

Universidade Federal de Santa Catarina
Centro de Ciências Biológicas

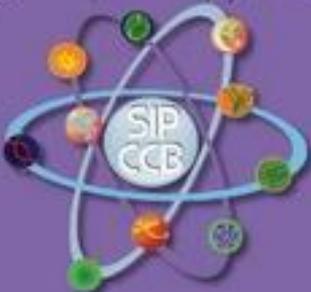
**Anais do VIII Simpósio Integrado
das Pós-Graduações do CCB - UFSC**

Resumo expandido
Modalidade pôster e apresentação oral





**VIII Simpósio Integrado das
Pós-Graduações do CCB -
UFSC**



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

Sobre o SIP/CCB – “10 Anos Integrando Saberes”

No início do ano de 2012, uma “conversa de corredor” deu início ao evento que passaria a fazer parte da vida dos alunos e professores do Centro de Ciências Biológicas (CCB) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), o SIP – Simpósio Integrado das Pós-Graduações. Os alunos *Gustavo Campos Ramos* e *Dib Ammar* foram os responsáveis por tornar esta ideia em uma realização, inspirados na necessidade de compartilhar os conhecimentos e conquistas inter e multidisciplinares entre os programas de pós-graduações da UFSC e de outras instituições de ensino.

Nos dias 16 a 18 de novembro de 2022, foi realizado no auditório do CCB/UFSC, em Florianópolis, a oitava edição do evento, em comemoração aos 10 anos desde sua fundação. Atualmente a organização do SIP/CCB/UFSC ocorre com a parceria dos onze Programas de pós-graduações da universidade:

-  Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento;
-  Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas;
-  Programa de Pós-Graduação em Bioquímica;
-  Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Biociências;
-  Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas;
-  Programa de Pós-Graduação em Ecologia;
-  Programa de Pós-Graduação em Farmacologia;
-  Mestrado Profissional em Farmacologia;
-  Programa de Pós-Graduação em Neurociências;
-  Mestrado Profissional em Perícias Criminais Ambientais;
-  Mestrado Profissional em Ensino de Biologia.



**VIII Simpósio Integrado das
Pós-Graduações do CCB -
UFSC**

Comissão Organizadora VIII SIP/CCB/UFSC

Coordenador do projeto: Geison Souza Izídio

Presidente: Louise Castro de Jesus

Vice-presidente: Wilker Cavalcante de Lima

Comissão científica:

Bárbara dos Santos

Carolina Henkes Inamassu

Jonathan Paulo Agnes

Gabrielle Delfrate

Melania Santer

Pedro Borges de Souza

Ramon Diedrich

Comissão de marketing:

Ana Carolina dos Santos

Andressa Cristina França

Gabriela Vilvert Vansuita

Karoline Almeida Lima

Leonardo Arthur Keller Neto

Stéphanie Lidiane Colin

Comissão financeira:

Lauriana Urquiza Nogueira

Patrícia E. R. Marzola



VIII Simpósio Integrado das
Pós-Graduações do CCB -
UFSC

Patrocinadores e Apoiadores



Research for life.™





VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

Efeitos na reprodução e na fertilidade de camundongos *Swiss* fêmea expostas ao piriproxifeno desde a pré-puberdade

SILVA, Alice Santos; MELLO, Tainara Fernandes; KNORST, Jennyfer Karen; FRANÇA, Andressa Cristina; FAGÁ, Henrique Frederico Enz.

LEITE, Gabriel Adan Araújo
silvaalicesantosa@gmail.com
Universidade Federal de Santa Catarina

Palavras-chave: Roedores; Praguicida; Fertilidade; Toxicidade.

1 INTRODUÇÃO

O inseticida piriproxifeno (PPF) atua mimetizando o hormônio juvenil do inseto, interferindo em seu desenvolvimento. Além de ser utilizado na agricultura, desde 2014 o PPF é inserido em caixas d'água de consumo humano na dose máxima de 0,01 mg/L para controle de mosquitos transmissores de doenças. Estudos anteriores demonstraram que o PPF age como um possível desregulador endócrino, provocando toxicidade reprodutiva. Com isso, o objetivo desse estudo foi avaliar a fertilidade de fêmeas expostas ao piriproxifeno, além da toxicidade reprodutiva e do ganho de massa corporal.

2 MATERIAL E MÉTODOS

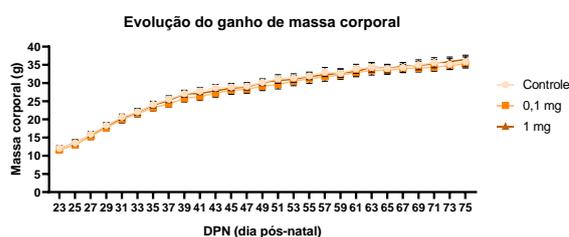
Foram utilizados camundongos *Swiss* fêmea que receberam tratamento por via oral, do dia pós-natal (DPN) 23 até o DPN 75, distribuídas em três grupos experimentais (n=20 por grupo): Controle, PPF 0,1 mg/Kg e PPF 1 mg/kg. Durante o tratamento, a massa corporal foi aferida diariamente e no período do DPN 60 até o DPN 75, as fêmeas foram avaliadas quanto à regularidade do ciclo estral. A partir do DPN 75, um subgrupo (n=10 por grupo), na fase de estro, foi submetido à eutanásia, quando foram retirados e pesados os órgãos reprodutores e vitais. O outro subgrupo (n=10 por grupo) foi destinado ao acasalamento natural, no qual o dia gestacional (DG) 0 foi considerado pela presença de *plug* ou de espermatozoides em lavados vaginais. No DG 18, as fêmeas foram submetidas à eutanásia, sendo coletados e/ou pesados os ovários para contagem de corpos lúteos gravídicos, o útero gravídico, os fetos e suas respectivas placentas. Posteriormente, foram calculadas as taxas de fertilidade e razão sexual. O experimento foi aprovado pela CEUA-UFSC (protocolo nº1963200721). As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

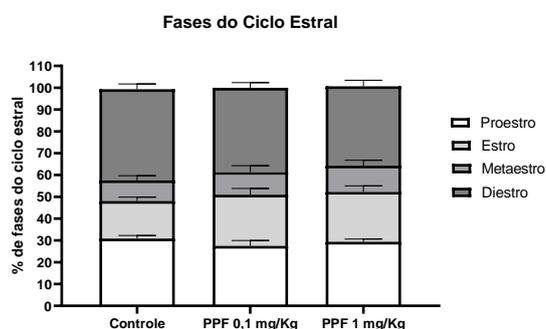
O ganho de massa corporal e a regularidade do ciclo estral foram similares entre os grupos ($p > 0,05$). Em relação ao peso dos órgãos reprodutores e vitais, houve diminuição do peso absoluto da tireoide dos animais do grupo PPF 1mg/kg e aumento do peso relativo do fígado dos grupos que receberam PPF, bem como diminuição do peso relativo dos ovários no grupo PPF 0,1 mg/kg, em comparação ao grupo controle ($p < 0,05$). Em relação aos parâmetros de fertilidade, não houve diferença entre os grupos ($p > 0,05$), porém, se observou maior número de fetos mortos e diminuição do peso das placentas de fetos do sexo feminino do grupo PPF 0,1 mg/kg, quando comparados com o grupo controle ($p < 0,05$).

Gráfico 1 – Ganho de massa corporal dos grupos experimentais do DPN 23 ao DPN 75



Valores expressos em média \pm SEM. *Two-way* ANOVA seguida do pós-teste de Tukey. $p > 0,05$.

Gráfico 2 – Distribuição das fases do ciclo estral dos grupos experimentais do DPN 60 ao DPN 75

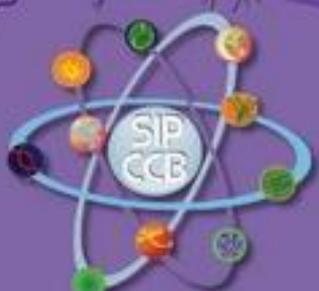


Valores expressos como mediana e intervalo interquartilico. Kruskal-Wallis seguido de pós-teste de Dunn. $p > 0,05$.

Tabela 1 – Avaliação da regularidade do ciclo estral dos grupos experimentais do DPN 60 até o DPN 75

	Grupos Experimentais (n=20)		
	Controle	0,1 mg/kg	1 mg/kg
Duração do ciclo estral	5,17 \pm 0,21	5,43 \pm 0,29	5,66 \pm 0,34
Número de ciclos estrais	2,73 \pm 0,00	3,20 \pm 0,18	3,14 \pm 0,17

Valores expressos em média \pm SEM. *One-way* ANOVA seguida do pós-teste de Tukey. $p > 0,05$.



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

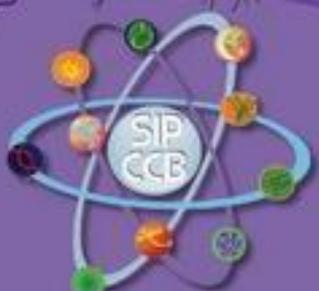
Tabela 2 – Performance reprodutiva das fêmeas dos grupos experimentais após acasalamento natural com machos não-tratados

	Grupos Experimentais (n=10)		
	Controle	PPF 0,1 mg/kg	PPF 1 mg/kg
Taxa de gestação (%)	100%	70%	78%
Potencial de fertilidade (%)	90,91 (64,17 – 100)	100 (86,67 – 100)	66,67 (46,15 – 92,86)
Perda pré-implantação (%)	9,09 (0,00 – 35,84)	0,00 (0,00 – 12,33)	33,33 (7,14 – 53,85)
Perda pós-implantação (%)	11,11 (3,84 – 20,63)	11,76 (10,00 – 35,71)	16,67 (15,38 – 25,00)
Razão sexual (M:F)	1,37 (0,75 – 2,00)	1,40 (0,71 – 3,50)	1,20 (0,57 – 1,67)
Útero gravídico (g)	16,44 ± 1,80	18,80 ± 1,59	14,66 ± 1,50
Fetos vivos	8,60 ± 0,92	10,00 ± 1,11	8,14 ± 1,08
Fetos mortos	0,00 ± 0,00 ^a	0,67 ± 0,33 ^b	0,00 ± 0,00 ^a
Peso de fetos machos (g)	1,39 ± 0,02	1,43 ± 0,02	1,38 ± 0,03
Peso de fetos fêmeas (g)	1,33 ± 0,02	1,28 ± 0,03	1,28 ± 0,03
Peso da placenta de fetos machos (g)	0,10 ± 0,00	0,10 ± 0,00	0,11 ± 0,00
Peso da placenta de fetos fêmeas (g)	0,11 ± 0,00 ^a	0,09 ± 0,00 ^b	0,10 ± 0,00 ^a

Valores expressos em média ± SEM ou mediana e intervalo interquartilico. *One-way* ANOVA seguida do pós-teste de Tukey ou Kruskal-Wallis seguido de pós-teste de Dunn. Letras diferentes indicam diferença estatística entre os grupos. $p < 0,05$.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em resumo, a exposição ao piroproxifeno desde a pré-puberdade foi capaz de alterar o peso de órgãos reprodutores e vitais, bem como aumentar a frequência de morte fetal e o peso da placenta de fetos do sexo feminino, o que sugere toxicidade reprodutiva e do desenvolvimento nas condições testadas.



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

MODELOS DE LESÃO PULMONAR INDUZIDA POR LPS EM CAMUNDONGO: ANÁLISE BIBLIOMÉTRICA DA LITERATURA PUBLICADA NA WEB OF SCIENCE ENTRE 2000 E 2022

VASCONCELOS, Amanda; SPANAMBERG, Eduarda S; COSTA, Franciely.

MARTINS, Roberta de Paula

amandavas96@email.com

Universidade Federal de Santa Catarina

Palavras-chave: Acute Lung Injury; Pulmonary Injury; Lipopolysaccharide (LPS); Mice; Mouse.

1 INTRODUÇÃO

O vírus SARS-COV-2, causador da Síndrome Respiratória Aguda Grave, se concentra em maioria no epitélio pulmonar, gerando extenso dano nos alvéolos, acarretando em lesão pulmonar. Considerando que a síndrome respiratória aguda grave está em destaque desde o início da pandemia do coronavírus, causando milhões de mortes pelo mundo, além de sequelas e complicações respiratórias importantes, se faz imprescindível o desenvolvimento de trabalhos científicos sobre o tema para melhor compreender e buscar formas de tratar, por exemplo, uma das principais consequências da doença que é a lesão pulmonar desencadeada pelo vírus.

Um dos modelos de lesão pulmonar aguda mais utilizados é o induzido por lipopolissacarídeo (LPS). Quando administrado em animais, gera uma resposta inflamatória sistêmica com a finalidade de transcrição de citocinas como IL-1 β e TNF- α (CHEN et al., 2010). Leucócitos acumulam-se no tecido alveolar desencadeando lesão e conseqüente morte celular (MATUTE-BELLO et al., 2008). O LPS pode ser inalado, administrado via intravenosa ou via intraperitoneal, gerando lesão pulmonar aguda 24h após a aplicação (CHEN et al., 2010). A análise bibliométrica é o campo da ciência que estuda quantitativamente dados bibliográficos, como produção e citação entre autores e/ou países, além de analisar informações a respeito da evolução científica em determinado período e área de interesse (CHEN et al., 2021). (a) avaliar e entender a performance acadêmica e de desenvolvimento de um campo da ciência; (b) mensurar o nível de produtividade de determinado pesquisador ou de determinada instituição e grupos de pesquisa; (c) identificar as principais tendências da ciência e tecnologia atual; (d) avaliar



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

graficamente o nível de importância e de publicações sobre determinado assunto em um período de tempo; (e) realizar vasto mapeamento científico (THOMPSON and WALKER, 2015).

Assim, este trabalho tem como objetivo realizar análise bibliométrica dos principais artigos científicos acerca de modelos de lesão pulmonar induzida por LPS em camundongos publicados na base de dados Web of Science entre 2000 e 2022.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Estudos publicados entre 01 de setembro de 2000 e 01 de setembro de 2022 sobre modelos animais de lesão pulmonar induzida por lipopolissacarídeo (LPS) em camundongos foram recuperados da base de dados Web Of Science (WOS) em 31 de agosto de 2022. Os descritores utilizados foram: (“Acute Lung Injur*” OR “Lung Injur*” OR “Pulmonary Injur*”) AND (“Lipopolysaccharide\$” OR “LPS”) AND (“Mice” OR “Mouse” OR “Mus Musculus”). Um total de 3.833 artigos foram obtidos da pesquisa, após refinamento realizado na própria plataforma da WOS, excluindo documentos que não fossem artigos ou artigos de revisão, e incluindo apenas documentos que fossem artigos já publicados. Obteve-se um total de 1.501 artigos para realização das análises bibliométricas usando a ferramenta VOSviewer.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A produção de artigos sobre o tema teve seu primeiro ápice em 2012, com constante aumento até seu segundo ápice em 2021. A China foi o país com maior número de artigos publicados e com maior número de colaborações com outros países, sendo da China a universidade mais produtiva, Shanghai Jiao Tong University, responsável por inúmeros projetos na área devido seus elevados níveis de inovação tecnológica. A Universidade de São Paulo encontra-se na 40ª colocação como a universidade mais produtiva, com 14 artigos publicados sobre o tema.

O autor mais produtivo foi o americano Garcia J. G. N., médico-cientista pulmonar de renome mundial, professor de medicina na Faculdade de Medicina da Universidade do Arizona e membro do Instituto de Medicina das Academias Nacionais. O autor mais citado nos trabalhos selecionados foi o polonês Zmijewski J. W., professor no Departamento de Medicina, Divisão de Pneumologia, Alergia e Medicina Intensiva na Universidade do Alabama em Birmingham e diretor de pesquisa do Programa Translacional para Síndrome Respiratória Aguda, responsável por trabalhar com cultivo celular e modelos experimentais de lesão pulmonar.

A revista com maior número de publicações foi a Plos One, uma editora de acesso aberto sem fins lucrativos. A palavra-chave com maior número de



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

ocorrências entre os artigos selecionados foi “Acute Lung Injury”, utilizada como um dos descritores utilizados na busca para o presente trabalho, além de “Lipopolysaccharide” na 5ª colocação, seguida pela palavra-chave “Acute Respiratory Distress Syndrome”, relacionada a pandemia do coronavírus e o interesse pelo desenvolvimento de modelos para melhor compreensão da patologia desencadeada pelo vírus SARS-CoV-2.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As análises bibliométricas possuem suma importância para visualizar as tendências nas pesquisas acadêmicas, permitindo observar as características e padrões não somente dos pesquisadores, mas também dos países pioneiros dentro do tema selecionado, dentre outras diversas análises. Nos últimos anos, desde o início da pandemia do coronavírus, há grande incentivo para o desenvolvimento de pesquisas sobre o tema. Sendo assim, houve expressivo aumento nas publicações sobre lesão pulmonar induzida por LPS em camundongos. Os resultados obtidos no presente trabalho, como principais autores e colaborações realizadas entre eles, onde as principais pesquisas estão acontecendo, quais referências bibliográficas são usadas com maior frequência e palavras-chave que os trabalhos abordam em comum, nos mostram o caminho que a ciência percorre sobre o tema.

5 REFERÊNCIAS

Chen, D et al. **Mapping Trends in Moyamoya Angiopathy Research: A 10-Year Bibliometric and Visualization-Based Analyses of the Web of Science Core Collection (WoSCC)**. Front Neurol. v. 12, 2021.

Chen, H et al. **The value of the lipopolysaccharide-induced acute lung injury model in respiratory medicine**. Expert Rev Respir Med. v. 6, p. 773, 2010.

Matute-Bello, G et al. **Animal models of acute lung injury**. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. v. 3, p. 379, 2008.

Thompson, D F; Walker, C K. **A descriptive and historical review of bibliometrics with applications to medical sciences**. Pharmacotherapy. v. 6, p. 551, 2015.



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

REDUÇÃO *IN VITRO* DE BIOFILME BACTERIANO DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* MEDIADA POR BACTERÍOFAGOS VISANDO APLICAÇÃO EM ELEMENTOS DE PRÓTESES DENTÁRIAS E ORTOPÉDICAS

SOUSA, Amanda. K. F; CORRÊA, Evelin. P; ELOIS, Mariana. A.

LANNA, Maria. C. S; FONGARO, Gislaine.
amandakellyferreirasousa@gmail.com

Palavras-chave: Resistência Antimicrobiana; Fagoterapia; Biofilme; Materiais.

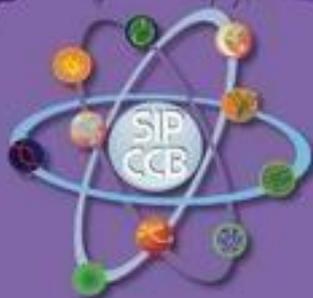
1 INTRODUÇÃO

Mediante o aumento da expectativa de vida humana e a estimativa elevada da necessidade de substituição e reparo das funções biológicas ao longo dessa expectativa, estima-se que maior será o número de pessoas hospitalizadas e que irão receber implantes biomédicos, o que torna iminente o estudo de métodos que viabilizam o controle e prevenção da formação de biofilmes bacterianos nesses implantes, pois a presença desses biofilmes torna-se um sério agravo para a saúde pública, devido ao aumento da resistência dos microrganismos a agentes antimicrobianos e ao grande potencial que estes têm de causar infecções em pacientes mais suscetíveis e especialmente, em pacientes, portadores de implantes ou próteses, visto que a formação de biofilmes nesses dispositivos impactam em rejeição de peças e na saúde humana (OLIVEIRA, 2021).

Os bacteriófagos se apresentam como importantes ferramentas no controle bacteriano, sendo seu estudo pertinente para fins de aplicação em materiais utilizados para próteses. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi avaliar a redução de biofilmes mediada por bacteriófagos visando aplicação em elementos de próteses dentárias e ortopédicas compostas por titânio. Para tanto, como objetivos específicos, foi avaliado a formação de biofilme *in vitro* usando *Pseudomonas aeruginosa* aplicada em superfícies de elementos de próteses dentárias e ortopédicas compostas por titânio, bem como, realizado a seleção e aplicação de bacteriófagos capazes de infectar a cepa bacteriana de interesse, visando profilaxia e controle de biofilmes.

2 METODOLOGIA

As amostras de elementos de próteses dentárias e ortopédicas em titânio utilizadas, foram cedidas pelo Centro de Ensino e Pesquisas em Implantes Dentários (CEPID) da Universidade Federal de Santa Catarina. Os Bacteriófagos testados foram provenientes do banco de vírus do Laboratório de Virologia Aplicada, com identificação e classificação em andamento. Tais fagos, computando 5 tipos, foram



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

testados quanto a capacidade de crescimento com perfil lítico em *Pseudomonas aeruginosa* seguindo metodologia de dupla camada de ágar (SEJAS, et al., 2003).

A indução de biofilme *in vitro* foi realizada utilizando placa de 24 cavidades por meio da imersão dos discos de titânio em meio contendo a suspensão bacteriana em titulação conhecida (10^{-8}) e incubação ($37\text{ }^{\circ}\text{C}$) pelo período de 7 dias, conforme adaptado do estudo de Freitas; Sand e Simonetti (2010). A cada 24 horas foi realizado a troca do meio nutriente. Após este período, os discos foram lavados, fixados e corados através do método de coloração de DNA com bisbenzimidazina (HOECHST 33258) e analisados em microscopia de fluorescência, ambos os processos foram realizados em triplicata.

A formação de biofilme também foi avaliada em placas de microtitulação de poliestireno pelo método de Cristal Violeta descrito por Stepanovic et al., (2007) com pequenas modificações, seguindo as etapas de incubação, fixação, coloração e leitura das absorbâncias na placa de microtitulação, respectivamente. A avaliação de formação de biofilme foi realizada através da leitura da absorbância de cada poço utilizando-se leitor de placas, em comprimento de onda de 600 nm.

A avaliação e incorporação de bacteriófagos no controle de biofilmes em corpos de prova de titânio foi realizada mediante aplicação de 1000 μL da solução de cada um dos bacteriófagos isolados (contendo 10^9 UFP/mL), sendo conduzido dois experimentos separados e destrutivos: Experimento 1 – atividade de desagregação e destruição de biofilmes bacterianos estabelecido. Experimento 2 – atividade profilática dos bacteriófagos no combate à formação de biofilme.

