4 SAÚDE

4.1 Bioquímica

Modalidade: Resumo de Pesquisa

4.1 2642

AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS E NEURODEGENERATIVOS DE UM PACIENTE GALACTOSÊMICO

Bruna Klippel Ferreira[1]*; Tássia Tonon[2]; Silvio Ávila Junior[1]; Gustavo da Costa Ferreira[3]; Emílio Luiz Streck[4]; Ida Vanessa Doederlein Schwartz[2]; Patrícia Fernanda Schuck[1]

[1]Laboratório de Erros Inatos do Metabolismo, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Unidade Acadêmica de Ciências da Saúde, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, Brasil.
[2]Laboratório de Pesquisa Básica e Investigações Avançadas em Neurociências, Programa de Pós Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.
[3]Laboratório de Bioenergética, Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.
[4]Laboratório de Bioenergética, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Unidade Acadêmica de Ciências da Saúde, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, SC, Brasil.
***brunaklippelf@gmail.com**

Introdução:

A galactosemia é um distúrbio do metabolismo de carboidratos que ocasiona o acúmulo de galactose e seus metabólitos em tecidos e fluidos de pacientes. Os sintomas iniciam logo após a ingestão deste monossacarídeo e incluem episódios de vômito e diarreia que pode evoluir para sepse, coma e morte. Mesmo com a restrição dietética, em longo prazo a síntese endógena de galactose contribui para distúrbios neurológicos, hepáticos e do sistema reprodutor (NOVELLI, REICHARDT, 2000; HOLTON; WALTER; TYFIELD, 2001; FRIDOVICH-KEIL, 2006, 2011) Todavia, os mecanismos fisiopatológicos deste erro inato do metabolismo ainda permanecem obscuros. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar os níveis de marcadores inflamatórios e neurodegenerativos em plasma de um paciente galactosêmico.

Metodologia:

Para este estudo foi utilizado plasma de um paciente galactosêmico para a dosagem dos níveis de fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF), interferon-γ (IFNγ), interleucina-10 (IL-10), interleucina-12 (IL12-(p70)), interleucina-13 (IL-13), interleucina-1β (IL-1β), interleucina-2 (IL-2), interleucina-4 (IL-4), interleucina-5 (IL-5), interleucina-6 (IL-6), interleucina-7 (IL-7), interleucina-8 (IL-8), fator de necrose tumoral-α (TNFα), catepsina D (catD), molécula de adesão intercelular solúvel (sICAM), mieloperoxidase (MPO), fator de crescimento derivado das plaquetas AA, AB/BB (PDGF-AA; PDGF AB/BB), C-C motifligand 5 (CCL5), molécula de adesão celular neural (NCAM), molécula solúvel de adesão celular vascular-1 (sVCAM-1), inibidor do ativador do plasminogênio -1 total (PAI-1) e fator neuronal derivado do cérebro (BDNF). Também houve a realização posterior de um hemograma. O grupo controle foi constituído de amostras de plasma de 14 indivíduos.

Resultados e Discussão:

Observou-se um aumento nos níveis plasmáticos de IFNγ, IL12-(p70), IL-1β, IL-2, IL-5, IL-7 e TNFα no paciente galactosêmico, o que sugere a instauração de um processo inflamatório. Em contrapartida, houve um aumento de níveis plasmáticos de IL-4, IL-10 e IL-13, citocinas anti-inflamatórias, demonstrando a contra regulação deste processo e possivelmente agindo como mecanismo compensatório. Além disso,

houve o aumento de catD, o que pode estar associado com a resolução da inflamação, através da apoptose de neutrófilos (CONUS, 2008). Estudos prévios demonstraram que a catepsina D e distúrbios lisossomais, podem estar relacionados com doenças neurodegenerativas (STEINFELD et al., 2006; ZHANG; SHENG; QIN, 2009).Outro marcador que mostrou-se aumentado foi o NCAM. Este biomarcador está envolvido em diversas funções biológicas, dentre elas, plasticidade sináptica, memória e aprendizagem, desenvolvimento e regeneração do sistema nervoso. Porém, acredita-se que sua forma solúvel esteja relacionada com vias catabólicas associadas com a catD (MASSARO, 2010).

Conclusão:

Estes resultados, tomados em conjunto com estudos anteriores, em que a administração de galactose em animais induziu estresse oxidativo e morte celular (STROTHER et al., 2001; JUMBO-LUCIONI, 2012), levam a crer no envolvimento da inflamação na fisiopatologia dos danos teciduais causados pela galactosemia.

Referências:

