addition, the decrease in TAAR1 levels contributes to the behavioral changes presented by SHR, since activation of TAAR1 decreased hyperactivity and modulated risk behavior, while antagonism with EPPTB increased risk behavior of both SHR and WKY and decreased cognitive performance from WKY. Therefore, these results indicate a possible participation of TAAR1 in the pathophysiology of ADHD, as well as point to its therapeutic potential.

Financial support: CNPq, CAPES and FAPERJ.

28. COMBINAÇÃO DE EFEITOS DE SULFASSALAZINA E ÁCIDO CAFFÉICO EM LINHAS DE CÉLULAS DE GLIOBLASTOMA.

Romano, I; Carvalho, MV; Santos, GMB; Cossenza, M.

Programa de Neurociências, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Rio de Janeiro, Brasil.

Glioblastoma (GB) é o tumor cerebral mais comum e letal. O tempo médio de sobrevivência dos pacientes diagnosticados com esta patologia é de aproximadamente 14 meses. Atualmente, o tratamento principal para o GB consiste na ressecção cirúrgica do tumor, seguida por radioterapia e quimioterapia. Mesmo após o tratamento, o tumor apresenta recorrência em todos os casos. Não há cura para o GB. A sulfassalazina, um medicamento anti-inflamatório já utilizado, é capaz de diminuir a viabilidade do GB *in vivo* e *in vitro* através da inibição de um trocador de cistina e glutamato chamado xC⁻ e, consequentemente, da diminuição do glutationa (GSH) e do aumento das espécies reativas de oxigênio (ROS). O ácido caφέico (CA) é um dos compostos presentes no café. Há evidências do efeito antitumoral do CA através do aumento das ROS. Este efeito já foi descrito em células C6 de GB *in vivo*. O objetivo principal deste estudo é avaliar os efeitos combinados da sulfassalazina e do ácido caφέico em linhas de células de GB *in vitro*.

Apoio financeiro: CAPES.

29. MIR-124 REGULA NEGATIVAMENTE A ATIVIDADE DO ENT1 EM CÉLULAS RETINIANAS.

de Oliveira, I., Paes-de-Carvalho, R., dos Santos-Rodrigues, A.,
Depto. de Neurobiologia, PPG em Neurociências, Instituto de Biologia, UFF.

A adenosina (Ado) é um neuromodulador encontrado em diversas áreas do Sistema Nervoso Central (SNC), e atua regulando diversos processos celulares (e.g. plasticidade sináptica e neuroproteção). Os Transportadores Equilibrativos de Nucleosídeos (ENTs) são proteínas transmembranares que interferem no fluxo de nucleosídeos. Atualmente, 4 subtipos de ENTs já foram descritos no SNC, sendo ENT1 e ENT2 os predominantes. A literatura científica dos mecanismos regulatórios do ENT1 ainda é limitada. MicroRNAs são um grupo de RNAs não codificantes, sendo que o miR-124 é um dos mais encontrados no SNC e análises *in silico* identificaram este microRNA como um candidato para a regulação do ENT1. Uma possível fonte de microRNAs seriam os exossomos, que são vesículas secretadas no meio extracelular e que podem ser internalizadas por células vizinhas. Nosso modelo de estudo é a retina de galinha, que é parte do SNC e um ótimo modelo para o estudo de interações neuroquímicas, como as do sistema purinérgico. Os nossos objetivos foram quantificar os níveis proteicos e a atividade do ENT1 antes e depois da transfecção com miR-124, a fim de confirmar sua possível regulação em culturas mistas de retina de galinha, e também avaliar se essas culturas são capazes de produzir exossomos. Culturas mistas de retina de galinha foram feitas a partir de embriões com oito dias (E8) de desenvolvimento. A transfecção com o miR-124 em diferentes concentrações foi mantida por 24h ou 48h e no quarto dia de cultura foi feito o ensaio de captação de [3H]-Ado para medir a atividade dos ENTs, assim como a preparação das amostras proteicas para análise por Western Blot. A presença de exossomos no meio extracelular dessas culturas foi avaliada por meio de processos de ultracentrifugação. As análises estatísticas foram feitas com o software Prism 5.0 com a utilização de análise de variância (ANOVA) de 1 via seguido pelo pós-teste de Bonferroni. A exposição por 24 horas não induziu nenhuma diminuição significativa na atividade dos ENTs e nem nos níveis proteicos do ENT1. Já o tratamento por 48 horas provocou uma redução significativa na captação de [3H]-Ado e tendência de decréscimo dos níveis proteicos do ENT1 nas condições de miR-124 (50 e 100 nM). Através de processos de ultracentrifugação, nós temos, ainda, dados preliminares mostrando que nossas culturas são capazes de produzir exossomos, sendo portanto, uma possível fonte de microRNAs em culturas mistas de retina embrionária de galinha. A exposição do miR-124 por 24 horas em culturas mistas não alterou a atividade e os níveis proteicos do ENT1, mas o tratamento por 48h reduziu a captação de Ado e parcialmente os níveis do ENT1. Nossos resultados sugerem que o miR-124 possa ser um possível regulador do transportador e os exossomos são uma das potenciais fontes endógenas deste microRNA.

Apoio Financeiro: Capes, FAPERJ e CNPq.

30. EFEITOS DO DUPLO ESTRESSE PERINATAL SOBRE O COMPORTAMENTO TIPO DEPRESSIVO DE RATOS: COMPARAÇÃO ENTRE MACHOS E FÊMEAS

Souza, Keise A.; Ferraz, Marcos R.; Cavalheira, Mariana A.; Pereira, Sabrina; Moraes, Julia C.

O duplo estresse perinatal (DEP) combina dois insultos de estresse que podem afetar potencialmente o neurodesenvolvimento e, portanto, é usado experimentalmente como modelo fisiopatológico em ratos. O DEP consiste em um estresse agudo, como por exemplo, a hipóxia isquêmica (HI), induzido no período pré-natal, seguido de outro estresse, a separação materna (SM), que ocorre no período neonatal. O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos do DEP no comportamento tipo depressivo de ratos, comparando as respostas entre machos e fêmeas. No décimo oitavo dia gestacional (E18) ratas grávidas foram divididas nos grupos: HI, controle cirúrgico SHAM e controle não manipulado CN. As fêmeas experimentais HI tiveram suas arteriais uterinas obstruídas em quatro porções por 45 minutos, enquanto que o grupo SHAM foi submetido às mesmas condições, exceto pela hipóxia. As ratas do grupo CN não foram submetidas a nenhuma intervenção. Após o nascimento, considerado como P0, os três grupos foram subdivididos em separação materna (SM) e não separados (NS). O protocolo de separação materna ocorreu nos primeiros seis dias pós-natais (P1-P6) durante 120 minutos. O comportamento tipo-depressivo foi avaliado em P30 através do paradigma do nado forçado. Acredita-se que o DEP, por então ser formado pela combinação de dois insultos de estresse sequentes, já que o animal pode não se recuperar totalmente do primeiro estresse ao sofrer o segundo, também pode ter repercussões crônicas e comprometer o neurodesenvolvimento normal do indivíduo. Se a hipótese estiver correta, o DEP pode se tornar um relevante modelo para avaliar a vulnerabilidade de vários circuitos neurais a insultos perinatais e sua relação com a susceptibilidade aos transtornos afetivos, como a depressão e os transtornos de ansiedade.

Palavras-chave. Duplo estresse perinatal. Hipóxia isquêmica pré-natal. Teste do nado forçado. Depressão. Ansiedade.

31. DANO MOTOR NEONATAL APÓS SEPSE GESTACIONAL É MEDIADA POR RESPOSTA INFLAMATÓRIA E ALTERAÇÕES SINÁPTICAS

¹ ³Leticia Coelho Bortoni, ¹Victória Zerboni da Silva, ¹Adrielle Ferreira Ribeiro dos Santos, ¹Maurício Cavalcanti da Silva, ¹Leticia Pires Alves, ¹Flávia Maciel de Moraes, ²Cassiano Felipe Gonçalves de Albuquerque, ¹Adriana Ribeiro Silva, ¹Marcelo Gomes Granja, ¹Hugo Caire de Castro-Faria-Neto.

¹Laboratório de Imunofarmacologia, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ. Rio de Janeiro (RJ) – Brazil. ²Laboratório de Imunofarmacologia, Instituto Biomédico, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro – UNIRIO. Rio de Janeiro (RJ) – Brazil. ³Faculdade de medicina, Universidade Estácio de Sá. Rio de Janeiro (RJ) – Brazil.

O presente estudo buscou avaliar o envolvimento de citocinas pró-inflamatórias, proteínas sinápticas e dano motor em filhotes de camundongos no período neonatal submetidos à sepse gestacional. Instilação intratraqueal em camundongas grávidas no 14º dia de gestação com solução salina 0,9% (grupo salina) ou *Klebsiella* spp. (3X10⁶ UFC) (grupo sepse) e tratamento com meropenem depois de 5h. Os filhotes foram sacrificados dois dias após o nascimento e amostras do tecido cerebral foram coletados para medir TNF- α , IL-1 β e IL-6 pelo método ELISA. Além disso, também foi analisado a expressão da proteína sináptica (sinaptofisina) do córtex e hipocampo pelo método de Western Blot. Os desfechos motores foram avaliados pelo teste de aversão ao penhasco, geotaxia negativa, e suspensão de membros posteriores. O estudo mostrou que a concentração de TNF- α foi maior no grupo sepse (50,8 pg/mL; e=0,59) que no grupo salina (25,7 pg/mL; e=2,59). Da mesma forma, os níveis de IL-1 β foram mais altos no grupo sepse (34,1 pg/mL; e=4,7) em comparação com o grupo salina (27,7 pg/mL; e=0,59). IL-6 mostrou uma concentração menor no grupo sepse (30,4 pg/mL; e=2,46) que no grupo salina (32,9 pg/mL; e=4,28). Analisando o marcador sináptico em ambos os grupos, a expressão de sinaptofisina no córtex foi maior no grupo salina (98,87; e=1,48) que no grupo sepse (87,75; e=1,77). Além disso, a expressão de sinaptofisina no hipocampo mostrou uma diferença ainda maior entre os grupos, evidenciando uma queda no grupo sepse (63,93; e=12,16) em comparação ao grupo salina (103,3; e=5,52). Os testes motores mostraram que na aversão ao penhasco, o grupo sepse demorou mais tempo na borda da plataforma em relação ao grupo salina. No teste de geotaxia negativa, ambos os grupos tiveram uma performance similar. A suspensão dos membros posteriores mostrou que o grupo salina se movimentou mais e manifestou um comportamento de tentativa de fuga da situação adversa, enquanto o grupo sepse apresentou uma menor taxa de tentativa de fuga e se movimentou menos. Estes dados indicam que a sepse gestacional induz uma resposta inflamatória em filhotes de camundongos, diminui a atividade sináptica e gera um atraso na resposta motora. Essas observações sugerem que a sepse gestacional pode causar consequências neurológicas mesmo após o nascimento.

32. AVALIAÇÃO DO PAPEL DOS EXOSSOMOS NA DOENÇA DE ALZHEIMER EM MODELO EXPERIMENTAL DE CAMUNDONGOS 3XTG-AD

Letícia Ramos da Silva, Kíssila Rabelo, Priscila Pereira Gomes, Luciana Lontro Alves, Gabriella Melo Carvalho, Ana Lúcia Rosa Nascimento, Bianca Torres Ciambarella, Jorge José de Carvalho

A Doença de Alzheimer é uma condição neurodegenerativa, progressiva e incapacitante que acarreta importante perda cognitiva e funcional. Atualmente, não há para ela tratamento curativo; porém, dados da literatura mostram a relevância do conteúdo endossomal no plasma de pacientes com doença de Alzheimer, principalmente para o diagnóstico precoce. Assim, temos como objetivo avaliar alterações morfológicas e moleculares em diferentes fases de maturação endossomal durante o desenvolvimento do Alzheimer e a sua interação com as células do organismo. Para tanto, utilizamos camundongos selvagens (B6129SF2/J) e transgênicos (3xTg-AD) com 1, 4, 8 e 12 meses. Em uma fase inicial, avaliamos a diferença na massa do cérebro destes camundongos, realizamos a leucometria global e diferencial, e estudamos as alterações morfológicas em seus cérebros (lançando mão de microscopia de luz para análise de técnicas de coloração e imunohistoquímica) em camundongos com 1 e 4 meses de idade. Nossos resultados mostraram aumento dos leucócitos totais no sangue do grupo controle e diminuição dos leucócitos dos animais pertencentes ao grupo transgênico em contraste com o valor expresso pelo grupo selvagem de forma tempo dependente. Além disso, com 1 e 4 meses de idade (em camundongos jovens e adultos), não há diferença na massa cerebral entre os grupos. Foi observada, na região CA1 do hipocampo dos cérebros dos animais eutanasiados em ambas as idades, acentuada expressão de proteínas tau no grupo transgênico em contraste com o grupo selvagem. Notamos, por outro lado, que a presença da proteína β -amilóide encontrava-se elevada no grupo transgênico em comparação com os do grupo selvagem aos quatro meses, porém não ao primeiro mês. Dessa forma, até o momento, podemos concluir que apesar de os camundongos transgênicos apresentarem alterações hematológicas, essas alterações não culminaram em alterações morfológicas, e que, embora o acúmulo de proteínas tau se inicie precocemente, o de β -amilóide torna-se expressivo mais tardiamente (CEUA no 030/2018).

33. NEUROPROTEÇÃO MEDIADA POR BDNF E ADENOSINA CONTRA EXCITOTOXICIDADE E ESTRESSE OXIDATIVO EM CÉLULAS DA RETINA

1Teixeira, L.F.*, 2 Duarte-Silva, A.T., 2Paes-de-Carvalho, R., 1Pereira, M.R.

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

2Laboratório de Neurobiologia Celular, Programa de Pós-graduação em Neurociências, UFF, Niterói.

BDNF é um membro da família das neurotrofinas que regula sobrevivência, diferenciação neuronal e crescimento de neuritos. A adenosina, via receptores A1, A2a, A2b e A3, modula a liberação de neurotransmissores e está envolvida em neuroproteção. Dados prévios do nosso grupo demonstram que a ativação crônica dos receptores A2a promove neuroproteção contra a morte induzida por glutamato em culturas purificadas de neurônios de retinas de embrião de galinha. O objetivo deste trabalho foi avaliar os mecanismos neuroprotetores mediados por BDNF na excitotoxicidade e no estresse oxidativo e sua interação com receptores de adenosina em culturas purificadas de neurônios da retina. Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da UFF (00146/09). Culturas purificadas de neurônios de retina de embrião de galinha foram incubadas após 1 dia em cultura (C1) com BDNF e antagonistas de receptores A1 (DPCPX) e A2a (ZM241385) ou com anti-BDNF e agonistas de receptores A1 (CHA) e A2a (CGS21260). Em C3, foi adicionado glutamato por 24h ou peróxido de hidrogênio por 2h, seguido de fixação e marcação dos núcleos marcados com DAPI para contagem do número de células. BDNF protege os neurônios contra a morte induzida por glutamato, sendo este efeito bloqueado por ZM 241385 (controle: $100 \pm 2,8$; glutamato: $64,4 \pm 12,4$; BDNF: $104,4 \pm 11,5$; ZM: $86,9 \pm 9,2$; BDNF + glutamato: $107,8 \pm 19,8$; ZM + glutamato: $52,9 \pm 17,2$; BDNF + ZM: $95 \pm 8,5$; BDNF + glutamato + ZM: $56,7 \pm 22$; $n=4$; $p<0,001$) e DPCPX (controle: $100,2 \pm 5,8$; glutamato: $64,7 \pm 11,5$; BDNF: $104,2 \pm 9,9$; DPCPX: $94,4 \pm 14,7$; BDNF + glutamato: $104,6 \pm 19,3$; DPCPX + glutamato: $78,5 \pm 15,4$; BDNF + DPCPX: $103,1 \pm 12,4$; BDNF + glutamato + DPCPX: $72,9 \pm 18,7$; $n=5$; $p<0,05$; $p<0,01$ e $p<0,001$). Além disso, CHA (controle: $99,8 \pm 7,1$; H₂O₂: $63,4 \pm 14,6$; CHA: $90,7 \pm 6,7$; anti-BDNF: $90,6 \pm 13,9$; CHA + anti-BDNF: $89,8 \pm 8,7$; anti-BDNF + H₂O₂: $69,7 \pm 9,7$; CHA + H₂O₂: $88,3 \pm 15,1$; CHA + H₂O₂ + anti-BDNF: $95 \pm 22,4$; $n=3$; $p<0,001$) e CGS21260 (controle: $99,9 \pm 7,3$; H₂O₂: $61,6 \pm 10,9$; CGS: $94,2 \pm 6,4$; anti-BDNF: $96,2 \pm 9,5$; anti-BDNF + H₂O₂: $66,8 \pm 9,6$; CGS + anti-BDNF: $90,3 \pm 7,6$; CGS + H₂O₂: $94,7 \pm 10,4$; CGS + H₂O₂ + anti-BDNF: $89,8 \pm 5,8$; $n=4$; $p<0,05$; $p<0,01$ e $p<0,001$) protegem os neurônios contra a morte induzida por peróxido de hidrogênio, sendo este efeito não bloqueado por anti-BDNF. Podemos concluir que o efeito neuroprotetor do BDNF nas culturas purificadas de neurônios é mediado pela ativação de receptores A1 e A2a de adenosina. Porém, o efeito neuroprotetor mediado por receptores de adenosina parece não envolver BDNF.