No experimento 1 os biofilmes foram gerados sob os corpos de prova de titânio com metodologia descrita anteriormente, e os fagos foram usados para fins de desagregação de biofilme; já no experimento 2 os fagos foram disponibilizados nos corpos de prova estéreis e após 1 h foi realizada a propagação de biofilme bacteriano. Os corpos de prova contendo bactérias e bacteriófagos foram incubados a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24/48 horas e a atividade profilática e de controle de biofilme verificada por coloração usando bisbenzimidazina (HOECHST 33258) seguido de observação microscópica com fluorescência.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme observado em micrografias, a adesão bacteriana na superfície dos fragmentos de titânio foi observada após dois dias de incubação, sendo melhor observada, no sétimo dia. Alguns estudos, como o de Freitas et al., (2010) consideraram como biofilme a adesão bacteriana visível a partir do terceiro dia de incubação, utilizando-se este critério os dados deste trabalho sugerem que a bactéria testada produziu biofilme de forma aderida a superfície aos discos utilizados.

Dessa forma, considera-se que a adesão bacteriana e a produção de biofilme são resultadas de um processo multifatorial, um dos fatores importantes em relação a *P. aeruginosa* é que a carga da sua superfície, que nas bactérias Gram-negativas



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

possui carga elétrica negativa, devido a presença de lipopolissacarídeos e ácido teicoicos. Esse fato corrobora e explica a expressiva adesão bacteriana aos fragmentos de titânio, bem como, pode ser facilitada pela presença de fragelos da cepa utilizada, pois estas estruturas confere mobilidade à bactéria, facilitando o acesso bactéria-substrato na superfície (PEREIRA, 2011).

Contudo, os resultados preliminares obtidos, demonstraram que a utilização dos bacteriófagos até então isolados pelo banco de vírus do Laboratório de Virologia Aplicada-UFSC com caracterização em andamento, foram eficientes na desagregação e destruição do biofilme previamente estabelecido, como também, atuaram de forma eficaz na atividade profilática da formação do biofilme, haja visto que após sua aplicação não houve crescimento bacteriano na superfície dos discos de titânio, observados em microscopia de fluorescência. Resultados esses, validados pelo estudo de Silankorva (2004) ao qual foi demonstrado que a aplicação dos bacteriófagos, sob condições ótimas e na presença do hoespeiro crescidos à temperatura e meio de crescimento ótimo, são muito eficientes na remoção de biofilmes em seu estado inicial (células aderidas a superfícies) e biofilmes maduros, tendo em vista a remoção comprovada acima dos 80% (SILANKORVA, 2004). É importante ressaltar que os resultados aqui descritos são de caráter preliminar e o estudo encontra-se em desenvolvimento.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados preliminares, os bacteriófagos tem sido capazes de interferir no controle de biofilmes de *P. aeruginosa* em superfícies de titânio de elementos de próteses dentárias e ortopédicas. Por outro lado, ensaios adicionais devem ser realizadas, para que ocorra o alcance pleno do objetivo proposto.

5 REFERÊNCIAS

- OLIVEIRA, Viviane de Cássia. Bacteriófagos com potencial aplicabilidade em tubos endotraqueais: avaliação das atividades antibacteriana e antibiofilme. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. Disponível em: <https://doi.org/10.11606/T.22.2021.tde-24082021-155007>. Acesso em: set. 2022.
- SEJAS, Lilian M. et al. Avaliação da qualidade dos discos com antimicrobianos para testes de disco-difusão disponíveis comercialmente no Brasil. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 39, p. 27-35, 2003. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1676-24442003000100006>>. Acesso em: set. 2022.
- SILLANKORVA, Sanna et al. Bacteriophage Φ S1 infection of *Pseudomonas fluorescens* planktonic cells versus biofilms. *Biofouling*, v. 20, n. 3, p. 133-138, 2004. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/08927010410001723834>>. Acesso em: set. 2022.



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

EFEITOS DA EXPOSIÇÃO REPETIDA DO HERBICIDA ÁCIDO 2,4-DICLOROFENOXIACÉTICO (2,4-D) NO COMPORTAMENTO DE PEIXES-ZEBRA ADULTOS.

OLIVEIRA, Breno R. F.; KREMER, Rafael; NETO, José R. S.; PEREIRA, Aline G.

IZÍDIO, Geison S.
brenooliveira238@gmail.com
Universidade Federal de Santa Catarina

Palavras-chave: Pesticidas; Agroquímicos; Ecotoxicologia.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil ocupa papel de destaque no quadro mundial quando se trata de produção agrícola, produzindo em larga escala culturas como soja, cana-de-açúcar, laranja, café e outras. Esta produção é acompanhada por intensa utilização de agrotóxicos, sendo observado nos últimos anos um aumento na liberação de novas formulações e comercialização desses compostos, principalmente em relação ao grupo dos herbicidas, com destaque para o glifosato e o 2,4-D (BROVINI *et al.*, 2021). O 2,4-D é o segundo agrotóxico mais utilizado no Brasil e tem como finalidade a eliminação de ervas daninhas.

Estudos sugerem que o 2,4-D pode provocar efeitos danosos aos organismos não-alvos (ISLAM *et al.*, 2018), sendo os organismos aquáticos presentes em rios e lagos próximos a lavouras um dos mais suscetíveis a contaminação por agrotóxicos (ISLAM *et al.*, 2018; MATVIISHYN *et al.*, 2014). Nesse sentido, avaliações comportamentais podem fornecer informações relevantes para compreensão dos efeitos tóxicos do 2,4-D (ORGER; DE POLAVIEJA, 2017). Além do mais, ainda há uma lacuna de informações sobre os efeitos deste herbicida. Assim, o objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos da exposição repetida de diferentes concentrações do 2,4-D no comportamento de peixes-zebra adultos.

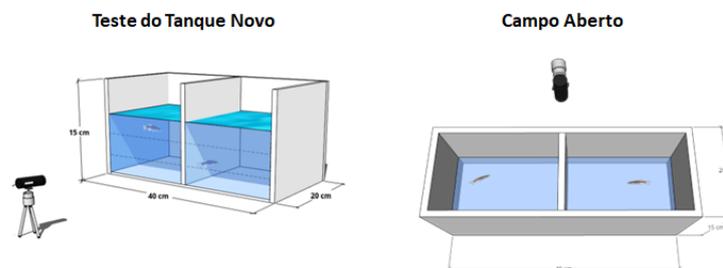
2 MATERIAL E MÉTODOS

Peixes-zebra *Danio rerio* adultos foram obtidos de lojas de aquarismo de Santa Catarina. Os animais foram ambientados durante duas semanas no laboratório com temperatura aproximada de 23°C, ciclo 14 -10 h, e alimentação 2x/dia. Após isso, os animais foram divididos em 4 grupos: Controle (sem 2,4-D); 0,03 mg/L; 0,3 mg/L; 3,0 mg/L de 2,4-D com o n = 8-10/grupo. Foram expostos ao 2,4-D durante 7 dias, e ao final da exposição foram submetidos a avaliação comportamental através do Teste do Tanque Novo (*Novel Tank Test* - NTT) e Campo Aberto (CA) durante 5 minutos

VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

cada (Figura 1). Os testes foram documentados em vídeo e analisados no software ANY-maze versão 7.1. A análise estatística foi feita pelo software GraphPad Prism 8, sendo aplicado a testes de normalidade Shapiro-Wilk e método de ROUT para identificação de outliers. Em seguida foi aplicado análise de variância (ANOVA) de uma via e pós teste de Dunnett. Projeto aprovado no CEUA, nº 6778251119.

Figura 1. Ilustração dos aparatos comportamentais. A esquerda o teste do tanque novo e a direita o campo aberto.



Fonte: Autor

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No teste do NTT foi observado que o 2,4-D provocou alteração na atividade locomotora dos peixes-zebra, havendo uma diminuição da distância total percorrida ($F(3,31) = 3,021$; $p < 0,05$) e número de linhas cruzadas ($F(3,30) = 9,89$; $p < 0,01$) dos animais exposto à concentração de 3,0 mg/L em relação ao controle. Em relação ao número de entradas em cada zona do aparato, houve diminuição de entradas na zona inferior ($F(3,30) = 5,183$; $p < 0,01$) e certa tendência de evitar visitas à zona superior ($p < 0,09$) do grupo 3,0 mg/L em comparação ao controle. Observou-se um efeito marginal na distância percorrida na zona superior ($p < 0,07$), sendo menor do grupo 3,0 mg/L de 2,4-D em relação ao controle. Em relação ao tempo de permanência em cada zona do aparato, não foram encontradas diferenças significativas.

O estudo de Thiel e colaboradores (2020) também observaram alterações comportamentais em peixes-zebra após exposição ao herbicida 2,4-D no teste do NTT, entretanto foi observado um aumento na atividade locomotora em baixas concentrações de 2,4-D (3 e 300 µg/L), divergindo dos nossos achados. A diminuição no número de entradas na zona inferior e a tendência da zona superior do grupo de 3,0 mg/L foi em decorrência de uma diminuição da atividade locomotora dos animais deste grupo, visto que foi observada uma diminuição no número de linhas cruzadas deste grupo.

Na tarefa do CA houve um aumento da atividade locomotora dos animais expostos ao 2,4-D. Os grupos 0,3 e 3,0 mg/L apresentaram um aumento na distância



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

total percorrida em comparação ao grupo controle ($F(3,31) = 4,565$; $p < 0,05$ e $p < 0,01$, respectivamente) e o grupo 0,03 mg/L apresentou um aumento na velocidade máxima ($F(3,31) = 10,81$; $p < 0,01$). Verificamos que o grupo de menor concentração (0,03 mg/L) apresentou tendência no número de entradas ($p < 0,09$) e tempo de permanência ($p < 0,06$) no centro do aparato em comparação ao controle.

Ao que sabemos, está é a primeira vez que foi avaliado os efeitos do 2,4-D utilizando o CA em peixes-zebra. Apesar dos aparatos do NTT e o CA serem muito semelhantes em nosso experimento, eles possivelmente apresentam paradigmas diferentes (KYSIL *et al.*, 2017). Isto fica claro quando observamos diferenças nos resultados em relação a atividade locomotora, tendo um aumento na distância percorrida dos grupos 0,3 e 3,0 mg/L de 2,4-D, divergindo do resultado do NTT. Observamos uma tendência do grupo 0,03 mg/L em aumentar o número de visitas e o tempo no centro do aparato. Mais estudos são necessários para verificar se de fato há alteração da tigmotaxia desses animais.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho demonstrou que o herbicida 2,4-diclorofenoxiacético é capaz de provocar alterações no comportamento de peixes-zebra adultos. Destacamos, neste trabalho, a importância de avaliar concentrações ambientalmente relevantes para melhor compreensão dos efeitos tóxicos dos agrotóxicos.

5 REFERÊNCIAS

- BROVINI, E. M. *et al.* Three-best-seller pesticides in Brazil: Freshwater concentrations and potential environmental risks. *Science of the Total Environment*, v. 771, 1 jun. 2021.
- ISLAM, F. *et al.* Potential impact of the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on human and ecosystems. *Environment International*, v. 111, n. December 2017, p. 332–351, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.10.020>>.
- KYSIL, E. V. *et al.* Comparative Analyses of Zebrafish Anxiety-Like Behavior Using Conflict-Based Novelty Tests. *Zebrafish*, v. 14, n. 3, p. 197–208, 2017.
- MATVIISHYN, T. M. *et al.* Tissue-specific induction of oxidative stress in goldfish by 2,4-dichlorophenoxyacetic acid: Mild in brain and moderate in liver and kidney. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 37, n. 2, p. 861–869, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2014.02.007>>.
- ORGER, M. B.; DE POLAVIEJA, G. G. Zebrafish Behavior: Opportunities and Challenges. *Annual Review of Neuroscience*, v. 40, n. 1, 2017.
- THIEL, N. A. *et al.* Exposure to the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid impairs mitochondrial function, oxidative status, and behavior in adult zebrafish. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 27, n. 36, p. 45874–45882, 2020.



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

MICROBIOTA EM MOLUSCOS BIVALVES: DETERMINAÇÃO DE PROTOCOLO PARA ISOLAMENTO DE FUNGOS E CONTAGEM DE BACTÉRIAS

BISCAINO, Carla dos Santos; GARCIA-TEODORO, Beatriz; LOPES, Joana Camila.

ROBL, Diogo
ROSA, Rafael Diego da
carla.biscaino@posgrad.ufsc.br
Universidade Federal de Santa Catarina

Palavras-chave: Moluscos bivalves; Microbiota; Fungos; Bactérias; Isolamento.

1 INTRODUÇÃO

Moluscos bivalves alimentam-se através da filtração da matéria orgânica presente em suspensão na água, hábito, este, que lhes promove a capacidade de acumular em seus corpos microrganismos e substâncias tóxicas ou não ao animal e ao ser humano (SCHWAB *et al.*, 1998; SAPKOTA *et al.*, 2008). Com o rápido crescimento mundial da aquicultura, compostos de atividade antimicrobiana para controle de patógenos de espécies aquáticas são de cada vez maior importância (SIQUEIRA, 2017).

A microbiota dos moluscos bivalves é investigada principalmente para fins de controle de patógenos, como fungos produtores de micotoxinas e bactérias, tais como as do gênero *Vibrio*. Apesar de pouco explorados pela comunidade acadêmica, microbiota de moluscos bivalves é descrita com grande potencial biotecnológico, principalmente como produtores de metabólitos secundários com propriedades antibióticas, antitumorais e citotóxicas (ROMANENKO *et al.*, 2008; GLADFELTER; JAMES; AMEND, 2019). Um exemplo é a chaunopirana A, um composto de classe rara com atividade antimicrobiana, produzido por *Chaunopycis* sp., fungo isolado do molusco *Siphonaria* sp., em co-cultivo com *Trichoderma hamatum* (SHANG; SALIM; CAPON, 2017). Neste contexto, é palpável a escassez e a necessidade de protocolos para seu isolamento de fungos em moluscos bivalves.

Considerando a falta de protocolos para isolamento de fungos de moluscos bivalves, este trabalho tem como objetivo o desenvolvimento de um protocolo de isolamento e identificação morfológica dos fungos, bem como contagem de fungos, bactérias e bactérias do gênero *Vibrio* presentes nos moluscos *C. gigas* e *P. perna* na ilha de Santa Catarina.

2 MATERIAIS E MÉTODOS



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

Os animais foram fornecidos pelo Laboratório de Moluscos Marinhos (UFSC) no dia seis de setembro de 2022 e mantidos em sacos plásticos sob refrigeração até seu processamento. Os moluscos foram lavados externamente com água destilada, secos e desinfetados com álcool 70 °GL, seguido de exposição à radiação ultravioleta por 15 min. A carne dos animais foi homogeneizada em TRIS salina (10 mmol/L de TRIS, 330 mmol/L cloreto de sódio) através de um liquidificador industrial (1:1 w/w) e diluídas em até diluição 10^{-7} .

Para o isolamento de fungos filamentosos e leveduriformes utilizou-se os meios BDA (Batata, Dextrose, Ágar) e YPD (Yeast extract, Peptone, Dextrose – Extrato de Levedura, Peptona, Dextrose – 20 g/L de peptona; 20 g/L de glicose; 10 g/L de extrato de levedura; 20 g/L de ágar) marinhos (água marinha ultrafiltrada com salinidade 35 foi utilizada ao invés de água destilada) em pH 5 e 7,5, suplementados com cloranfenicol 0,05 g/L. Foram inoculados 0,1 mL das amostras nas diluições 10^{-1} a 10^{-3} em triplicata. As placas foram mantidas a $20\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$. Os fungos foram isolados ao decorrer de 15 dias, conforme crescimento e as bactérias foram contadas após 24 h e 48 h.

Para contagem de bactérias, foi utilizado o meio marinho Zobell (4 g/L de peptona; 1 g/L de extrato de levedura; 23,4 g/L de cloreto de sódio; 1,5 g/L de cloreto de potássio; 1,2 g/L de sulfato de magnésio; 0,2 g/L de cloreto de cálcio; 20 g/L de ágar bacteriológico; 1 L de água destilada; pH final de 7,6), em que foram inoculadas as diluições 10^{-5} a 10^{-7} , também em triplicata e incubadas a 20 °C por 72h.

Para a contagem das bactérias do gênero *Vibrio*, utilizou-se o meio seletivo TCBS (ágar de tiosulfato, citrato, biliar e sacarose) sem enriquecimento prévio nas diluições 10^{-5} a 10^{-7} , em triplicata e incubadas a 37 °C por 72 h.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não se utilizou a contagem de fungos e bactérias devido às diluições terem sido muito altas. Entretanto, como resultado parcial, um total de 33 fungos foram isolados. Destes, 19 são de origem de *C. gigas*, em que 9 foram isolados em meio BDA marinho (4 em pH 5,0 e 5 em pH 7,5) e 10 em meio YPD marinho (3 em pH 5,0 e 7 em pH 7,5). 25 fungos foram isolados de *P. perna*, sendo 18 em meio BDA marinho (12 em pH 5,0, sendo dois leveduriformes, e 6 em pH 7,5), 6 em YPD marinho (4 em pH 5,0 e 2 em pH 7,5) e um em Ágar Zobell.

A identificação dos fungos isolados ainda está em andamento. Assim, não é possível afirmar se a composição ou pH dos meios são significativos na obtenção de maior biodiversidade isolada a partir da carne dos moluscos. Entretanto, não se verificou crescimento de fungos e leveduras nas placas cujo inóculo tenha sido na diluição 10^{-3} , o que sugere que, para isolamento e contagem de fungos, inóculos de maior concentração sejam necessários.



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através dos resultados parciais obtidos até então, ainda não foi possível estabelecer um protocolo para isolamento de fungos oriundos da carne de moluscos bivalves. Entretanto, percebe-se que, apesar de se tratar de seres bioacumuladores, para isolamento e contagem de microrganismos presentes, é necessário utilizar diluições mais concentradas como inóculo. Além disso, verifica-se que para contagem de bactérias do gênero *Vibrio*, seja necessário um enriquecimento prévio à inoculação.

5 REFERÊNCIAS

- GLADFELTER, Amy S.; JAMES, Timothy Y.; AMEND, Anthony S.. Marine fungi. **Current Biology**, [S.L.], v. 29, n. 6, p. 191-195, mar. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2019.02.009>.
- SAPKOTA, Amir *et al.* Aquaculture practices and potential human health risks: current knowledge and future priorities. **Environment International**, [S.L.], v. 34, n. 8, p. 1215-1226, nov. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2008.04.009>.
- SCHWAB, Kellogg J. *et al.* Distribution of Norwalk Virus within Shellfish Following Bioaccumulation and Subsequent Depuration by Detection Using RT-PCR. **Journal Of Food Protection**, [S.L.], v. 61, n. 12, p. 1674-1680, 1 dez. 1998. International Association for Food Protection. <http://dx.doi.org/10.4315/0362-028x-61.12.1674>.
- SHANG, Zhuo; SALIM, Angela A.; CAPON, Robert J.. Chaunopyran A: co-cultivation of marine mollusk-derived fungi activates a rare class of 2-alkenyl-tetrahydropyran. **Journal Of Natural Products**, [S.L.], v. 80, n. 4, p. 1167-1172, 6 abr. 2017. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jnatprod.7b00144>.
- SIQUEIRA, Tagore Villarim de. **Aquicultura**: a nova fronteira para aumentar a produção mundial de alimentos de forma sustentável. 17. ed. Brasília: Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada, 2017. Disponível em: repositorio.ipea.gov.br. Acesso em: 29 set. 2022.
- ROMANENKO, Lyudmila A. *et al.* Isolation, phylogenetic analysis and screening of marine mollusc-associated bacteria for antimicrobial, hemolytic and surface activities. **Microbiological Research**, [S.L.], v. 163, n. 6, p. 633-644, nov. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2006.10.001>.



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

EMERGÊNCIA DE DUAS VARIANTES GAMA DISTINTAS DO SARS-CoV-2 E A RÁPIDA PROPAGAÇÃO DE P.1-LIKE-II DURANTE A SEGUNDA ONDA DE COVID-19 EM SANTA CATARINA, SUL DO BRASIL

AZEVEDO PADILHA, Dayane; FILHO, Vilmar; SIMÕES, Renato; APARECIDA TEIXEIRA SORATTO, Tatiany; HARTMANN BARAZZETTI, Fernando; ANDRÉ SCHÖRNER, Marcos; LEITE MARTINS, Carolina; KAZUO KAWAGOE, Eric; FONGARO, Gislaine; WAGNER, Glauber.

WAGNER, Glauber e FONGARO, Gislaine
dayufsc@gmail.com
Universidade Federal de Santa Catarina

Palavras-chave: SARS-CoV-2; Vigilância Genômica; Variante P.1-like II; Pandemia; Santa Catarina.