Conus S, Perozzo R, Reinheckel T, Peters C, Scapozza L, Yousefi S, Simon HU. Caspase-8 is activated by cathepsin D initiating neutrophil apoptosis during the resolution of inflammation. **J Exp Med** 2008; 205(3): 685-698.Fridovich-Keil JL. Galactosemia: The Good, the Bad, and the Unknown. **Journal of Cellular Physiology** 2006; 209. 701–705. Fridovich-Keil JL. Ovarian function in girls and women with GALT-deficiency galactosemia. **J Inherit Metab** Dis 2011; 34:357–366.Holton JB, Walter JH, Tyfield LA. Galactosemia. In: Scriver, C. R.; Beaudet, A. L.; Sly, W. S.; Valle, D. (eds.):**The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease**. Vol. II. New York: McGraw-Hill (7th ed.): 2001. Pp. 1553-1587.Jumbo-Lucioni PP, Hopson ML, Hang D, Liang Y, Jones DP, Fridovich-Keil JL. Oxidative stress contributes to outcome severity in a Drosophila melanogaster model of classic galactosemia. **Dis Model Mech** 2013; 6(1): 84-94. Massaro AR. The role of NCAM in remyelination.**Neurol Sci**. 2002 Mar;22(6):429-35.Novelli G, Reichardt JK. Molecular Basis of Disorders of Human Galactose Metabolism: Past, Present, and Future. **Mol Genet Metab** 2000; 71, 62– 65. Steinfeld R, Reinhardt K, Schreiber K, Hillebrand M, Kraetzner R, Bruck W, Saftig P, Gartner J. Cathepsin D deficiency is associated with a human neurodegenerative disorder. **Am J Hum Genet** 2006; 78(6): 988-998.Strother RM, Thomas TG, Otsyula M, Sanders RA, Watkins JB. Characterization of oxidative stress in various tissues of diabetic and galactose-fed rats. **Int J Exp Diabetes Res** 2001; 2(3): 211-216.Zhang L, Sheng R, Qin Z. The lysosome and neurodegenerative diseases. **ActaBiochimBiophys Sin (Shanghai)** 2009;41(6): 437-445.

Fonte financiadora:

CNPq, UNESC

Modalidade: Resumo de Pesquisa

4.1 2154

AVALIAÇÃO DA VIA LIPOLÍTICA DE CAMUNDONGOS SWISS EXPOSTOS À FUMAÇA DE CIGARRO

Farias, H.R; Paganini, L.B; Machado, A.G.; Comin, V.H.; Luciano, T.F; Marques, S.O.; Pieri, B.L.S.; Souza, D.R; De Souza, C.T.

Laboratório de Bioquímica e Fisiologia do Exercício/Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde /Universidade do Extremo Sul Catarinense; Criciúma, SC, Brasil

Introdução:

A galactosemia é um distúrbio do metabolismo de carboidratos que ocasiona o acúmulo de galactose e seus metabólitos em tecidos e fluidos de pacientes. Os sintomas iniciam logo após a ingestão deste monossacarídeo e incluem episódios de vômito e diarreia que pode evoluir para sepse, coma e morte. Mesmo com a restrição dietética, em longo prazo a síntese endógena de galactose contribui para distúrbios neurológicos, hepáticos e do sistema reprodutor (NOVELLI, REICHARDT, 2000; HOLTON; WALTER; TYFIELD, 2001; FRIDOVICH-KEIL, 2006, 2011) Todavia, os mecanismos fisiopatológicos deste erro inato do metabolismo ainda permanecem obscuros. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar os níveis de marcadores inflamatórios e neurodegenerativos em plasma de um paciente galactosêmico.

Metodologia:

Camundongos Swiss foram expostos a quatro cigarros comerciais com filtro (alcatrão 10 mg, 0,8 mg de nicotina e monóxido de carbono 10mg) por sessão, três sessões/dia, durante 0, 7, 15, 30, 45 e 60 dias (n = 10). Vinte e quatro horas após o ultimo protocolo de exposição à fumaça de cigarro, os animais foram decapitados e o tecido adiposo foi extraído para análises de índice de adiposidade (% / pc) e Western blot. Como o grupo 30 dias mostrou uma redução significativa do índice de adiposidade, quando em comparação aos outros grupos e além disso, AMPK, ATGL, pHSL e CGI-58 aumentaram, enquanto que os níveis de perilipina diminuiram o estudo foi repetido com os grupos0, 30 dias, e 30 NAC (20 mg/kg/dia).

Resultados e Discussão:

A exposição à fumaça de cigarro reduziuem 61% o índice de adiposidade, em relação ao grupo controle. No entanto, no grupo 30 NAC houve aumento de 47% no índice de adiposidade,quando comparado com o grupo 30 dias. Os animais do grupo 30 dias apresentaram níveis elevados de pAMPK, ATGL, pHSL e CGI-58. Por outro lado, a suplementação com NAC inverteu esta situação. Sugerindo que a exposição à fumaça de cigarro aumenta as espécies reativas de oxigênio, levando ao aumento da lipólise.

Conclusão:

A fumaça de cigarro pode ter efeitos diretos sobre o tecido adiposo e isto parece ser devido ao aumento das espécies reativas de oxigênio.

Referências:

Fonte financiadora:

Modalidade: Resumo de Pesquisa

4.1 2072

BIOTECNOLOGIA PEPTÍDICA APLICADA NA PRODUÇÃO DE UMA NOVA GERAÇÃO DE ANTÍGENOS PARA O TRATAMENTO DE ACIDENTES COM O ESCORPIÃO *TITYUS SERRULATUS*

Luiza Macarini Bosa[1], Mírian Ívens Fagundes[1], Angelino Domingos[1], Kariny Silveira[1], Márcia Pereira, Ricardo Andrez Machado de Ávila[1]

1- Laboratório de Biologia Celular e Molecular – LABIM, Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC

Introdução:

Acidentes causados por escorpiões são considerados pela OMS um problema de saúde negligenciada, com mais de um milhão de casos/ano. O tratamento recomendado pelo Ministério da Saúde nos casos de escorpionismoé a imunoterapia com antiveneno específico e suporte aos sintomas observados, porém este implica em importantes questões bioéticas a respeito da produção dos antivenenos e em diversos efeitos colaterais. Por isso, este projeto traz como objetivo principal o estudo por bioinformática das neurotoxinas presentes no veneno do escorpião *Tityusserrulatus* (Ts) para desenvolvimento de uma nova geração de antídotos para que possa substituir o tratamento atual.