Apoio financeiro: FAPERJ, CNPQ, CAPES, PRONEX-MCT.

34. EFEITO DA INFECÇÃO CONGÊNITA POR TOXOPLASMA GONDII NA INTERAÇÃO GLIA RADIAL-ENDOTÉLIO VASCULAR MEDIADA POR TGF- β 1 NO CÓRTEX CEREBRAL EMBRIONÁRIO

Liandra Alvarez Rosa (ICB/UFRJ, IOC/Fiocruz) , Fernanda Brito (ICB/UFRJ), Anne Caroline Marcos (IOC/Fiocruz), Daniel Adesse (IOC/Fiocruz), Joice Stipursky (ICB/UFRJ).

A infecção de gestantes pelo parasito *Toxoplasma gondii* pode levar à toxoplasmose congênita (TC), uma vez que o parasita transmigra pela placenta e consegue replicar-se em diferentes tecidos fetais, como por exemplo o sistema nervoso central (SNC) em desenvolvimento. Dentre as manifestações clínicas da TC encontramos calcificações cerebrais, microcefalia, déficits cognitivos e motores, surdez e cegueira. O SNC em desenvolvimento possui células-tronco neurais de Glia Radial (GR), que originam a maioria dos tipos celulares neuronais e gliais que compõem o tecido neural. Nosso grupo demonstrou que além do seu potencial “tronco”, as células de GR controlam a formação dos primeiros vasos sanguíneos do cérebro, modulando a angiogênese através da secreção de fatores de crescimento, dentre eles o TGF- β 1 (fator de crescimento transformante beta 1). Embora a interação GR-células do endotélio vascular seja essencial para a correta formação da árvore vascular, que irá nutrir o SNC, ainda pouco se sabe de que forma o parasito afeta este evento. Neste trabalho, investigamos os efeitos da infecção congênita por *T. gondii* na interação GR-vasos sanguíneos no córtex cerebral embrionário e o envolvimento da via de TGF- β 1 neste evento. Fêmeas de camundongo Suíço foram, no 10 dia gestacional (E10), infectadas por gavagem com 10 cistos de *T. gondii* da cepa ME-49, ou apenas com solução salina (Controle). Em E15, as fêmeas foram anestesiadas, eutanasiadas e os embriões foram coletados, para isolamento dos encéfalos. Os encéfalos foram fixados em paraformaldeído 4%, emblocados e cortados criostato ou vibrátomo para obtenção de cortes histológicos que foram processados para coloração com Hematoxilina/Eosina (HE) e para imunohistoquímica, respectivamente. Para análises de imunohistoquímica, utilizamos o marcador vascular Isolectina B4 (1:1000), e anticorpos primários contra Nestina (marcador de GR; 1:200) e TGF- β 1 (1:100). As análises morfométricas do córtex cerebral dos embriões em E15 modelos da TC, corados com HE, não revelou diferenças significativas na espessura total, camada da zona ventricular (VZ) e placa cortical (PC) comparado com o grupo controle. Entretanto, a imunohistoquímica, revelou, através da marcação por Isolectina B4, alterações na angiogênese (aumento da área ocupada por vasos, 22%; aumento do comprimento dos vasos, 27%; redução número de branch points, 27%) no córtex cerebral de animais TC. O padrão de marcação das células Nestina positivas (GR) demonstrou-se menos fibrilar na região da VZ de animais TC, e o padrão de marcação de distribuição de TGF- β 1 também foi alterado, onde nos animais controle, majoritariamente observado nos vasos e camadas corticais, e nos animais TC mais intensamente distribuído em progenitores neurais, dentre eles células de GR. Sugerimos que a infecção congênita por *T. gondii* altera a angiogênese no córtex cerebral, bem como a morfologia e o padrão de expressão de TGF- β 1 em células de GR in vivo. Embora novos ensaios sejam necessários para confirmar estes achados, e a relevância destas alterações no contexto da TC, sugerimos que o *Toxoplasma gondii* possa afetar a interação GR-células endoteliais in vivo, impactando negativamente a formação da árvore vascular do encéfalo embrionário.

35. STRIATAL HEXOKINASE ACTIVITY IN A MURINE MODEL OF PARKINSON'S DISEASE INDUCED BY 6- HYDROXYDOPAMINE

1Hayashide, LS.*, 2Almeida, LTA., 1Silva, M.L. 1Gomes, ALT; 1Pandolfo, P, 3Silva, WS, 2Ribeiro, MGL., 1Depto. Neurobiologia/UFF, RJ, 2Depart. Biologia Celular e Molecular/UFF, RJ. 3Inst. de Bioquímica Médica/UFRJ, RJ.

Parkinson's disease (PD) is a neurodegenerative disease characterized by a severe motor impairment due to progressive and specific degeneration of dopaminergic neurons of the substantia nigra compacta. Some hallmarks of PD pathogenesis are mitochondria (Mit) dysfunction and oxidative stress. Hexokinase (HK) is a limiting enzyme of glucose (Glu) metabolism, responsible for phosphorylating Glu upon its entering the cell. Its activity is regulated by negative feedback and subcellular location: in cytoplasm (Cyt) or associated to Mit. Mit HK has a role in neuron protection against oxidative stress (OS). Since OS plays an important role in the pathogenesis of PD, we aimed to investigate HK activity in subcellular striatum (Str) fractions in a PD murine experimental model. C57Bl6 male mice aging 2-3 months were anesthetized and submitted to unilateral injection of 6-hydroxydopamine (6-OHDA) (2 μ l of a 2mg/ μ L solution) into the left Str using stereotaxic procedures. SHAM mice submitted to surgical procedures did not receive 6-OHDA injection and were used as control. After 48h, 1, 2 or 4 weeks (w), mice were euthanized, left (injured) and right (control) Str were dissected and homogenized. The homogenate (H) was submitted to differential centrifugation and fractions were used for determination of HK activity (Wilson, 1989), expressed as μ mol G6P/mg ptn/min. Protein was determined according to Lowry et al. (1951). Significance was assessed by t-test and ANOVA, followed by Turkey's t-test, and $p < 0.05$ was taken as statistically significant. All procedures were approved by the UFF's Ethics Committee on Animal Use (617/2014). We analyzed HK activity in H, Mit and Cyt fractions. 48h after 6-OHDA lesion HK activity from Mit fraction in lesioned (L) Str was lower (0,034 \pm 0,0059) when compared to control (C) (0,038 \pm 0,0096 $p=0,58$ $n=3$). We observed a similar behavior in 1w (L: 0,031 \pm 0,016 C: 0,042 \pm 0,014 $p=0,27$ $n=5$), 2w (L: 0,044 \pm 0,029; C: 0,052 \pm 0,024 $p=0,71$ $n=4$) and 4w (L: 0,0365 \pm 0,011; C: 0,047 \pm 0,035; $p=0,60$ $n=4$). No pattern was observed on Cyt (4wL: 0,022 \pm 0,0063; L: 0,022 \pm 0,00789 $p=0,23$ $n=4$; 2wL: 0,024 \pm 0,0032 2wC: 0,026 \pm 0,012 $p=0,689$ $n=5$; 1wL: 0,027 \pm 0,0062 1wC: 0,024 \pm 0,0027 $p=0,45$ $n=5$; 48hL: 0,066 \pm 0,047 48hC: 0,034 \pm 0,0036 $p=0,31$ $n=3$) and H (4wL: 0,037 \pm 0,0058 4wC: 0,032 \pm 0,0079 $p=0,29$ $n=4$; 2wL: 0,030 \pm 0,0065 2wC: 0,039 \pm 0,014 $p=0,27$ $n=5$; 1wL: 0,028 \pm 0,0063 1wC: 0,033 \pm 0,0064 $p=0,27$ $n=5$; 48hL: 0,039 \pm 0,0042 48hC: 0,032 \pm 0,015 $p=0,48$ $n=3$) 6-OHDA fractions, nor on SHAM fractions. The small decrease in HK activity in Mit (but not in Cyt or H) fraction of injured Str that remained over time (48h, 10.33%; 1w, 25.97%; 2w, 12.06%; 4w, 21.56%), although not significant, may indicate a considerable change in Glu oxidation and ATP formation and might be a result of OS. Analysis of other enzymes involved in Glu oxidation are currently being performed. The study of Glu oxidation after 6-OHDA treatment may bring information about how energy metabolism is related to PD.

36. A DINÂMICA NEUROIMUNE NA JANELA TEMPORAL DA RESPOSTA PLÁSTICA APÓS LESÃO NO SNC DENTRO E FORA DO PERÍODO CRÍTICO

Luana da Silva Chagas^{1*}; Paloma Consentino¹; Pablo Trindade^{2,3}; Pedro Vianna⁴; Rômulo Galvani⁴; Adriana Bonomo⁴, Claudio Alberto Serfaty¹.

¹Instituto de Biologia, UFF; Niterói, BR ² - Instituto D'OR de Pesquisa e Educação, Brasil; RJ, BR ³ - Programa de Pós graduação em Biologia Celular e Molecular da Unirio, RJ, BR;

⁴ - Fiocruz, Instituto Oswaldo Cruz, Laboratório de Pesquisa sobre o Timo, RJ, BR

*Email: luana_chagas@id.uff.br

Lesões no Sistema Nervoso Central (SNC) em desenvolvimento induzem rápida reorganização estrutural dos circuitos neurais, normalmente associados à recuperação funcional do cérebro, enquanto, em adultos, a recuperação costuma ser lenta, com uma plasticidade parcial e anômala. Em paralelo, lesões focais induzem uma reação neuroinflamatória que estimula a compreensão da dinâmica entre mecanismos de neuroplasticidade e ativação imune, no contexto de lesão do SNC. O TNF- α , uma citocina pró-inflamatória chave, exerce seus efeitos através dos receptores TNFR1/2 e pode estimular a liberação de fatores tróficos associados à plasticidade pela microglia. Este trabalho investiga diferenças existentes nas interações neuroimunes entre microglia, astrócitos e projeções retinoculares após enucleação monocular (EM) durante e após o período crítico, além de avaliar o papel do mediador imune do TNF- α na arborização das fibras retinoculares intactas induzida pela lesão. Ratos Lister hooded submetidos a EM em P10/P21 foram avaliados em diferentes sobrevidas. Outro grupo experimental recebeu tratamento sistêmico com o inibidor microglial, minociclina, 3h após a lesão ou tratamento local (ELVAX) com anticorpo neutralizante de TNF- α antes da lesão, ambos em P10. Além disso, avaliamos citocinas pró- e anti- inflamatórias por RT-PCR. A plasticidade estrutural foi mapeada através do uso de traçador neuroanatômico, enquanto técnicas de imunofluorescência e/ou western blot foram utilizadas no estudo da morfologia microglial e, no conteúdo de GFAP e BDNF. Durante o período crítico (P10), a EM induz brotamento robusto dos axônios intactos por todas as camadas visuais do colículo superior (CS). Tal efeito exhibe maior intensidade em 24h de sobrevida. Por outro lado, a lesão após o período crítico (P21), induz brotamento intralaminar que se inicia apenas após 7dias. Em relação à reatividade microglial e glial, há o aumento progressivo do perfil ameboide no CS contralateral 24h após EM, com pico em 72h, onde também se observa o aparecimento de GFAP além da borda do CS, nas camadas visuais. Em 7d, a reatividade glial retorna aos níveis do controle. Além disso, há um aparente pico na expressão de BDNF e do RNAm de TNF- α , também 24h após lesão em P10. Outras citocinas como IL-6 e TGF- β também parecem sofrer modulação. Já quando a lesão ocorre em P21, a microglia apresenta uma reatividade tão lentificada quanto o brotamento axonal, com pico de reatividade em apenas 7d e uma distribuição camada-específica, pareando com a plasticidade intralaminar. O GFAP e o BDNF, também respondem tardiamente com pico na expressão 14d após a EM. A minociclina reduz a reatividade microglial e a arborização dos axônios intactos, assim como o tratamento local com anticorpo neutralizante anti-TNF- α . Os dados suportam a hipótese de que uma dinâmica neuroimune diferenciada possa justificar alterações neuroplásticas rápidas e lentas, durante e após o período crítico, respectivamente, e que uma sinalização regulatória via TNF- α esteja medeie este processo.

37. VARENICLINA, COMO A NICOTINA, PROMOVE A PLASTICIDADE NA VIA RETINOCOLICULAR DE RATOS

Gavina, L.C.B.1, Gonçalves, R.G.J.1, Rodrigues Junior, W.S.2, Manhães, A.C.2, Faria-Melibeu, A.C1. 1 Departamento de Neurobiologia, Universidade Federal Fluminense, 2 Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

A Proteína Precursora Amilóide (APP) é uma glicoproteína transmembrana amplamente expressa em todo sistema nervoso, onde é capaz de influenciar ativamente as diferentes etapas do desenvolvimento neuronal. No sistema visual, a APP regula a plasticidade natural das projeções retinoculares no período pós-natal. A APP pode ser clivada através da via não-amiloidogênica, na qual a α -secretase promove a liberação de um fragmento solúvel neurotrófico, a α APPs. Além disso, tal proteína também pode ser clivada através da via amiloidogênica, onde β - e γ -secretases levam à formação do peptídeo A β . Dados do nosso grupo mostram que a exposição local à nicotina entre os dias pós-natal (DPN) 7 e 14 altera a expressão e o processamento da APP nas camadas visuais do colículo superior (CS), promovendo um aumento da atividade da α -secretase ADAM10 e dos níveis de α APPs, em detrimento da via amiloidogênica. Observou-se também que a exposição local à nicotina entre DPN7-14 provoca uma robusta arborização dos terminais retinianos e aumenta, concomitantemente, os níveis protéicos de α APPs nas camadas visuais do CS. Neste trabalho, investigamos o efeito da exposição a diferentes concentrações de vareniclina, um agonista parcial dos receptores nicotínicos ($\alpha 4\beta 2$), durante o desenvolvimento da via retinocular. Todos os experimentos foram aprovados pela CEUA (Protocolo nº 00205-CEUA-UFF). No DPN7, ratos da linhagem Lister Hooded foram submetidos ao implante intracranial de elvax contendo nicotina (100nM), vareniclina (10mM), vareniclina (100mM) ou veículo (PBS). As análises quantitativas e qualitativas foram realizadas por meio da técnica de histoquímica, no DPN14. Resultados parciais indicam que a vareniclina provoca expansão dos terminais retinianos com a fusão dos clusters e espalhamento das fibras na camada visual do CS (n=4; p=0,014) quando comparados ao grupo controle, semelhante ao efeito observado anteriormente com o tratamento com nicotina (n=4, p=0,016). Esses dados sugerem que a plasticidade promovida pela nicotina na via retinocular possa ser parcialmente mediada por receptores $\alpha 4\beta 2$ e que a vareniclina possa fornecer uma melhor compreensão do enigma neuropsiquiátrico atualmente não resolvido subjacente à doença de Alzheimer.

Apoio financeiro: CAPES, FAPERJ.

38. NEUROTRANSMISSÃO EXCITATÓRIA REGULA A LOCALIZAÇÃO DA eEF2K NA SINAPSE E PROMOVE ALTERAÇÕES NA SÍNTESE PROTEICA LOCAL ATRAVÉS DA HOMER1 E mTORC1

Gladulich, L. F. H.¹; Xie, J.³; Paes-de-Carvalho, R.^{1,2}; Cossenza, M.^{1,2}; Proud, C.

1 - Programa de pós-graduação em Neurociências, Universidade Federal Fluminense, 2 - South Australian Health and Medical Research Institute

Os mecanismos por trás da regulação da síntese proteica neuronal são de grande importância para eventos fisiológicos como desenvolvimento e plasticidade, além de relevante para processos patológicos. Apesar disso, muitos dos eventos que constituem a síntese proteica, especificamente no sistema nervoso central, ainda são pouco compreendidos. Uma enzima de grande importância para essa regulação, é uma proteína dependente do complexo cálcio-calmodulina conhecida como eEF2K. Essa enzima é capaz de fosforilar e inibir um fator de tradução, conhecido como eEF2, e desta forma, reduzir a síntese proteica de maneira global. A relação direta entre eEF2K e cálcio indica uma possível relação entre sistemas de neurotransmissão excitatórios e a modulação da síntese proteica em terminais nervosos. Contudo, a eEF2K se comporta de maneira não convencional no sistema nervoso central, estando presente em terminais sinápticos e sendo capaz de paradoxalmente aumentar a expressão de certas proteínas. Uma dessas proteínas é a Homer1, uma proteína de acoplamento, que é capaz de ancorar a enzima nos terminais pós-sinápticos. Entretanto, os mecanismos por trás dessas interações ainda é completamente desconhecido. Neste trabalho, exploramos, em diferentes modelos de estudo, a interação entre a Homer1 e a eEF2K, como essa interação é modulada pela neurotransmissão, e qual o impacto dessa regulação sobre a taxa de síntese proteica global.