1 INTRODUÇÃO

A pandemia de COVID-19, causada pelo vírus SARS-CoV-2, é o desafio de saúde pública mais significativo do mundo nos últimos 100 anos. O SARS-CoV-2, causador da COVID-19, é um vírus de RNA fita simples de sentido positivo, da família *Coronaviridae*, responsável pela codificação de 29 proteínas e com genoma de aproximadamente 32 Kb. Suas proteínas podem ser não-estruturais, estruturais e acessórias, tendo como função a replicação, transcrição ou interação viral à célula hospedeira (YANG et al, 2021). Desde o início da pandemia, o SARS-CoV-2 sofreu mutações que levaram ao aparecimento de variantes de preocupação (VOC - *Variants of Concern*) e variantes de interesse (*Variants of Interest* – VOI), o que pode estar relacionado ao aumento da transmissibilidade, virulência e mortalidade (PADILHA et al, 2022). A mesorregião oeste do estado de Santa Catarina (SC), Sul do Brasil, foi fortemente afetada como um todo pela pandemia de COVID-19 no início de 2021. Este estudo teve como objetivo avaliar a dinâmica dos padrões de disseminação do vírus SARS-CoV-2 no estado de SC de março de 2020 a abril de 2021 usando vigilância genômica, ferramenta primordial para avaliar a dispersão e aparecimento de VOC e VOI e, assim, identificar risco, bem como soluções que possam reduzir a progressão da pandemia.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Amostras biológicas foram coletadas por *swab* de nasofaringe e o RNA viral foi extraído usando o Kit de RNA Viral. O SARS-COV-2 foi detectado nas amostras por



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

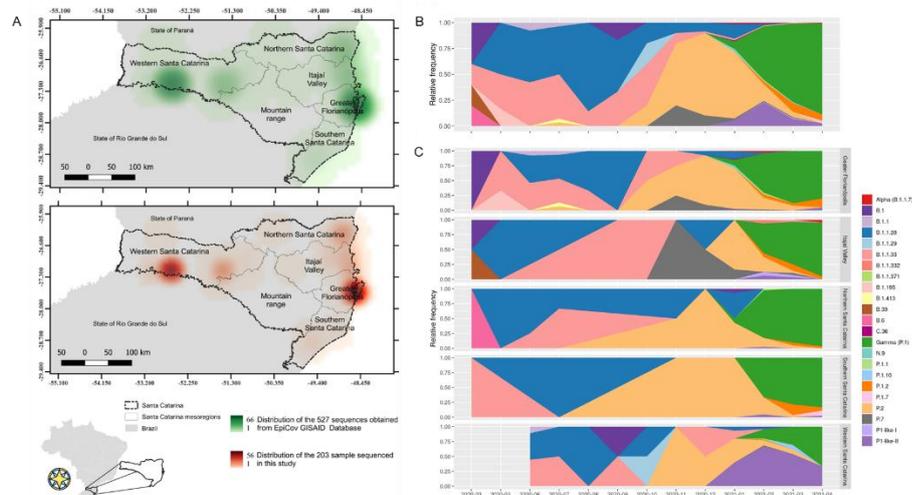
RT-PCR em tempo real. O DNA complementar foi sintetizado a partir do RNA viral original usando primers aleatórios e transcriptase reversa SuperScript IV. O genoma do SARS-CoV-2 foi amplificado usando Platinum Taq DNA polimerase *High Fidelity* usando 14 conjuntos de primers em reações individuais para amplificar diferentes regiões do genoma viral. Cada amplicon foi visualizado como um único fragmento de DNA intensamente corado na eletroforese em gel de agarose. As cópias de DNA em cada amplicom purificado foram reunidas. Uma única biblioteca foi construída usando o Nextera DNA Flex Library Prep e agrupada com MiSeq Reagent Micro Kit v2 (500 ciclos), seguindo os protocolos do fabricante. O sequenciamento dos nucleotídeos foi realizado na plataforma MiSeq (Illumina). Após a montagem dos genomas, realizamos uma análise nas plataformas Nextclade e Pangolin para classificar as variantes virais.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante um ano, foram coletadas 208 amostras em cinco macrorregiões do estado de Santa Catarina (Figura 1A), permitindo identificar 23 variantes e quatro VOC: B.1.1.7 (*Alfa*), P.1 (*Gamma*), P.1-Like-I e P.1-Like-II (Figura 1B e C). Maior disseminação viral e fuga do sistema imunológico são as consequências mais preocupantes da evolução genética do SARS-CoV-2. Nossos resultados mostram que a ocorrência de variantes parece depender do período de coleta, mas é independente da região de coleta. No entanto, uma transmissão familiar local da variante P.1 foi encontrada no oeste de Santa Catarina em Fevereiro de 2021. Curiosamente, esta transmissão local não teve evidência direta de contato entre hospedeiros infectados e um possível viajante, levando-nos a acreditar que poderia ser o caso de uma infecção autóctone. Até o momento, ainda há uma grande deficiência epidemiológica na vigilância genômica do SARS-CoV-2.

VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

Figura 1. (A) Mapa mostrando as sequências de SARS-CoV-2 de Santa Catarina obtidas do banco de dados GISAID EpiCov (mapa superior) e amostras sequenciadas neste estudo (mapa inferior) de março de 2020 a abril de 2021. (B) Análise do perfil de variantes considerando todo o estado de Santa Catarina. (C) O perfil variante por mesorregião de Santa Catarina de março a setembro de 2020



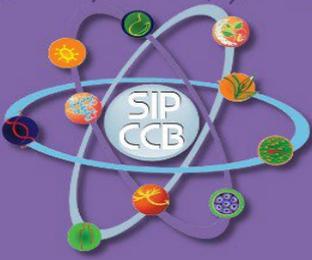
Fonte: Azevedo Padilha et al, 2022.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estes resultados destacam a importância de rastrear a emergência e dispersão de variantes e mutações do SARS-CoV-2 e seu impacto na saúde humana no estado de Santa Catarina. Este estudo nos permitiu observar os distintos padrões de circulação de diferentes variantes do SARS-CoV-2 nas regiões SC. Nossos dados sugerem introdução distinta e rápida disseminação do P.1-like-II nas regiões ocidentais de SC nos meses iniciais de 2021, onde foi responsável por taxas de hospitalização e mortalidade distintas e crescentes. Assim, a vigilância genômica contínua em tempo real do SARS-CoV-2 em Santa Catarina pode oferecer suporte epidemiológico preciso para a implementação e revisão de políticas e ações realizadas pelas autoridades de saúde pública para o controle da transmissão da COVID-19 e avaliação da eficácia da imunização.

5 REFERÊNCIAS

PADILHA, Dayane Azevedo et al. Emergence of Two Distinct SARS-CoV-2 Gamma Variants and the Rapid Spread of P.1-like-II SARS-CoV-2 during the Second Wave of COVID-19 in Santa Catarina, Southern Brazil. *Viruses*, [S. l.], v. 14, n. 4, p. 695, 2022. YANG H, Rao Z. Structural biology of SARS-CoV-2 and implications for therapeutic development. *Nat Rev Microbiol*. 2021 Nov;19(11):685-700. doi: 10.1038/s41579-021-00630-8.



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

O HNF4 α CONTROLA O AUMENTO DA MASSA DE CÉLULA BETA EM RESPOSTA AO AUMENTO DA DEMANDA METABÓLICA

DE RAMOS, Francieli Caroline; BARTH, Robsom; FRANÇA, Liana; RIZZON
SANTOS, Marcos; DOS SANTOS ALMEIDA, Milena; BORCHERO, Antonio Carlos.

JORGE DOS SANTOS, Gustavo
gustavo.js@ufsc.com

Palavras-chave: HNF ; Diabetes *Mellitus*; Resistência à Insulina; Dieta Hiperlipídica.

1 INTRODUÇÃO

Diabetes *Mellitus* (DM) é caracterizada por hiperglicemia crônica e distúrbio da metabolização de nutrientes, devido à destruição da massa secretora de insulina (DM1) ou à um estado de resistência à insulina (DM2). Ambas apresentam redução da massa secretora de insulina, a célula beta pancreática, portanto é importante investigar vias que aumentem a massa desse tipo celular. Os alvos para o tratamento do DM envolvem processos que promovem a restauração da massa de células beta funcionais, como diferenciação transdiferenciação e/ou replicação celular, um desses alvos pode ser a via que o *Hepatocyte Nuclear Factor 4- α* HNF está envolvido.

HNF4 é um importante fator de transcrição para as células beta, pois além de participar da expressão dos genes ligados a produção da insulina, regula a expressão de genes relacionados ao metabolismo da glicose. Além disso, sabe-se que o HNF4 é crucial para o aumento da massa de células beta induzida pela prenhez. No entanto, o papel do HNF4 na expansão da massa de célula beta em resposta ao aumento da demanda, como no estado de resistência à insulina, ainda é desconhecido.

Baseado no fato que esse pode ser um alvo terapêutico potencial para o DM, buscamos desvendar o papel do HNF4 nos mecanismos envolvidos na proliferação da célula beta induzida pela dieta hiperlipídica (HFD).

2 METODOLOGIA

Para essa proposta, usamos camundongos *WildType* (WT) e camundongos HNF4 *Knockout* (KO) específico na célula beta e condicionados pelo tempo (inativação do HNF4 acontece após a aplicação de tamoxifeno) alimentados com ou sem HFD.

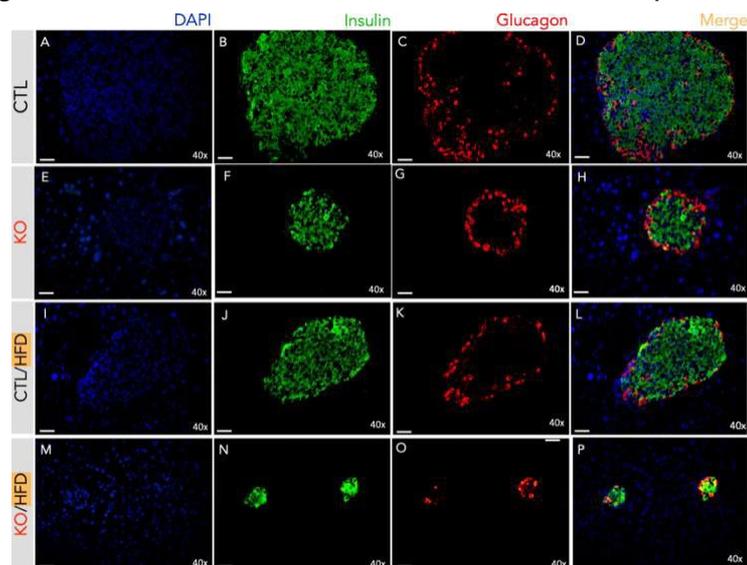
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após 20 semanas de exposição a HFD, avaliamos a massa corporal, tecido perigonadal, tolerância a glicose, sensibilidade à insulina, insulinemia e a morfometria pancreática. Como esperado, animais WT alimentados com HFD apresentaram aumento da massa corporal, do tecido perigonadal e intolerância a glicose.

VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

Por outro lado, observamos que animais KO foram mais susceptíveis a ação da HFD, apresentando glicemia de jejum aumentada e intolerância a glicose. O fenótipo dos animais KO alimentados com HFD foi semelhante ao perfil diabético. Além disso, a redução da sensibilidade foi observada em todos os animais expostos a HFD, independente do genótipo. A insulinemia dos animais KO/HFD estava reduzida em relação aos CTL/HFD, demonstrando que animais KO/HFD tiveram prejuízo na compensação adaptativa morfofuncional do pâncreas, comprovando o importante papel do HNF no metabolismo. Sabendo que já bem estabelecido que dietas hipercalóricas sobretudo hiperlipídicas têm potencial de gerar hiperinsulinemia, devido o aumento da demanda metabólica, o que não foi observado no grupo sem HNF. Em concordância, análise da massa de células beta, derivada da técnica de imunofluorescência (Figura 1) demonstrou que os animais KO/HFD não foram capazes de expandir a massa dessas células comparando com animais CTL/HFD (Figura 2).

Figura 1 – Painel Imunofluorescência Ilhotas das pancreáticas

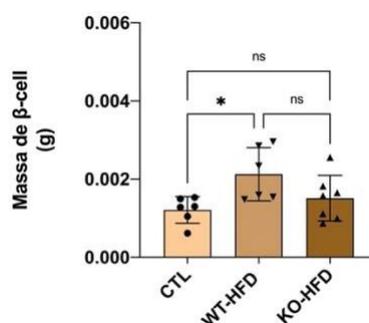


Fonte: Os autores

Barras da escala significam 100 μ m em uma magnitude final de 10x e 40x, como indicado na figura (A-P).

VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

Figura 2 – Massa de célula beta



Fonte: Os autores.

O cálculo da massa de célula beta foi feito em duplicata a partir de dois cortes diferentes do pâncreas do mesmo animal CTL: n = 3, CTL/HFD: n = 3, KO/HFD: n = 5. média \pm SEM. Valores de p apresentados como * $p < 0,05$, ANOVA de 1-via com pós hoc de Tukey.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Juntando o fato que: (1) camundongos KO foram mais susceptíveis a ação da HFD, ao ponto de apresentarem características diabéticas e (2) camundongos KO/HFD apresentaram redução da capacidade de expandir massa de célula beta em um cenário de demanda metabólica aumentada, concluímos que o HNF é importante para as adaptações pancreáticas induzidas por HFD.

4 REFERÊNCIAS

American Diabetes Association. **Stand. of Med. Care in Diab.** Diabetes Care 2021 v. 44 (Suppl 1): S3-11.

GUO, S. Novel mechanisms of regulation of the expression and transcriptional activity of hepatocyte nuclear factor 4. **J Cell Biochem**, v. 120, p. 519, 2018.

GUPTA, *et al.* Expansion of adult β -cell mass in response to increased metabolic demand is dependent on HNF-4. **Genes & develop.** v. 21, n. 7, p. 756, 2007.

GUPTA, *et al.* HNF-4: from MODY to late-onset type 2 diabetes. **Trends in mol. Med.**, v. 10, p. 52, 2004.



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

O MODELO DE INJEÇÃO INTRAPERITONEAL DE FEZES EM RATOS REPRODUZ AS ALTERAÇÕES CARDIOVASCULARES OBSERVADAS NA SEPSE?

DELFRATE, Gabrielle; PACHECO, Soares Vanessa.

FERNANDES, Daniel.

fernandes.d@ufsc.br

Universidade Federal de Santa Catarina

Palavras-chave: Peritonite; Modelo animal; Choque séptico.

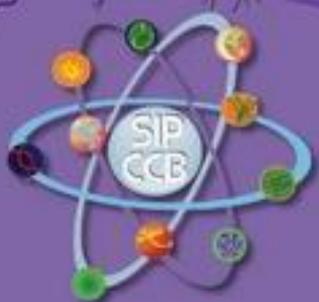
1 INTRODUÇÃO

A sepse é definida como uma disfunção orgânica causada por uma resposta desregulada do hospedeiro a uma infecção (SINGER et al., 2016). O modelo experimental de ligadura e perfuração cecal (CLP) é amplamente utilizado para o estudo da patogênese e terapêutica da sepse. Porém, diante da alta invasividade do CLP, se faz necessário refinar os modelos atuais, a fim de diminuir o sofrimento do animal e reduzir a variabilidade dos resultados (REMICK et al., 2019). Nesse contexto, o modelo de injeção intraperitoneal de fezes (FIP) pode ser uma alternativa. Entretanto, ainda não é descrito na literatura se o modelo FIP é capaz de reproduzir a disfunção do sistema cardiovascular característica de pacientes sépticos. Portanto, o objetivo desse estudo foi avaliar o potencial do modelo FIP em reproduzir as alterações cardiovasculares induzidas pela sepse em comparação ao modelo atualmente utilizado (CLP).

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados ratos machos *Wistar* fornecidos pelo biotério central da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), (nº protocolo CEUA UFSC: 9785211221). Os animais foram submetidos ao procedimento de CLP ou FIP, e avaliados após 24 horas. Animais NAIVE (sem intervenção) foram utilizados como controles.

A pressão arterial média dos animais foi mensurada por um método invasivo em ratos anestesiados com 90 mg/kg de cetamina IP e 10 mg/kg de xilazina IP. Foi inserido uma cânula de polietileno na carótida esquerda, acoplada a um transdutor de pressão conectado ao sistema Powerlab 8/30, sendo assim obtidos os valores de pressão arterial média e frequência cardíaca. Um acesso venoso foi utilizado para a administração de vasoconstritores (fenilefrina e angiotensina II). Além disso, a



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

reatividade vascular foi avaliada em anel de aorta isolado. Para isso, a aorta torácica dos animais foi dissecada e montada em um miógrafo de tensão (Solução nutritiva de Krebs; 37°C; 95% O₂; 5% CO₂). Assim, foram adicionadas concentrações crescentes cumulativas de fenilefrina a fim de obter uma curva concentração-resposta.

A concentração plasmática dos níveis de nitrato + nitrito (NOx) em μM foi determinada indiretamente pela mensuração dos íons com Reagente de Griess. Os níveis plasmáticos de lactato (mg/dL) foram mensurados no sangue periférico por meio do aparelho Accutrend® Plus (Roche Diagnostics) e o escore de sepse em murinos, conforme Shrum et al. (2014), foi avaliado no tempo 0, 6 e 24 horas. Para determinar a taxa de sobrevivência, os animais foram submetidos a sepse por CLP ou FIP e acompanhados por 120 horas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

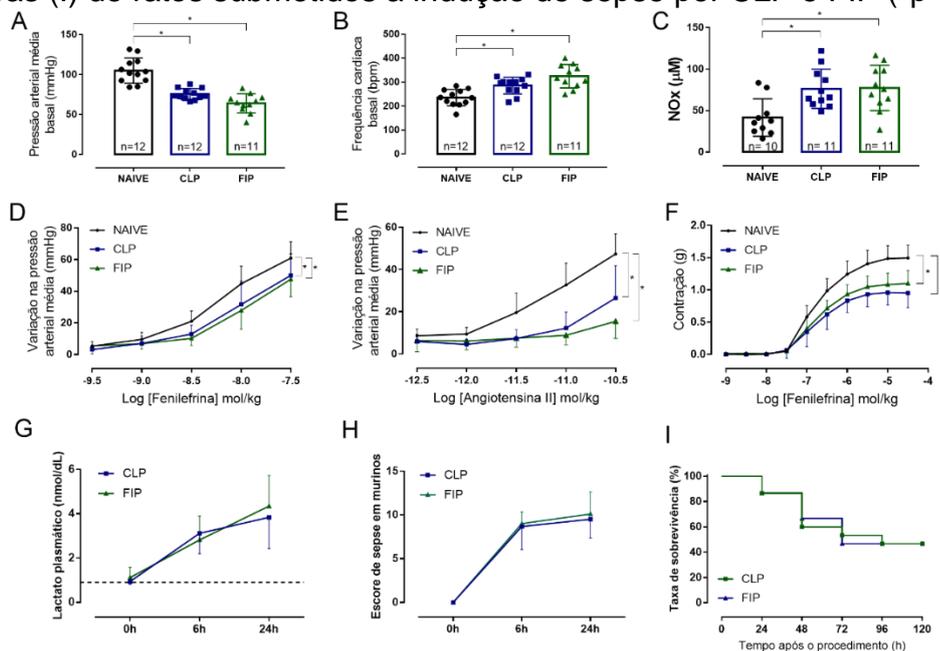
A sepse induz a produção de óxido nítrico (NO) via iNOS, sendo este um dos fatores que contribuem para a hipotensão severa observada na clínica. Ainda, a frequência cardíaca se eleva no intuito de aumentar o débito cardíaco e restaurar a pressão arterial. No presente trabalho, os grupos CLP e FIP apresentaram diminuição da pressão arterial média (Figura 1A), aumento da frequência cardíaca (Figura 1B) e aumento dos níveis plasmáticos de metabólitos do NO (nitrato+nitrito) (Figura 1C), em comparação ao grupo NAIVE, 24 horas após a indução de sepse.

Além disso, tanto o grupo CLP quanto FIP demonstraram diminuição da resposta pressórica à fenilefrina (Figura 1D) e angiotensina II (Figura 1E), e diminuição da resposta contrátil à fenilefrina em anéis de aorta isolado (Figura 1F), em comparação a animais NAIVE. A diminuição da resposta a vasoconstritores já é bem estabelecida no modelo CLP (SORDI; FERNANDES; ASSREUY, 2010), entretanto, é a primeira vez que é demonstrada no modelo FIP. A hiporresponsividade à vasoconstritores é um dos principais desafios no manejo da sepse humana, visto que a hipotensão severa e refratária acarreta em hipoperfusão de órgãos, um fator que está diretamente relacionado a alta mortalidade.

O lactato é produzido em condições de hipóxia, sendo um marcador importante de disfunção de órgãos na sepse humana (SINGER et al., 2016). No presente estudo, houve elevação significativa do lactato plasmático em 6 e 24 horas (Figura 1G), indicando que os animais ficaram sépticos. O escore de sepse em murinos, que leva em consideração parâmetros clínicos como aparência, consciência, nível de resposta, atividade e taxa de respiração, se mostrou elevado em 6 e 24 horas, sem diferença entre CLP e FIP (Figura 1H). Além disso, ambos os modelos apresentaram taxa de sobrevivência de 46,67%, 5 dias após indução de sepse (Figura 1I).

VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

Figura 1 – Pressão arterial média basal (A) e após administração de fenilefrina (D) e angiotensina II (E), frequência cardíaca basal (B), níveis de nitrito + nitrito plasmático (C), resposta contrátil de anéis de aorta à fenilefrina (F), níveis de lactato plasmático (G) e escore de sepse em ratos (H) em 0, 6 e 24 horas, e taxa de sobrevivência em 120 horas (I) de ratos submetidos a indução de sepse por CLP e FIP (*p<0,05).



4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Além de oferecer vantagens na padronização da severidade e diminuição de custo, o modelo FIP reproduziu as alterações cardiovasculares observadas na sepse, podendo ser implementado para o estudo dessa condição.

5 REFERÊNCIAS

- REMICK, Daniel G. et al. Premise for standardized sepsis models. **Shock** (Augusta, Ga.), v. 51, n. 1, p. 4, 2019.
- SHRUM, Bradly et al. A robust scoring system to evaluate sepsis severity in an animal model. **BMC research notes**, v. 7, n. 1, p. 1-11, 2014.
- SINGER, Mervyn et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3). **Jama**, v. 315, n. 8, p. 801-810, 2016.
- SORDI, Regina; FERNANDES, Daniel; ASSREUY, Jamil. Differential involvement of potassium channel subtypes in early and late sepsis-induced hyporesponsiveness to vasoconstrictors. **Journal of cardiovascular pharmacology**, v. 56, n. 2, p. 184-189, 2010.



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

PREVALÊNCIA E PERFIL DE RESISTÊNCIA À ANTIMICROBIANOS DE *ESCHERICHIA COLI* PATOGENICA AVIÁRIA ISOLADA EM AVES BRASILEIRAS

PILATI, Giulia; SAVI, Beatriz; SALLES, Gleidson; MUNIZ, Eduardo.

FONGARO, Gislaine
giuliavpilati@gmail.com
UFSC

Palavras-chave: *Escherichia coli* patogênica aviária; resistência antimicrobiana; avicultura brasileira; colibacilose.