Metodologia:

Para obtenção das estruturas terciárias dasneurotoxinas estudadas neste projeto e que não apresentavam a estrutura conhecida, foi realizado a modelagem molecular de proteína por homologia através do programa *SwissModel* e utilizando como molde as proteínas com maior identidade obtidas no alinhamento de sequências pelo programa *BLAST/p*. Para cada neurotoxina e com auxílio dos programas *Sting Millennium* e *SwissPDBViewer*, um peptídeo com funcionalidade de epítopoconformacional foi proposto, utilizando para isso, a combinação dos aminoácidos selecionados e seus vizinhos espaciais e respeitando um raio de 10Å. Estes peptídeos podem ser sintetizados através da metodologia de síntese química de peptídeos em fase sólida para serem utilizados como imunógenos.

Resultados e Discussão:

Este trabalho gerou a estrutura terciária de oito neurotoxinas do veneno de Ts, proteínas responsáveis pelo efeito tóxico do veneno e que atuam em canais de sódio. Também é fruto do trabalho a predição conformacional de epítopos para essas neurotoxinas, através de uma nova metodologia inovadora produzida pelo nosso grupo. Estes peptídeos apresentam um grande potencial imunógeno podendo vir a substituir a metodologia atual para produção do antiveneno. Por serem moléculas menores, esses peptídeos não apresentam toxidades, no entanto, são moléculas capazes de gerar anticorpos específicos contra o veneno escorpiônico e desta forma, substituir a utilização do veneno na imunização de cavalos produtores do antiveneno. Ademais, por serem peptídeos com caráter de epítopos, os anticorpos produzidos nos cavalos seriam mais específicos e mais puros do que os produzidos a partir do veneno inteiro.

Conclusão:

Os resultados obtidosapresentam um conjunto de moléculas peptídicas promissoras na produção de antivenenos para o tratamento de acidentes com escorpiões. Essa nova molécula poderá diminuir os custos e as implicâncias éticas no uso de animais envolvidos em sua produção e gerando novos produtos biotecnológicos.

Modalidade: Resumo de Pesquisa

4.1 2023

MELHORA DA RESISTÊNCIA A INSULINA E DIMINUIÇÃO DA INFLAMAÇÃO EM MÚSCULO CARDÍACO DE RATOS OBESOS TRATADOS COM RESVERATROL

Paganini, L.B; Machado, A.G.; Farias, H.R; Comin, V.H.; Luciano, T.F; Marques, S.O.; Pieri, B.L.S.; Souza, D.R; De Souza, C.T.

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Laboratório de Fisiologia e Bioquímica do Exercício, Unidade Acadêmica de Ciências da Saúde, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, Brasil.

Introdução:

Resveratrol é uma fitoalexina encontrada em plantas, e em produtos alimentares como amendoim, amora e uvas. Foi demonstrado que o resveratrol possui efeitos na proteção cardiovascular, diminui fatores inflamatórios e melhora a homeostasia da glicose. Os efeitos da suplementação de resveratrol foram analisados em ratos obesos induzidos por dieta hiperlipídica; os autores relataram melhora no perfil na homeostase da glicose e na sensibilidade corporal total. No entanto, a via pró-inflamatória não foi avaliada, nem o tecido miocárdio em específico. Objetivo: Avaliar a ação do resveratrol na via da insulina e inflamação em miocárdio de ratos obesos induzidos por dieta hiperlipídica.

Metodologia:

O trabalho caracteriza-se como do tipo experimental. Ratos Wistar foram divididos em grupos controle que receberam dieta padrão para roedores, grupo obeso que recebeu dieta hiperlipídica e grupo obeso suplementado com resveratrol por oito semanas. Realizou-se teste de tolerância à insulina, mensuração do peso corporal e tecido adiposo epididimal. As análises moleculares em miocárdio foram realizadas pela técnica de Western blot.

Resultados e Discussão:

A suplementação com resveratrol aumentou a constante de decaimento da glicose, e aumentou a fosforilação de moléculas envolvidas na sinalização da insulina, como o receptor de insulina, substrato do receptor de insulina 1 e proteína quinase B/Akt. O resveratrol reduziu a expressão do fator de necrose tumoral alfa, quinase indutora do kappa B e fator nuclear kappa B. A melhora na sensibilidade à insulina e no quadro inflamatório ocorreu independente da perda de peso corporal e de gordura epididimal.

Conclusão:

Os dados sugerem que o tratamento com resveratrol aumenta a sensibilidade corporal total à insulina e a sinalização intracelular desse hormônio no miocárdio de ratos obesos, por reduzir citocinas e moléculas pró-inflamatórias.

Modalidade: Resumo de Pesquisa

4.1 1891

ESTUDO DA ATIVIDADE DA COLINA ACETILTRANSFERASE EM TECIDO CEREBRAL DE ZEBRAFISH

Helena Cristina Zuehl Dal Toé1, Amanda Floriano Ghisi1, Karine Medeiros Vieira1, Samira Leila Baldin1, Fabio Klamt[2], Liana Marengo de Medeiros[2], Eduardo Pacheco Rico.