Nossos estudos foram realizados em linhagem celular SHSY-5Y e em culturas primárias de neurônios de camundongo. Para estimulação da liberação de neurotransmissores foi usado o antagonista GABA_A, bicuculina, na presença ou ausência de outros fármacos de interesse de acordo com o desenho experimental. Para análise da ativação e inibição de cascatas de sinalização foi utilizado o método de western blot. Para a análise da interação física entre proteínas foi feito imunoprecipitação. A taxa de síntese proteica foi aferida a partir do método SUnSET. Inicialmente, caracterizamos os efeitos da liberação de neurotransmissores, induzido pelo tratamento com bicuculina, sobre a atividade da eEF2K, observando um aumento breve e expressivo (+100% de aumento) após 5 minutos de tratamento. Adicionalmente, observamos um aumento discreto (cerca de 30%) da síntese proteica. Quando analisamos os efeitos da síntese proteica localizada nos terminais sinápticos, observamos que essa síntese ocorria de maneira mais prevalente em terminais que contem a proteína Homer1. Ao analisarmos os efeitos da neurotransmissão sob a interação entre a Homer1 e a eEF2K, observamos que a estimulação promovia um aumento da co-precipitação dessas enzimas. Baseados nos nossos resultados, concluímos que a neurotransmissão modula a localização da eEF2K à sinapse e potencialmente regula sua atividade através do binding com a homer1.

Apoio financeiro CAPES, CNPq, PROPPI-UFF, FAPERJ e SAHMRI

39. ENTERIC NEURONAL PLASTICITY IN A PARKINSON'S DISEASE MODEL

1Luisa Valdetaro, 1Beatriz Thomasi, 1Mayara da Silva, 1Paula Campello, 1Adriana Melibeu, 1Manuel Gustavo Ribeiro, 2Vivaldo Moura Neto, 1Ana Lucia Tavares Gomes. 1 UFF - Universidade Federal Fluminense, 2 IEC - Instituto Estadual do Cérebro Paulo Niemeyer

Parkinson's disease (PD) is a multicentric disease which affects several areas of the nervous system such as the enteric nervous system (ENS). The ENS impairment induces a gastrointestinal dysfunction that leads to gastroparesis, constipation, and defecation disorder. Such symptoms are capable of compromising patients' life quality and may appear up to 20 years before the classic motor. Despite neuronal death is controversial in the ENS of PD patients, many studies report enteric neuronal dysfunction. The enteric neurochemical code is altered in these patients, which is related to the gastrointestinal. Nevertheless, information about enteric neuroplasticity, such as synaptic modifications, remains unclear in the ENS of patients and PD experimental models. Striatal 6-hydroxydopamine (6-OHDA) injection is a classic animal model which presents the main aspects of the disease, including gastrointestinal dysfunction. Our aim is to investigate the enteric neuronal plasticity and its association with gastrointestinal symptoms in the ENS of the 6-OHDA model of PD. CEUA UFF 617/2014. Male C57Bl6 mice 2 or 3 months old underwent stereotaxic surgery for unilateral administration of 6-OHDA in the striatum and another group of uninjured operated mice was used as control. The analysis were performed 2 weeks after surgery. Gastric emptying assay was used to determine the percentage of gastric residual food. Animals had their colons removed, fixed in 4% paraformaldehyde and then paraffin-embedded for slides preparation. Immunofluorescence technique was performed for synaptophysin. For Western blotting technique, the muscle and mucosal layers of the colon were separated. Samples' proteins were separated by gel electrophoresis and then transferred to a PVDF membrane, which was incubated with an anti-synaptophysin, anti-debrin A/E and anti-GAP-43, antibodies. 6-OHDA animals showed higher percentage of residual gastric food, indicating a slower gastric transit ($p=0,0302$; $n=6$). The presynaptic marker synaptophysin showed a tendency to be reduced the immunolabelling in the muscle layer and this result was also seen in the content analysis (4889 ± 1453 , $N=3$, $p=0,0719$). The post-synaptic marker Debrin displayed an increased in the content of the muscle layer of the colon of 6-OHDA mice (20156 ± 2990 $N=5$, $p=0,0456$). The neuronal growth-associated protein GAP-43 expression had no significant changes in the muscle layer but was increased in the mucosa ($1,248 \pm 0,1096$, $N=2$, $p=0,0056$). 6-OHDA mice's colon displays neuronal changes associated with enteric plasticity, such as synaptic and axonal growth changes, in both muscle and mucosal layers analyzed 2 weeks after the model induction. These results can be related to the functional changes observed in this PD model.

40. ASSESSING THE NEUROGENIC AND GLIOGENIC POTENTIAL OF TOXOPLASMA GONDII-INFECTED NEURAL PROGENITOR CELLS IN VITRO

^{1,2}Pires, L. B., ¹Barbosa, H. S., ²Santiago, M. F., ¹Adesse, D.,

1 - Laboratório de Biologia Estrutural - Fiocruz, Rio de Janeiro

2 - Laboratório de Neurobiologia Celular e Molecular - UFRJ, Rio de Janeiro

Toxoplasmosis is a worldwide spread zoonosis caused by *Toxoplasma gondii*, an obligate intracellular protozoan that affects all warm-blooded animals, including humans. The ability to transmigrate through the placental barrier and to replicate in different fetal tissues, without being affected by the immune system, makes *T. gondii* infection an important cause of prenatal complications. Vertical transmission may interfere with the fetal development, leading to abortions or several malformations, such as neurological defects, blindness and microcephaly. The parasite has a tropism for the central nervous system where tissue cysts are found within neurons. However, little is known about the impact of infection on the differentiation of neuronal cells that may lead to alterations in cortical neurogenesis. The aim of this study is to evaluate the impact of *T. gondii* on neurogenesis and gliogenesis using in vitro models. To evaluate the impact of *T. gondii* on neurogenesis we used two in vitro models. Initially we used Neuro2a cells (N2a), a neuroblastoma cell line that have the potential to differentiate into neurons upon serum withdrawal. N2a were infected with *T. gondii* tachyzoites (ME-49, type II) for 1 day and were induced to differentiate with serum withdrawal. As a second approach, a model of mouse neurospheres (CEUA: L048/2015-A2), composed of neural progenitor cells, was also employed. The effect of infection with *T. gondii* on cell host cell proliferation of floating neurospheres was analyzed until 96 hours post infection (hpi). For differentiation assays, neurospheres were plated in glass coverslips with differentiation medium. The migrated area was calculated until 120 hours and the immunoreactivity of different markers was analyzed by immunostaining. The infection of N2a cells with *T. gondii* decreased by 69% the rate of mature neurons (Student's T test), as observed by neurofilament-200-positive cells. We demonstrated that *T. gondii* infection interferes in the proliferation of neural progenitor cells in floating neurospheres. Immunostaining for Ki67, marker of proliferation, was reduced 14 and 11% at 48 and 72 hpi, when compared to controls (2-Way ANOVA with Bonferroni post-test). With the neurospheres differentiation assays, we observed that infection reduced the cumulative rate of migration by 28% at 120 hours (2-Way ANOVA with Bonferroni post-test). We also verified that infection reduces 21 and 25% at 48 and 120h, respectively, glial differentiation of migrated neurospheres, as observed by filaments of GFAP per perimeter (Student's T test). With the results until this moment we suggest that *T. gondii* impairs the main stages of cortical development. This data will contribute with the understanding of the mechanisms by which this parasite affects cortical development in mice. This work was supported by CAPES, CNPq (Edital Universal 2014, PAPES VII) and Fiocruz (INOVA Fiocruz 2018).

41. EFEITOS DA INGESTÃO CRÔNICA DE CAFEÍNA SOBRE A CIRCUITARIA EXCITATÓRIA HIPPOCAMPAL DE RATOS JOVENS

Peixoto-Rodrigues, M.C.¹, Pandolfo, P.², Martins, R.S³, Kubrusly, R.C.C.³, Campello-Costa, P¹.
1 - Laboratório de Neuroplasticidade, Programa de Pós-graduação em Neurociências, UFF, 2 - Laboratório de Neurobiologia do Comportamento Animal, UFF, 3 - Laboratório de Neurofarmacologia, UFF.

O funcionamento apropriado do sistema nervoso central depende de diversos fatores, entre eles a formação e manutenção de conexões sinápticas. O ambiente e estímulos externos são capazes de modificar a circuitaria neural que guia o comportamento através de um processo denominado plasticidade neural. Tal fenômeno de reorganização neural já foi amplamente descrito em uma estrutura pertencente ao sistema límbico chamada hipocampo, que se encontra intimamente relacionada com os mecanismos de aprendizado e memória. O glutamato possui um papel central no processo de neuroplasticidade devido ao seu envolvimento nos processos de fortalecimento sináptico. A cafeína, a droga psicoativa mais consumida no mundo, é conhecida por modular a neuroplasticidade principalmente através do bloqueio de receptores de adenosina e seu consumo já foi associado a diversos processos neuroprotetores, como a prevenção do declínio cognitivo em modelos animais de doenças degenerativas. Já se sabe que ambos os neurônios e células gliais hipocampais apresentam os receptores de adenosina e vias de sinalização associadas. O objetivo deste trabalho é investigar através de quais mecanismos a cafeína é capaz de modular a plasticidade neural no hipocampo e alterar o comportamento animal. O presente estudo foi submetido ao comitê de ética da UFF sob o protocolo de no.802. Ratos da linhagem Lister Hooded foram submetidos a tratamento oral com cafeína (ad libitum, 1mg/mL) do dia pós-natal (DPN) 21 ao DPN40. Os animais do grupo controle receberam água. Foram estabelecidos padrões de monitoramento da ingestão de fluidos e ganho de peso para observação de alterações metabólicas globais. Após tratamento, os animais foram submetidos a testes comportamentais (campo aberto, reconhecimento de objetos, labirinto em cruz elevado) e o tecido hipocampal foi processado para as técnicas de Western Blotting, Imunofluorescência, Captação de D-Aspartato e Liberação de D-Aspartato. Os resultados obtidos demonstraram que o tratamento crônico com cafeína durante o início da vida adulta induz uma melhora na performance em testes de memória, mas também um aumento no comportamento tipo ansioso nos animais tratados. A cafeína é capaz de alterar a expressão de receptores A1 de adenosina, assim como a estrutura e expressão de receptores NMDA e transportadores de aminoácidos excitatórios. O tratamento leva a um aumento na captação de d-aspartato que é bloqueado tanto com inibidor da proteína kinase A quanto com antagonistas dos receptores A1 e A2a de adenosina. Além disso, a ingestão crônica de cafeína induz alterações na expressão e morfologia de células gliais. O tratamento crônico com cafeína leva a uma melhora na performance cognitiva e induz alterações na maquinaria e funcionalidade glutamatérgica das células hipocampais de ratos jovens, além de promover alterações no perfil das células gliais desse tecido. Apoio Financeiro CAPES, FAPERJ, CNPq

42. MODULATION OF IL-6 LEVELS BY OUABAIN TREATMENT IN RETINAL CELL CULTURES: INVOLVEMENT OF PKC AND JAK.

Azevedo, M.A.^{1*}; Rocha, R. G. Rocha¹², Ribeiro, Y. S.¹² and Araujo, E.G.¹

1 Programa de Pós-Graduação em Neurociências, Universidade Federal Fluminense, Departamento de Neurobiologia, UFF. Niterói, RJ, Brasil.

2- Graduação em iomedicina Anhanguera.

Cytokines are small polypeptides with pleiotropic responses. Interleukin 6 (IL-6) is a pro-inflammatory cytokine playing an important role in physiologic events such as proliferation, survival, differentiation and apoptosis. Previously, our group demonstrated that treatment of mixed retinal cell cultures with IL-6 [50ng/mL] increases retinal ganglion cell RGC survival. We also showed that ouabain (OUA) increases RGC survival; an effect mediated by PKC δ , interleukin-1 β (IL-1 β), tumor necrotic factor α (TNF- α) and IL-6. Corroborating this last data, treatment with TNF- α [0,5ng/mL] or IL-1 β [5ng/mL] increases RGC survival. Accordingly, our group showed that OUA modulates the levels of IL-6, IL-1 β , and TNF- α in retinal cell cultures. The aim of this study was to investigate which signaling pathways are modulating the increase in IL-6 levels, induced by OUA treatment, in retinal cell cultures. Neonatal rats were killed, their retinas dissected, treated with 0.1% trypsin and mechanically dissociated. Cells were plated and maintained in 199 medium with or without OUA, PKC inhibitors (ROT, GO, CC), JAK2 inhibitor (AG490) in atmosphere of 5%CO₂ and 95% air at 37°C. PKC α levels were determined by western blot analysis. Experimental animal procedures were approved by the Ethics Committee on Animal-UFF (project 00124/09). First we decided to investigate the modulation of PKC α levels after OUA treatment following different time intervals. Our data show an increase in PKC α levels in 15min, 24 and 48 hours (15%, 21% and 144% respectively) and at 45min a decrease in PKC α levels was observed (23%). Following inhibition of PKC (by ROT- PKC δ inhibitor and CC-a pan PKC inhibitor) we observed a blockade of OUA effect on IL-6 levels. However, treatment with GO-a calcium dependent PKC inhibitor, did not block the OUA effect. These data indicate an involvement of PKC δ in OUA effect. Moreover, the presence of JAK2 inhibitor abolished the OUA effect on IL-6 levels. Our previous data indicate that OUA plays an important role in modulating IL6 levels and, interestingly, this effect involves other cytokines, suggesting a cooperative effect among them in regulating IL-6 levels in retinal cell cultures. The present data show the involvement of PKC δ and JAK2 in the effect of OUA. Since the trophic effect of OUA on RGC is mediated by PKC δ and IL-6 we can suggest that PKC δ is responsible for IL-6 synthesis in retinal cell cultures.

Financial support: CAPES, FAPERJ, CNPq, INCT-NIM.

43. E-NTPDASES INHIBITION REGULATES PROLIFERATION BY PI3K AND ERK PATHWAY THROUGH P2Y1 RECEPTOR AND MODULATES CELL DEATH IN RAT RETINAL PROGENITORS

1 Repposi, M., 3 Pereira, L. A., 1 Ventura, A.L.M., 2 Corrêia, J. C., 2 Ulrich, H., and 1 Fragel-Madeira, L.

1 Department of Neurobiology, Institute of Biology, Fluminense Federal University, 2 Institute of Chemistry, University of São Paulo and 3 University of International Integration of Afro- Brazilian Lusophony

Ectonucleotidases (E-NTPDases) are enzymes of plasma membrane that rapidly break nucleotides into nucleosides. Adenine nucleotides have an important role on retinal development, performing several functions through P2 receptors. Based on this, our aim was to analyze the function of E-NTPDases in vivo during the retina development. This project obtained approval by Ethics Committee on Animal Use under protocol number 2529280219 (ID 000620). Lister hooded rats with four postnatal days (P4) were anaesthetized by hypothermia and intravitreal injections of ARL67156 200 μ M (E-NTPDases inhibitor) alone or combination with MRS2179 100 μ M (selective antagonist of P2Y 1 receptor) were performed. Cell proliferation was assessed by Ki-67 immunolabeling and cell death by TUNEL assay. Expression of E-NTPDases was evaluated by Real-Time PCR at P0, P3 and P5 rat retina. We identified a higher expression of E-NTPDase 1 at P3 and P5 rat retina (P0= 2.97 ± 1.3 ; P3= 11.38 ± 3 ; P5= 12.01 ± 3.6), but not for NTPDase 2, 3 or 8, suggesting that E-NTPDase 1 is a possible candidate for the action of adenine nucleotides on neuroblasts proliferation. Treatment with ARL at P4 rats for 24 hours increased proliferating cell number by approximately 30% compared to control, in an age that cellular proliferation rate is low. However, P2Y 1 receptor blockage reversed this effect (control= 4734.4 ± 71.4 ; ARL= 6096 ± 150.9 ; ARL+MRS= 5113.4 ± 182.2). Also, we demonstrated that the effect of ARL was mediated by PI3K and ERK, but not by PKC pathway (control= 4069 ± 131 ; ARL= 6121 ± 140 ; ARL+U0126 (p-ERK inhibitor)= 4665 ± 93 ; ARL+LY294002 (PI3K inhibitor)= 4260 ± 65 ; ARL+Q (PKC inhibitor)= 5748 ± 66). Furthermore, considering that retina differentiation occurs from center to periphery we analyzed if this effect was similar at both regions. This increase on proliferation rate was observed both in the periphery and center of the retina, although P2Y 1 blockage could not reverse this effect in the center (control: periphery= 5721.8 ± 131.5 , center= 4074.2 ± 190.3 ; ARL: periphery= 7350.4 ± 233.9 , center= 4933.2 ± 113.7 ; ARL+MRS: periphery= 5484.6 ± 227.7 ; center= 4829.2 ± 295). However, cell proliferation induction was not sustained 48 and 72 hours after ARL injection compared to control (control: 48 hours= 4549 ± 141 ; 72 hours= 3937 ± 125.9 ; ARL: 48 hours= 4826.7 ± 245.9 ; 72 hours= 3890.7 ± 209.1). We further analyzed if E-NTPDases blockade was inducing cell death. Results showed that after 24 hours 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= 692 ± 61 ; 48 hours= 668 ± 38 ; 72 hours= 459 ± 66 ; ARL: 24 hours= 421 ± 38 ; 48 hours= 730 ± 86 ; 72 hours= 736 ± 113). Our data suggest that ectonucleotidases blockage increased proliferation of rat retinal progenitors cells dependently partially of P2Y 1 receptor by PI3K and ERK pathway and this raise was counterbalanced through cell death program. Financial support: Capes, FAPERJ, CNPq and Proppi-UFF.