1 INTRODUÇÃO

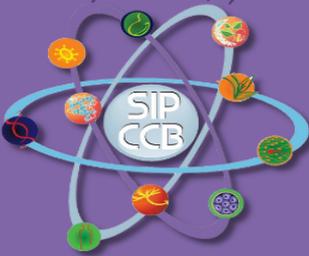
Em 2021, a produção mundial de carne de frango totalizou 99.901 milhões de toneladas. O Brasil é um dos maiores produtores e exportadores de carne de frango do mundo. Segundo a Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA), em 2021, o Brasil produziu 14.329 milhões de toneladas de carne de frango, sendo o terceiro maior produtor mundial. Desta produção, 32,17% foram destinados à exportação, representando 4.610 milhões de toneladas, atendendo 150 países, mantendo o Brasil como maior exportador do mundo (ABPA, 2022).

Os resultados alcançados estão relacionados a fatores como melhoramento das linhagens, automatização e intensificação do sistema produtivo, controle das condições sanitárias de criação, aperfeiçoamento de pessoal quanto ao manejo das aves e um sistema de produção integrado. Porém, a alta população de aves no mesmo ambiente torna-se um fator de risco sanitário, favorecendo a disseminação de microrganismos patogênicos, principalmente os que acometem o sistema respiratório (INOUE; CASTRO, 2009).

Escherichia coli patogênica aviária (APEC) é o patógeno causador da colibacilose, doença que pode ter manifestações localizadas ou sistêmicas. Por este motivo, a colibacilose é uma das principais doenças que acarretam prejuízos econômicos por meio de morbidade, mortalidade e por ser uma das principais doenças infecciosas envolvidas na condenação de carcaças de frango (NOLAN et al., 2020). Aliado a isso, está o problema atual da resistência antimicrobiana e o surgimento de bactérias multirresistentes que ameaçam a segurança da cadeia alimentar. Portanto, este estudo tem como objetivo investigar a prevalência de *Escherichia coli* patogênica aviária em fêmures obtidos de frangos necropsiados em granjas distribuídas por todo o Brasil, bem como avaliar o perfil de resistência antimicrobiana de colônias características de *E. coli* isoladas dos fêmures.

2 METODOLOGIA

Foram coletadas amostras de carcaças de frangos de corte de 100 lotes dos estados do Paraná (n=30), Santa Catarina (n=15), Rio Grande do Sul (n=15),



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

e novembro de 2021.

Os lotes foram selecionados com base no histórico de problemas respiratórios, as aves necropsiadas tinham entre 13 e 32 dias de idade. Além do histórico, alguns dos lotes apresentavam sinais clínicos respiratórios como espirros, ronqueira e corrimento nasal.

Para cada lote coletou-se foram coletados três fêmures, que foram encaminhados ao Laboratório de Virologia Aplicada (LVA) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) onde foram recepcionadas e processadas.

Os fêmures foram processados de forma asséptica, sendo realizada coleta medula óssea com *swab*, que foi suspenso em tampão salina. Para o isolamento de *E. coli*, os *swabs* foram inoculados em ágar MacConkey, e incubados a 37°C por 24h. Colônias típicas de *E. coli* (coloração rosa) obtidas a partir da cultura em ágar MacConkey foram isoladas, repicadas e armazenadas.

Para a identificação e confirmação de que as colônias eram APEC, foi realizada extração de DNA genômico, através do método de fenol-clorofórmio adaptado, com material obtido foi realizada a Reação em cadeia da polimerase (PCR) convencional com os ácidos nucleicos extraídos, para a confirmação, foram utilizados cinco preditores mínimos de virulência de APEC, os genes (*iroN*, *ompT*, *hlyF*, *iss* e *iutA*). O produto da reação de PCR foi submetido a eletroforese em gel horizontal de agarose a 1%, utilizado *GelRed* como agente intercalante de DNA.

Para realização do teste de sensibilidade aos antibióticos, foi empregado o método de difusão com discos, pela metodologia de Kirby e Bauer. Os isolados de fêmur característicos de *E. coli* foram selecionados para o teste. Dentre os antibióticos testados têm-se: Ácido Nalidíxico (30 µg), Ampicilina (10µg), Azitromicina (15µg), Ceftiofur (30 µg), Ceftriaxona (30 µg), Enrofloxacina (5 µg), Gentamicina (10µg), Nitrofurantóina (300 µg), Norfloxacina (10 µg) e Sulfazotrim (25µg). A leitura das placas foi realizada através da medida do diâmetro dos halos de inibição, com a utilização de régua milimetrada. Considerou-se padrão de resistência halos de acordo com a referência do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2018; CLSI, 2021).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 100 lotes coletados distribuídos pelo Brasil, obteve-se um total de 65 isolados de *E. coli* dos fêmures. No estado do Paraná, os resultados apontam para uma positividade de 70%, Santa Catarina apresentou 40%, Rio Grande do Sul apresentou 60%, São Paulo apresentou 90%, Minas Gerais apresentou 100% e Ceará apresentou 50% de positividade para *E. coli*.

Até o momento isolados de 57 lotes foram submetidos à PCR convencional para identificação de APEC. Destes, 57 (100%) apresentaram entre três a cinco dos genes pesquisados, sendo caracterizados como APEC. Destes, 34 (59,64%) isolados apresentaram cinco genes.

A resistência de *Escherichia coli* a diferentes classes de antimicrobianos é muito descrita, as APEC são frequentemente resistentes à tetraciclinas, sulfonamidas, ampicilina e estreptomicina (NOLAN et al., 2020). Com base no teste



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

de sensibilidade aos antimicrobianos os índices de resistência encontrados foram de 69,2% para Ácido Nalidíxico, 66,1% para Ampicilina, 9,2% para Azitromicina, 44,6% para Ceftriaxona, 44,6 para Ceftiofur, 38,4% para Enrofloxacina, 29,2% para Gentamicina, 9,2% para Nitrofurantoína, 13,8% para Norfloxacina e 44,6% para Sulfazotrim.

Na região Sul, destaca-se os índices de resistência de 61,1% para Ácido Nalidíxico, 66,1% para Ampicilina, 47,2% para Ceftriaxona e 47,2% para Ceftiofur. Já na região Sudeste, os maiores índices de resistência são ao Ácido Nalidíxico de 68,4%, para Sulfazotrim de 63,1%, para Ampicilina de 57,8%, para Ceftriaxona de 47,3%, para Ceftiofur de 47,3% e 44,1% para Nitrofurantoína. Enquanto na região Nordeste, os principais índices de resistência encontrados são para Ácido Nalidíxico de 80%, para Ampicilina de 70% e 60% para Enrofloxacina. Tais resultados demonstram a variabilidade do perfil de resistência, de acordo com a localização geográfica e as características das aves (NOLAN et al., 2020).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos no estudo mostram uma alta prevalência de APEC em carcaças de aves de corte distribuídas em diferentes estados do Brasil, bem como padrões de resistência dos isolados a diferentes classes de antimicrobianos. Sugestões de que estudos podem orientar o manejo e escolhas de antimicrobianos para fins de controle sanitário em casos clínicos de colibacilose.

5 REFERÊNCIAS

ABPA (Associação Brasileira de Proteína Animal). Relatório Anual. 2022. Disponível em:

<<https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2022/05/Relatorio-Anual-ABPA-2022-1.pdf>>
. Acesso em: 06 de junho de 2022.

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals. 4 ed. CLSI document VET 08. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA., 2018.

CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. M100-31 ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA., 2021.

INOUE, Alberto. Y.; CASTRO, Antonio. G. M. Fisiopatologia do sistema respiratório. In: BERCHIERI JÚNIOR, Angelo; SILVA, Edir N.; DI FABIO, José; SESTI, Luiz; ZUANAZE, Marcelo A. F. Doença das Aves. 2. ed. Campinas: Facta, 2009. p. 281-303.

NOLAN, Lisa K.; VAILLANCOURT, Jean-Pierre; BARBIERI, Nicolle L.; LOGUE, Catherine M.. Colibacillosis. In: SWAYNE, David E.. **Diseases of Poultry**. 14. ed. NJ, Usa: John Wiley & Sons, 2019, 2020. Cap. 18. p. 770-830.



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

PEQUENOS GRANDES CIENTISTAS: DIVULGANDO CIÊNCIA PARA ALUNOS DE ANOS INICIAIS DO ENSINO BÁSICO

GRIEBNER, Gustavo*; DORNELLES, Fabiana N.; DELFRATE, Gabrielle;
HAHMEYER, Maria L. S.; KRÜGER, Nathália R. Z.; SIMAS, Amanda; OLIVEIRA,
Maéry K. S.; PACHECO, Vanessa S.; ANJOS, Taiane L.; CIMAROSTI, Helena I.;
FERNANDES, Daniel.

SORDI, Regina
*gustavogriebner@gmail.com
Universidade Federal de Santa Catarina

Palavras-chave: Ensino; Ciência; Educação; Alfabetização Científica; Método Científico.

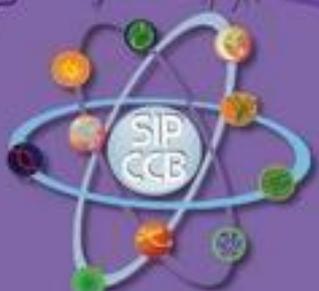
1 INTRODUÇÃO

A Alfabetização Científica como unidade formadora está prevista nas Diretrizes Curriculares Nacionais da Educação Básica (MEC, 2013) e exige que os docentes integrem conceitos e fundamentos que aproximem o público alvo ao conhecimento científico (ANDRADE, 2018).

No ensino de ciências, a experimentação é a parte fundamental para que haja a aquisição do conhecimento e, aproveitando-se que a curiosidade é peça chave para a busca pelo entendimento de fenômenos, a apresentação do método científico se torna muito eficaz para o público mais jovem pois se entrelaça com o conhecimento já adquirido (FIOCRUZ, 2008), estabelecendo o diálogo entre a percepção prévia e o entendimento a partir da observação, pergunta, formulação de hipótese, experimentação e conclusão.

Visando essas premissas, o projeto de extensão “Pequenos Grandes Cientistas” visa incorporar os conceitos de alfabetização científica e o método científico para o público dos anos iniciais do ensino fundamental, a partir de experimentos de curta duração comunicando grandes áreas da ciência como química, biologia e física.

O objetivo da iniciativa é apresentar a ciência às crianças e estimular a curiosidade, a criatividade e o questionamento, tornando-as aptas a comunicar ciência e entenderem fenômenos do cotidiano.



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

2 MATERIAL E MÉTODOS

Na primeira etapa, alunos de graduação e pós-graduação com a supervisão de docentes elaboraram um caderno de experimentos destinado aos alunos do primeiro ano do ensino fundamental, contendo todas as atividades trabalhadas durante o período subsequente, de execução. Foi realizado um roteiro contendo todos os experimentos (tabela 1), além de desenhos para colorir e atividades complementares com a temática de ciência, como jogo dos sete erros, ligação de pontos, entre outros materiais didáticos que também foram elaborados, como jogos de memória, bingo temático e banners com a divulgação do projeto.

Os experimentos propostos foram testados pelos participantes do projeto no Laboratório de Doenças Cardiovasculares e Renais, do Departamento de Farmacologia da UFSC. O objetivo dos testes foi verificar a adequação dos materiais e dos experimentos para a faixa etária desejada, adaptação dos materiais e segurança das experiências.

O projeto foi realizado na EBM Adotiva Liberato Valentim em Florianópolis/SC, escola indicada pela Secretaria de Educação Municipal. Todas as crianças do primeiro ano do ensino fundamental puderam participar do projeto. Cada turma participou de dois encontros, com um intervalo de duas semanas entre eles. Nos dois encontros, foi solicitado que desenhassem um cientista. Durante os encontros, cada turma foi dividida em 3 grupos, com aproximadamente 8 crianças. Além do caderno de experimentos, cada criança recebeu um avental e um óculos de proteção, a partir disso, foram convidadas a serem cientistas por um dia.

Tabela 1- Cronograma e divisão das atividades

	Encontro 1 - Turmas 1 e 2	Encontro 1 - Turmas 3 e 4	Encontro 2 - Turmas 1 e 2	Encontro 2 - Turmas 3 e 4
Estação 1	Tornado na garrafa/ Densidade	Tornado na garrafa/ Densidade	Eletricidade Estática/ Reações químicas	Eletricidade Estática/ Reações químicas
Estação 2	Mistura de Cores	Mistura de Cores	Boia ou afunda/ Tensão superficial da água	Boia ou afunda/ Tensão superficial da água
Estação 3	Microscópio/Lupa: sangue e cabelo	Microscópio/Lupa: sangue e cabelo	Microscópio/Lupa: artrópodes, cebola e pólen	Microscópio/Lupa: artrópodes, cebola e pólen



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram atendidas diretamente 100 crianças na primeira versão do projeto. No total foram realizados 10 experimentos científicos com cada turma. As crianças do primeiro ano do ensino básico tiveram contato com uma série de experimentos de curta realização, nos temas de química, física e biologia. O método científico sempre foi incentivado de forma lúdica e divertida em todos os experimentos. As crianças do colégio EBM Adotiva Liberato Valentim se mostraram bastante receptivas para as atividades propostas, os experimentos funcionaram em todas as estações e foram adaptados conforme a necessidade e a demanda. As crianças puderam colocar a mão na massa, realizando vários experimentos práticos e individuais para cada criança. Alguns foram demonstrativos, mas sempre estimulando o questionamento das crianças.

Ademais, crianças com transtorno do espectro autista também participaram do projeto e, apesar da resistência inicial, também acabaram por se encantar com as atividades. A diferença nos desenhos de cientistas feitos pelas crianças nos dois encontros foram muito interessantes, podendo notar a evolução que as crianças tiveram sobre o conceito do que é ser um cientista.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Durante todos os dias de projeto, pôde-se perceber a importância de haver atividades que estimulem a curiosidade do público infantil, devido ao engajamento muito positivo que tivemos para com todas as atividades propostas. As atividades despertaram o interesse dos alunos para o conhecimento científico, e aproximou a ciência das crianças de forma lúdica e educativa. O material, cuidadosamente pensado para o público conseguiu alcançar o objetivo proposto, que era de guiar as atividades de acordo com os princípios do método científico.

5 REFERÊNCIAS

ANDRADE, M. J. D.; ABÍLIO, F. J. P. **Alfabetização Científica no Ensino de Biologia: uma leitura fenomenológica de concepções docentes**. RBPEC: João Pessoa, 2018.

Massarani, L. **Ciência e criança: a divulgação científica para o público infantojuvenil**. Rio de Janeiro: Museu da Vida, Casa de Oswaldo Cruz, Fiocruz, 2008.

Ministério da Educação. **Diretrizes Curriculares Nacionais Gerais para a Educação Básica**. Brasília: Secretaria da Educação Básica, 2013.



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

MODULAÇÃO DA COLONIZAÇÃO MICROBIANA EM RECÉM-NASCIDOS PREMATUROS MENORES DE 32 SEMANAS

MELLO, Isis; FRIZZO, Izadora; SONCINI, Thaise; SOVERAL, Lucas; ESLABÃO, Livia; PALMEIRO, Jussara; SINCERO, Thais Cristine Marques.

ZARATE-BLADES, Carlos.
aisismello@gmail.com.
Universidade Federal de Santa Catarina

Palavras-chave: Microbiota intestinal; Leite materno; Metagenômica.

1 INTRODUÇÃO

A colonização pelos componentes da microbiota ocorre através da transferência entre mãe e recém-nascido (RN), sendo o momento do parto e o período de amamentação os mais importantes nesse processo. Os RNs prematuros (PT) são especialmente necessitados dos componentes do leite cru da própria mãe (LM), uma vez que apresentam numerosos sinais de imaturidade de órgãos e do seu sistema imune. No entanto, em uma grande quantidade de partos prematuros a mãe não consegue produzir uma quantidade adequada de leite ou até mesmo qualquer quantidade. Nestes casos, a melhor alternativa torna-se o leite de doadora (LD), que precisa passar pelo processo de pasteurização a fim de garantir maior segurança contra patógenos, ao RN. Acontece que este processo também resulta na inativação de vários dos compostos bioativos e na depleção da microbiota do leite (FERNÁNDEZ et al., 2018). Tendo em vista a queda de qualidade do LD em relação ao LM e as necessidades apresentadas pelos RNPTs, é fortemente estimulada a produção de leite, mesmo que em pequenas quantidades, podendo ser utilizadas para personalização do LD. Segundo Cacho e colaboradores (2017), é possível restabelecer microrganismos de ocorrência natural potencialmente benéficos no LD a partir da inoculação do LM. O objetivo desse estudo é determinar as diferenças de composição, diversidade e funcionalidade do microbioma intestinal de RNPTs menores de 32 semanas de idade gestacional alimentados com LD ou com LD com reconstituição (LD-R) da microbiota do LM.



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

2 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho faz parte da pesquisa intitulada “Causas e efeitos de microbiotas da mãe no nascimento e sobrevida de recém-nascidos pré-termos: estratégias de promoção de saúde materno-infantil”, coordenado pelo Prof. Dr. Carlos R. Zárate-Bladés e pela Prof. Dra. Maria Marlene S. Pires. Essa pesquisa inclui 80 binômios mãe-RNPTs menores de 32 semanas, nascidos na Maternidade Carmela Dutra e internados na UTI-neonatal, sendo 40 binômios do grupo intervenção (dieta de LD-R ou LM) e 40 binômios do grupo controle (dieta de LD puro).

O presente trabalho é focado na análise da microbiota das fezes dos RNPTs. As amostras de fezes foram coletadas a partir das fraldas que foram preservadas pelos membros da equipe da UTI-neonatal durante a atenção de rotina dos RNs em três tempos: no primeiro, no quinto e no décimo dia de vida.

Para obtenção do LD-R, foi coletado LM e misturado com LD em uma proporção de 10% do LM e 90% do LD, essa mistura foi colocada em banho-maria a 37 °C por um período de 4h (CACHO et al., 2017). Está sendo feita também análise da microbiota do leite e dos dados clínicos dos pacientes.

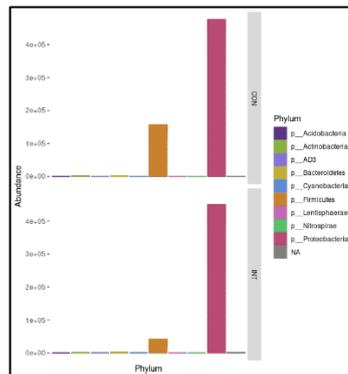
A extração e o sequenciamento do DNA fecal estão sendo realizados pela empresa GoGenetic (Curitiba/PR). Após análise da qualidade do DNA extraído, é realizada a PCR das regiões V3 e V4 da porção 16S do RNA ribossomal bacteriano, em seguida os produtos são purificados para a construção das bibliotecas para o sequenciamento utilizando a plataforma MiSeq (Illumina Inc, San Diego, CA), conforme protocolos validados da empresa. Posteriormente, são realizadas análises de bioinformática com auxílio dos programas Trimmomatic, QIIME2 e R; e análises estatísticas com os programas R, Prism (GraphPad).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A princípio, foram obtidos apenas resultados parciais, do sequenciamento e análise de 17 amostras, referentes a 8 RNs do grupo controle e 9 RNs do grupo intervenção. Foi observada a composição bacteriana das amostras a nível de filo, com predominância dos filotaxas *Proteobacteria* e *Firmicutes* em ambos os grupos. Em seguida, encontram-se em maior presença os filotaxas *Actinobacteria* e *Bacteroidetes*. Apesar de não ser constatada uma diferença estatisticamente significativa, nota-se um leve aumento do filo *Firmicutes* no grupo controle (Figura 1).

VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

Figura 1 – Gráfico de abundância total



Fonte: A autora.

A microbiota de RNPTs possui, normalmente, uma predominância desses quatro filos encontrados, sendo classificados como filos primários na colonização da microbiota intestinal (UNDERWOOD; SOHN, 2017).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A princípio foi possível constatar a presença elevada de microrganismos comumente encontrados na microbiota intestinal de RNPTs em ambos os grupos estudados. O trabalho encontra-se ainda em um estado inicial da avaliação das microbiotas, é possível que um aumento no número de RNs avaliados provoque uma mudança nos resultados.

5 REFERÊNCIAS

CACHO, N. T. et al. Personalization of the Microbiota of Donor Human Milk with Mother's Own Milk. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 8, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2017.01470>>. Acesso em: 02/12/2019.

FERNÁNDEZ, L. et al. Strategies for the Preservation, Restoration and Modulation of the Human Milk Microbiota. Implications for Human Milk Banks and Neonatal Intensive Care Units. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 9, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2018.02676>>. Acesso em: 14/09/2020.

UNDERWOOD, M. A.; SOHN, K. The Microbiota of the Extremely Preterm Infant. **Clinics In Perinatology**, [S.L.], v. 44, p. 407-427, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.clp.2017.01.005>>. Acesso em: 24/10/2022.



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

CARACTERIZAÇÃO DA MICROBIOTA DE LEITE DE DOADORA PASTEURIZADO SUPLEMENTADO COM LEITE DA MÃE DE RECÉM-NASCIDOS PREMATUROS

FRIZZO, Izadora; MELLO, Isis; SONCINI, Thaise; SOVERAL, Lucas; ESLABÃO, Livia; PALMEIRO, Jussara; ZARATE-BLADES, Carlos.

SINCERO, Thais Cristine Marques
izadorabfrizzo@gmail.com
Universidade Federal de Santa Catarina

Palavras-chave: Leite materno, microbiota, metabarcoding.

1 INTRODUÇÃO

É considerado prematuro todo nascimento ocorrido antes de 37 semanas de gestação, e a prematuridade é conhecida por afetar diferentes sistemas (ARBOLEYA et al., 2016). O leite materno é considerado o alimento ideal para recém-nascidos (RNs), sendo recomendado como alimentação exclusiva até os 6 meses de idade (OPAS/OMS, 2018). Sabe-se também que os recém-nascidos pré-termo (RNPTs) são especialmente necessitados dos componentes do leite da própria mãe, por apresentarem inúmeros sinais de imaturidade de órgãos (FERNÁNDEZ et al., 2018). No entanto, em uma grande quantidade de partos prematuros a mãe não consegue produzir uma quantidade adequada de leite, ou até mesmo qualquer quantidade. Nesses casos, o leite de doadora se torna a melhor opção. Esse leite passa pelo processo de pasteurização por questões de segurança microbiológica, entretanto sabe-se que esse processo também causa depleção de compostos bioativos do leite (GARCÍA-GONZÁLEZ et al., 2022).