[1]Laboratório de Sinalização Neural e Psicofarmacologia. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC Av. Universitária, 1105, Bairro Universitário, 88806-000 Criciúma, SC, Brasil.

[2] Departamento de Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGSInstituto de Ciências Básicas da SaúdeDepartamento de BioquímicaRua Ramiro Barcelos, 2600 – anexoPorto Alegre, RS, Brasil.

Introdução:

Em neurônios colinérgicos, a acetilcolina (ACh) é sintetizada pela enzima Colina Acetiltransferase (ChAT) (EC 2.3.1.195). Após liberada na fenda sináptica a ACh é rapidamente degradada pela Acetilcolinesterase (AChE) (E.C 3.1.1.7) em acetato e colina. A ChAT é uma enzima restrita a estruturas pré-sinápticas, sendo assim, o marcador mais adequado para identificação de neurônios colinérgicos nos sistemas nervoso central (SNC) e periférico. A identificação de neurônios colinérgicos no SNC do zebrafish tem sido previamente descrito através do uso de anticorpos específicos contra ChAT.Entretanto, ainda não foi estudada a função catalítica desta enzima em cérebro desta espécie. Portanto o objetivo deste estudo é a avaliação da atividade ChAT em cérebro de zebrafish.

Metodologia:

A determinação da atividade enzimática da ChAT foi realizada conforme o método de Chao&Wolfgram (1971) com algumas modificações. Amostras de homogeneizado cerebral foram incubadas com o tampão de reação(PBS pH 7,2; acetilcoenzimaA 6,2 mM; cloreto de colina 1 M, sulfato de neostigmina0,76 mM; NaCl 3 M; EDTA 1,1 mM). A essa mistura foi adicionado 1 mM de 4,4'-ditiodipiridina (4-PDS) e a absorbância foi lida por até 90 minutos a 324 nm. Atividade foi medida pela formação do conjugado de CoenzimaA com 4-TP.

Resultados e Discussão:

Os experimentos permitiram observar a atividade da ChAT de forma colorimétrica em cérebro de zebrafish. Durante o tempo escolhido de 90 minutos foi possível verificar o crescimento linear da formação de produto ao longo do tempo, sendo escolhido 20 minutos de incubação como condição ótima. Nestas condições, a atividade específica foi expressa como 11,5 $\pm$ 2,4 nmol/min/µg de proteína.

Conclusão:

Os resultados mostram pela primeira vez a presença da atividade catalítica da ChAT em homogeneizado cerebral de zebrafish. Nosso achados permitem contribuir para avaliação da função colinérgica em modelos fisiopatológicos relacionados a este sistema de neurotransmissão.

Modalidade: Resumo de Pesquisa

4.1 1638

EFEITO DE ANTIOXIDANTES SOBRE O METABOLISMO ENERGÉTICO EM CÉREBRO DE RATOS SUBMETIDOS AO MODELO QUIMICAMENTE INDUZIDO DE TIROSINEMIA TIPO II.

Neila Zeni, Brena Teodorak[1], Samira Dal-Toé de Prá[1], Gabriela K. Ferreira[1], Julia S. Vieira[1], Milena Silva Carvalho[1], Lara Mezari[1], Patricia F. Schuck[2], Emilio Luis Streck[1]

[1]Laboratório de Bioenergética, Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, SC, Brasil;
[2]Laboratório de Erros Inatos do Metabolismo, Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, SC, Brasil
Email:neilazeni@gmail.com

Introdução:

A tirosinemia tipo II é um erro inato do metabolismo causado por uma deficiência na enzima hepática tirosina aminotransferase (TAT), levando a um aumento dos níveis de tirosina e seus subprodutos no plasma. A tirosinemia tipo II apresenta lesões oculares, cutâneas e alterações neurológicas.

Objetivo:

Considerando-se que a tirosinemia tipo II pode ocasionar danos ao metabolismo energético e que a presença de estresse oxidativo pode ser uma das causas, propomos uma nova estratégia terapêutica para tirosinemia tipo II, em ratos submetidos ao modelo quimicamente induzido de tirosinemia tipo II com o uso associado de antioxidantes (NAC e DFX), e avaliamos os efeitos na atividade dos complexos I, II, II-III e IV em algumas estruturas cerebrais.

Métodos:

Realizado a administração crônica de L-tirosina, em ratos com 7 dias de idade que receberam injeções intraperitoneal diárias de L-tirosina (500 mg/kg) ou salina de 12/12 horas durante 23 dias,suplementando com administração subcutânea de NAC (20 mg/kg) duas vezes ao dia, e DFX (20 mg/kg) uma vez a cada dois dias.

Resultados:

Os resultados demonstraram que a L-tirosina, inibiu a atividade dos complexos I e II-III no estriado e os antioxidantes mudaram a inibição. No entanto, a atividade do complexo IV foi aumentada no hipocampo e inibida no estriado e os antioxidantes mudaram essa inibição no estriado.

Conclusão:

Concluindo assim que há uma alteração no metabolismo energético em cérebro de ratos após administração crônica de L-tirosina, e que a mesma pode induzir estresse oxidativo, e a administração de antioxidantes pode ser considerada como uma terapia adjuvante potencial, especialmente na tirosinemia do tipo II.