44. THE INFLUENCE OF PROPER FEEDING AND THE METABOLIC EFFECTS OF ENDOCRINE DISRUPTORS ON AUTISTIC SPECTRUM TABLES: A REVIEW

Matheus Arouca Gomes Gibaldi, Victória Vieira Cosenza Carneiro, Renata Borchetta Fernandes Fonseca. 1- Departamento de Nutrição Fundamental, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro.

According to the American Psychiatric Association (APA, 2013), autism is a conjuncture characterized by markedly atypical and impaired development in social interactions, modes of communication, and behavior. Such characteristics vary in the way they manifest themselves and in the degree of severity and are hardly present in the same way in more than one person. And because it is a spectrum, patients can range from severe with cognitive impairment to milder, with advanced islands of knowledge and usually last throughout life. Autistic, and mostly children, are very selective about the new and this is where blockages to new eating experiences appear. Therefore care must be redoubled. Repetitive behavior and restricted interest may play an important role in dietary selectivity. This review aims to verify the influence of this impact and, through its exposure, promote diffusion to the academic community, as well as provoke reflections on eating, which may minimize the problems arising from the presence of autistic spectra to ensure a better quality of life, life to the bearers. This paper aims to systematically evaluate the bibliographic production consisting of research reports indexed in the databases MedLine, LILACS, PubMed, PsycInfo - besides books and magazines - on the theme of food and its influence on the autistic spectrum and possible association with endocrine disruptors in metabolism modulation. Through the literature review, we can identify some points that deserve special attention and that seem to be repeated over the years, namely: indiscipline, which contributes to food inadequacy; refusal, where the non-acceptance of a particular food is very frequent, corroborating the appearance of caloric-protein malnutrition; and selectivity, limiting the variety of foods that can lead to nutritional deficiency, but the biggest problem identified by parents, related to eating and oral behaviors, was the reluctance to try new foods. However, recent studies also show that there may be an intimate relationship between endocrine disruptors (ED) and autism and that such compatibility would aid the development of the autistic spectrum even in intrauterine life. These endocrine disruptors can alter hormonal endocrine axes and this can be associated with various health problems. Several studies on the diet of patients with autism have been performed. But what is noted is a controversy among researchers. Autism is a complex condition that requires special care from not only nutritionists but all health professionals, including the family. However, it is important to emphasize the need for further discussions and more studies addressing the nutritional aspects of patients with autistic spectra, because how can I take care if I cannot cope? Knowledge needs to be promulgated on this topic. Through several works involving the feeding of the autistic with the experiences of people directly involved, we can identify that there is a contribution, even indirect, to the improvement of the behaviors and attitudes of the carriers.

45. EFEITOS NEUROPROTETORES DOS ÁCIDOS CLOROGÊNICOS EM CULTURAS DE CÉLULAS DA RETINA.

Torres, M.¹; Domith, I.²; Paes-de-Carvalho R.²; Cossenza M².

1 - Universidade Anhanguera de Niterói (UNIAN); 2 - Programa de pós graduação em Neurociências - UFF;

Estudos epidemiológicos recentes apontam que o consumo regular de café reduz diversas causas de morte de forma consumo-dependente e de forma independente da cafeína. Conhecidamente, o café possui cerca de 5-8 vezes mais ácidos clorogênicos (CGA) do que a cafeína, que são polifenóis de alta capacidade antioxidante. No Sistema Nervoso Central (SNC) o desenvolvimento de doenças degenerativas tem sido amplamente associado ao estresse oxidativo. Apesar da pouca informação acerca da biodisponibilidade dos CGAs no SNC é plausível que esta seja baixa. Nosso grupo tem mostrado diversos efeitos dos CGAs na diminuição do perfil inflamatório de micróglia e aumento de sobrevivência neuronal em diferentes modelos de estudo do SNC, provavelmente através interação com múltiplos alvos moleculares. Demonstrar os efeitos neuroprotetores dos CGAs em células do SNC em cultura, através de medida da migração de Nrf2 para o núcleo, bem como ensaios de contagem de células. Também, medir os efeitos neurotróficos utilizando medidas de comprimento e ramificação neuritos. Imageamento por sonda (calceína), imunofluorescência (IF) para actina e tubulina e microscopia confocal. Quantificação pelo software Wis-NeuroMath e GraphPad Prism 8. Culturas mistas (neurônios e glia) tratadas com CGA (100µM) apresentaram uma quantidade de Nrf2 no núcleo em torno 250% em relação aos não tratados. Em culturas purificadas de neurônios tratadas com CGA (5µM), em diferentes períodos, apresentaram aumento do tamanho dos neuritos de cerca de 60% com 2-3 vezes o número de ramificações, medidos através de micrografias de IF para actina e tubulina. Através da sonda calceína foi observado o efeito neuroprotetor do CGA quando essas culturas eram desafiadas pelo glutamato (100uM) durante 24h. É possível inferir que a presença de CGA aumenta a transcrição de genes envolvidos com respostas antioxidantes, aumenta a sobrevivência neural, a neuritogênese.

Apoio Financeiro CNPq, PROPPI-UFF, CAPES e FAPERJ.

46. OUABAÍNA MODULA O PERFIL COLINÉRGICO DE CÉLULAS DA RETINA DE RATOS NEONATOS MANTIDAS EM CULTURA

Michelle Rodrigues de Oliveira, Elizabeth Giestal-de-Araujo

1Programa de Pós-Graduação em Neurociências da Universidade Federal Fluminense, Niterói – RJ, Brasil

Nosso grupo demonstrou o efeito trófico de 50U/mL IL-4 e 3nM ouabaina (OUA) em células ganglionares da retina mantida em culturas por 48h. Igualmente foi demonstrado que o tratamento com 3nM OUA induz um aumento nos níveis de IL-4 após 15 min, 24 e 48h. Recentemente, demonstramos que o tratamento com IL-4, por 48h, promove um aumento nos níveis dos receptores muscarínicos M3 (M3R) em culturas de células da retina; sendo o IGF-1 e o seu receptor IGF-1R mediadores desta resposta. Baseados nesses resultados experimentais, analisamos o efeito da OUA sobre o perfil colinérgico e sobre os níveis de IGF-1 em culturas de células da retina de ratos. Ratos neonatos da linhagem Lister Hooded foram mortos, suas retinas dissecadas, tratadas com tripsina e mecanicamente dissociados. As células foram plaqueadas na densidade de 105 células/cm² em placas de Petri de 35mm. As culturas foram mantidas em meio 199 (CT) com ou sem OUA em atmosfera de 5%CO₂ / 95%ar a 37°C. Os níveis de diferentes proteínas analisadas foram determinados pela técnica de western blot. Os procedimentos experimentais em animais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Uso Animal da UFF (00294/12). Nossos resultados demonstram que o tratamento com OUA modula os níveis dos receptores muscarínicos M3R, M1R, M5R, da ChAT, da VaChT e do CHT-1 em diferentes intervalos de tempo. Aos 15min e 48h a OUA induziu uma diminuição nos níveis de M3R (21,3% ± 1,3%) e (17,0% ± 5,2%). Em 45min e 24h houve um aumento nos níveis de M3R (41,5% ± 8,2%) e (18,8% ± 9,1%) respectivamente. Em relação aos M1R em 45min a OUA induziu uma diminuição (CT=100% OUA=31%) e em 24h (CT=100% OUA=170,8%) esses níveis estão aumentados. Analisando os níveis M5R observamos uma diminuição em 45min (CT=100% OUA=87%) e em 24h observamos um aumento (CT=100 OUA=168,8%). Com relação à ChAT observamos uma diminuição em 24h (CT=100% OUA=72,6%) e em 48h (CT=100% OUA=86,4%). Em relação aos níveis dos transportadores, observamos um aumento em 15min (28,17±16,04) e 24h (CT=100% OUA=141,7) do VchAT e uma diminuição em 5min (CT=100% OUA=75,1%), 45min (CT=100% OUA=56,6) e 48h (12,10±5,622). Os níveis de CHT-1 em 45min (CT=100% OUA= 172,8%) e 24h (CT=100% OUA=185,4%) apresentam um aumento e em 48h (CT=100% OUA=54%) uma diminuição. Analisando os níveis de IGF-1 após o tratamento com OUA, observamos diminuição após 45min (27,9% ± 5,4%) e aumento em 48h (69% ± 2.2). OUA induziu um aumento nos níveis de IL-4 após 15min (100%) e um pequeno aumento após 45min (15%). Às 24h e 48h, observamos um aumento (60% e 40% respectivamente) nos níveis de IL-4. Observamos também uma diminuição de 30% na atividade da acetilcolinesterase (AChE) após 15min de tratamento com a OUA. Nossos resultados demonstram que o tratamento com OUA modula o perfil colinérgico e os níveis de IGF-1 em nossas culturas. No futuro avaliaremos se o efeito da OUA no perfil colinérgico é mediado pela IL-4 e pelo IGF-1.

Apoio Financeiro: CAPES, FAPERJ, CNPq e INCT-NIM.

47. REGULAÇÃO DA VIA DA CREB DURANTE O DESENVOLVIMENTO DA RETINA.

Gomes-da-Silva, N. C.; Paes-de-Carvalho, R.

Departamento de Neurobiologia, Programa de Neurociência - Instituto de Biologia

A CREB (proteína ligante do Elemento de resposta a nucleotídeos cíclicos) é um fator de transcrição nuclear que pode ser fosforilado pela PKA em seu resíduo serina 133, por CaMK (Proteína cinase dependente de calmodulina, especialmente a CaMKII e a CaMKIV) ou outras cinases e que são reguladas por receptores ionotrópicos de glutamato do tipo NMDA e AMPA. Sua função é ativar certas sequências gênicas levando a um aumento da transcrição de proteínas anti-apoptóticas e fatores de crescimento como BDNF (Fator de crescimento derivado do cérebro). A função da CREB está relacionada à proliferação, diferenciação celular, sobrevivência, potenciação sináptica de longo termo, neurogênese e plasticidade neural. Vale ressaltar que receptores metabotrópicos de glutamato, mGluRs, também podem ser ativados uma vez que estão associados a proteína G heterotrimerica, receptores do grupo I (mGluR1 e 5) sendo acoplados a Gq/11 promovendo a hidrólise do fosfo Inositol via fosfolipase C, enquanto o grupo II (mGluR2 e 3) e o grupo III (mGluR4, 6, 7 e 8) acoplados a Gi/q, regulando negativamente a atividade da adenilil ciclase. O objetivo geral deste projeto é avaliar como a CREB pode ser ativada durante o desenvolvimento da retina do embrião de galinha utilizando modelo ex vivo (retina intacta) visando entender os mecanismos regulatórios envolvidos analisar a regulação da CREB por dopamina e adenosina no desenvolvimento.

48. MÍDIAS SOCIAIS PARA DIVULGAR CIÊNCIAS: O USO DO INSTAGRAM COMO FERRAMENTA DE DIVULGAÇÃO DE TEMAS EM NEUROCIÊNCIAS

Paloma C. De Seta Cosentino, Luana da Silva Chagas, Poliana Capucho Sandre, Thalita Mazala de Oliveira, Liana Catarina Lima Portugal, Bruna Teixeira Silva, Priscilla Oliveira Silva Bomfim. NuPEDEN- Núcleo de Pesquisa, Ensino, Divulgação e Extensão em Neurociências da UFF/ PPG em Neurociências/ INCT-NIM/ priscillaneuro@gmail.com

As redes sociais estão cada vez mais presentes na rotina das pessoas. Dentre as diversas redes sociais existentes, o Instagram é uma das mais promissoras. Com o número de usuários crescendo continuamente desde sua criação, esta rede se baseia no compartilhamento de fotos e textos curtos, o que torna sua linguagem mais dinâmica. Essa linguagem dinâmica é tanto um desafio quanto facilita a divulgação científica. Por ser um texto curto essa plataforma obriga o autor a ser conciso, escolhendo bem o que irá falar sobre determinado tema. Isso, contudo, facilita a compreensão do leitor, pois reduz a informação ao essencial sobre o tema. Ademais, o Instagram tem uma grande abrangência na população brasileira, atingindo tanto crianças e jovens quanto aos mais idosos. O Instagram é, em suma, uma plataforma ideal para a divulgação científica. A proposta do Instagram do NuPEDEN é instigar a curiosidade do leitor, dando as bases para que o próprio busque mais informações de forma correta. O perfil existe desde fevereiro de 2018 e conta com diversas colunas que abordam diferentes temas dentro das neurociências. A primeira a estrear foi a de “Neuromitos” que aborda curiosidades e mitos difundidos dentro das neurociências como, por exemplo, o percentual de uso do nosso cérebro. A coluna “Quem sou eu?” aborda temas de anatomia e histologia de uma forma lúdica em que as células e estruturas se apresentam para o leitor e contam das suas funções no sistema nervoso. O “Contando histórias” aborda a história das neurociências e todo o caminho percorrido até a contemporaneidade. A coluna “Neurociências e (...)” correlaciona essa ciência à diversos temas, trazendo a explicação neurocientífica sobre diversos fenômenos. O “Palavra de especialista” traz textos de especialistas de diferentes áreas abordando temas como a coevolução de homens e plantas ou o yoga, por exemplo. O “NuPEDEN Cult” traz diversas sugestões culturais, como filmes, livros e séries, que falem sobre temas dentro das neurociências. A coluna “NuPEDEN pelo mundo” fala sobre lugares do mundo importantes para as neurociências ou de lugares famosos no mundo e correlacionando-os com as neurociências. A “Tá ligado?” fala sobre as drogas de abuso e os efeitos no sistema nervoso e em outros sistemas. A coluna “Na saúde e na doença” estabelece um comparativo entre a fisiologia de um cérebro saudável e as mudanças ocorridas quando doenças que afetam o sistema nervoso surgem. A “Que vibe é essa?” explica como ocorrem as emoções e as bases fisiológicas desses fenômenos. No perfil do Instagram divulgamos também os eventos ocorridos em escolas que contam com a participação do núcleo, além de nossos eventos, como o Curso de Inverno de Neurociências.

O nosso Instagram conta com mais de 1.000 seguidores e se mantém com um engajamento constante. O nosso objetivo é expandir cada vez mais o número de seguidores, levando, assim, o conhecimento produzido na academia para cada vez mais pessoas e, com isso, promover a curiosidade em todas as idades. As colunas, também, buscam trazer informações científicas para fenômenos que ocorrem no cotidiano. Além disso, pretendemos cada vez mais gerar novos conteúdos, em colunas já existentes ou em novas, aumentando cada vez mais a divulgação e a promoção da ciência.

49. CAFEÍNA MODULA O SISTEMA GABAÉRGICO DE RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS (SHR)

1 GONÇALVES, P.M.M., 1TEIXEIRA, C.H.C., 1VALLI, T. R., 4RITTER, M. N. M. F., 1MARTINS, R.S., 1BORGES-MARTINS, V. P. P., 2REIS, R.A.M., 3MANHÃES, A.C., 1KUBRUSLY, R.C.C.