Estudos demonstraram que é possível restabelecer microrganismos no leite de doadora a partir da inoculação de 10% do leite da mãe, e incubação deste leite a 37 °C por um período de 4 horas (CACHO et al., 2017). Com base nisso, o presente projeto estabelece a hipótese de que a inoculação do leite da própria mãe com o leite de doadora pasteurizado resulta na parcial restauração da microbiota do leite. O objetivo principal consiste em determinar as diferenças de composição e diversidade da microbiota do leite de doadora pasteurizado suplementado com o leite da mãe de recém-nascidos com menos de 32 semanas de idade gestacional.

2 METODOLOGIA

O presente trabalho faz parte da pesquisa intitulada “Causas e efeitos de microbiotas da mãe no nascimento e sobrevida de recém-nascidos pré-termos:

VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

estratégias de promoção de saúde materno-infantil”, coordenado pelo Prof. Dr. Carlos R. Zárate-Bladés e pela Prof. Dra. Maria Marlene de Souza Pires, sob CAAE: 41063520.4.0000.0121.

Para o presente trabalho está prevista a inclusão de 40 mães de recém-nascidos prematuros para análise da microbiota do leite materno. É realizada análise do microbioma de três grupos de leite, definidos como leite da mãe do RNPT (LM), leite de doadora pasteurizado (LP) e leite inoculado (LI).

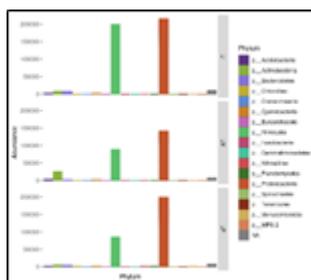
A coleta de amostras é realizada por meio da ordenha de leite das mães que aceitem participar do estudo. O processo de inoculação é feito pela mistura do LM coletado com LP, em uma proporção de 10% do LM e 90% do LP. Essa mistura é colocada em banho-maria a 37°C por um período de 4h, e em seguida guardado em geladeira. Alíquotas desses leites são preparadas para análises posteriores.

A extração de DNA e o sequenciamento por metabarcoding está sendo realizado pela empresa GoGenetic (Curitiba/PR). Após análise da qualidade dos DNAs extraídos, a PCR das regiões V3 e V4 da porção 16S do RNA ribossomal bacteriano é realizada, em seguida os produtos são purificados para a construção das bibliotecas para o sequenciamento utilizando a plataforma MiSeq (Illumina Inc, San Diego, CA), conforme protocolos validados da empresa. Posteriormente, são realizadas análises de bioinformática em programas como Trimmomatic e QIIME2; e análises estatísticas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Até o momento, tem-se como resultados parciais, o sequenciamento e análise de 24 amostras, referentes a 8 mães do estudo (8 amostras LP, 8 amostras Li e 8 amostras LM). No gráfico de abundância total, foram observadas a composição bacteriana das amostras a nível de filo, com predominância dos filos *Firmicutes* e *Proteobacteria* nos três tipos de leite, e nota-se um pequeno aumento de *Actinobacteria* e *Bacteroidetes* nos grupos LM e Li (Figura 1), sem diferenças estatísticas entre os grupos.

Figura 1 – Gráfico de abundância total



Fonte: A autora.



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

Os filos predominantemente encontrados nas três amostras de leite correspondem a bactérias constituintes da microbiota comensal do leite materno (TOGO et al., 2019).

Em relação aos achados é importante salientar que, apesar de não ter sido encontrada diferença estatística, considerando a microbiota imatura do bebê prematuro, uma diferença qualitativa na composição do leite já deve fazer diferença para sua modulação. Essa hipótese será testada no projeto como um todo, que avaliará as diferenças nos parâmetros clínicos dos bebês que recebem o leite personalizado, para avaliar o impacto dessa intervenção. Deve-se considerar também que o leite inoculado passa por um processo de crescimento de 4 horas, favorecendo bactérias de crescimento rápido, como algumas espécies de *Proteobacteria* (GARCÍA-GONZÁLEZ et al., 2022).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A pesquisa encontra-se em andamento, e até o momento é possível constatar diferenças qualitativas na composição do leite materno após personalização com leite da própria mãe, o que, analisando juntamente aos parâmetros clínicos dos bebês que recebem esse leite, pode vir a evoluir para um possível recurso de promoção à saúde de recém-nascidos prematuros.

5 REFERÊNCIAS

- ARBOLEYA, S. et al. Impact of prematurity and perinatal antibiotics on the developing intestinal microbiota: A functional inference study. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 17, n. 5, p. 1–14, 2016.
- CACHO, N. T. et al. Personalization of the microbiota of donor human milk with mother's own milk. *Frontiers in Microbiology*, v. 8, n. AUG, p. 1–12, 2017.
- FERNÁNDEZ, L. et al. Strategies for the preservation, restoration and modulation of the human milk microbiota. Implications for human milk banks and neonatal intensive care units. *Frontiers in Microbiology*, v. 9, n. NOV, p. 1–13, 2018.
- GARCÍA-GONZÁLEZ, I. et al. The Influence of Holder Pasteurization on the Diversity of the Human Milk Bacterial Microbiota Using High-Throughput DNA Sequencing. *Journal of Human Lactation*, v. 38, n. 1, p. 118–130, 2022.
- TOGO, A. et al. Repertoire of human breast and milk microbiota: A systematic review. *Future Microbiology*, v. 14, n. 7, p. 623–641, 2019.



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

ANALGESIA EFETIVA, MULTIMODAL E DE LONGA DURAÇÃO PRODUZIDA POR UM NOVO PROTOCOLO ANESTÉSICO - ANALGÉSICO EM CAMUNDONGOS

HOEPERS, João Vítor Alves; GODOI, Manuella Machado;

FERREIRA, Juliano;
joaovahufsc@gmail.com
Universidade Federal de Santa Catarina

Palavras-chave: analgesia; dor; camundongos;

1 INTRODUÇÃO

Uma revisão sobre protocolos de anestesia e analgesia após procedimentos invasivos em animais de laboratório revelou que muitos estudos publicados não incluem alívio da dor¹, apesar da legislação atual que recomenda o uso de analgésicos (opioides sistêmicos mais AINEs) por pelo menos 3 dias após procedimentos invasivos. O manejo inadequado da dor, assim como qualquer dor não tratada, tem o potencial de afetar os resultados científicos^{1,2,3,4}, dificultando a reprodutibilidade dos experimentos. Aqui, investigamos a eficácia, a duração e a segurança da analgesia produzida em camundongos por uma nova combinação de medicamentos anestésicos e analgésicos disponíveis no mercado brasileiro.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Esse estudo foi aprovado pelo CEUA-UFSC, n.º 4926230522.

Foram usados camundongos machos e fêmeas C57BL/6-UFSC (N=4-5, 20-25 g). Antes da administração dos medicamentos, detectamos os valores basais de latência de retirada da pata ao calor⁵ (para detectar antinocicepção), expressões faciais⁶ (para detectar dor), consumo de água e comida, peso corporal e a nidificação⁷ (para detectar o bem-estar animal).

Para mimetizar um procedimento invasivo de queimadura, um grupo de camundongos “sham” foi pré-tratado com morfina (3 mg/kg, via subcutânea), seguido por uma anestesia geral com isoflurano (5%). Após a indução da anestesia, o dorso dos camundongos foi depilado, 20 µl de lidocaína (0,2%) foi infiltrada subcutaneamente em uma pequena área, um adesivo de 1 cm² de buprenorfina (5 µg/hora) foi aplicado a 1 cm de distância de área infiltrada e coberto por um curativo transparente. Além disso, os camundongos foram tratados subcutaneamente com carprofeno (5mg/kg). Os parâmetros de analgesia, dor e bem-estar foram detectados entre 1 e 14 dias depois do protocolo.



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

Na segunda parte do estudo, outro grupo de camundongos machos e fêmeas será submetido à uma queimadura de terceiro grau, para validar o protocolo.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores basais de nocicepção (5.1 ± 1.1 e 7.7 ± 1.1 segundos de latência), dor (0 ± 0 e 0 ± 0 escores da escala Grimace) e bem-estar (3.5 ± 0.5 e 3.8 ± 0.2 escores de nidificação) foram similares entre camundongos machos e fêmeas. Nenhum dos camundongos morreu nos 14 dias após o tratamento.

Em comparação aos valores basais, detectamos um significativo efeito analgésico do tratamento entre 1 e 3 dias após a mimetização do procedimento nos camundongos machos e fêmeas (33 ± 3 e 28 ± 4 % do efeito máximo possível, 1 dia após em machos e fêmeas, respectivamente e 21 ± 5 e 31 ± 5 % do efeito máximo possível, 3 dias após em machos e fêmeas, respectivamente).

O tratamento não induziu comportamentos de dor em ambos os sexos (escores da escala Grimace foram baixos durante todo o período do experimento). Entretanto, o protocolo de tratamento analgésico anestésico causou uma significativa redução no peso corporal nos dias 1 e 2 após o tratamento em machos e fêmeas (-7 ± 1 e -5 ± 1 % de variação com os valores basais de peso corporal após 2 dias, respectivamente). O consumo de água ou comida não foi alterado pelo tratamento em nenhum momento analisado em ambos os sexos (1.5 ± 1.5 e -1.0 ± 0.3 ml ou -0.2 ± 0.6 e -0.4 ± 0.7 g de variação com os valores basais de consumo após 1 dia, respectivamente).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com nosso conhecimento, nossos resultados demonstram pela primeira vez que o tratamento multimodal com opioides sistêmicos de curta (morfina) e longa duração (buprenorfina) com AINEs de longa duração (carprofeno), combinados com infiltração com anestésico local (lidocaína), produziram uma efetiva, de longa duração (até 3 dias) e segura (minimamente impactando o bem-estar) analgesia (antinocicepção) em camundongos anestesiados com isoflurano. Estudos estão em andamento para validar a efetividade e a segurança do nosso protocolo nos camundongos submetidos a procedimentos invasivos (cirurgias e queimaduras).

5 REFERÊNCIAS

1. JIRKOF, P. Side effects of pain and analgesia in animal experimentation. **Lab Animal**, v. 46, n. 4, p. 123–128, abr. 2017.
2. NAVARRO, K. L. et al. Mouse Anesthesia: The Art and Science. **ILAR Journal**, v. 62, n. 1–2, p. 238–273, 31 dez. 2021.



VIII Simpósio Integrado das
Pós-Graduações do CCB -
UFSC

3. FURUMOTO, K. et al. Effects of Multimodal Analgesic Protocol, with Buprenorphine and Meloxicam, on Mice Well-Being: A Dose Finding Study. **Animals**, v. 11, n. 12, p. 3420, 30 nov. 2021.
4. DURST, M. S. et al. Lidocaine and bupivacaine as part of multimodal pain management in a C57BL/6J laparotomy mouse model. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, 25 maio 2021.
5. CHEAH, M.; FAWCETT, J.; ANDREWS, M. Assessment of Thermal Pain Sensation in Rats and Mice Using the Hargreaves Test. **BIO-PROTOCOL**, v. 7, n. 16, 2017.
6. 14. MATSUMIYA, L. C. et al. Using the Mouse Grimace Scale to Reevaluate the Efficacy of Postoperative Analgesics in Laboratory Mice. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 51, n. 1, p. 42–49, jan. 2012.
7. JIRKOF, P. et al. Assessment of postsurgical distress and pain in laboratory mice by nest complexity scoring. **Laboratory Animals**, v. 47, n. 3, p. 153–161, 7 maio 2013.



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

CARACTERIZAÇÃO DO CUIDADO MATERNO E SUAS INFLUÊNCIAS EM RATOS SHR E SLA16 ADULTOS

DE ARAÚJO, Julia F.P.; BOEDER, Ariela M.

IZÍDIO, Geison S.
julia.punal@gmail.com
Universidade Federal de Santa Catarina

Palavras-chave: Cuidado materno; Comportamento; Ansiedade; SHR; SLA16.

1 INTRODUÇÃO

Os cuidados maternos são caracterizados por comportamentos complexos, espontâneos e instintivos próprios de cada espécie (Numan, 1994). Além de fornecer a principal fonte de alimento para a prole, a mãe também desempenha um papel importante no fornecimento da temperatura essencial, além de responder a estímulos visuais, auditivos e olfatórios da ninhada (Pryce *et al.*, 2001). Essas interações são cruciais para o crescimento e desenvolvimento de uma série de comportamentos e quando interrompidas geram consequências negativas para os filhotes (Pauk *et al.*, 1986; Moriceau and Sullivan, 2005).

Dentre as linhagens de rato, os *Spontaneously Hypertensive Rats* (SHR) são muito utilizados em estudos de desordens psiquiátricas, uma vez que apresentam características comportamentais como: prejuízos na memória, atenção sustentada e aprendizagem, além de hiperatividade e impulsividade motora (Sagvolden *et al.*, 2005; de Medeiros *et al.*, 2013). Numa análise genética com ratos SHR e Lewis (LEW), foi identificado no cromossomo 4 o *locus Anxrr16* (*Anxiety-related response 16*), com grande influência na locomoção central do campo aberto (CA), uma medida comportamental associada à elevada ansiedade/emocionalidade (Ramos *et al.*, 1999). Para investigar as influências deste *locus* foi criada a linhagem congênica SLA16 (SHR.Lewis/Anxrr16) (de Medeiros *et al.*, 2013).

Apesar dos animais SHR e SLA16 serem geneticamente muito parecidos, estes apresentam algumas diferenças significativas, sendo o SLA16 mais hiperativo e com menor pressão arterial (PA). Embora esses parâmetros possuam um contexto genético, também é preciso considerar o fator ambiental no seu estabelecimento. Dessa forma, o vínculo e o cuidado materno nos períodos mais iniciais do desenvolvimento extrauterino se apresentam como um ponto a ser investigado. Para tanto, o presente estudo teve como objetivo avaliar os cuidados maternos e os seus impactos no comportamento durante a vida adulta dos ratos SHR e SLA16.



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados fêmeas e machos SHR e SLA16, com aproximadamente 4 meses. No dia seguinte ao nascimento, o cuidado materno foi avaliado por observações de 75 minutos, 4 vezes por dia, realizadas durante os primeiros 8 dias de lactação. Os comportamentos exibidos pelas lactantes foram divididos em cuidados maternos (lambidas, posturas de amamentação e construção de ninho) e em não-maternos (alimentação, exploração da caixa moradia, *self-grooming* e tempo sem os filhotes). Tanto as mães quanto a prole, uma vez atingida a idade adulta, foram submetidos ao CA. Estas mães foram acasaladas novamente e o comportamento avaliado para investigarmos o efeito da experiência sobre esses mesmos parâmetros. Os protocolos foram aprovados pelo CEUA-UFSC (5863250220) e os dados analisados pelo software *Statística* por ANOVA de medidas repetidas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No CA das lactantes, os resultados demonstraram o aumento nos valores de locomoção total ($F[1, 24] = 27,03$; $p \leq 0,001$; SLA16 > SHR) e central ($F[1, 24] = 7,71$; $p \leq 0,05$; SLA16 > SHR), e número de entradas no centro ($F[1, 24] = 6,15$; $p \leq 0,05$; SLA16 > SHR) para animais SLA16, dado corroborado por trabalhos anteriores do nosso grupo. No entanto, as lactantes exibiram menor locomoção total ($F[1, 24] = 18,14$; $p \leq 0,001$; controle > lactação) e central ($F[1, 24] = 10,45$; $p \leq 0,01$; controle > lactação), bem como menos entradas no centro ($F[1, 24] = 6,15$; $p \leq 0,05$; controle > lactação), quando comparadas com as controle não-lactantes. Esse fato pode estar relacionado, em parte, com um aumento da secreção de hormônios do parto e da lactação, tais como prolactina e oxitocina (Fleming and Rosenblatt, 1974; Numan, 2003).

Ao avaliarmos o cuidado materno, os dados mostram que as ratas SLA16 apresentam mais comportamentos associados aos cuidados maternos quando comparadas com SHR, especialmente na segunda reprodução. SLA16 passa mais tempo na postura de cobertor na segunda reprodução ($F[1, 96] = 4,17$; $p \leq 0,05$) e mais tempo em postura arqueada na primeira reprodução ($F[1, 96] = 54,94$; $p \leq 0,001$), observamos também uma interação de linhagem e reprodução no somatório dos cuidados maternos totais ($F[1, 96] = 30,06$; $p \leq 0,001$; SLA16 > SHR). A literatura demonstra que as mães SHR tendem a buscar mais ativamente seus filhotes quando comparadas com ratas wistar Kyoto (Cierpial *et al.*, 1987), no entanto pela primeira vez esses parâmetros estão sendo estabelecidos para mães SLA16.

Ao avaliarmos os filhotes, observamos que proles de mães experientes exibem um comportamento mais ansioso do que proles de mães inexperientes (Fêmeas: distância total ($F[1, 24] = 5,24$; $p \leq 0,05$; SLA16 > SHR) e locomoção periférica ($F[1, 24] = 9,19$; $p \leq 0,01$); Machos: locomoção periférica ($F[1, 24] = 6,64$; $p \leq 0,05$)). Fato



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

que pode estar relacionado com alterações nos cuidados que observamos nas mães. Sabe-se que filhotes criados por mães com menores frequências de lambidas e que passam menos tempo na posição arqueada acabam apresentando taxas mais elevadas de ansiedade (Kan *et al.*, 2016).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo caracterizou pela primeira vez os parâmetros de cuidados maternos das linhagens SHR e SLA16, demonstrando que mães SLA16 apresentam maiores níveis de cuidados em relação a SHR, sendo altamente influenciados pela experiência adquirida na primeira lactação. Esta experiência parece afetar diretamente a prole, uma vez que filhotes de mães experientes exibem um comportamento mais ansioso do que filhotes de mães inexperientes. Os dados indicam o comportamento materno como um fator chave para o desenvolvimento emocional.

5 REFERÊNCIAS

- NUMAN, Michael. **The physiology of reproduction: Maternal behavior**. 2nd ed. New York: Raven Press. 1994
- NUMAN, Michael. **The neurobiology of parental behavior**. 1st ed. New York: Springer; 2003.
- PRYCE, C. R.; BETTSCHEN, D.; FELDON, J. Comparison of the effects of early handling and early deprivation on maternal care in the rat. **Developmental Psychobiology**, v. 38, n. 4, p. 239–251, 2001.
- PAUK, J. *et al.* Positive effects of tactile versus kinesthetic or vestibular stimulation on neuroendocrine and ODC activity in maternally-deprived rat pups. **Life Sciences**, v. 39, n. 22, p. 2081–2087, dez. 1986.
- MORICEAU, S.; SULLIVAN, R. M. Neurobiology of infant Attachment. **Developmental Psychobiology**, v. 47, n. 3, p. 230–242, nov. 2005.
- SAGVOLDEN, T. *et al.* Rodent Models of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. **Biological Psychiatry**, v. 57, n. 11, p. 1239–1247, jun. 2005.
- DE MEDEIROS, G. F. *et al.* Low-Anxiety Rat Phenotypes Can Be Further Reduced through Genetic Intervention. **PLoS ONE**, v. 8, n. 12, p. e83666, 30 dez. 2013.
- RAMOS, A. *et al.* Identification of female-specific QTLs affecting an emotionality-related behavior in rats. **Molecular Psychiatry**, v. 4, n. 5, p. 453–462, set. 1999.
- FLEMING, A. S.; ROSENBLATT, J. S. Maternal behavior in the virgin and lactating rat. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**, v. 86, n. 5, p. 957–972, 1974.
- KAN, J. M.; CALLAGHAN, B. L.; RICHARDSON, R. A mother's past can predict her offspring's future: Previous maternal separation leads to the early emergence of adult-like fear behavior in subsequent male infant rat offspring. **Behavioral Neuroscience**, v. 130, n. 5, p. 511–520, 2016.



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

REDUÇÃO DA DENSIDADE DOS RECEPTORES A_{2A} E DE PROTEÍNAS SINÁPTICAS PROMOVEM RESILIÊNCIA AO ESTRESSE SOCIAL EM CAMUNDONGOS

BEVILACQUA, Laura M.; ROSADO, Axel F.; PLATT, Nicolle; PINHO, Cibele M.;
PIERONE, BRUNA C.;

KASTER, Manuella P.
menegatti.laura@gmail.com
Universidade Federal de Santa Catarina

Palavras-chave: Adenosina 1; Hipocampo 2; Núcleo accumbens 3.

1 INTRODUÇÃO

O estresse é o principal fator ambiental na etiologia e progressão dos transtornos psiquiátricos. Portanto, compreender mecanismos promotores de resiliência é indispensável para o desenvolvimento de estratégias preventivas e mitigadoras (BURCUSA; IACONO, 2007). Mecanismos comportamentais e bioquímicos são capazes de alterar a plasticidade de regiões encefálicas envolvidas em processos emocionais, promovendo resiliência ao estresse. O sistema adenosinérgico modula a excitabilidade de regiões como o hipocampo (HIP), através dos receptores de adenosina A_{2A} (A_{2A}R), sendo que as projeções do HIP para o núcleo accumbens (NAc) estão associadas ao desenvolvimento de transtornos psiquiátricos (BAGOT *et al.*, 2015). No presente estudo foi utilizado um modelo animal de estresse crônico de derrota social (ECDS) para avaliar as estratégias comportamentais e neuroquímicas de camundongos suscetíveis e resilientes. Mais especificamente, foi investigado se há distinção dos A_{2A}R e de proteínas sinápticas excitatórias do NAc, hipocampo dorsal (dHIP) e ventral (vHIP) após o ECDS.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética do Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Catarina (protocolo nº 5290231120). Para o ECDS, camundongos C57BL/6 machos (3-4 meses) foram expostos a camundongos *Swiss* agressores por 10 dias consecutivos, com 10 min de estresse físico e 24 h de estresse sensorial. Foi realizado o teste de interação social (TIS), no qual os animais com índice de interação abaixo de 1 foram considerados suscetíveis e os acima de 1 resilientes. Os testes de comportamento emocional foram realizados 24 h após o término do TIS. A análise do conteúdo proteico dos A_{2A}R e das proteínas sinápticas GluA1, sinapsina e PSD-95 do NAc, dHIP e vHIP foi avaliada a partir de *western blotting*. A

VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

imunodeteccção foi quantificada e normalizada pela densidade de β -actina. Para dados paramétricos foi utilizado o teste ANOVA de uma via e *post-hoc* de Tukey, e para dados não paramétricos foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo *post-hoc* de Dunn. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 1 – O ECDS promove redução no imunocnteúdo dos A2AR e de proteínas sinápticas excitatórias do NAc, dHIP e vHIP de animais resilientes.