Modalidade: Resumo de Pesquisa

4.1 1626

EXPOSIÇÃO À FUMAÇA DE CIGARRO AUMENTA O PROCESSO AUTOFÁGICO EM AORTA DE CAMUNDONGOS SWISS

Comin, V.H, Farias, H.R, Machado, A.G, Paganini, L.B, Souza, D.R, Rodrigues, M.S, De Mendonça, G.S, Pieri, B.L.S, De Souza, C.T.

Laboratório de Bioquímica e Fisiologia do Exercício, (PPGCS/UNESC), Criciúma, SC, Brasil.

Introdução:

O tabagismo crônico leva a alteracões no sistema vascular, e isso pode estar relacionado, pelo menos em parte, a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio. O aumento da geração de espécies reativas pode ser reportado por servir como um importante estímulo para a autofagia. Uma das explicações para o aumento da autofagia mediada pelas espécies reativas é a modulação de duas moléculas cruciais na via autofágica: AMPK e mTOR. AMPK inibe mTOR e assim estimula proteínas relacionadas à autofagia. Porém, o conhecimento sobre esse processo no tecido vascular carece de maiores investigações. Diante disto, o presente estudo avaliou os efeitos da exposição à fumaça de cigarro sobre o processo autofágico e a participação das espécies reativas de oxigênio neste processo na aorta de camundongos Swiss.

Metodologia:

Para tal, camundongos Swiss foram expostos à 4 cigarros comerciais com filtro por sessão, 3 sessões/dia, todos os dias da semana por 7, 30, 45 e 60 dias (n=10) e o grupo não exposto (controle). Doze horas após a última exposição os animais sofreram eutanásia e o tecido aórtico foi removido para as análises moleculares e bioquímicas.

Resultados e Discussão:

Os resultados demonstraram que a exposição à fumaça de cigarro aumentou a produção de espécies reativas, fosforilação da JNK, $AMPK^{Thr172}$, $ULK1^{Ser317}$, níveis proteicos de SESN2, Atg5, LC3 II e diminuiu a fosforilação de Foxo1 e $mTOR^{Ser2448}$. Os grupos expostos à fumaça de cigarro por 45 e 60 dias apresentaram maiores alterações no processo autofágico, porém, não diferiram entre si.

Conclusão:

Os resultados demonstraram que a exposição à fumaça de cigarro aumenta a autofagia na aorta de camundongos Swiss e sugere o envolvimento das espécies reativas de oxigênio neste processo.

Modalidade: Resumo de Pesquisa

4.1 1488

O TRATAMENTO COM TOPIRAMATO DIMINUI ADIPOGÊNESE E LIPOGÊNESE EM ADIPÓCITOS 3T3-L1

Rodrigues, M.S.; Paganini, L.B; Farias, H.R; Machado, A.G.; Comin, V.H.; De Mendonça, G.S; Marques, S.O; Pieri, B.L.S.; De Souza, C.T.

Laboratório de Bioquímica e Fisiologia do Exercício, (PPGCS/UNESC), Criciúma, SC, Brasil
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Unidade Acadêmica de Ciências da Saúde, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, Brasil.

Introdução:

A obesidade e o sobrepeso são considerados problemas de saúde pública e estão associados a várias doenças crônicas. Alterações no balanço energético parece ser fator fundamental para o surgimento da obesidade. Nesse sentido, alguns fármacos, como o topiramato, são testados com a finalidade de aumentar o gasto energético. Estudos indicam que este efeito pode ocorrer de maneira dependente do SNC, porém, não há evidências da ação direta do topiramato sobre o tecido adiposo. Objetivo: Avaliar a modulação do topiramato sobre a lipólise de maneira independente do SNC.

Metodologia:

Células 3T3-L1 foram incubadas com 50 µM de topiramato ou isoproterenol (controle positivo) durante 30 minutos. Analisou-se a liberação de Lactato desidrogenase, glicerol e ácido graxo não esterificado (NEFA), a incorporação de ^{14}C palmitato em lipídeos e a diferenciação adipocitária. Por fim, avaliaram-se os níveis de fosforilação das enzimas proteína quinase A (PKA), lipase sensível a hormônio (HSL) e lipase do triglicerídeo (ATGL).

Resultados e Discussão:

Os níveis de glicerol e NEFA aumentaram consideravelmente quando as células foram incubadas com topiramato e isoproterenol. Além disso, o topiramato mostrou-se eficaz em reduzir a lipogênese, uma vez que a incorporação do 14C palmitato em lipídeos apresentou-se diminuída. Essas alterações ocorreram sem que houvesse modificação na viabilidade das células (níveis de LDH não foram alterados). Adicionalmente, a incubação com topiramato diminuiu a adipogênese, visto que durante o processo de diferenciação celular houve redução nas gotículas de gordura, e aumentou os níveis de fosforilação de PKA, HSL e ATGL.

Conclusão:

O tratamento com topiramato diminui a adipogênese e lipogênese e induz lipólise através da fosforilação de três importantes enzimas lipolíticas, em células adiposas 3T3-L1. Contudo, adicionais estudos são necessários para investigar o mecanismo pelo qual o topiramato age sobre o adipócito.

Fonte financiadora:

CNPq, UNESC.