1 - Laboratório de Neurofarmacologia – Programa de Pós-Graduação em Neurociências, UFF, Niterói, Brasil. 2 - Laboratório de Neuroquímica - UFRJ, Rio de Janeiro, Brasil, 3 - UERJ, Rio de Janeiro, Brasil
4 - Laboratório de Enteropatógenos, Microbiologia Veterinária e de Alimentos – UFF, Niterói, Brasil

O Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH) é uma doença caracterizada por sinais de desatenção, hiperatividade e impulsividade, sendo possível reverter estes sintomas com o uso de psicoestimulantes como o metilfenidato e, de acordo com a literatura, tratamento crônico com cafeína (CAF), que tem como um dos seus mecanismos de ação o antagonismo não seletivo de receptores de adenosina (A1R e A2AR). Estes últimos receptores estão presentes em diversos sistemas de sinalização, entre eles o GABAérgico. Avaliar se a CAF é capaz de modular a captação de [3H]-GABA no estriado de ratos SHR e em comparação com ratos Wistar. Foram utilizados ratos Wistar e SHR de ambos os sexos após 21 dias pós-natais, sendo realizado o isolamento do corpo estriado para os experimentos neuroquímicos (captação de [3H]-GABA e Western Blot para GAT-1), estando de acordo com o comitê de ética da UFF, nº CEUA 865/2016. Os dados foram analisados no programa Prisma 6 e são expressos como média ± erro padrão da média (EPM), $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. O tratamento com No-711 (bloqueador GAT-1 - $50\mu\text{M}$), e as condições experimentais de sem sódio (S/Na) e baixa temperatura (8°C) reduziram os níveis de captação de [3H]-GABA nos grupos Wistar (CTRL: $0,240 \pm 0,019$; $n=4$; No-711 $50\mu\text{M}$: $0,081 \pm 0,011$; $n=3$; S/Na: $0,033 \pm 0,014$; $n=4$; 8°C : $0,017 \pm 0,005$, $n=3$; pmol/mg) e SHR (CTRL: $0,061 \pm 0,006$; $n=6$; No-711 $50\mu\text{M}$: $0,022 \pm 0,006$, $n=3$; S/Na: $0,012 \pm 0,008$, $n=3$; 8°C : $0,011 \pm 0,006$, $n=3$; pmol/mg). O tratamento com CAF ($200\mu\text{M}$) tende a reduzir a captação de [3H]-GABA no grupo Wistar (CTRL: $0,237 \pm 0,010$; $n=7$; CAF: $0,201 \pm 0,021$; $n=4$; pmol/mg) em relação ao controle, enquanto no grupo SHR observou-se aumento na captação de [3H]-GABA (CTRL: $0,061 \pm 0,006$; $n=6$; CAF: $0,103 \pm 0,016$; $n=5$; pmol/mg). O tratamento com H89 (bloqueador da PKA - $10\mu\text{M}$) e H89+CAF levou à redução significativa na captação de [3H]-GABA em relação aos níveis basais nos ratos Wistar (CTRL: $0,240 \pm 0,019$; $n=4$; H89: $0,062 \pm 0,016$, $n=6$; H89+CAF: $0,049 \pm 0,009$, $n=3$; pmol/mg) enquanto nos ratos SHR a redução não foi significativa (CTRL: $0,087 \pm 0,007$, $n=3$; H89: $0,059 \pm 0,005$, $n=9$; H89+CAF: $0,063 \pm 0,003$, $n=8$; pmol/mg). Dados preliminares mostraram uma tendência ao aumento na expressão do transportador GAT-1 no grupo controle de animais SHR em relação aos Wistar, porém essa tendência não foi observada nos grupos tratados com CAF. A CAF aumentou os níveis de captação de [3H]-GABA em ratos SHR porém não foi observada alterações na expressão do transportador GAT-1, o que pode demonstrar que o aumento na captação não está relacionada com o aumento da síntese ou expressão deste transportador.

50. PARTICIPAÇÃO DOS RECEPTORES P2X7 E A2A NA MODULAÇÃO DA EXPRESSÃO DA PROTEÍNA BÁSICA DE MIELINA EM CÉLULAS DE SCHWANN ESTIMULADAS COM MYCOBACTERIUM LEPRAE

Santos, P.M.F.1; Mietto, B.2; Rodrigues-Pereira, A.M.1; Junqueira, B.3; Coutinho-Silva, R.4; Silva Martins, P.M.R.5.; Pessolani, M.C.V.1 And Berrêdo-Pinho, M.1

1Laboratório de Microbiologia Celular IOC/FIOCRUZ, RJ-Brasil; 2Laboratório de Biologia Celular, Universidade Federal de Juiz de Fora, MG- Brasil.;3Laboratório de Hanseníase, IOC/FIOCRUZ, RJ-Brasil; 4Laboratório de Imunofisiologia, IBCCF-UFRJ, RJ-Brasil; 5Laboratório de inflamação, IOC/FIOCRUZ, RJ-Brasil

A hanseníase é uma doença infecciosa crônica, considerada a principal causa de neuropatia periférica não traumática, representando um sério problema de saúde pública, principalmente devido ao seu potencial incapacitante e à forte discriminação e estigma social. A hanseníase é causada pelo *Mycobacterium leprae*, que possui tropismo por células de Schwann, tanto a interação direta do patógeno com estas células quanto a modulação da resposta imune, contribuem para o fenótipo desmielinizante e às lesões no sistema nervoso periférico, resultando em danos irreversíveis ao nervo. Uma via metabólica que tem recebido atenção em processos fisiopatológicos, e que tem fornecido alvos para o tratamento de diversas patologias é a sinalização purinérgica, que tem como principais mediadores o ATP e a adenosina (ADO) extracelular. Essa via apresenta também enzimas que regulam os níveis desses mediadores e receptores purinérgicos que ativam diferentes sinalizações intracelulares. Dados da literatura vêm demonstrando o envolvimento do sistema purinérgico em particular dos receptores A2a e P2X7 na modulação do fenótipo mielinizante tanto no sistema nervoso central quanto periférico. Portanto, este trabalho visa avaliar o envolvimento dos receptores, A2A e P2X7, na modulação da expressão da proteína básica de mielina (MBP), com o objetivo de investigar o papel destes no fenótipo desmielinizante induzido pela infecção pelo *M. leprae*. Para isso, células de Schwann primárias extraídas e purificadas, a partir de um pool de nervos isquiáticos de camundongos Balb/c ou de camundongos nocaute para os receptores A2a e P2X7 foram estimuladas ou não com *M. leprae*. Agonistas e antagonista do receptor A2a foram utilizados nos ensaios com nervos de camundongos Balb/c, e a expressão da MBP foi analisada por imunofluorescência. Os dados mostram que a infecção pelo *M. leprae* leva ao aumento da destruição da mielina em células de Schwann primárias, medido pelo nível de expressão de MBP e que a adição das drogas agonistas do receptor A2a, (ADO) e (CGS21680), reverteu este efeito, entretanto, o antagonista do mesmo receptor, ZM241385, foi capaz de destruir a mielina mais rapidamente. Além disso, foi visto que as células de Schwann, tanto de camundongos nocaute para o receptor A2a, como para P2X7, mostraram uma menor expressão de MBP quando comparado ao animal selvagem e que este efeito foi ainda maior quando as células foram estimuladas com o bacilo. Os dados sugerem o envolvimento do sistema purinérgico, em particular os receptores A2a e P2X7, na manutenção da mielina, em células de Schwann primárias estimuladas pelo *M. leprae*.
Comitê de ética para uso de animais (CEUA/IOC-011/2014)

Suporte Financeiro: FIOCRUZ/IOC; CAPES, CNPq e FAPERJ

51. RESTRIÇÃO NUTRICIONAL CRÔNICA DO ÁCIDO GRAXO ÔMEGA-3 MODULA O PERFIL INFLAMATÓRIO DURANTE O DESENVOLVIMENTO DO SISTEMA VISUAL EM RATOS

Sandre, P. C¹., Velasco, P. C.², Chagas, L. S³., Bonomo, A. C¹., Galvani, R. G¹., Vianna, P. H. O.,³ Silva, S. C. A.³, Serfaty, C. A.³.

1 Laboratório de Pesquisas sobre o Timo, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Rio de Janeiro-RJ. 2 - Instituto de Nutrição, UERJ, Rio de Janeiro-RJ. 3 - Departamento de Neurociências, Instituto de Biologia, UFF, Niterói-RJ.

O conteúdo de AG ômega-3 e ômega-6 na dieta afeta diretamente a produção e o acréscimo tecidual de seus derivados, o ácido docosahexaenoico (DHA) e o ácido araquidônico (AA), respectivamente. Esses AG são substratos para eicosanoides, os quais possuem diversas funções biológicas como na plasticidade sináptica, condições patológicas e inflamação. A microglia é extremamente dinâmica e responsiva a mudanças homeostáticas que podem levar a alteração da sua motilidade, morfologia e função, comprometendo assim, a execução de tarefas fisiológicas cruciais. Neste trabalho, usando o sistema visual de roedores como modelo de estudo do desenvolvimento de conexões neurais, investigamos o impacto da restrição dietética do DHA em aspectos inflamatórios e os possíveis efeitos de uma suplementação precoce (P7 a P28) ou tardia (P28 a P49) com óleo de peixe (3g/kg/dia). Os experimentos foram conduzidos de acordo com as normas de uso de animais de laboratório (CEPA-UFF) nº 0015009. Fêmeas de ratos Lister Hooded receberam dieta com óleo de soja (ω 3+) ou óleo de coco (ω 3-) nas 5 semanas anteriores ao acasalamento, sendo a dieta mantida durante a gestação e o período pós-natal. O ganho ponderal da prole permaneceu inalterado em todos os grupos experimentais. A análise do perfil lipídico indicou que a dieta ω 3- reduziu seletivamente o conteúdo de DHA no colículo superior (CS) e na retina da prole e ambas as janelas de suplementação foram capazes de reverter este efeito. Durante o desenvolvimento, o grupo ω 3- também mostrou mudanças na morfologia microglial e aumento dos níveis de Iba-1 na retina e no CS. A análise por PCR revelou um padrão alterado de expressão de citocinas pró-inflamatórias durante o desenvolvimento, onde a suplementação precoce diminuiu este efeito. Além disso, dados preliminares sugerem que o grupo ω 3- apresenta maiores níveis de iNOS em etapa precoce do desenvolvimento. Este estudo indica que a restrição dietética crônica de DHA, comum em dietas ocidentais, pode alterar o curso correto do desenvolvimento do sistema nervoso central, uma vez que interfere no padrão inflamatório e na população microglial. Essas alterações podem desencadear o rompimento da organização topográfica e da capacidade plástica, consistente com o papel dos AGE como precursores de moduladores sinápticos envolvidos na estabilização das conexões no sistema visual.

Apoio financeiro: CAPES, CNPq, FAPERJ, INCT-NIM.

52. EXPRESSION OF FAAH ENZYME IN A MOUSE MODEL OF RETINITIS PIGMENTOSA

Azevedo, R. F.¹, Magalhães, C. F.¹, Silva, H. P.², Madeira, L. F.

(1) Programa de Pós-graduação em neurociências – Instituto de Biologia - UFF 2 - Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho — UFRJ (2)

Retinitis pigmentosa (RP) is an inherited neurodegenerative disease of retina characterized by progressive loss of photoreceptor cells, corresponding to a decay in visual function. As in other degenerative central nervous system diseases, endocannabinoid system is an important therapeutic target for modulation. Its main ligands are anandamide and 2-arachidonoylglycerol, which are degraded by enzymes such as fatty acid amide hydrolase (FAAH). Previous work from our group showed that inhibition of FAAH in Pde6 β rd10 mouse model of RP slowed photoreceptor loss, which starts around 17 postnatal days, suggesting that this system might be altered during the disease. We aimed to evaluate if FAAH enzyme expression was altered in Pde6 β rd10 mice compared to healthy C57Bl/6 background. In order to assess FAAH localization in retina we detected this enzyme in retinal slices from rd10 and C57Bl/6 mice by immunofluorescence. We also determined FAAH localization in microglial cells by co-labeling FAAH with microglial marker Iba-1. Western-blotting was used to quantify protein expression of FAAH from protein extracts of retinas from rd10 and C57Bl/6 mice. Overall, both in rd10 and C57Bl/6 mice we observed FAAH was present in all retinal layers, being more prominent on plexiform layers, possibly related to endocannabinoid system's role in modulating neurotransmission. At 15 postnatal days (P15) we observed presence of puncta of FAAH immunolabeling in inner nuclear layer of rd10 mice retina which were not present in C57Bl/6 retina. At P23 we observed in rd10 mice, cells labeled against FAAH directly above the outer nuclear layer, in photoreceptor outer segments layer. In order to verify if those cells were microglial cells, we co- labeled retinas against FAAH and Iba-1, showing an overlap between FAAH expression and invading microglia during photoreceptor degeneration. Protein expression of FAAH was determined, and a trend for increased FAAH expression in rd10 mice was observed, both during development and degeneration stages: P1 (Bl6= 0.34; Rd10= 0.88), P3 (Bl6= 0.61; Rd10= 0.64), P5 (Bl6= 0.24; Rd10= 0.76), P15 (Bl6= 0.37 \pm 0.085; Rd10= 0.975 \pm 0.262), P19 (Bl6= 0.585 \pm 0.078; Rd10= 1.40), P21 (Bl6= 0.315 \pm 0.078; Rd10= 0.645); P23 (Bl6= 0.33; Rd10= 0.58 \pm 0.113; data expressed as mean \pm SD). Results shown here suggest that there are changes on FAAH localization and protein levels in rd10 mice during development and degeneration of photoreceptor cells. Therefore, FAAH modulation might be an interesting therapeutic strategy for treatment of retinitis pigmentosa.

Financial support: FAPERJ, CAPES, CNPq

53. INFLUÊNCIA DO HORMÔNIO LEPTINA NO COMPORTAMENTO ALTAMENTE AGRESSIVO DE CAMUNDONGOS MACHOS SWISS WEBSTER PELO MODELO ESPONTÂNEO DE AGRESSIVIDADE (MEA)

1Barbosa, R.S., 1Felippe, R.M., 1Esteves, B.D., 1Horita, S.I.M., 2Brito, C.F., 1Araújo-Jorge, T.C., 2Oliveira, G.M., 1Fragoso, V.M.S.

1 - Laboratório de Inovações em Terapias, Ensino e Bioprodutos, IOC/FIOCRUZ- RJ

2 - Laboratório de Biologia Celular, IOC/FIOCRUZ, Manguinhos/RJ

Agressão é definida como o ato no qual um indivíduo prejudica ou lesa a si mesmo ou outro de sua própria espécie, em humanos essa agressividade pode resultar em atos violentos. O MEA utiliza o reagrupamento como fator estressor, onde alguns indivíduos machos adultos da linhagem Swiss Webster apresentam comportamento altamente agressivo. A ativação do eixo Hipotálamo–Hipófise–Adrenal (HPA) é a principal resposta adaptativa ao estresse do sistema nervoso central. Alterações nos níveis de leptina causam a desregulação deste eixo e modificações no disparo do neurotransmissor dopaminérgico, aumentando as chances de aparecimento de comportamentos ansiosos e desordens emocionais. Os objetivos deste trabalho foram investigar o efeito do estresse do reagrupamento no comportamento altamente agressivo de camundongos submetidos ao MEA, através da análise dos níveis de leptina. Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto Oswaldo Cruz (CEUA/IOC) sob a licença número (032/2019) de acordo com a Legislação brasileira e a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa. Camundongos machos da linhagem Swiss webster ($n = 30$), com 3 semanas de vida foram identificados individualmente e agrupados aleatoriamente em 5 grupos. Na 4^a, 6^a e 8^a semana de vida foram realizados o teste de suspensão da cauda (TSC), etograma e padrão de comportamento agressivo (PCA). Na 10^a semana os animais foram reagrupados e os testes etograma e PCA foram realizados, como também na 12^a e 14^a semana de vida, categorizando os animais como Harmônicos (Har), Agredidos (AgD) e Agressores (AgR). Na 16^a semana, esses animais foram anestesiados por via intraperitoneal e realizada a punção cardíaca para coleta do sangue e análises dos níveis de leptina por ELISA. Os dados foram analisados pelo teste não paramétrico ANOVA one-way. O nível de significância foi de 5%, $p \leq 0.05$. Os resultados mostraram que dos animais reagrupados, somente os camundongos AgR apresentaram um número de ataque significativamente maior de $9,9 \pm 6,9$ número de ataques/30 min ($p \leq 0,05$) do que as outras categorias. Somente os camundongos AgD apresentaram lesões acentuadas de $3,0 \pm 0,9$ cm² ($p \leq 0,05$). Como resultado preliminar, analisando os níveis de leptina no soro, observamos que os camundongos AgR apresentaram uma tendência ao aumento dos níveis deste hormônio ($5853,0 \pm 4885,0$ pg/ml), em relação aos animais NR, Har, AgD ($4226,0 \pm 3066,0$; $3441,0 \pm 5895,0$; $1267,0 \pm 1202$ pg/ml, respectivamente). Observamos que o MEA foi capaz de reproduzir o comportamento agressivo. E a leptina não apresentou diferença significativa estatisticamente provavelmente devido ao desvio padrão elevado. Logo se torna necessária a repetição deste experimento, para obtenção de resultados melhores.

Apoio financeiro: Fiocruz e CNPQ.