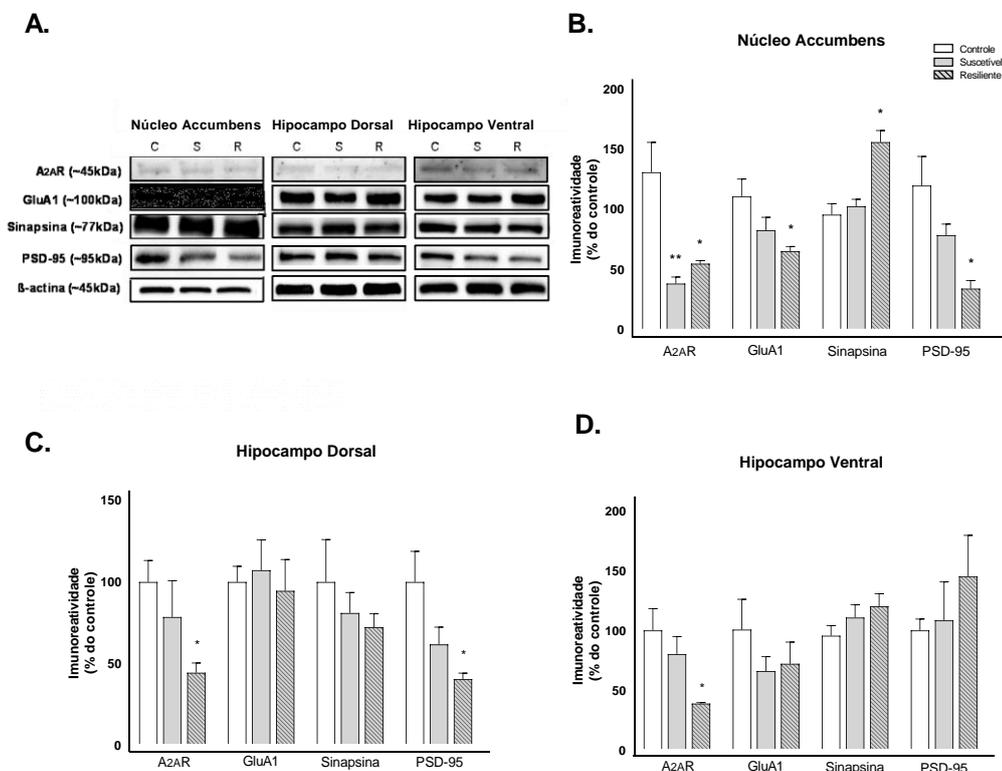


Figura 1. Imunocnteúdo de A2AR, GluA1, sinapsina e PSD-95 (A) no NAc (B), dHIP (C) e vHIP (D) de animais submetidos ao ECDS. Os dados estão representados como porcentagem do controle \pm EPM ($n = 3-8$). C: controle; S: suscetível R: resiliente. Fonte: Os autores.

Os resultados demonstram que, após a exposição ao ECDS, apenas $1/3$ dos camundongos C57BL/6 não apresenta esquia social, constituindo o grupo de animais resilientes. Além disso, os resilientes não apresentam alterações em testes de comportamento emocional (i.e. campo aberto e labirinto em cruz elevado). Isto estabelece, de acordo com a literatura, este modelo como relevante para estudos



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

psiquiátricos (GOLDEN *et al.*, 2011). Em relação ao imunoconteúdo proteico (Figura 1), este trabalho demonstra que as alterações comportamentais para a manutenção da resiliência estão associadas com uma diminuição na densidade de A2AR, tanto no NAc ($p = 0,004$), quanto no dHIP ($p = 0,006$) e vHIP ($p = 0,048$). Concomitantemente, houve a perda de marcadores sinápticos envolvidos na liberação de glutamato e plasticidade sináptica, como de PSD-95 no NAc ($p = 0,028$) e no dHIP ($p = 0,047$), e de GluA1 no NAc ($p = 0,012$). Apesar disso, houve aumento de sinapsina no NAc ($p = 0,002$), sugerindo uma compensação na liberação de outros neurotransmissores, possivelmente inibitórios. Estes resultados corroboram estudos com antagonistas de A2AR, nos quais ocorre a atrofia e perda de sinapses excitatórias no HIP total, e por consequência a reversão de comportamentos do tipo-depressivo (KASTER *et al.*, 2015). Entretanto, esta é a primeira vez em que é demonstrada a distinção entre o sistema adenosinérgico em animais resilientes e suscetíveis no NAc, e em regiões específicas do HIP.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo aponta uma nova evidência da modulação de proteínas associadas a sinapses glutamatérgicas pelos A2AR no NAc, dHIP e vHIP de animais resilientes ao ECDS. Como perspectiva, será quantificada a densidade de proteínas moduladoras do sistema inibitório GABAérgico, como a gefirina e o receptor de adenosina A₁. Além disso, será avaliado se a diminuição da densidade dos A2AR é proveniente de alterações na expressão do gene *Adora2a*.

5 REFERÊNCIAS

1. BAGOT, R. C. *et al.* Ventral hippocampal afferents to the nucleus accumbens regulate susceptibility to depression. **Nature Communications**, v. 6, n. 1, p. 7062, 2015.
2. BURCUSA, S. L.; IACONO, W. G. Risk for recurrence in depression. **Clinical Psychology Review**, v. 27, n. 8, p. 959–985, 2007.
3. GOLDEN, S. A.; COVINGTON, H. E.; BERTON, O.; RUSSO, S. J. A standardized protocol for repeated social defeat stress in mice. **Nature Protocols**, v. 6, n. 8, p. 1183–1191, 2011.
4. KASTER, M. P. *et al.* Caffeine acts through neuronal adenosine A2A receptors to prevent mood and memory dysfunction triggered by chronic stress. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 112, n. 25, p. 7833–7838, 2015.



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

DETECÇÃO DE FRAUDES EM ALIMENTOS POR PCR EM TEMPO REAL: UMA PROSPECÇÃO CIENTÍFICA

SILVA, Lorena Dutra; LEMOS, Lúcia Mara dos Reis;

ARISI, Ana Carolina Maisonnave
dutraslorena@gmail.com
Universidade Federal de Santa Catarina

Palavras-chave: Estudo prospectivo; Fraude alimentar; qPCR; *Scopus*.

1 INTRODUÇÃO

O diagnóstico rápido e assertivo na detecção de fraudes alimentares através de métodos moleculares robustos, tem sido alvo de grande interesse para as indústrias de alimentos e agências reguladoras. Para isto, a utilização da técnica da Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real (qPCR) representa uma abordagem promissora para atender esta demanda (SUMAN et al., 2021).

Informações disponíveis sobre a utilização da qPCR empregada na detecção de fraude alimentar permitem estudos de prospecção científica que sintetizam o conhecimento, agregando valor à comunidade de modo a subsidiar possíveis tomadas de decisões (FREITAS et al., 2015).

Neste sentido, o objetivo deste trabalho é mapear as publicações referentes à detecção de fraudes em alimentos por qPCR por meio da prospecção científica.

2 METODOLOGIA

Uma pesquisa na base de dados de resumos e citações *Scopus*, utilizando-se as palavras-chave: “food fraud”, “quantitative PCR”, “food fraud” AND “quantitative PCR”, “food fraud” AND “real time PCR” e “food fraud” AND “qPCR”, foi realizada a fim de obter um panorama dos estudos científicos sobre o tema. O conectivo AND foi utilizado entre algumas palavras para se fazer associações das mesmas e afunilar as buscas, fornecendo, dessa forma, um quantitativo de artigos científicos adequado e satisfatório para o objetivo do trabalho. As informações foram coletadas durante os meses de agosto a setembro de 2022.

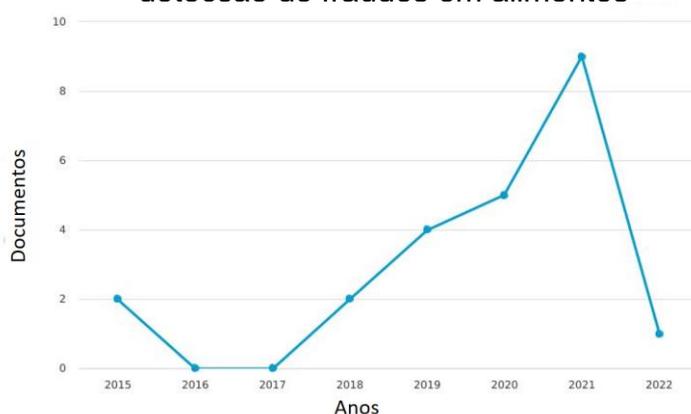
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A utilização dos termos separadamente “*food fraud*” e “*quantitative PCR*”, apresentou respectivamente, 939 e 46.373 documentos. A pesquisa com a associação

VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

das palavras-chave “*food fraud*” AND “*quantitative PCR*” encontrou dois documentos apenas, enquanto que a combinação de “*food fraud*” AND “*qPCR*” exibiu cinco trabalhos científicos. Porém, a utilização dos termos “*food fraud*” e “*real time PCR*” combinados por meio do conectivo AND proporcionou um resultado com um número mais significativo de publicações (23), desta forma, os mesmos foram selecionados para análises a seguir. A evolução anual dos trabalhos científicos relacionados ao tema foi compilada (Figura 1). Observa-se, por meio da Figura 1, que as primeiras publicações são do ano de 2015 e que há uma queda do número de publicações em 2016, sendo que a partir de 2017 houve um aumento gradual com um pico entre os anos de 2020 a 2021.

Figura 1 – Evolução anual dos documentos que utilizaram PCR em tempo real na detecção de fraudes em alimentos



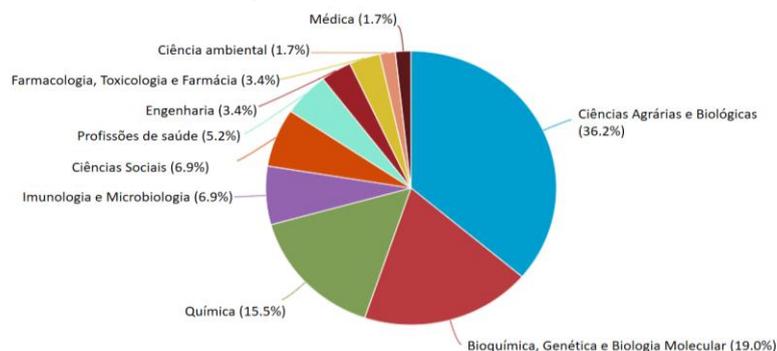
Fonte: Scopus (2022).

Em relação aos tipos de documentos obtidos pela busca, o principal formato é artigo científico (87,0%), seguido por revisões (8,7%) e capítulos de livro (4,3%). Isto sugere que as publicações em formato de artigos científicos, ainda se configuram como principal maneira para difundir um conhecimento científico sobre o tema proposto. A quantidade de documentos por área foi agrupada (Figura 2).

A divisão dos documentos por áreas na base *Scopus* (Figura 2), indicou que não foi utilizada a área específica de alimentos, visto que a maioria dos documentos encontrados estavam na área de “Ciências Agrárias e Biológicas” (36,2%), seguido pela área de “Bioquímica e Genética Molecular” (19,0%). Foi analisado também o número de documentos publicados por país. A Alemanha foi o país com o maior número de publicações científicas (6), seguido da China (4), Coreia do Sul (4) e Itália (3). Brasil, República Checa, Malásia, Portugal, Espanha e Estados Unidos apresentaram um estudo científico.

VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

Figura 2 – Percentual de documentos por área que utilizaram PCR em tempo real na detecção de fraudes em alimentos



Fonte: *Scopus* (2022).

Metodologias fundamentadas na reação de PCR em tempo real foram utilizadas na identificação de fraudes em peixes, frutos do mar e produtos pesqueiros, em pesquisas de adulteração em produtos lácteos, na detecção de fraudes de espécies de animais e produtos cárneos e na verificação de fraudes em alimentos origem vegetal e em produtos comerciais.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir do levantamento realizado neste estudo prospectivo, verificamos que os trabalhos envolvendo a técnica de PCR em tempo real na detecção de fraudes em alimentos foram publicados nos últimos oito anos. Uma atenção foi direcionada em diferentes países, no que diz respeito a este tema. Várias matrizes alimentares foram pesquisadas envolvendo a aplicação da técnica referida.

5 REFERÊNCIAS

FREITAS, F.F.B.P. et al. Prospecção científica e tecnológica: monoterpeno gama terpineno e atividades farmacológicas. **Revista GEINTEC**, v. 5, n. 2, p. 2103-2112, 2015.

SUMAN, Michele et al. Fighting food frauds exploiting chromatography-mass spectrometry technologies: scenario comparison between solutions in scientific literature and real approaches in place in industrial facilities. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 142, p. 116305, 2021.



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

ATIVAÇÃO DE RECEPTORES CB2 EM PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS E DE DANO DE ÓRGÃOS EM UM MODELO EXPERIMENTAL DE SEPSE

BORGES, Luana.

SORDI, Regina.

luana.bolsoni@grad.ufsc.br

Universidade Federal de Santa Catarina

Palavras-chave: Sepses; Pulmão; Endocanabinoide; CB2.

1 INTRODUÇÃO

A sepse ocorre devido a resposta desregulada do organismo frente a um agente infeccioso (SINGER et al., 2016). Ela leva a uma disfunção orgânica e é responsável por grande parte das internações nas UTIs e gastos do SUS. O sistema endocanabinoide vem ganhando espaço como alvo terapêutico em algumas patologias, e embora as propriedades psicoativas dos canabinoides sejam mais conhecidas, estes também podem modular o sistema imune, respiratório e cardiovascular. A ativação de receptores CB2 tem sido associada com redução do processo inflamatório e estresse oxidativo (DHOPESHWARKAR; MACKIE, 2014). Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da ativação dos receptores canabinoides do tipo 2 (CB2) em parâmetros inflamatórios e de dano de órgãos em um modelo experimental de sepse.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados camundongos suíços machos, com idade entre 70 e 90 dias, fornecidos pelo Biotério Central da UFSC. Os camundongos foram submetidos ao modelo de sepse induzido por pneumonia (SORDI et al., 2013) e divididos em dois grupos: veículo e tratado. Os animais do grupo tratado receberam o agonista de receptores CB2 AM1241 (3 mg/kg; i.p.) 6 e 12 h após a indução da sepse. Animais naïve foram utilizados como controle. Após 24 h da indução do quadro de sepse foram obtidas amostras de sangue e tecido pulmonar. No sangue coletado foi realizada a determinação do lactato e no plasma realizou-se as determinações de ureia, aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) através de kits comercialmente disponíveis (LabTest, Lagoa Santa, MG). A citocina pró-inflamatória IL-1 β foi mensurada no plasma através de kits de ELISA comercialmente disponíveis. Por fim os tecidos pulmonares foram fixados e emblocados para análise histológica e determinação do escore patológico. A análise dos cortes foi realizada de maneira semi-quantitativa com base no grau e extensão da inflamação conforme previamente

VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

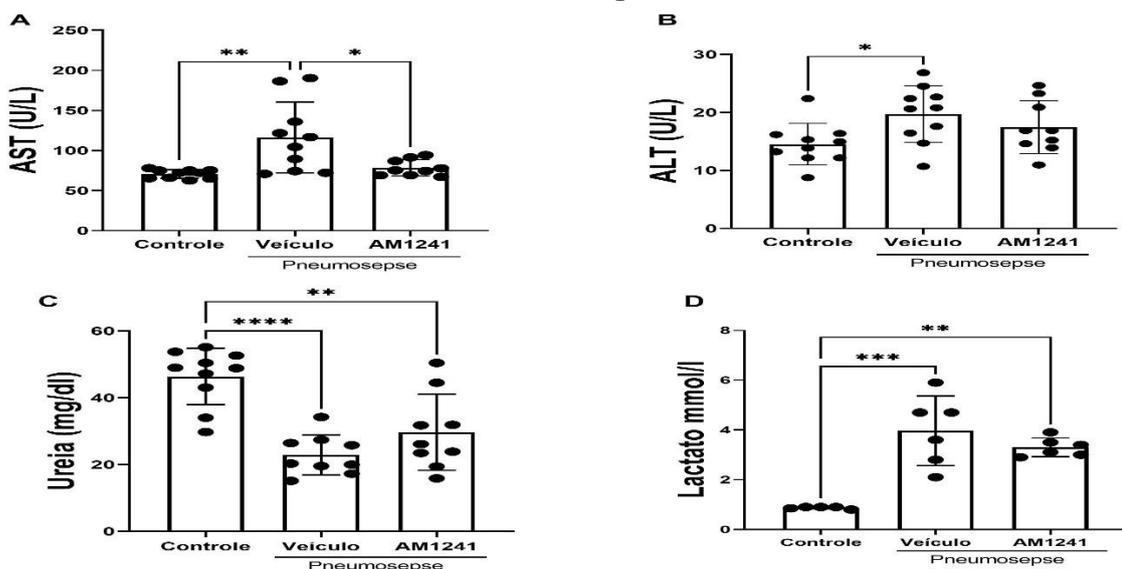
descrito (SORDI et al., 2013). Os resultados foram representados como a média \pm desvio padrão e cada ponto representa um animal.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para avaliar a disfunção renal e hepática e os efeitos da ativação de receptores CB2, foi realizada a determinação de marcadores de dano de órgãos no plasma dos camundongos. Observou-se disfunção hepática pelo aumento nos níveis de AST em animais sépticos veículo quando comparados aos animais controle. Animais que receberam agonista CB2 (tratados) tiveram valores menores de AST comparado ao grupo veículo (Fig 1A). Houve aumento nos níveis de ALT nos animais sépticos veículo quando comparados aos animais controle. Entretanto, o agonista CB2 não alterou este parâmetro (Fig 1B).

Na análise de ureia, os valores de animais sépticos veículo foram expressivamente menores quando comparados com os valores de animais controle. O tratamento dos animais sépticos com o agonista CB2 não foi capaz de impedir ou reverter a redução dos valores de ureia (Fig 1C). Já na análise de lactato no sangue, observou-se valores maiores em animais sépticos quando comparados aos animais controle. O tratamento dos animais sépticos com o agonista CB2 não reduziu os valores de lactato quando comparado ao grupo veículo (Fig 1D).

Figura 1 – Dosagem de AST (A), ALT (B) e ureia (C) no plasma e de lactato (E) no sangue de camundongos



Fonte: O autor.

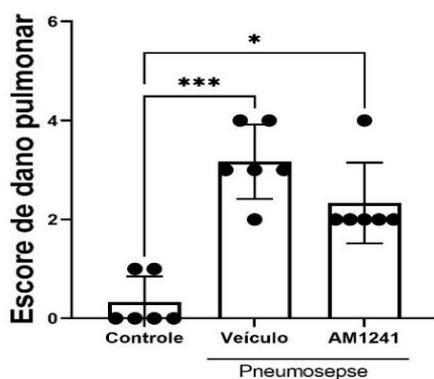
A análise histológica mostrou aumento do processo inflamatório no pulmão dos animais sépticos quando comparado aos animais controle, conforme evidenciado no

VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

escore de dano pulmonar (Fig 2). O tratamento dos animais sépticos com o agonista CB2 AM1241 apresentaram um menor infiltrado inflamatório quando comparados ao grupo veículo.

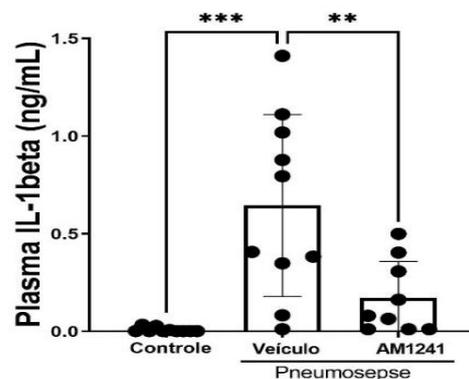
A citocina pró-inflamatória IL-1 β foi mensurada no plasma e foi observado o aumento em animais sépticos veículo quando comparado ao grupo controle. Animais sépticos que receberam AM1241 tiveram uma expressiva diminuição nos níveis de IL-1 β (Fig 3).

Figura 2 – Escore de dano pulmonar



Fonte: O autor.

Figura 3 – Dosagem de IL-1 β no plasma de camundongos machos



Fonte: O autor.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Animais submetidos ao modelo de sepse apresentaram dano hepático e pulmonar, aumento de lactato e da citocina pró-inflamatória IL-1beta. O tratamento dos animais sépticos com agonista CB2 levou a uma diminuição nos valores de AST, sugerindo uma melhora na disfunção hepática. Além disso, obteve-se um perfil menor no grau de extensão da inflamação pulmonar nos animais sépticos tratados. Por fim, observou-se uma expressiva diminuição nos níveis de IL-1 β em animais tratados com AM1241, o que indica uma diminuição na inflamação sistêmica causada pela sepse.

5 REFERÊNCIAS

- DHOPESHWARKAR, A.; MACKIE, K. CB2 cannabinoid receptors as a therapeutic target-what does the future hold? **Molecular Pharmacology**, v. 86, n. 4, p. 430–437, 2014.
- SINGER, M. et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). **JAMA**, v. 315, n. 8, p. 801, 23 fev. 2016.
- SORDI, R. et al. Pneumonia-induced sepsis in mice: Temporal study of inflammatory and cardiovascular parameters. **International Journal of Experimental Pathology**, v. 94, n. 2, p. 144–155, abr. 2013.