Modalidade: Resumo de Pesquisa

4.1 2141

ANÁLISEBIOQUÍMICA E COMPORTAMENTAL RESULTANTE DA ADMINISTRAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE OURO EM RATOS COM DEMÊNCIA INZUDA POR ÁCIDO OCADAICO

[1]Débora Laureano de Souza,Joice de Abreu Brandolfi, Alisson de Sena Casagrande, Beatriz Antunes Giusti Furtado, Luise Longo Angeloni, Fernando Milanez Dias[2], Sabrina da Silva, Alexandre Pastoris Muller[3], Paulo Cesar Lock Silveira.

[1]Alunos de iniciação científica do Laboratório de Fisiologia e Bioquímica do Exercício – UNESC

[2]Doutorandos em Ciências da Saúde do Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde – PPGCS da UNESC

[3]Professor do PPGCS da UNESC, professor pesquisador no Laboratório de Fisiologia e Bioquímica do Exercício – UNESC

Introdução:

. O envelhecimento é um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento de alterações cerebrais associadas à déficits cognitivos e distúrbios neurodegenerativos, como a Doença de Alzheimer(DA). A etiologia da disfunção cognitivapode estar associada à neuroinflamação, resultado de resposta complexa da microglia, a qual causa aumento da fagocitose dos neurônios no hipocampo que culmina em produção de espécies reativas de oxigênio (EROS) a partir da mitocôndria microglial, resultando em morte neuronal e comprometimento da memória hipocampo-dependente. A administração intracerebroventricular(i.c.v.) de ácido ocadaico(AO), o qual inibe a proteína fosfatase, ocasionahiperfosforilação de Tau e inflamação, ambas fortemente associadas à patogenia da DA. O uso de nanopartículas de ouro(GNP)produz diminuição de fatores inflamatórios, porém seus efeitos em modelos de demência cerebral ainda não estão elucidados

Metodologia:

Ratos Wistar machos de 3 meses de idade foram divididos nos seguintes grupos: Grupo 1 –Sham + Salina; Grupo 2 – Sham + GNP 2.5; Grupo 3 - AO + Salina; Grupo 4– AO + GNP 2.5. A indução de demência foi feita através da administração de AO i.c.v. e o tratamento intraperitoneal a cada 48h com GNPem doses de 2,5 mg/L com tamanho de partícula de 20 nm durante 21 dias foi iniciado 24 horas após o AO i.c.v..Após o tratamento avaliou-se a memória espacial pelo teste de BarnesMaze.Os animais foram eutanasiados e ohipocampo analisado para avaliar estresse oxidativo, quantificando os níveis de SOD, GSH e DCFH locais.

Resultados e Discussão:

O grupo AO-Salina apresentou maior tempo de latência para encontrar a caixa de escapedurante os 5 diastreinamentoe menor tempo gasto no quadrante alvo no último dia de teste no labirinto de Barnes.O tratamento com GNP impediu o déficit cognitivo induzido por AO. O grupo Sham-GNP 2.5apresentou menor tempo de latência durante treinamento, bem como maior tempo gasto no quadrante alvo. No grupo AO-Salina, os níveis de DCFH encontram-se aumentadose os níveis de SOD e GSH diminuídos. O tratamento com GNP causou reversãodos efeitos deletérios obtidos anteriormente.

Conclusão:

O AO induz prejuízo de memória espacial associado a estresse oxidativo e diminuição da capacidade antioxidante hipocampal. O tratamento crônico com GNP reverteu os danos de memória e bioquímica induzidos por AO no hipocampo. Estes resultados apontam o GNP como uma droga promissora para o tratamento de doenças cerebrais, como a DA.

Fonte financiadora:

Laboratório de Fisiologia e Bioquímica do Exercício (LAFIBE), UNESC, CNPq.

Laboratório de Fisiologia e Bioquímica do Exercício (LAFIBE), UNESC, CNPq.

Modalidade: Resumo Pesquisa

2.1 2007

ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO MEDEIAM O AUMENTO DA AUTOFAGIA NO MIOCÁRDIO DE CAMUNDONGOS SWISS EXPOSTOS À FUMAÇA DE CIGARRO

Machado, A.G., Comin, V.H., Paganini, L.B, Farias, H.R, Queiroz, J.A.M.P, Rodrigues, M.S, Marques, S.O, Souza, D.R, De Souza, C.T.

Laboratório de Bioquímica e Fisiologia do Exercício, (PPGCS/UNESC), Criciúma, SC, Brasil
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Unidade Acadêmica de Ciências da Saúde
Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, Brasil.

Introdução

O hábito de fumar induz diversas alterações ao sistema cardíaco e isso pode estar relacionado, pelo menos em parte, à excessiva formação de espécies reativas de oxigênio (EROs). Evidência recente demonstra que o acúmulo de espécies reativas está envolvido em vários processos importantes, um deles é a autofagia. Uma das moléculas envolvidas na regulação da autofagia é a AMPK. A AMPK estimula a ULK e consequentemente outras proteínas relacionadas a autofagia, além disso, AMPK estimula a autofagia através da inibição da proteína alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR). As EROs podem ainda estimular a formação de moléculas como Atg5 e LC3, que são fundamentais para o processo autofágico (formação do autofagossomo) e sestrina, capaz de ativar AMPK. No entanto, o conhecimento sobre esse processo carece de maiores investigações. Diante disso, o presente estudo pretendeu avaliar o envolvimento das espécies reativas de oxigênio no processo da autofagia no músculo cardíaco de camundongos expostos à fumaça de cigarro.