54. ISOLAMENTO SOCIAL E ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL MODULAM A VIA NÃO-AMILOIDOGÊNICA EM ROEDORES

¹Figueiredo, R.C.; ¹Neves, R.C.; ¹Faria-Melibeu, A. C.;

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

A proteína precursora amiloide (APP) é uma glicoproteína transmembrana do tipo I, conhecida por participar da fisiopatologia da doença de Alzheimer (DA) como fonte do peptídeo β -amiloide ($A\beta$), formador de placas senis. Entretanto, a APP também realiza papéis fisiológicos, sendo encontrada predominantemente nos sítios sinápticos e envolvendo-se em uma série de eventos celulares, como adesão celular, crescimento neurítico, sinaptogênese e plasticidade sináptica. O metabolismo da APP envolve sua clivagem proteolítica por ação de secretases (α , β e γ) através de duas vias: amiloidogênica e não-amiloidogênica. Na via não-amiloidogênica, a clivagem sequencial pela α e γ -secretase leva à liberação da sAPP α , fragmento solúvel que possui efeitos neurotróficos. Já na via amiloidogênica, a clivagem da APP pelas β e γ -secretase culmina na formação da sAPP β e do peptídeo $A\beta$. Deste modo, a APP pode desempenhar um papel importante na fisiologia sináptica, bem como nos processos patológicos que levam à DA. Dados da literatura associam sintomas como a depressão com um risco maior de desenvolver a DA na terceira idade, principalmente quando a primeira ocorrência dos sintomas depressivos é de 25 anos antes do aparecimento dos déficits cognitivos. Sendo assim, muitos buscam por estratégias para aumentar a neurogênese em pacientes ou atuar como forma de prevenção. O enriquecimento ambiental (EA) tem sido utilizado como estratégia neuroprotetora no tratamento de déficits cognitivos, onde estudos com animais mostram que o EA pode promover a reversão de déficits de memória declarativa e social. Neste contexto, avaliamos se o isolamento social (IS), modelo utilizado no estudo da depressão, e o EA são capazes de modular os níveis da APP e de seus principais metabólitos no hipocampo, no córtex pré-frontal e no bulbo olfatório. Ratos Lister Hooded na idade P25 seguiram o protocolo de IS, onde foram divididos em 2 grupos, Isolados e Agrupados, permanecendo por 30 dias. Após o período de isolamento, seguimos com o protocolo de EA por 7 dias, onde os animais foram divididos em 4 grupos: Controle, Enriquecido, Isolado Controle e Isolado Enriquecido. Realizamos o teste do campo aberto, quantificando tempo gasto explorando as zonas do labirinto. Análises neuroquímicas foram feitas através da técnica de western blotting. Nossos resultados demonstram que o EA aumenta significativamente o comportamento exploratório dos animais, visto pelo maior tempo gasto explorando a zona central do campo aberto (N=10, $p=0,0439$; N=3, $p=0,0181$). Dados neuroquímicos sugerem que os efeitos do IS e do EA sobre a sAPP α são área dependentes. No hipocampo e no córtex, houve a diminuição dos níveis de sAPP α nos animais isolados controle (hipocampo - N=5, $p=0,0152$). Já no córtex pré-frontal e no bulbo olfatório, há um aparente aumento da expressão da sAPP α nos grupos enriquecidos (N=3; N=1). Esses dados sugerem que tanto o IS quanto o EA podem modular a via não-amiloidogênica da APP neste modelo animal.

Apoio financeiro: FAPERJ, PROPPi-UFF, PROAP-UFF

55. INFLUENCE OF DOPAMINERGIC RECEPTORS AND C-FOS PROTEIN ON THE BEHAVIOR OF HIGHLY AGGRESSIVE SWISS WEBSTER MICE.

1Felippe, R.M., 1 Horita, S.I.M., 1Gonzaga, B.M., 1 Barbosa, R.S., 1Araújo-Jorge, T.C., 2Oliveira, G.M., 1Fragoso, V.M.S.

1 - Laboratory of Innovations in Therapies, Education and Bioproducts, Institute Oswaldo Cruz/FIOCRUZ/RJ, 2 - Laboratory of Cell Biology, IOC/FIOCRUZ /RJ

Aggression is defined as hostile behavior that results in injury, death or psychological damage. When aggression is exacerbated and constant, it can be considered pathological. Previous studies showed that the stress and aggressiveness can change the expression of D1 and D2 dopaminergic receptors and the c-Fos protein, and increase reactive oxygen species (ROS) production in the frontal cortex region. Using MSA, which uses regrouping as a stressor, was observed that some adult male Swiss Webster individuals exhibit highly aggressive behavior, and they demonstrated 85% elevation of dopamine expression in the cerebral cortex region. The aim of the present study was to investigate the influence between dopaminergic system changes, c-Fos expression, and ROS production with the highly aggressive behavior in Swiss Webster mice under social stress. The experimental protocol was approved by the Oswaldo Cruz Institute's Ethics Committee on Animal Use (license number 032/2019). Male Swiss Webster mice were grouped at 3 weeks of age. 4th, 6th and 8th weeks, tail suspension test, etogram and pattern of level aggression was performed. 10th week the animals were regrouped. 16th week, the animals were individually classified as harmonic (Har), subordinate (Sub), highly aggressive (AgR) and no regrouped (NR). The brain tissue was removed to evaluate the expression and quantification of D1 and D2 receptors, expression of c-Fos protein and production of ROS by Western Blot, light microscopy, DHE assay, respectively. Data were analyzed by the one-way analysis of variance (ANOVA) non-parametric test (PRISM software). The significance level was 5%, $p \leq 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$ or $p < 0.0001$. 1) Grouping phase presents 23% mice hyperactive, 27% hypoactive and 50% median behavior. 2) Only AgR mice presented a significantly higher number of attacks of 9.9 ± 6.9 number of attacks /30 min ($p \leq 0.05$), and only Sub individuals presented lesion of $3.0 \pm 0.9 \text{ cm}^2$ ($p \leq 0.05$), in regrouping phase. 3) AgR and AgD animals showed a significant percentage decrease of D1R positive cells of $7.3 \pm 6.7\%$ and $48.5 \pm 9.3\%$ ($p < 0.001$), respectively (Har: $61.4 \pm 9.7\%$, NR: $70.7 \pm 8.4\%$, $p < 0.001$). AgR animals showed significant decrease of D1R positive cells of $7.15 \pm 6.36 \text{ mm}^2$, $p < 0.001$ (AgD: 29.86 ± 5.76 , NR: 64.5 ± 9.25 , Har: $55.14 \pm 8.86 \text{ mm}^2$, $p < 0.001$). 4) No significant difference in D2R expression was detected in either category. 5) AgR animals showed a significant increase of c-Fos positive cells of $98.6 \pm 0.7\%$, $p < 0.01$ (NR: 80.3 ± 5.8 ; Har: 87.9 ± 2.5 ; Sub: 87.7 ± 8), NR animals showed significant increase of c-Fos negative cells of $19.7 \pm 5.8\%$, $p < 0.0001$ (Har: 12.1 ± 2.5 ; Sub: 12.3 ± 8.9 ; AgR: $1.4 \pm 0.7\%$). 6) AgR animals showed a significant increase in ROS production of 42.1 ± 4.8 MFI ($p < 0.05$) (Har: 32.9 ± 4.1 ; Sub: 29.2 ± 16.9 ; NR: 32.1 ± 6.1 MFI). The highly aggressive behavior of Swiss Webster mice could be related to changes in dopaminergic receptor expression, an exacerbated ROS production, and c-Fos overexpression due to social stress. Financial support: Fiocruz, CAPES.

56. NEUROBIOLOGY OF AGGRESSIVE BEHAVIOR INDUCED BY SOCIAL STRESS IN MODEL OF SPONTANEOUS AGGRESSION (MSA) OF SWISS WEBSTER MICE.

1Felippe, R.M., 1Barbosa, RS, 1Hoppe, L. Y. , 2Mendonça, A. P. M., 3Brito, C.F, 4Cortez, C.M., 2Oliveira, M. F. 1Araújo-Jorge, T.C., 3Oliveira, G.M,1Fragoso, V.M.S. 1 - Laboratório de Inovações em Terapias, Ensino e Bioprodutos, IOC/FIOCRUZ, Manguinhos/RJ, 2 - Laboratório de Bioquímica de Resposta ao Estresse - UFRJ/RJ 3 - Laboratório de Biologia Celular, IOC/FIOCRUZ, Manguinhos/RJ, 4 - Departamento de Matemática Aplicada, UERJ/RJ.

Aggression is defined as the act in which an individual intentionally injures or harms others of their own species. Death resulted from violence accounts for approximately 1.6 million cases/year. The aim of the present study was to investigate the possible mechanism involved in the neurobiology of the aggressive profile of adult male Swiss Webster mice. The Spontaneous Model of Aggression(SMA) developed by our team is based on the behavioral characteristics exhibited by each individual since weaning, at the grouping of animals during childhood, and at their reunification in adulthood, evaluating the emergence of aggression in groups of male mice of the Swiss Webster. At 16 wko, aggressive ethogram analysis was performed, and each individual was classified as harmonic(Har), subordinate(Sub) and aggressive(AgR). Plasma corticosterone levels were assayed with a double-antibody radioimmunoassay method specific using a commercial kit(MP Biomedicals, USA). We performed the concentration of neurotransmitters in brain regions for HPLC in different categories, and investigate whether the use of antipsychotics reduces the aggressive profile of MSA. We conducted a functional assessment of mitochondria in brain frontal cortex by respirometry analysis. Data were analyzed by the one-way analysis of variance(ANOVA) non- parametric test(PRISM software). The significance level was 5%, $p \leq 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$ ou $p < 0.0001$. The experimental protocol was approved by the Ethics Commission on Animal Use of the Oswaldo Cruz Institute(license number 011/2014 and 032/2019). We observed a significant increase in the number of attacks/30 min in AgR (22.0 ± 1.9) compared to all other groups (NR: 1.5 ± 1.0 , Har: 2.0 ± 1.0 and Sub: 0.8 ± 0.3) ($p \leq 0.05$). Lesion extension revealed that only Sub animais presented extensive lesions (3.0 ± 0.3 cm²) relative to other groups ($p \leq 0.05$). Before regrouping, the average value in the plasma levels of corticosterone was 43.5 ± 17.5 ng/mL. After regrouping, the Har group increased to 177.0 ± 40.4 ng/mL, the Sub group to 136.4 ± 51.2 ng/mL. However, AgR individuals did not show a proportional increase 72.8 ± 23.8 ng/m, with significant difference compared to Har ($p \leq 0.001$). AgR also displayed a significant increase in dopamine production, 85% higher than to other groups. Animals that were treated with haloperidol(AgR) presented only 6 attacks, whereas NR categories made 17 and Har made 14(No.of attacks/30 min). COX activity assessed by an independent method, confirmed the significant reduction in enzyme activity (~70% reduction) in AgR animals relative to NR group (Agg= 46.5 ± 9.8 vs. NR= 157.6 ± 41.1 nmol/min/mg). Our results showed that the AgR did not adequately adapt to the stress situation promoted by regrouping, we assume it is due to low corticosterone levels. The results described here indicate that social stress promoted by re-grouping strongly and selectively reduced COX activity in brain cortex in highly aggressive mice.

Financial support: Fiocruz, CAPES, FAPERJ.

57. EXPOSIÇÃO A NICOTINA DURANTE A LACTAÇÃO MODULA SINALIZAÇÃO DOPAMINÉRGICA EM CÓRTEX FRONTAL DE CAMUNDONGOS

Richard Souza Marques (1); Alex Christian Manhães (2); Regina Kubrusly (1);

(1) Laboratório de Neurofarmacologia. Programa de Pós-graduação em Neurociências Departamento de Fisiologia e Farmacologia, UFF, Niterói, RJ.

(2) Laboratório de Neurofisiologia, IBRAG, UERJ, RJ.

O fumo durante a gestação pode levar a alterações no desenvolvimento do sistema nervoso central, por isso, muitas mulheres se abstêm do tabagismo nesse período, retornando muitas vezes a este após o parto por escolha ou por recaída. A nicotina (NIC) é o principal componente psicoativo do cigarro, e tem como mecanismo de ação a ativação de receptores nicotínicos. Além disso, sabe-se que a NIC passa para o lactente através do leite materno. Contudo, pouco se conhece a respeito do efeito da NIC nos sistemas de sinalização dopaminérgicos do córtex frontal, durante o desenvolvimento do sistema nervoso central. O objetivo geral deste estudo foi avaliar os efeitos do tratamento com NIC durante a lactação, seguida de um período de abstinência, em camundongos neonatos, sobre as vias dopaminérgicas do córtex frontal. Fêmeas de camundongos suíços lactantes receberam tratamento com solução oral de 2% sacarina e 0,2mg/mL de nicotina, após o parto até o desmame com 21 dias pós-natal (P21). Foram feitos experimentos de captação de [3H]-Dopamina, dosagem dos níveis de AMPc, western blot para transportador de dopamina (DAT), e receptor de dopamina D1; além da dosagem dos níveis de dopamina, L-DOPA e DOPAC por HPLC. O tecido utilizado nos experimentos citados acima foi o córtex frontal nas idades de P22 e P30. Os resultados foram analisados por meio de teste t ou análise de variância (ANOVA) de uma ou duas vias seguido de pós-teste Bonferroni e expressos como média \pm erro padrão da média. A significância estatística foi alcançada quando $p < 0,05$. O projeto foi aprovado no comitê de ética em experimentação animal (CEUA/969/2017 - UFF). Foi realizado ensaio de captação de [3H]-Dopamina em P22 (ctrl: 78 ± 4 n=6; NIC: 118 ± 12 fmol/mg/hr; n=6) e P30 (ctrl: 85 ± 5 n=6; NIC: 97 ± 13). Em seguida, foi feito ensaio de AMPc em P22 (ctrl: 25 ± 2 ; NIC: 25 ± 2 ; n=6) e P30 (ctrl: 36 ± 2 ; NIC: 58 ± 3 ; n=6). Na dosagem dos níveis de L-DOPA, dopamina e DOPAC por HPLC, constatou-se que em P22, os níveis de DOPAC eram maiores no grupo tratado com NIC (173% do ctrl). E por fim, realizamos ensaio de western blot para DAT em P22 (146% do ctrl) e P30 (67% do ctrl) e receptor D1 em P22 (112% do ctrl) e P30 (55% do ctrl), todos com n = 2. Foi observado a exposição à NIC, durante o período da lactação, pode induzir alterações na sinalização dopaminérgica no córtex pré frontal, aumentando o tônus dopaminérgico nessa região.

Apoio Financeiro: FAPERJ, PROPPi-UFF, CAPES.

58. THE EFFECT OF CAFFEINE ON NMDAR ACTIVITY IN THE HIPPOCAMPUS OF ADOLESCENT SWISS MICE

Robertta Silva Martins¹, Diogo M. Rombo^{2,3}, Joana Gonçalves-Ribeiro^{2,3}, Carlos Meneses⁴, Vladimir Pedro Peralva Borges-Martins¹, Sandra H. Vaz^{2,3}, Regina Célia Cussa Kubrusly¹, Ana M. Sebastião^{2,3}, 1 - Laboratório de Neurofarmacologia, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Pós-Graduação em Neurociências, UFF. 2 - Instituto de Medicina Molecular, Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa, Portugal. 3 - Instituto de Farmacologia e Neurociências, Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa, Portugal. 4 - Instituto Superior de Engenharia de Lisboa; Área departamental de Engenharia de electrónica e telecomunicações e de computadores, Portugal.

Caffeine (CAFF) is a stimulant usually consumed by children and adolescents in a large scale around the world, since not being considered an abuse drug. This methylxanthine has many pharmacological mechanisms of action, such as non-selective antagonist of adenosine receptors (mostly A1 and A2A receptors subtypes). We evaluate the effect of acute CAFF treatment on NMDAR activity in slices of adolescent mice hippocampus and calcium levels in neuron culture. Methodology: Hippocampus of Balbc/ByJ mice aged between 31 and 45 postnatal days were dissected for patch clamp evaluating NMDAR and AMPAR activity and Ca²⁺ imaging in neuronal culture (E17C15) from Sprague Dawley rats. We found that CAFF (200µM) treatment facilitates AMPAR (Basal: 1,00±0,00; EPSC of NMDAR: 1,46±0,12; EPSC of AMPAR: 1,50±0,30 % of Peak Amp; n=4-8) and NMDAR-mediated currents on pyramidal CA1 neurons. DPCPX (A1R antagonist-50nM) was able to mimic CAFF effect (Basal: 1,00±0,00; DPCPX: 1,45±0,15 % of Peak Amp; n=4) and its preincubation prevented the CAFF-mediated effect (DPCPX+CAFF: 1,01±0,08 % of Peak Amp; n=5). CAFF increased NMDAR PFF component (Basal: 1,34±0,08; CAFF: 1,70±0,19 fEPSC S1/fEPSC S0; n=6), and this effect was not mimicked by DPCPX (Basal: 1,31±0,10; DPCPX: 1,20±0,04 fEPSC S1/fEPSC S0; n=4). Therefore, we assessed A2AR and observed that SCH58261 treatment (A2AR antagonist-50nM) had similar effect to CAFF (Basal: 1,42±0,08; SCH58261: 1,90±0,30 fEPSC S1/fEPSC S0; n=4). In furtherance, CAFF increased the frequency of Ca²⁺ transients in neuronal cell culture (Saline: 0,25±0,06; CAFF: 0,78±0,10 Events per 5 min; n=4-9), effect also mimicked by DPCPX (DPCPX: 0,89±0,19 Events per 5 min; n=3). Nonetheless, DPCPX preincubation shifts CAFF effect, promoting a decrease in the frequency of Ca²⁺ transients (DPCPX+CAFF: 0,16±0,04 Events per 5 min; n=3), mimicked by SCH58261 (SCH58261: 0,11±0,04 Events per 5 min; n=3), but with no effect in the presence of CAFF (SCH58261+CAFF: 0,45±0,22 Events per 5 min; n=3). Furthermore, NMDAR blockade by AP5 (50µM) prevented the CAFF-mediated increase on the frequencies of Ca²⁺ transients (AP5: 0,18±0,04; AP5+CAFF: 0,23±0,06 Events per 5 min; n=3). Our data suggest that both ARs might be modulating Ca²⁺ levels via NMDAR by different mechanisms, mainly A1R which increases amplitude of NMDAR-mediated currents and this NMDAR activity being responsible for the increase of Ca²⁺ levels in the cells exposed to CAFF.