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

ANÁLISE METABOLÔMICA DO LEITE DE DOADORA HUMANA PERSONALIZADO COM LEITE DA PRÓPRIA MÃE

SOVERAL, Lucas; FRIZZO, Izadora;
MELLO, Isis; SORGI, Carlos

ZARATE-BLADES, Carlos
lucas-soveral@hotmail.com

Universidade Federal de Santa Catarina, Laboratório de Imunorregulação, Centro de
Controle de Disbioses (CCdis)

Palavras-chave: Saúde neonatal, microbioma do leite, OLHs, Ácidos Graxos

1 INTRODUÇÃO

O recém-nascido prematuro frequentemente necessita de reposição nutricional com leite de doadora nos primeiros dias de vida, devido a incapacidade da própria mãe em produzir uma quantidade de leite suficiente para suprir a demanda nutricional do bebê (SANKAR et al., 2015). Entretanto o processo de pasteurização do leite de doadora acaba eliminando grande parte da microbiota e pode interferir na composição de alguns metabólitos do leite, que são os responsáveis por grande parte dos benefícios atribuídos ao aleitamento materno (MORO et al., 2019). Uma das estratégias de reposição da microbiota do leite de doadora é a adição de 10% do leite da própria mãe ao leite de doadora, seguida de incubação por 4 horas a 37°C, processo conhecido como personalização do leite de doadora (CACHO et al., 2017). Contudo, há vários aspectos dessa técnica que precisam ser avaliados, por exemplo, quais metabólitos e microrganismo são repostos, quais as funções dos metabólitos no crescimento das bactérias e qual a função dos microrganismos na produção de metabólitos no leite. Dessa forma, esse projeto tem o objetivo de compreender qual o papel do leite materno *in natura* na reposição de metabólitos e microbiota ao leite de doadora personalizado e identificar se a técnica é capaz de aproximar o perfil metabólico do leite de doadora ao leite da própria mãe.

2 MATERIAL E MÉTODOS

As amostras utilizadas no projeto serão obtidas, processadas e armazenadas durante e execução do estudo clínico denominado: “Causas e efeitos de microbiotas da mãe no nascimento e sobrevida de recém-nascidos pré-termos: estratégias de promoção de saúde materno-infantil”, coordenado pelo Prof. Dr. Carlos R. Zarate-Blades e pela



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

Prof. Dra. Maria Marlene de Souza Pires, sob CAAE: 41063520.4.0000.0121. Foram definidos 3 diferentes grupos experimentais denominados como: leite da mãe do RNPT (LM), leite de doadora pasteurizado (LP) e leite inoculado (LI); no 5^o e 10^o dias após o nascimento, definidos como: tempo 0 (T0) para 5 dias e tempo 1 (T1) para 10 dias após o nascimento. As análises irão obter o perfil de metabólitos nos leites através de espectrometria de massas acoplada com a cromatografia líquida (UPLC-QTOF-MS), seguindo protocolo descrito por LAMBERTI et al. (2020). Já o perfil composicional e funcional preditivo da microbiota de cada tipo de leite será efetuada por cultivo e por sequenciamento do gene 16s rRNA, como descrito por Cacho *et.al* (2017). Ao final, serão conduzidas análises integrativas relacionando alterações no perfil de metabólitos e com alterações composicionais e funcionais na microbiota do LD personalizado, visando a identificação de metabólitos que possam estar associados a alterações funcionais na microbiota do LD personalizado e identificar se determinadas alterações funcionais na microbiota estão associadas a diferentes perfis de metabólitos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Resultados parciais do cultivo microbiológico

Para fins de validação do método, está sendo realizada cultura microbiológica de amostras de leite de doadora pasteurizado, leite da mãe cru e leite personalizado coletados na Maternidade. Na contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFC/mL), apesar de não terem sido constatadas diferenças estatísticas entre os leites inoculados antes e depois o período de incubação de 4 horas, é importante ressaltar que houve um aumento no número de CFU entre esses dois momentos, sendo possível identificar que houve crescimento bacteriano durante a incubação, inclusive no leite que havia sido armazenado a -20° Celsius por 48 horas.

Resultados parciais dos sequenciamentos

Até o momento, foram sequenciadas e analisadas 24 amostras, referentes a 8 mães do estudo (8 amostras LP, 8 amostras Li e 8 amostras LM). A abundância total de filós demonstra que a composição bacteriana das amostras é predominantemente composta dos filós *Firmicutes* e *Proteobacteria* nos três tipos de leite, e nota-se um pequeno aumento de *Actinobacteria* e *Bacteroidetes* nos grupos LM e Li, sem diferenças estatísticas entre os grupos. Na análise de abundância relativa, que leva em conta a proporção em que os táxons ocorrem em cada amostra, a distribuição dos filós *Firmicutes* e *Proteobacteria* no leite personalizado (Li) encontra-se mais próxima ao encontrado no leite cru das mães pré-termo (LM), entretanto, sem diferenças estatísticas. Para as análises de diversidade alfa, utilizamos os índices *Observed* e



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

Chao 1, que estão relacionados à riqueza de bactérias nas amostras, também utilizamos os índices *Shannon* e *Simpson* que sinalizam aumento ou redução na diversidade bacteriana. Não houve diferenças significativas entre os grupos em nenhum dos índices de diversidade analisados. Resumidamente, esse resultado significa que o processo de incubação do leite cru da própria mãe no leite de doadora pasteurizado não seleciona nenhum filo/gênero de bactéria em específico, do contrário, ocorre o crescimento da comunidade bacteriana em geral que está presente no leite da própria mãe.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados preliminares da cultura microbiológica associados aos dados dos sequenciamentos mostram que o processo de personalização do leite de doadora humana com o leite da própria mãe promove o crescimento de bactérias comensais no leite inoculado e que o perfil da microbiota do leite inoculado torna-se mais parecido com o perfil do leite da própria mãe. Isso indica que as bactérias comensais presentes no leite da própria mãe estão sendo beneficiadas pelo processo de personalização, o que pode gerar alterações a nível de metabólitos no leite inoculado. As próximas análises irão demonstrar se as espécies de bactérias que estão crescendo no leite inoculado podem ter alguma relação com alterações a nível de metabólitos e com a evolução clínica dos bebês prematuros.

5 REFERÊNCIAS

CACHO, N. T. et al. Personalization of the microbiota of donor human milk with mother's own milk. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. AUG, p. 1–12, 2017.

LAMBERTI, M. F. T. et al. Metabolomic Profile of Personalized Donor Human Milk. **Molecules**, v. 25, n. 24, p. 5783, 8 dez. 2020.

MORO, G. E. et al. Processing of donor human milk: Update and recommendations from the European Milk Bank Association (EMBA). **Frontiers in Pediatrics**, v. 7, n. FEB, p. 1–10, 2019.

SANKAR, M. J. et al. Optimal breastfeeding practices and infant and child mortality: A systematic review and meta-analysis. **Acta Paediatrica, International Journal of Paediatrics**, v. 104, n. 467, p. 3–13, dez. 2015



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

O PALMITATO DIMINUI A FUNÇÃO E A MASSA MITOCONDRIAL DE ASTRÓCITOS

SCHMITT, Luisa; DA SILVA, Maria Fernanda;
LATINI, Alexandra.

GASPAR, Joana M.
Universidade Federal de Santa Catarina

Palavras-chave: Obesidade; Mitocôndria; Ácidos Graxos Saturados; Astrócitos; Neurodegeneração.

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, mudanças no estilo de vida com o aumento do consumo de dietas hipercalóricas associadas ao aumento do comportamento sedentário culminaram no desenvolvimento da obesidade. De acordo com a Organização mundial de Saúde, a prevalência de obesidade aumentou em todo o mundo, atingindo atualmente aproximadamente 1,9 bilhão de adultos com excesso de peso, em que destes, 650 milhões são obesos (WHO, 2021). A obesidade é definida como acúmulo anormal ou excessivo de gordura, a qual é um fator de risco para doenças metabólicas e neurodegenerativas [para revisão ver (GASPAR et al., 2016)].

A obesidade está associada ao declínio cognitivo e à demência (GARDENER et al., 2020). Entretanto, os mecanismos fisiopatológicos e moleculares envolvidos no efeito da obesidade na função cerebral ainda não foram totalmente elucidados. A disfunção mitocondrial está envolvida na fisiopatologia da obesidade e doença metabólica, incluindo a desregulação da homeostase energética associado ao estado de inflamação crônica (DE MELLO et al., 2019; REMOR et al., 2019).

Os astrócitos são as células mais abundantes do sistema nervoso central, com funções essenciais no suporte da função neuronal, transporte de substâncias através da barreira hematoencefálica, armazenamento de energia, regulação da neurotransmissão, e também, na regulação imunológica do cérebro. Essas células desempenham um papel na neuroinflamação induzida pela dieta rica em gordura; no entanto, este processo não é totalmente compreendido. A exposição crônica à dietas hiperlipídicas induz ao aumento de GFAP nos astrócitos de roedores, indicando a presença de astrogliose ainda antes do aumento do peso corporal (HORVATH et al., 2010; THALER et al., 2012). Em astrócitos e neurônios foi demonstrado que o ácido palmítico induz estresse oxidativo e aumenta a apoptose celular (NG; SAY, 2018).

O papel exato das células da glia no início e na progressão do declínio cognitivo induzido pela obesidade permanece incerto. Considerando a associação entre neuroinflamação, estresse oxidativo e disfunção mitocondrial, a hipótese deste trabalho é de que os ácidos graxos saturados induzem a disfunção mitocondrial em astrócitos. Assim, o nosso principal objetivo foi estudar o efeito de ácidos graxos saturados, palmitato (C16:0) e estearato (C18:0), na viabilidade celular e função mitocondrial de astrócitos.



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

2 METODOLOGIA

Foi utilizada a linhagem celular de astroglioma C6 obtida da American Type Culture Collection (Rockville, Maryland, EUA). Esta linhagem de células apresenta características astrocíticas, com 99% das células expressando GFAP. As células foram cultivadas em meio Eagle's com modificação de Dulbecco (DMEM), suplementado com 10 % (v/v) de soro fetal bovino (SFB) e 1 % (v/v) de solução antibiótica-antimicótica. A cultura celular foi mantida em uma incubadora umidificada com 5 % CO₂ / 95 % ar mantidas a 37 °C. Quando as células atingiram 85 % de confluência, foram tripsinizadas com 0,05 % de tripsina-EDTA e, em seguida, plaqueadas em placas de 12 ou 96 poços (75.000 células / mL) por 24 horas. Após 24 h em cultura, as células foram incubadas com 200 µM e 400 µM de ácido palmítico ou 200 µM e 400 µM de ácido esteárico durante 6 h. As células usadas como controle foram incubadas com albumina a 10 % (veículo).

A viabilidade celular foi avaliada utilizando o ensaio de brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2, 5-difenil-2H-tetrazólio (MTT). A massa mitocondrial foi determinada usando a sonda fluorescente Mito Tracker Deep-Red (ThermoFisher Scientific, EUA), que localiza a mitocôndria independente do potencial de membrana mitocondrial. As alterações no potencial de membrana mitocondrial foram determinadas pela sonda JC-1 (ThermoFisher Scientific, EUA), que localiza a mitocôndria dependendo do potencial de membrana mitocondrial.

Os resultados foram expressos como média ± erro padrão da média. A análise estatística dos dados foi feita utilizando o software GraphPad Prism 5®, utilizando os análise de variância (ANOVA) de uma via, seguido pelo teste *post hoc* de múltipla comparação de Dunnett, quando F foi considerado significativo. Diferenças entre os grupos foram consideradas significativas quando $p \leq 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi observado que 400 µM e 1 mM de palmitato induziram uma diminuição significativa na viabilidade celular em astrócitos. Não foram observadas alterações na viabilidade celular no tratamento com estearato. Como as concentrações de palmitato abaixo de 400 µM não afetaram a viabilidade celular, as concentrações de 200 µM e 400 µM foram escolhidas para avaliar a viabilidade ao longo do tempo (1 h, 6 h e 24 h). Foi observado uma diminuição significativa da viabilidade em astrócitos após 24 h de tratamento tanto com 200 µM quanto 400 µM de palmitato. Não foram observadas alterações na viabilidade dos astrócitos durante 1 h e 6 h. Em relação ao estearato, não foram observadas alterações significativas na viabilidade dos astrócitos em 1 h, 6 h e 24 h de tratamento para 200 µM e 400 µM.

Para estudar os efeitos dos ácidos graxos saturados na função mitocondrial dos astrócitos, avaliamos o potencial de membrana mitocondrial e a massa mitocondrial. Foi observada uma diminuição significativa no potencial de membrana mitocondrial dos astrócitos com o tratamento de 200 µM e 400 µM de palmitato e 400 µM de estearato. Em relação à massa mitocondrial, observou-se uma diminuição significativa na intensidade de fluorescência em astrócitos tratados com palmitato 200



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

μM e $400 \mu\text{M}$ após 6 h de tratamento. No entanto, células tratadas com estearato não apresentaram alterações significativas na massa mitocondrial.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em conclusão, as altas concentrações de ácidos graxos saturados, principalmente o palmitato (presente em alta concentração no leite, laticínios, óleo de palma e carne), reduzem a viabilidade celular, potencial de membrana mitocondrial e massa mitocondrial em astrócitos. Alterações nas mitocôndrias podem gerar um desequilíbrio metabólico e prejudicar o estado funcional da cadeia respiratória, levando à disfunção celular, que pode contribuir para um declínio cognitivo e metabólico induzido pela obesidade.

5 REFERÊNCIAS

- DE MELLO, N. P. et al. Insulin and autophagy in neurodegeneration. **Frontiers in Neuroscience**, v. 13, n. MAY, p. 1–17, 2019.
- GARDENER, H. et al. Obesity Measures in Relation to Cognition in the Northern Manhattan Study. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 78, n. 4, p. 1653–1660, 2020.
- GASPAR, J. M. et al. Inside the Diabetic Brain: Role of Different Players Involved in Cognitive Decline. **ACS Chemical Neuroscience**, v. 7, n. 2, p. 131–142, 2016.
- HORVATH, T. L. et al. Synaptic input organization of the melanocortin system predicts diet-induced hypothalamic reactive gliosis and obesity. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 107, n. 33, p. 14875–14880, 2010.
- NG, Y. W.; SAY, Y. H. Palmitic acid induces neurotoxicity and gliotoxicity in SH-SY5Y human neuroblastoma and T98G human glioblastoma cells. **PeerJ**, v. 2018, n. 4, 2018.
- REMOR, A. P. et al. Chronic Metabolic Derangement-Induced Cognitive Deficits and Neurotoxicity Are Associated with REST Inactivation. **Molecular Neurobiology**, v. 56, n. 3, p. 1539–1557, 2019.
- THALER, J. P. et al. Obesity is associated with hypothalamic injury in rodents and humans. **Journal of Clinical Investigation**, v. 122, n. 1, p. 153–162, 2012.
- WHO. **Obesity and overweight**, 2021. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>>.



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

INVESTIGAÇÃO NÃO CLÍNICA DA EFICÁCIA ANALGÉSICA DA DIBUCAÍNA ÁCIDA TÓPICA EM UM MODELO DE NEUROPATIA SENSORIAL DOLOROSA POR HIV EM CAMUNDONGOS

BITTENCOURT, Maria Claudia; SILVA, Ana Merian;
FERREIRA, Marcella Amorim; SCHRAN, Roberta Giusti;

FERREIRA, Juliano.

mariaclaudiabittencourt@gmail.com
Universidade Federal de Santa Catarina

Palavras-chave: TRPV1, nocicepção, dibucaína, reposicionamento, analgésicos.

1 INTRODUÇÃO

A dor é farmacorresistente e uma importante fonte de morbidade em pessoas vivendo com HIV que apresentam neuropatia sensorial (NS-HIV) (Egan, Curr Pain Headache Rep. 2021;25:55). A capsaicina tópica (8%) é o único tratamento eficaz disponível para NS-HIV, além de causar irritação na pele após a aplicação. A capsaicina atua estimulando os receptores TRPV1 e ativando as enzimas proteolíticas da calpaína, levando a uma desfuncionalização dos neurônios positivos para TRPV1 e induzindo analgesia de longa duração. Como i) os prótons são agonistas dos receptores TRPV1, ii) os anestésicos locais permeiam o poro do TRPV1 para atuar seletivamente nos neurônios positivos para TRPV1 e; iii) o anestésico local dibucaína não é apenas um bloqueador dos canais de sódio, mas também um ativador da calpaína; levantamos a hipótese de que o tratamento tópico com um creme ácido de dibucaína poderia produzir efeito analgésico em um modelo de camundongos com NS-HIV dolorosa.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pelo CEUA-UFSC número PP00872. O apoio financeiro para este projeto foi fornecido pelo INCT-INOVAMED e CNPq. Camundongos machos C57BL/6-UFSC (N= 4-6, 20-25g) foram submetidos a um modelo de NS-HIV induzido pela administração intratecal repetida da proteína gp120 do envelope de HIV (100 ng/sítio, uma vez ao dia, a cada 3 dias, 3 vezes) mais o medicamento antirretroviral d4T intravenoso (50 mg/kg, uma vez ao dia, a cada 4 dias, duas vezes). Creme ácido (pH 4,0) com ou sem dibucaína 0,1% foi administrado topicamente nas patas traseiras de camundongos (uma vez ao dia,



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

sete vezes) 15 dias após o tratamento com gp120+d4T indicado. Detectamos limiares de retirada da pata (PWTs) e comportamentos motivacionais afetivos (AMBs) após a aplicação de filamentos de von Frey na pata traseira. Os PWTs foram determinados usando o método up-and-down e os AMBs foram detectados pela pontuação dos comportamentos (0-pata normal, 1-pata lateral, 2-pata levantada e 3-lamber, sacudir ou morder a pata) (Corder, Nat Med . 2017;23:164). PWTs e AMBs foram detectados antes e 15 dias após gp120+d4T, bem como 7 dias após o início do tratamento tópico.

3 RESULTADOS

Os animais tratados com gp120+d4T tiveram redução de PWTs (hiperalgesia mecânica) e aumento de AMBs (limiares de $0,488 \pm 0,071$ ou $0,024 \pm 0,007$ g e escores de $1,2 \pm 0,5$ ou $7,8 \pm 2,1$, antes ou 15 dias após o tratamento). O tratamento tópico com creme ácido de dibucaína reduziu significativamente a hiperalgesia mecânica (limiares de $0,268 \pm 0,027$ e $0,036 \pm 0,015$ g, para os grupos dibucaína e veículo), mas não alterou os AMBs (escores de $7,6 \pm 2,1$ e $4,8 \pm 1,5$ g, para dibucaína e grupos de veículos).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nossos resultados demonstram que a aplicação tópica do creme ácido de dibucaína foi capaz de reduzir o componente sensorial, mas não os motivacionais afetivos da nocicepção em um modelo de camundongos de NS-HIV. Estudos estão em andamento para melhorar a eficácia do creme de dibucaína (por exemplo, aumentar a dose e o tempo de tratamento) em nosso modelo.

5. REFERÊNCIAS

1. Ashburn, T.T.; Thor, K.B. Drug repositioning: Identifying and developing new uses for existing drugs. **Nat Rev Drug Discov.** v. 3(8), p. 673-683, 2004.
2. Arca KN, Halker Singh RB. Dehydration and Headache. **Curr Pain Headache Rep.** 2021 Jul 15;25(8):56. doi: 10.1007/s11916-021-00966-z. PMID: 34268642; PMCID: PMC8280611.
3. Kamerman PR, Moss PJ, Weber J, Wallace VC, Rice AS, Huang W. Pathogenesis of HIV-associated sensory neuropathy: evidence from in vivo and in vitro experimental models. **J Peripher Nerv Syst.** v. 17(1), p. 19-31, 2012.



4. Kilic A, Masur C, Reich H, Knie U, Dähnhardt D, Dähnhardt-Pfeiffer S, Abels C. Skin acidification with a water-in-oil emulsion (pH 4) restores disrupted epidermal barrier and improves structure of lipid lamellae in the elderly. **J Dermatol.** v. 46(6), p. 457-465, 2019.
5. Kilkenny C, Browne W, Cuthill IC, Emerson M, Altman DG; NC3Rs Reporting Guidelines Working Group. Animal research: reporting in vivo experiments: the ARRIVE guidelines. **Br J Pharmacol.** v. 160, p.1577-1579, 2010.



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

VESÍCULA ÓTICA COMO ESTRUTURA NORMALIZADORA PARA ANÁLISES DE ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS CAUSADAS PELO VÍRUS DA ZIKA

TAUFER, Nathali P.; SOUZA, Camila S.; BENEVENUTTI, Felipe Z.; ZANLUCA,
Camila; BORDIGNON, Juliano; SANTOS, Claudia N. D.; TRENTIN, Andréa G.

GARCEZ, Ricardo C.
nathaliptauffer@gmail.com
Universidade Federal de Santa Catarina

Palavras-chave: ZIKV; *Gallus gallus*; Cérebro; Ouvido; Padronização.

1 INTRODUÇÃO

O vírus da Zika (ZIKV) foi descoberto em 1947 na Floresta de Zika, Uganda¹. Porém, somente após décadas ele recebeu notoriedade, pois foi constatada sua relação com casos de microcefalia em recém-nascidos de mães infectadas^{2,3}.

Uma das maneiras de verificar os efeitos do ZIKV na formação do futuro cérebro é analisar a área dessa região em embriões inoculados com o vírus. Entretanto, os embriões apresentam grandes variações de tamanho que são intensificadas pelo crescimento acelerado. Para que se tenha maior precisão nas análises morfológicas do sistema nervoso, o ideal é utilizar uma outra região da cabeça do embrião que não tenha sua área alterada para normalizar as variações de tamanho.

O objetivo deste trabalho foi verificar se a área da vesícula ótica (futuro ouvido) seria afetada pela infecção pelo ZIKV. Caso não, permitiria que ela fosse utilizada como uma estrutura normalizadora para medidas morfológicas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Ovos de galinha (*Gallus gallus*) foram incubados a 38 °C durante 48 horas. Em seguida, os embriões foram inoculados com o ZIKV na concentração de 500 PFU (*Plaque Forming Unit*). O grupo controle foi submetido ao mesmo procedimento, mas recebeu uma solução fisiológica sem a presença do vírus.