Metodologia:

Foram utilizados camundongos S*wiss* expostos à 4 cigarros comerciais com filtro (alcatrão 10mg; nicotina 0,8mg; monóxido de carbono 10mg) por sessão, 3 sessões/dia, todos os dias da semana por 7, 15, 30 e 45 dias (n=10) e o grupo controle (sem exposição). Os animais sofreram eutanásia, o tecido cardíaco foi removido e realizado análises moleculares e bioquímicas.

Resultados e Discussão:

Os resultados demonstraram que a exposição à fumaça de cigarro por diferentes dias aumentou a produção de espécies reativas de oxigênio, fosforilação de AMPK e ULK^{ser317}, níveis proteicos de sestrina 2, Atg5 e LC3 II e diminuiu a fosforilação de mTOR. A autofagia em excesso provocada pelo uso do cigarro pode levar a morte celular do tipo 2, e este tipo de morte celular é diferente da ocasionada pela apoptose.

Conclusão:

Os resultados demonstraram que a exposição da fumaça de cigarro aumenta a autofagia mediada pelas espécies reativas de oxigênio no tecido cardíaco de camundongos *Swiss.*

Modalidade: Resumo de Pesquisa

2.1 2005

A ADMINISTRAÇÃO INTRACEREBROVENTRICULAR DE ÁCIDO OCTANOICO INIBE A ATIVIDADE DAS ENZIMAS Na^+, K^+-ATPase E Mg^{2+}-ATPase EM CÉREBRO DE RATOS

ZAPELINI, H G[1], RAMOS, A C[1], SCHMITZ F[2], RODRIGUES A F[2]; KIST L[3], BOGO MR[3], STRECK E L[1], WYSE A T S[2], SCHUCK, P F[1]

[1]Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, SC;
[2]Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS;
[3]Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS;

Introdução:

A deficiência de desidrogenase de acil-CoA de cadeia média (MCADD) é o mais frequente defeito de beta-oxidação dos ácidos graxos. Bioquimicamente, os pacientes apresentam o acúmulo de ácidos graxos de cadeia média, principalmente ácidosoctanoico (AO), decanoico e *cis*-4-decenoico. Durante as crises, os indivíduos afetados podem apresentar vômito, hipotonia, letargia, convulsões e coma, podendo levar à morte. Cronicamente, os pacientes apresentam atraso no desenvolvimento psicomotor, rabdomiólise, paralisia cerebral, retardo no crescimento, problemas comportamentais e dificuldade de atenção. No presente trabalho, foram avaliadas as atividades das enzimas Na^+,K^+-ATPase e Mg^{2+}-ATPaseem estruturas cerebrais de ratos submetidos a um modelo experimental de MCADD, bem como a expressão dos genes das subunidades da Na^+, K^+-ATPase em córtex cerebral e hipocampo e conteúdo de água cerebral.

Metodologia:n

Ratos Wistar machos de 60 dias de vida sofreram uma cirurgia estereotáxica e foram divididos em dois grupos (controle e AO). Os animais do grupo AO receberam uma única administração intracerebroventricular (ICV) de AO (1,66 μmol/2 μL), enquanto os animais do grupo controle receberam líquido cefalorraquidiano artificial no mesmo volume. Os animais sofreram eutanásiapor decapitação uma hora após a administração de AO e o córtex cerebral, hipocampo, estriado e cerebelo foram isolados. Foram avaliadas as atividades enzimáticas, a expressão dos genes da Na^+,K^+-ATPase e o conteúdo de água cerebral.

Resultados e Discussão:

Observou-se uma diminuiçãosignificativa nas atividades daNa^+,K^+-ATPase e da Mg^{2+}-ATPase em córtex cerebral e hipocampo dos animais que receberam AO, em comparação ao grupo controle. Por outro lado, não foi observada nenhuma diferença significativa na atividade destasenzimas em estriado e cerebelo, bem como não houve alteração na expressão das subunidades da Na^+,K^+-ATPase em comparação ao grupo controle. Adicionalmente, não foi observada nenhuma alteração no conteúdo de água cerebral.

Conclusão:

Os resultados apresentados no presente trabalho indicam que altas concentrações de AOpodem ocasionar uma diminuição na atividade das enzimas Na^+,K^+-ATPase e Mg^{2+}-ATPase em cérebro e este aumento não se deve a uma maior expressão. Esse efeito poderia levar a alterações na despolarização e repolarização do potencial de membrana, na manutenção e regulação do volume celular e no transporte ativo de neurotransmissores,alterando a homeostasia cerebral. Tal achado poderia colaborar para o dano cerebral apresentado em pacientes acometidos por MCADD.

Referências:

Tsakiris eDeliconstantinus,1984;
RoeeDing, 2001.

Fonte financiadora:

CNPq e UNESC.

Modalidade: Resumo de Pesquisa

2.1 1807

RESPOSTA DE DIFERENTES INTENSIDADES DE EXERCICIOS FISICOS NA FOSFORILACAO DE mTOR E MOLÉCULAS ENVOLVIDAS NA SUA ATIVAÇÃO

Da Silva, S.F., Comin, V.H.; Paganini, L.B; Rodrigues, M.S, De Mendonça, G.S; Farias, H.R; Machado,A.G.; Souza, D.R, De Souza, C.T.

Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Laboratório de Fisiologia e Bioquímica do Exercício, Unidade Acadêmica de Ciências da Saúde, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, Brasil.