Financial Support: FAPERJ, CAPES, PROPPI UFF.

59. CURSO PREPARATÓRIO PARA A OLIMPÍADA DE NEUROCIÊNCIAS DO RIO DE JANEIRO: O LÚDICO NO ENSINO DAS NEUROCIÊNCIAS

Rodrigo Colaço das Neves (Aluno de graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal Fluminense), Viviane Veloso Cardoso (Aluna de graduação em Biomedicina da Universidade Federal Fluminense) e Adriana da Cunha Faria Melibeu (Professora do magistério superior da Universidade Federal Fluminense)

A Olimpíada de Neurociências do Rio de Janeiro (ONRJ) é uma competição do conhecimento voltada para alunos de Ensino Médio. Por requerer uma demanda de conhecimentos acerca das neurociências que não é contemplada pelas bases curriculares atuais, verificou-se a necessidade de criar um meio através do qual esse conhecimento pudesse ser construído e assim foi criado o curso preparatório para a ONRJ. Com o planejamento do curso, foi visto a possibilidade de fugir dos métodos engessados ao utilizar a ludicidade no processo de ensino-aprendizagem, a fim tornar tal aprendizado mais efetivo e prazeroso. O objetivo deste trabalho foi analisar a efetividade dessa alternativa no ensino das neurociências. As aulas planejadas foram ministradas por professores da UFF e por alunos da pós-graduação. As atividades lúdicas desenvolvidas, no decorrer do curso, foram os mapas mentais, um Kahoot adaptado e práticas sensoriais. Além disso, um questionário foi passado aos alunos para que os mesmos avaliassem as metodologias utilizadas. Esse questionário foi analisado e resultados foram levantados. Cerca de 57% avaliaram as atividades como muito agradáveis, ao passo que 43% como agradáveis. Em relação à potencialidade de descontração, 86% dos alunos avaliaram com conceito máximo essa categoria. 71% disseram que o método utilizado ajudou na compreensão e assimilação dos conteúdos e 29% disseram que ajudou muito. Esses resultados corroboram com os comentários de alunos, que apontaram a necessidade de alternativas para a compreensão da complexidade das neurociências. A análise final do uso das estratégias lúdicas foi positiva e teve seu ápice com a conquista pelos alunos que frequentaram o curso preparatório, do primeiro e terceiro lugares na ONRJ.

60. GAMEIFICAÇÃO DO APRENDIZADO NO DESENVOLVIMENTO DE JOGO EDUCATIVO E COLABORATIVO SOBRE DROGAS DE ABUSO

Sarah Chagas de Almeida Silva, Giovanna Vicenta de Oliveira Braga, Luana da Silva Chagas, Rafaela Matos Coelho de Oliveira, Beatriz Sarmieiro Rodolpho, Thaís Magalhães Manhães, Helena de Souza Pereira, Priscilla Oliveira Silva Bomfim

NuPEDEN-Núcleo de Pesquisa, Ensino, Divulgação e Extensão em Neurociências/
Departamento de Neurobiologia-UFF/INCT-NIM/RJ

O uso e/ou abuso de drogas, sejam lícitas ou ilícitas, impactam fortemente a educação, à medida que reduzem o desempenho escolar e aumentam a taxa de evasão, influenciando também o desenvolvimento social. Nesse sentido, organizações como a Organização Mundial da Saúde (OMS), a United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization (Unesco) e a United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC) destacam a importância das políticas públicas que intervenham na escola o mais precocemente possível, de forma que não haja o combate, e sim a prevenção. Caso a criança e/ou adolescente já tenha sido exposto a algum tipo de substância de adição, o objetivo é trabalhar os efeitos secundários, tais como transmissão de doenças sexualmente transmissíveis, por exemplo. Segundo a Unesco é necessário que a abordagem sobre o tema aplique “métodos de ensino interativo realizados por educadores”. Dessa forma, nossa proposta foi desenvolver um material didático- pedagógico inovador a fim de trabalhar conceitos de neurociências a partir de uma linguagem acessível, de forma a inserir a ciência no cotidiano do público alvo, atuando preventiva e reflexivamente quanto ao uso e/ou abuso de drogas (lícitas ou ilícitas). O jogo de tabuleiro, objeto da presente invenção, compreende um tabuleiro com uma ilustração de encéfalo humano (ressaltando com cores diferentes os lobos cerebrais), 08 cartas de personagens (células/estruturas do SN), 22 cartas sobre drogas (depressoras, estimuladoras, perturbadoras e drogas de prescrição médica), 05 cartas extras (04 cartas “Neurobônus” e 01 carta “Overdose”), 07 pinos, 02 dados cúbicos, 01 ampulheta e 01 caixa para organização do jogo. Cada carta sobre as drogas contém 10 dicas sobre: (a) via de administração; (b) tempo de ação da droga para chegar ao cérebro; (c) meia vida; (d) efeitos no sistema nervoso central e periférico; (e) nome popular; e (f) curiosidades (dicas culturais que ligam música e filmes ao tema). Joga-se individualmente ou em equipes, e conta-se com a participação de um mediador. Com o material desenvolvido, pretende-se sensibilizar alunos, professores, bem como o público para a temática criando espaços de discussão voltados para este tema. Promovendo o diálogo e a popularização das Neurociências. Objetiva-se, também, que se repense as práticas de ensino-aprendizagem, utilizando novas abordagens metodológicas para a aquisição do conhecimento e ainda, aproximar os estudantes, professores e público em geral, da ciência, promovendo divulgação e compreensão científica e suas inovações.

Apoio financeiro: Proex-UFF/ Agir-UFF/ INCT-NIM.

61. INFLUÊNCIA DA MIELINIZAÇÃO NO POTENCIAL SINAPTOGÊNICO DOS ASTRÓCITOS DURANTE O DESENVOLVIMENTO DO SNC

Saulo Augusto Alves da Cruz; Sheila Espírito Santo Araújo

Universidade do Estado de Minas Gerais

A capacidade do sistema nervoso central (SNC) de estabelecer novas conexões regula o aprendizado, a formação de memórias e o comportamento. O desenvolvimento dessas conexões é controlado por pistas moleculares e interações celulares, com destaque para os mecanismos de sinalização mediados pelos astrócitos através da secreção de fatores sinaptogênicos. A literatura aponta que o decréscimo na taxa de sinaptogênese coincide com o pico de mielinização, devendo estar relacionada ao surgimento das proteínas inibidoras da mielina, como o Nogo-A. Contudo, ainda não há evidências da relação entre a mielinização e a capacidade sinaptogênica dos astrócitos. Assim, nosso objetivo foi investigar se o adiantamento do processo da mielinização seria capaz de modular a sinaptogênese induzida pelos astrócitos durante o desenvolvimento do SNC. Realizamos injeções de 100uL de veículo (DMSO) ou pranlucaste, uma droga promotora da mielinização por meio da inibição do receptor Gpr17, dentro da câmara de ar de ovos fertilizados de galinha da espécie *Gallus domesticus* do dia embrionário (E) 12 a 14, fase de intensa sinaptogênese e anterior a fase mielogênica. Em E15, os animais foram eutanasiados, seus encéfalos dissecados, fixados com paraformaldeído 4% e congelados com nitrogênio líquido. A via visual, que inclui o tecto óptico (TO), representa um bom modelo para estudo de conexões e por isso a utilizamos como alvo do nosso trabalho. Assim, obtivemos cortes de 10um por meio de um criostato, contendo o TO, além do hipotálamo, uma estrutura de mielinização mais precoce. Os cortes foram submetidos à imunohistoquímica para proteína básica de mielina (MBP) e, em seguida, imagens foram capturadas por microscopia de campo claro acoplado à câmera. A área e densidade integrada de marcação foram analisadas em 12 campos do TO de 4 animais pelo programa Image J. Observamos um aumento da área e densidade integrada de marcação para MBP no hipotálamo dos embriões tratados com pranlucaste (260 e 280 %, respectivamente) em relação ao grupo controle, revelando aceleração do processo de mielinização induzido pelo pranlucaste. Contudo, a imunomarcagem para MBP não foi observada no TO, região na qual objetivamos estudar as alterações sinaptogênicas. Como a mielinização obedece a uma ordem temporal diferente para cada região, acreditamos que a mielinização não ocorreu no TO devido ao fato de as injeções terem sido muito precoces. Assim, propusemos experimentos com uma nova janela temporal para tratamento com pranlucaste, entre E13 e E17, com eutanásia dos embriões em E18, com o objetivo de atingir a mielinização precoce do tecto óptico.

62. ALTERAÇÕES NO METABOLISMO DE LIPÍDIOS DO CEREBELO DE HAMSTERS DOURADOS ASSOCIADAS À INFECÇÃO POR LEISHMANIA BRAZILIENSIS

Soraia N. V. Cavalcanti¹; Silvia A. G. da Silva²; Georgia C. Atella¹.

¹ Laboratório de Bioquímica de Lipídios e Lipoproteínas, Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis, UFRJ - RJ-Brasil

² Laboratório de Imunofarmacologia Parasitária, DMIP, FCM, UERJ – RJ-Brasil

A leishmaniose é uma doença tropical negligenciada sendo uma das sete doenças mais importantes do mundo, endêmica em 98 países. Ela é causada por parasitas do gênero *Leishmania* spp. que possuem um ciclo de vida heterógeno, sendo o ser humano o hospedeiro definitivo, podendo este apresentar um amplo espectro de manifestações clínicas, incluindo acometimentos do sistema nervoso, com um resultado potencialmente fatal. Recentemente foi-se observado em modelo animal que a *Leishmania* spp é capaz de alcançar e persistir no cérebro desencadeando reação inflamatória aguda correlacionada com a carga parasitária em alvos periféricos, como, baço, fígado e medula óssea. Embora os lipídios sejam essenciais para o seu desenvolvimento e reprodução, a *Leishmania* spp. possui uma síntese de lipídios incompleta, sendo esses lipídios obtidos a partir de seus hospedeiros. Assim, este projeto visa analisar o metabolismo de lipídios do cérebro de hamsters infectados com *L. braziliensis* a fim de melhor compreender o envolvimento deste órgão no desenvolvimento da doença. Para isso, hamsters dourados (*Mesocricetus auratus*) com idades entre 6 e 8 semanas foram submetidos à infecção e após o período de 40 dias foram sacrificados (n=6), e juntamente com os animais controle (n=8), foram retirados os cérebros dos quais separamos o cerebelo para análise inicial (048/2017). Os cerebelos foram processados e submetidos à dosagem de proteínas, extração de lipídios e posterior análise por cromatografia de camada fina e por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. Como resultados parciais, podemos observar que houve modulação de lipídios nos cerebelos com padrão de modulação similar ao encontrado no baço desses animais, com a diminuição de fosfolipídios totais (C=2,442e+006 ± 249892; I=1,368e+006 ± 194974), ácidos graxos (C=2,691e+006 ± 302988; I=1,453e+006 ± 198771), aumento de colesterol éster (C=40752 ± 24935; I=592110 ± 127507) e uma tendência de diminuição do colesterol e diacilglicerol 1,2. Além disso, observamos uma tendência de aumento de alguns fosfolipídios analisados como o fosfatidilinositol (PI) e lisofosfatidilcolina (LPC). A LPC é um lipídio inflamatório que já foi descrito como capaz de estimular a quimiotaxia de macrófagos para locais de lesão. No nosso modelo, acreditamos que juntamente com o aparente aumento de PI, o aumento de LPC pode estar modificando a permeabilidade da barreira hematoencefálica, e iniciando um processo inflamatório capaz de recrutar macrófagos infectados com o parasito e assim poder estabelecer a infecção. Esses eventos podem estar relacionados com os sintomas clínicos associados ao acometimento do sistema nervoso central, como a meningite, paralisia e mudanças mentais apresentados pelos pacientes num quadro mais avançado da doença. Sendo assim, estas análises podem contribuir para o entendimento da interação parasito-hospedeiro no modelo de uma doença com evolução crônica e estudos neurológicos escassos, como a leishmaniose.

63. RELATIONSHIP BETWEEN THE CHOLINERGIC SYSTEM AND IL-2 IN NEONATAL RAT RETINAL CELLS MAINTAINED IN CULTURE

^{1,2} Tamiris Gago Colares; ^{1,2} Elizabeth Giestal de Araujo

1 - Programa de Pós-graduação em Neurociências. UFF, Niterói - Rio de Janeiro. 2 - Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia- Neuroimunomodulação.

Previous work from our group showed that treatment of rat retinal cell cultures with IL-2, for 48h, increased the uptake of [3H]choline. It was also demonstrated that acetylcholine released from T cells regulates IL-2 secretion (Mashimo et al., 2016). The aim of this study was to investigate the effect of IL-2 on the levels of cholinergic receptors and if the cholinergic activation induced by carbachol treatment could regulate the levels and expression of IL-2 in rat retinal cell cultures. Retinas from Lister Hooded rats were dissected in calcium and magnesium-free salt solution. After, was carried out the process of chemical dissociation with trypsin 0,1%. Following, retinas were mechanically dissociated through a glass Pasteur pipette, and the cells were plated to Petri dishes or in coverslips placed in 24-well plates previously coated with poly-L-ornithine (25µg/mL). The cultures were maintained in 199 culture medium (containing 5 % fetal bovine serum, glutamine and antibiotics) in the presence or not of carbachol (25 µM) or IL-2 (50U/mL) and incubated at 37°C in a humidified atmosphere of 5 % CO₂ and 95 % air for 45min, 24h and 48h. To investigate the levels of cholinergic receptors and IL-2 by western blot, after the incubation period the total proteins were extracted and assayed by the Bradford method. Statistical analysis was determined by Student's t-test. To evaluate the expression of IL-2 and its co-localization in retinal ganglions cells by immunocytochemistry, the culture medium was removed and the cells were fixed with paraformaldehyde (2,5%). The analysis of the immunofluorescence images captured in the Leica deconvolution microscope was based on qualitative criteria. Procedures using animals were approved by local committee on Ethics and Animal Use (CEUA/UFF, project nº 294). Our results demonstrate that treatment with IL-2, for 45min, leads to a decrease in M1 (CT=100%; IL-2=74%; EPM=2%), M2 (CT=100%; IL-2=64,49%; EPM=10,54%), M3 (CT=100%; IL-2=73,89%; EPM=5,29%) receptors levels and an increase in M4 receptor levels (CT=100%; IL-2=144,2%; EPM=9,58%) and M5 (CT=100%; IL-2=128,3%; EPM=5,78%). Analyzing the levels of $\alpha 7$ subunit we observed a decrease (CT=100%; IL-2=66,18%; EPM=7,04%). In the time period of 24h, we observed a reduction in M1 (CT=100%; IL-2=70%; EPM=4,04%), M3 (CT=100%; IL-2=59.02%; EPM=2,74%) and M5 (CT=100%; IL-2=64,15%; EPM=7,67%) receptors. However, M2 and M4 receptor levels did not change. The levels of the $\alpha 7$ subunit increased in 24h (CT=100%; IL-2=130,7; EPM=7,25%). In the time interval of 48h, we observed a decrease in M1 (CT=100%; IL-2=66,64%; EPM=4,73%), M2 (CT=100%; IL-2=59,01%; EPM=9,35%), M4 (CT=100%; IL-2=%75,63; EPM=7,24%) receptors levels and an increase in M5 (CT=100%; IL-2=125%; EPM=2,81%) receptors and $\alpha 7$ subunit levels (CT=100%; IL-2=122,6%; EPM=9,69%). M3 receptor levels were not altered. The treatment with carbachol, for 45min (CT=100%; IL-2=164,7%; EPM=7,12%) and 48h (CT=100%; IL-2=124,1%; EPM=5,50%) increases IL-2 levels. We also observed an increase in the intensity of labeling for IL-2 in cultures treated with carbachol, for 45 min. In conclusion, we may suggest that IL-2 modulates cholinergic receptors and that carbachol is able to regulate IL-2 levels with possible effects on the process of retinal tissue differentiation.

Apoio financeiro: CNPq, CAPES, INCT - NIM e PROPPI-UFF.

64. EFFECT OF PACAP-38 ON NUCLEOTIDE-MEDIATED GROWTH OF GLIAL CELLS IN SCRATCHED RETINAL CELL MONOLAYER CULTURES.

1Silva, T.M., 1Cosentino, P.C.de S.; 1Santos, L.R.D.; 1Domith, I.; 1Duarte-Silva, A.T.; 1Paes-de-Carvalho, R.; 1Ventura, A.L.M., 1Neurobiology Department, Fluminense Federal University, RJ.

Aims: While nucleotides induce the growth of glial cells in retinal cells cultures, adenosine-mediated cyclic AMP formation is able to inhibit glial growth in the neural crest. PACAP is a polypeptide that induces the accumulation of cAMP in the developing retina. Here, we investigated the effect of PACAP-38 on the growth and migration of glial cells in mechanically scratched retinal cultures.

Methods and results: Retinal cultures of 8-day-old chick embryos maintained for 7 days at culture (E8C7) were mechanically scratched and the growth of glial cells over the injured area was evaluated until E8C10. The growth of glial cells was estimated by the decrease in the area free of cells. Incubation of scratched cultures with the activator of adenylyl cyclase forskolin (10 μ M) or with 200 μ M of the permeable cAMP analog 8-CPT-cAMP blocked cell growth at the scratched area (control = $6.4 \pm 1.2 \text{ mm}^2 \times 10^{-2}$; 8-CPT-cAMP = $19.9 \pm 1.5 \text{ mm}^2 \times 10^{-2}$; forskolin = 14.9

$\pm 1.9 \text{ mm}^2 \times 10^{-2}$, n = 4). Similar effect was observed with the phosphodiesterase inhibitors RO20-1724 (500 μ M) or 100 μ M IBMX. Treatment of the cultures with dopamine D1 or adenosine A2a receptor agonists did not affect the growth of glia. In contrast, incubation of the cultures with PACAP-38 resulted in a dose-dependent inhibition of the glial growth (control = $4.9 \pm 0.9 \text{ mm}^2 \times 10^{-2}$; PACAP 10 nM = $13.2 \pm 0.6 \text{ mm}^2 \times 10^{-2}$; PACAP 50 nM = $16.2 \pm 0.4 \text{ mm}^2 \times 10^{-2}$; PACAP 100 nM = $16.2 \pm 0.3 \text{ mm}^2 \times 10^{-2}$, n = 3). Incubation with the PAC1 receptors antagonist PACAP 6-38 attenuated the inhibitory effect of PACAP-38 in the glia growth (control = $9 \pm 0.3 \text{ mm}^2 \times 10^{-2}$; PACAP-38 = $16,1$

$\pm 0.3 \text{ mm}^2 \times 10^{-2}$; PACAP-38 + PACAP 6-38 = $11.3 \pm 0,5 \text{ mm}^2 \times 10^{-2}$, n=3). However, the proliferation of glial progenitor induced by 100 μ M ADP was not inhibited by the treatment with 50 nM PACAP-38 (in cpm/culture: control = 1409 ± 104.3 ; ADP = 5529 ± 862.1 ; PACAP-38 = 1477 ± 252.6 ; ADP + PACAP-38 = 5037 ± 540.9), suggesting that PACAP-38 is not involved with the proliferation of glial progenitors in culture. Live-cell cAMP imaging experiments with the cAMP biosensor Flamingo2 showed that both forskolin and PACAP-38 are able to increase in cAMP levels in glial cells at the border of the scratch. Moreover, treatment of dissociated glial cells with 10 μ M forskolin and 50 nM PACAP-38 increased their attachment to fibronectin-coated dishes, the effect of PACAP-38 being attenuated by the PAC1 receptor antagonist PACAP 6-38 (number of cells / 10 fields: control = 75.2 ± 10.9 ; forskolin = 153.5 ± 5.2 ; PACAP-38 = 120 ± 9.9 ; PACAP-38 + PACAP 6-38 = 92.3 ± 9.7 , n = 2).

Conclusion: The results suggest that PACAP-38 through the activation of PAC1 receptors and formation of cAMP increases the adhesion of glial cells and inhibits their growth in scratched retinal cell cultures.

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

65. M5 MUSCARINIC RECEPTOR ACTIVATION REGULATES CELL PROLIFERATION IN RETINAL CELL CULTURES OF NEONATAL RATS. .

Thaylini Querino dos Santos Conceição¹, Luis Eduardo Gomes Braga¹, Elizabeth Giestal de Araujo^{1, 2}, Aline Araujo dos Santos,^{1, 3} ¹Postgraduate Program in Neuroscience, UFF, Niterói, RJ. ²Department of Neurobiology, Institute of Biology, UFF, Niterói, RJ ³ Department of Physiology and Pharmacology, Biomedical Institute, UFF, Niterói, RJ

Previous results from our group have shown that phorbol myristate acetate (PMA), a protein kinase C (PKC) activator, stimulates cholinergic differentiation, including modulation of M1 and M3 muscarinic receptor levels, in retinal cells of neonatal rats maintained in culture for 48h. Regarding the M5 receptors (M5R), their main function described in the central nervous system is related to the control of dopamine release in the midbrain, and their actions on retina are not known yet. The aim of this study was to analyze whether PMA treatment also modulates M5R levels in retinal cell cultures and to evaluate the effect of M5 receptor activation using VUO238429, a positive allosteric agonist, on proliferation and viability of these cells kept in culture. Retinal cell cultures were obtained from Lister-Hooded rats on postnatal day 2 (P2). Retinas were plated in 35mm Petri dishes or 96-well plates at a density of 105 cells / cm². Control cultures (maintained in medium 199) and treated with PMA (50ng / mL) and / or Vu0238429 (at different concentrations) were maintained at 37°C in 5% CO₂ and 95% air for 45min, 24h or 48h. Retinal cell samples were obtained and M5R levels were determined by the Western Blot technique. Cell proliferation was assessed by the [³H] -thymidine incorporation technique and cell viability by the MTT technique. The project was approved by the local Ethics Committee in Animal Use (CEUA n° 642/15). The values shown represent the mean ± standard error and are presented as a percentage of control. Statistical analysis was obtained by analysis of variance (one-way ANOVA). Data were considered significant when p <0.05. Treatment with PMA 50ng / ml increased intracellular M5R levels by 45 min (CT 100%, PMA 134.6 ± 4.71%, n = 3), 24 hours (CT 100%, PMA 165.1 ± 14.91%, n = 3) and 48 hours (CT 100%, PMA 174.2 ± 9.93%, n=3). Treatment with 0.5uM Vu0238429 for 48h decreased cell proliferation (CT 100%, Vu 0.5uM 64.93 ± 9.10%, n = 9). No decrease in cell viability was observed after 48h treatment with Vu0238429 at different concentrations (CT 100% ,Vu 0.25uM 136.92 ± 14.19%, Vu 0.5uM 119.71 ± 14.04%, Vu, 1.0uM 100.23±7.81%, Vu 1.5uM 112.31 ±10.68%, n = 4). The results suggest that M5R activation during retinal differentiation may be important in controlling cell proliferation and that PKC pathway regulates the levels of this receptor in the retinal cell cultures rats.

Financial support: CAPES, FAPERJ, PROPPI-UFF, INCT-NIM.

66. INFECÇÃO CONGÊNITA POR TOXOPLASMA GONDII ALTERA O PERFIL DA POPULAÇÃO CELULAR RETINIANO DE CAMUNDONGOS EM P0

Viviane Souza Campos (UFF), Karin Calaza (UFF), Daniel Adesse (FIOCRUZ)

A toxoplasmose é uma zoonose de grande interesse no âmbito de saúde pública que atinge um terço da população mundial e tem como agente etiológico o protozoário *Toxoplasma gondii*. Dentre a população infectada, destacam-se dois grupos com maior importância médica: indivíduos imunocomprometidos e os congenitamente infectados, nos quais ocorrem as manifestações mais severas da doença. A infecção congênita, dependendo do período gestacional em que ocorre pode acarretar danos severos ao feto, tais como aborto, calcificação craniana, hidrocefalia e retinocoroidite. A patogênese da toxoplasmose ocular (TO) adquirida é amplamente estudada e descrita em literatura, sendo a retinocoroidite apontada como principal manifestação. Apesar de alguns estudos apontarem destruição da organização das camadas da retina e depleção de fotorreceptores, ainda é vago como o desenvolvimento da retina é afetado após a transmissão vertical, o que limita o entendimento da TO congênita. Com isso, este trabalho tem como objetivo investigar o impacto da infecção congênita por *T. gondii* no desenvolvimento da retina de camundongos. Para atingir tal objetivo, usamos como modelo camundongos C57bl6. As fêmeas grávidas foram separadas em grupos, controle e infectadas. As fêmeas controle foram inoculadas com solução veículo e as infectadas com dois cistos de *T. gondii* da cepa ME49, ambas por via oral no décimo dia de gestação. Analisamos inicialmente a morfometria dos animais no dia 0 pós-natal, no qual observamos que animais da prole infectada são menores e mais leves que os animais da prole controle. Indicando desta forma, que o desenvolvimento embrionário foi afetado. Avaliamos também a população de células da retina presentes em P0 através de imunohistoquímica para TUJ1 e calbindina. Os resultados sugerem uma diminuição de células TUJ1-positivas e aumento das células calbindina-positivas, marcador de células horizontais e algumas amácrinas na retina da prole infectada em comparação à controle. Este resultado pode indicar uma provável antecipação da saída do ciclo celular alterando o padrão de diferenciação do tecido.

67. CAFFEINE REGULATION OF GABAERGIC TRANSPORT VIA ADENOSINE RECEPTOR BLOCKADE AND CAMP SIGNALING IN THE AVIAN RETINA.

V. P. P. Borges-Martins¹, D. D. P. Ferreira³, A. C. Souto¹, J. G. Neto¹, D. Pereira-Figueiredo², K. C. Calaza¹, K. J. Oliveira², A. C. Manhaes⁴, R. A. M. Reis³, R. C. C. Kubrusly^{1,2} 1 – Programa de Pós-graduação em Neurociências, Univ. Federal Fluminense, Niterói, Brazil 2 - Dept. de Fisiologia e Farmacologia; 3 - Univ. Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil; 4 - Univ. do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.

Caf (Caf) is the most consumed psychostimulant drug in the world, affecting several behavioral, cognitive and physiological functions in the CNS. Pharmacologically, Caf acts as a non-selective antagonist of adenosine A1 and A2A receptors (A1R and A2AR), which are responsible for a plethora of actions during development and are widely expressed in retina layers. The aim of the present study was to investigate if a single injection of Caf in ovo at the E11 stage is able to modify GABA transport in the avian retina at E15. White Leghorn chicken embryos aged 11 days (E11) were given a single injection of Caf 100 μ M in the air chamber and left until E15. The animals were sacrificed and the retina dissected for neurochemicals assays of [3H]- GABA uptake and release, Western Blotting, cAMP assay, immunohistochemistry, and qPCR. One-way or two-way ANOVA followed by Bonferroni post hoc was performed for results with 3 or more groups and for pairwise comparisons, Student's t-test was used. The results were expressed as mean \pm SEM and statistical significance was reached when $p < 0.05$. CEUA #IBCCF035. Our results showed that Caf exposure modified [3H]-GABA transportation, GABA uptake decreased (C=335.3 \pm 28.2; n=7; w/o Na⁺ =26.7 \pm 2.8; n=3; 4°C=20 \pm 6.1;n=3; Caf=195.9 \pm 19.9;NO-711=53.7 \pm 3.7;n=3; Caf+NO- 711=84.3 \pm 12.5;n=3) while GABA release increased (C:Control=1.80 \pm 0.14;Caf=2.97 \pm 0.27;n=8; NO- 711: Control = 0.77 \pm 0.17;Caf=0.65 \pm 0.15; n=4) and both were dependent on GAT-1. Additionally, GAT-1 ontogenesis was analyzed and was present evenly throughout E11-E15 (E11=0.073 \pm 0.004; E12=0.075 \pm 0.013; E13=0.071 \pm 0.004; E14=0.054 \pm 0.002; E15=0.091 \pm 0.003; n=4-3), nonetheless GAT-1 protein density (Control=1.00 \pm 0.14;n=8;Caf=1.53 \pm 0.12;n=7) increased after the treatment with Caf. Caf also promoted an increase of GABA⁺ amacrine cells (Control=1.00 \pm 0.12;Caf=1.28 \pm 0;n=3) and overall GABA in the IPL layer (Control=1.00 \pm 0.11;Caf=1.44 \pm 0;n=3). Caf was responsible for an increase in A1R protein content (Control=1.00 \pm 0.16;n=4; Caf=2.05 \pm 0.29;n=3) without affecting its mRNA (Control=1.00 \pm 0.02;Caf=1.01 \pm 0.06;n=5). The decrease in GABA uptake promoted by Caf was reverted by CHA (C:Basal=335.3 \pm 28.2;n=7;CHA 100nM=296.0 \pm 19.0;n=7;CGS 21680 10nM= 278.7 \pm 40.4;n=3; Caf: Caf=195.9 \pm 19.9; n=11; CHA 100 nM=308.1 \pm 36.0; n=9; CGS 21680 10 nM=195.0 \pm 13.4 [3H]-GABA uptake (fmol/mg/hour); n=5) and H-89 (C: Control=335.3 \pm 28.2;n=7;Caf=195.9 \pm 19.9;n=11;H-89: Control= 438.3 \pm 5.5; Caf = 446.9 \pm 110.4 ;n=3), which were administered for 15 min before the assay. GAT-1 is expressed evenly throughout the treatment period and is responsible for most of GABA transport in the retina, which is Na⁺- and temperature-dependent. Caf reduced GABA uptake while increasing GABA release, GAT-1, and A1R protein density and overall GABA levels in amacrine and IPL cell layer after 96h. The decrease in GABA uptake was reverted by a PKA inhibitor or A1R agonists.

Acknowledgment: CAPES and Proppi-UFF.

68. EVALUATION OF CAFFEINE EFFECTS ON BEHAVIOR AND MICROGLIA IN ANIMAL MODEL OF RATS SELECTED BY FREEZING

Nazareth, Y.O.1; Latgé-Tovar, S.1; Goulart, V. G.2; Maisonnette, S3.; Rosseti, F3.; Pandolfo, P1,2.; Landeira-Fernandez, J3.; Campello-Costa, P1,2.

1- Neurobiology Department, Institute of Biology, UFF, RJ; 2 - Postgraduate Program in Neuroscience, Institute of Biology, UFF, RJ; 3- Postgraduate Program of the Department of Psychology, PUC, RJ.

Anxiety is the emotional dysfunction that affects the quality of human life. It is characterized by the feeling of fear against danger and its pathological state is typified by the deregulation of stress. Several mechanisms are involved in the regulation of anxiety, including microglial activation. Caffeine is the most consumed psychoactive substance in the world and its effects are mostly due to its antagonism at A1 and A2a adenosine receptors, present in both neurons and glial cells. The aim of this study was to investigate the effect of a moderate dose of caffeine in different behavioral responses as well as in glial cells in rats with high (CAC) and low (CBC) freezing rates relative to control animals of the same species. Male Wistar rats with low (CLF), high (CHF) freezing and control (CTL) were submitted to caffeine treatment (0,3g/L) for two weeks. After a period of 3 days, we evaluated the anxiety-like behavior (elevated plus maze – EPM and open field), declarative memory (object recognition) as well as the expression of Iba-1 and GFAP proteins in order to examine microglia and astrocytes in the different groups. The statistical analysis was performed using one-way ANOVA with Tukey's post test, and differences were considered significant when $P < 0.05$. The present study was approved by the UFF ethics committee (803/2016). Our results indicate that the CHF group presented an anxious-type phenotype in the EPM and open field tests compared to the control group. No statistical differences were found after caffeine treatment neither in EPM ($p = 0.9262$) nor in the open field test ($p = 0.7012$) between groups ($n = 3$ for each group). In the object recognition test, caffeine treatment seems to induce a slight increase in memory performance but this effect was not significantly different between groups ($p = 0.5321$). Previous analysis for Iba-1 showed no difference. Concerning previous analyzes for GFAP protein, the CHF and CLF groups showed a qualitative change in GFAP expression after caffeine consumption. Conclusion: The data indicate that the dose of caffeine used did not lead to anxiogenic behavior but could lead to a cognitive improvement in all groups. The glial reaction in animals with altered anxiety traits possibly reflect a functional alteration of astrocytes in anxious group treated with caffeine.

Financial Support: FAPERJ, CNPq, UFF-PIBIC.