Introdução:

As adaptações do músculo esquelético em resposta ao exercício físico resistido deve-se, principalmente, a modulação da via da mTOR. Entretanto, os efeitos desse tipo de treinamento físico sobre a fosforilação da mTOR e moléculas envolvidas na sua ativação não estão elucidados. O objetivo do presente estudo foi comparar os efeitos de três diferentes modelos de exercício físico de resistência progressiva sobre tais moléculas.

Metodologia:n

Vinte e quatro ratos Wistar machos foram separados em quatro grupos: não treinado/controle, treino de resistência muscular, treino de força e treino de hipertrofia. Após doze semanas de exercício em dias alternados, a porção vermelha dos músculos quadríceps e extensor longo dos dedos foram coletados e analisados por histologia e *Western blot*.

Resultados e Discussão:

O peso do músculo extensor longo dos dedos e do quadríceps, bem como a área da fibra e fosforilação da mTOR, foram maiores nos grupos exercitados quando comparado ao grupo não treinado. Entretanto, o aumento foi ainda maior no grupo hipertrofia quando comparado aos demais grupos treinados. Na tentativa de buscar uma explicação molecular para tal efeito, nós analisamos as moléculas envolvidas na ativação da mTOR. Foi observado que todos os grupos treinados aumentaram a fosforilação de moléculas envolvidas na ativação da mTOR, bem como redução da fosforilação e níveis proteicos das moléculas envolvidas com a inibição da mesma quando comparado com o grupo controle.

Conclusão:

Juntos, nossos resultados mostraram que o treino de hipertrofia leva a um pronunciado aumento na fosforilação da mTOR através de um concomitante aumento das moléculas que propiciam sua ativação e uma diminuição nas moléculas que a inibem.

Fonte financiadora:

CNPq e UNESC.

Modalidade: Resumo de Pesquisa

2.1 1506

DIMINUIÇÃO DO ACUMULO DE TECIDO ADIPOSO INDUZIDO POR SUCO DE ACEROLA EM CAMUNDOGOS SWISS TRATADOS COM DIETA CAFETERIA

De Mendonça, G.S.; Farias, H.R; Paganini, L.B; Machado, A.G.; Comin, V.H.; Queiroz, J.A.M.P; Marques, S.O.; Pieri, B.L.S.; De Souza, C.T.

Laboratório de Bioquímica e Fisiologia do Exercício, (PPGCS/UNESC), Criciúma, SC, Brasil.

Introdução:

O aumento exacerbado de tecido adiposo está intimamente relacionado à instalação da obesidade. O elevado armazenamento de triacilglicerol no tecido adiposo é mediado, pelo menos em parte, pela ação da Ácido Graxo Sintase (FAS), por outro lado, a depleção dos estoques de triacilglicerol do tecido adiposo é favorecida pela ação da Lipase da Gotícula Lipídica (ATGL). A descoberta de frutas que possuem propriedades anti-obesidade vem crescendo em todo o mundo, dentre as quais, a acerola destaca-se por exibir altas concentrações de vitamina c e rutina, dentre outros nutrientes com propriedades anti-obesidade.

Metodologia:

Camundongos suíços machos foram divididos em 3 grupos: Dieta Normolipídica, Dieta Cafeteria e Suplementação Placebo (0,1 ml de água por gavagem/dia) e Dieta cafeteria + suco de acerola industrial (0,1 ml de EGCG – 50mg/Kg de peso/dia). Os animais receberam dieta de cafeteria durante 12 semanas, seguido de 30 dias da suplementação com suco de acerola industrial. Os diferentes depósitos de tecido adiposo (retroperitoneal, epididimal e mesentérico) foram removidos e pesados. O tecido adiposo epididimal foi preparado para determinação de pAMPK α 1/2, FAS e ATGL por Western Blotting.

Resultados e Discussão:

A massa absoluta e relativa dos diferentes depósitos de tecido adiposo foram maiores no grupo dieta cafeteria em relação aos grupos dieta normolipídica e dieta cafeteria suplementado com suco de acerola ($p< 0,05$). O nível proteico de FAS foi maior no grupo dieta cafeteria em relação aos grupos dieta normolipidica e dieta cafeteria suplementado com suco de acerola ($p<0,05$). Os níveis proteicos de pAMPK e ATGL não exibiram diferenças entre os grupos estudados.

Conclusão:

No presente estudo, mostramos que a ingestão de suco de acerola diminuiu o nível de proteínas inflamatórias (TNF-a) e aumento da lipólise em ratos alimentados com uma dieta de cafeteria. Ou seja, o uso do suco de acerola mostrou-se eficiente em reduzir os níveis proteicos de FAS e atenuou o aumento dos depósitos de tecido adiposo, podendo contribuir para a perda de peso em indivíduos obesos. Os resultados podem ser pelo menos parcialmente responsável pela o índice de adiposidade menor após o tratamento com acerola suco, em comparação com camundongos alimentados com apenas uma dieta de cafeteria. Em conclusão, nossos resultados mostraram que o suco de acerola previne o ganho de peso (medido em termos de peso corporal e o índice de adiposidade) e a dislipidemia (medido usando os níveis de TAG) e restaura vias metabólicas e inflamatórias para um intervalo normal. Fazem-se necessários estudos futuros para compreender melhor os mecanismos envolvidos nos efeitos benéficos associados com a ingestão de suco de acerola, especialmente em camundongos alimentados com uma dieta rica em gordura cafeteria.

Fonte financiadora:

CNPq .