Vinte e quatro horas depois da inoculação com o ZIKV, os embriões foram retirados dos ovos e fotografados. As áreas das vesículas ótica foram mensuradas por duas pesquisadoras de modo independente com o programa ImageJ. O mesencéfalo de todos os embriões foi medido pela pesquisadora 2 com o mesmo programa. As análises estatísticas foram executadas no *software* GraphPad Prism 9.0, sendo utilizado o valor médio da área de cada vesícula ótica entre as medidas das duas pesquisadoras e desconsiderando os *outliers*.

VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

O método de RT-qPCR foi utilizado para verificar quais embriões estavam infectados pelo ZIKV e somente esses foram considerados para as análises morfológicas.

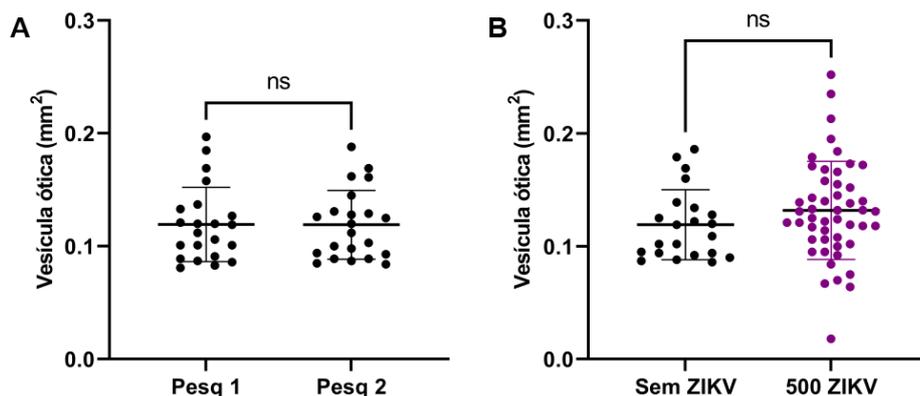
Os procedimentos foram aprovados pela CEUA-UFSC (6016021017) e realizados em sala de nível de biossegurança 2, certificada pelo Comitê Interno de Biossegurança da UFSC (CQD101/99).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para apurar se existia discrepância entre o modo de medir das duas pesquisadoras que realizariam as medidas das áreas das vesículas ótica, foram confrontadas as médias obtidas das áreas das vesículas ótica direita e esquerda dos embriões controles pela pesquisadora 1 em relação às da pesquisadora 2 (Figura 1A). Com base no gráfico (Figura 1A), é possível notar que as duas pesquisadoras atuaram de maneira semelhante, já que não houve diferença estatística entre elas.

Após essa validação, foi realizada a comparação entre os grupos controle e tratado, a fim de averiguar se a área da vesícula ótica seria impactada pela ação do ZIKV, sendo desejável que não houvesse alteração (Figura 1B).

Figura 1 – **Análise de medidas da vesícula ótica.** A – Comparação entre as medidas realizadas por duas pesquisadoras; B – Área da vesícula ótica dos embriões controles e infectados pelo ZIKV



Fonte: A autora.

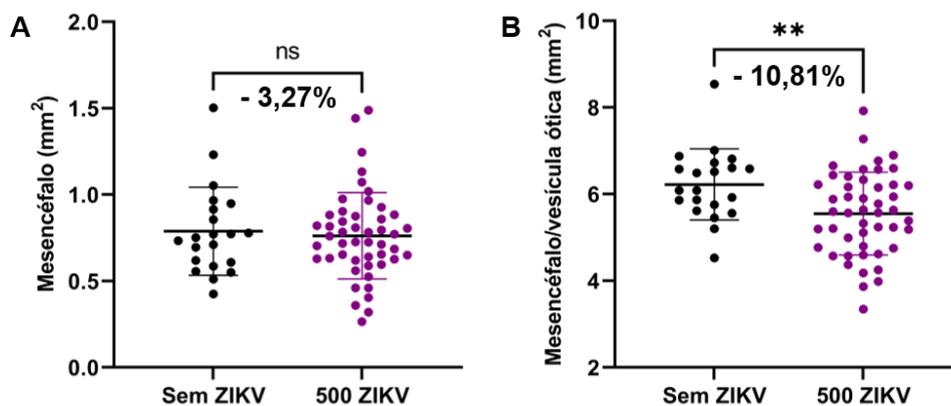
O gráfico 1B indica que o ZIKV não é capaz de provocar alterações significativas no tamanho da vesícula ótica entre os grupos, fato que a certifica como uma opção de estrutura normalizadora para análises morfológicas nesses embriões.

Com o intuito de verificar se a normalização da área do mesencéfalo pela da vesícula ótica resultaria em dados mais precisos, comparou-se as áreas dos

VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

mesencéfalos nos grupos controle e tratado sem (Figura 2A) e com (Figura 2B) a normalização. Esses resultados mostram que a normalização acentuou a redução encefálica dos embriões, proporcionando um resultado científico confiável.

Figura 2 – **Análise de medidas do mesencéfalo**. A – Comparação entre os valores dos grupos controle e tratado não normalizados; B – Comparação entre os valores dos grupos controle e tratado normalizados



Fonte: A autora.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que a vesícula ótica pode ser utilizada como uma estrutura normalizadora para análises de área em embriões de *G. gallus* infectados pelo ZIKV, uma vez que o vírus não teve influência sobre sua área. Além disso, a redução do mesencéfalo nos embriões com o ZIKV ficou mais evidente após a normalização.

5 REFERÊNCIAS

- 1 DICK, G. W.; KITCHEN, S. F.; HADDOW, A. J. Zika virus (I). Isolations and serological specificity. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, [s. l.], v. 46, n. 5, p. 509–520, 1952.
- 2 RASMUSSEN, S. A. *et al.* Zika Virus and Birth Defects — Reviewing the Evidence for Causality. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], v. 374, n. 20, p. 1981–1987, 2016.
- 3 DE OLIVEIRA MELO, A. S. *et al.* Congenital Zika virus infection: Beyond neonatal microcephaly. **JAMA Neurology**, [s. l.], v. 73, n. 12, p. 1407–1416, 2016.



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

BIOPROSPECÇÃO DE BACTERÍÓFAGOS PARA BIOCONTROLE DE *Listeria* spp. NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS

ELOIS, Mariana Alves; CAIO, Helena Yurevna; WACHTER, Júlia Kinetz; PILATI, Giulia Von Tönnemann; SILVA, Raphael; OLIVEIRA, Rafael R.; OMORI, Wellington Pine.

FONGARO, Gislaine
mariana.eloiss@gmail.com

Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)

Palavras-chave: *Listeria monocytogenes*; fagos; ferramentas biotecnológicas; alimentos.

1 INTRODUÇÃO

A *Listeria* é um gênero que compreende bactérias com morfologia de bastonetes, gram-positivas e anaeróbias facultativas. Este gênero inclui mais de vinte espécies conhecidas. No entanto, apenas duas são patogênicas, sendo estas, *Listeria monocytogenes* e *Listeria ivanovii*.

A *Listeria monocytogenes* é um patógeno de origem alimentar que se destaca na indústria alimentícia por sua alta resistência à salinidade e baixo pH, capacidade de crescer em baixas temperaturas e capacidade de formar biofilmes (BUCUR et al., 2018). A sobrevivência e persistência desse patógeno em ambientes de processamento de alimentos estão diretamente relacionadas com o aumento do risco de contaminação cruzada de produtos alimentícios e potenciais mecanismos de resistência a agentes antimicrobianos, biocidas e calor (CLOETE, 2003). Além disso, nichos ou reservatórios não alcançados pelos desinfetantes, a formação de biofilmes e a criação de microambientes protegidos podem estar associados a doses desinfetantes subinibitórias que culminam na persistência de determinadas cepas (MØRETRØ, T.; LANGSRUD, 2004).

Diante dos desafios que *L. monocytogenes* lança às indústrias alimentícias atrelado à crescente prevalência de resistência bacteriana a antibióticos, novas abordagens biotecnológicas devem ser desenvolvidas e aprimoradas para controlar o crescimento microbiano. Nesse contexto, os bacteriófagos, ou fagos, surgem como uma alternativa útil e eficaz para o biocontrole bacteriano e como indicadores de eficiência de processamento, dada sua atividade autorreguladora, baixa toxicidade para células eucarióticas e lise do hospedeiro alvo.

Portanto, o presente trabalho teve como objetivo prospectar novos fagos e aplicá-los em superfícies visando o biocontrole de patógenos, especialmente *Listeria monocytogenes*.



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

2 MATERIAL E MÉTODOS

Para bioprospecção dos bacteriófagos foram utilizadas amostras de ostras provenientes do Laboratório de Moluscos Marinhos (LMM/UFSC), esgotos urbanos e hospitalares provenientes do estado de Santa Catarina, fezes de galinhas crioulas do Oeste de Santa Catarina, coletas de superfícies da linha de produção frigorífica (coletadas em esponjas), peles de frango provenientes de indústrias de alimentos, camas de aviário provenientes da pecuária do Sul do país, bem como bacteriófagos depositados no biobanco do Laboratório de Virologia Aplicada (LVA/UFSC).

Foram realizadas induções de infecções por bacteriófagos *in vitro* a partir das amostras ambientais seguindo o protocolo de Adams com adaptações (ADAMS, 1959).

A determinação do título viral foi realizada por meio da contagem de Unidades Formadoras de Placas (UFPs) (Equação 1):

$$\text{Equação (1)} \\ \text{UFP/mL} = \text{NP} \cdot \text{RD}$$

NP: número de placas contabilizadas.

RD: recíproca da diluição.

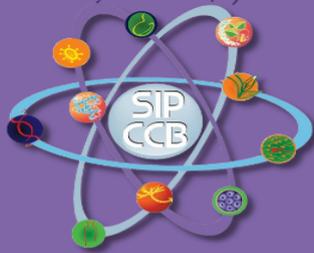
Para a caracterização morfológica dos fagos foi utilizado o microscópio eletrônico de transmissão (JEM-1011 TEM [TEM 100 kV]), por meio da parceria entre o Laboratório de Virologia Aplicada (LVA/UFSC) e o Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME/UFSC).

A preparação das amostras para análise no microscópio eletrônico de transmissão foi feita seguindo o protocolo de Gregoracci com adaptações (GREGORACCI, 2006).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

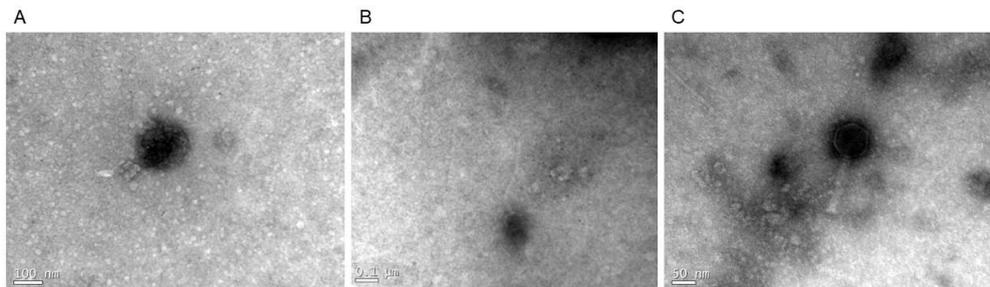
Como resultado da bioprospecção, cento e oito fagos foram isolados de amostras ambientais. Destes, quarenta e quatro fagos apresentaram altos títulos virais e capacidade lítica e, portanto, foram caracterizados morfológicamente.

As imagens obtidas por microscopia eletrônica mostraram morfologias de fagos pertencentes às famílias *Podoviridae*, *Siphoviridae* e *Myoviridae*. As figuras 1A, 1B e 1C apresentam três diferentes fagos, exemplificando as morfologias das famílias virais encontradas.



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

Figura 1. Imagens obtidas por microscopia eletrônica mostraram morfologias de fagos das famílias 1A. *Podoviridae*, 1B. *Siphoviridae* e 1C. *Myoviridae*.



4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo utiliza bacteriófagos como ferramenta biotecnológica aplicada às indústrias alimentícias, apresentando-se como uma alternativa aos métodos tradicionais de controle de patógenos

As aplicações biotecnológicas utilizando bacteriófagos são diversas e podem se estender desde tratamentos para infecções bacterianas em humanos e animais, processo conhecido como fagoterapia, até aplicações em alimentos e superfícies. Além disso, as próprias proteínas fágicas, responsáveis pelo rompimento da parede celular bacteriana, podem ser utilizadas para tratamento de infecções.

5 REFERÊNCIAS

ADAMS, M. H. Bacteriophages. With chapters by E. S. Anderson [and others] Electron micrographs by E. Kellenberger. [S.l.: s.n.]. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5962/bhl.title.6966>>. , 1959.

BUCUR, F. I. et al. Resistance of *Listeria Monocytogenes* to Stress Conditions Encountered in Food and Food Processing Environments. *Frontiers in Microbiology*, v. 0, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2018.02700>>. Acesso em: 14 jun. 2022.

CLOETE, T. E. Resistance mechanisms of bacteria to antimicrobial compounds. *International Biodeterioration & Biodegradation*. [S.l.: s.n.]. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/s0964-8305\(03\)00042-8](http://dx.doi.org/10.1016/s0964-8305(03)00042-8)>. , 2003.

GREGORACCI, G. B. Levantamento De Bacteriófagos Líticos: Isolamento e Caracterização De Vírus Provenientes De Esgoto Comum Com Potencial Aplicação Antimicrobiana. 101 f. Tese (mestrado) - Curso de Genética e Biologia Molecular, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

MØRETRØ, T.; LANGSRUD, S. *Listeria monocytogenes*: biofilm formation and persistence in food-processing environments. *Biofilms*, v. 1, n. 2, p. 107–121, abr. 2004. Acesso em: 14 jun. 2022.



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA DO APROVEITAMENTO DOS RESÍDUOS DO ABACAXI (*ANANAS COMOSUS*) NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS

SILVA, Maria Deyonara Lima; ZANETTI, Joana de Almeida;
ARISI, Ana Carolina Maisonnave;

FEDRIGO, Isabela Maia Toaldo.
deyonara09@gmail.com
Universidade Federal de Santa Catarina

Palavras-chave: Cascas; Frutas Brasileiras; Patentes; Sustentabilidade; Subprodutos.

1 INTRODUÇÃO

Dentre os países tropicais, o Brasil se enquadra como o maior produtor de abacaxi (*Ananas Comosus*), cultivando o fruto em grande parte do território brasileiro (CRESTANI et al., 2010). Porém, durante o processamento do abacaxi é gerado de 25% a 60% de resíduo (POLANÍA et al., 2022). O desperdício de alimentos se tornou pauta inquestionável dentre as indústrias alimentícias, visto que, segundo a Food And Agriculture Organization (2021), os países industrializados desperdiçaram cerca de 931 milhões de toneladas de alimentos em 2019.

Todavia, a qualidade nutricional dessa fruta, incluindo a casca, é evidente possuindo propriedades funcionais e biológicas, como capacidade antioxidante, atividade antimicrobiana, anti-inflamatória e potencial prebiótico, constituindo uma excelente fonte de polifenóis e de fibra alimentar (CAMPOS et al., 2020a, 2020b; GÓMEZ-GARCÍA et al., 2022; POLANÍA et al., 2022; SANTOS et al., 2021).

Além dos benefícios nutricionais e funcionais, há um ganho econômico na indústria alimentícia relacionado ao valor agregado do abacaxi. Este trabalho apresenta uma prospecção tecnológica acerca da utilização de subprodutos do abacaxi, para o desenvolvimento de produtos alimentícios com alto valor nutricional.

2 METODOLOGIA

Foi realizado um estudo prospectivo tecnológico na base dados Espacenet, no período de 22 a 26 de setembro de 2022, sobre o aproveitamento integral do abacaxi, com ênfase na casca, para o desenvolvimento de produtos alimentícios.

A estratégia de pesquisa utilizada incluiu os termos: (("ANANAS COMOSUS" OR pineappl*) AND (Residue OR Shell OR waste OR bran OR peel OR Flour OR Powder)) AND (ipc = A21D2 AND ipc = A21D13 AND ipc = A21D2/36)) NOT (beauty prox/distance<3 health). Realizou-se a busca no título e em todos os campos do texto, resultando em 49 patentes.

VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dessas 49 patentes, 90% eram de origem chinesa, 4% francesa, 4% filipina e 2% japonesa. Patentes brasileiras não foram observadas. Analisando os códigos da Classificação Internacional de Patentes (IPC) associados aos documentos, tem-se: A21 (cozimento; massas comestíveis), A23 (alimentos ou gêneros; tratamento do mesmo, não coberto por outras classes), C12 (bioquímica; cerveja; fermentados; vinho; vinagre; microbiologia; enzimologia; mutação ou engenharia genética), com representatividade de 90%, 7%, 3%, respectivamente.

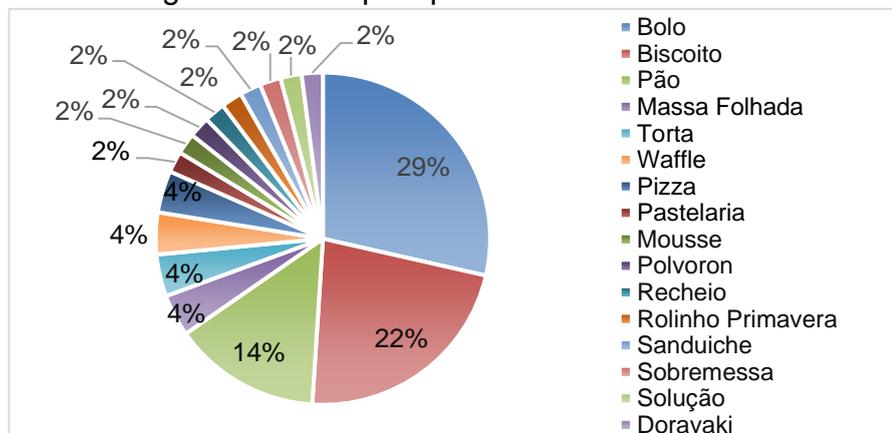
A partir de 2014, cresceu significativamente o número de publicações de patentes de produtos do abacaxi (Figura 1). Observou-se que os principais produtos elaborados são bolos (29%), biscoito (22%) e pão (14%) (Figura 2).

Figura 1 - Relação da quantidade de patentes publicadas por ano.



Fonte: Os autores (2022).

Figura 2 - Principais produtos desenvolvidos.



Fonte: Os autores (2022).

Entretanto, das patentes, 90% abordavam métodos e processos para o desenvolvimento de produtos a partir da polpa do abacaxi. Inferi-se que existe um grande potencial de crescimento na pesquisa e desenvolvimento de produtos



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

alimentícios da casca do abacaxi, já que, das 49 patentes, apenas 10% aborda o aproveitamento desses resíduos. São elas: CN101473859A - Método de produção de biscoitos de fibra alimentar de farelo de abacaxi, CN105475427A - Torta de ovo sabor ananás e método de produção, CN105410129A - Fibra dietética de resíduo de abacaxi e biscoito konjac para saúde e seu método de preparação, CN113057196A - Pão de ananás de cereais grosseiros, CN105360234A - Biscoito saudável feito de fibra dietética de abacaxi e konjac e método de preparação. Para as patentes de biscoitos que somam 60%, evidencia-se o monopólio tecnológico da China.

Diversos produtos poderiam ser enriquecidos com os resíduos do abacaxi, como as farinhas em decorrência da sua praticidade e versatilidade (CAMPOS et al., 2020b). Porém, um dos desafios da indústria de alimentos na inserção da casca como ingrediente alimentício está relacionado ao risco microbiológico, dada a necessidade e a complexidade de higienização em comparação com as outras partes do abacaxi, como a polpa e o miolo (SANTOS et al., 2021).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que existe um vasto campo para pesquisa e desenvolvimento de alimentos a partir dos resíduos do abacaxi, que são ricos em fibras alimentares e compostos bioativos, em particular a casca, principal resíduo gerado no processamento.

5 REFERÊNCIAS

CAMPOS, D. A. et al. Integral valorization of pineapple (*Ananas comosus* L.) By-products through a green chemistry approach towards Added Value Ingredients. **Foods**, v. 9, n. 1, 2020a.

CAMPOS, D. A. et al. Impact of functional flours from pineapple by-products on human intestinal microbiota. **Journal of Functional Foods**, v. 67, 1 abr. 2020b.

CRESTANI, M. et al. Das Américas Para O Mundo - origem, Domesticação E Dispersão Do Abacaxizeiro. **Ciência Rural**, v. 40, n. 6, p. 1473–1483, jun. 2010.

UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME. **FOOD WASTE INDEX REPORT 2021**. Nairobi: [s.n.].

GÓMEZ-GARCÍA, R. et al. Impact of Simulated Human Gastrointestinal Digestion on the Bioactive Fraction of Upcycled Pineapple By-Products. **Foods**, v. 11, n. 1, 1 jan. 2022.

POLANÍA, A. M. et al. **Valorization of pineapple waste as novel source of nutraceuticals and biofunctional compounds. Biomass Conversion and Biorefinery**. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH, 2022.

SANTOS, D. I. et al. Pineapple (*Ananas comosus* L.) by-products valorization: Novel bio ingredients for functional foods. **Molecules**, v. 26, n. 11, 1 jun. 2021.



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

EXTRATO TOTAL DO FUNGO ENDOFÍTICO *NEOFUSICOCCUM PARVUM* ISOLADO DA PLANTA *AVICENNIA SCHAUERIANA* DO MANGUEZAL DA REGIÃO DO ITACORUBI, FLORIANÓPOLIS-SC, APLICADO A ATIVIDADES VIRUCIDA E ANTIVIRAL

CADAMURO, Rafael Dorighello; BASTOS, Isabela Maria Agustini da Silveira;
ZUCHI, Isabella Dai Pra; PAVI, Catielen Paula; PENSO, Júlia Zanette; ELOIS,
Mariana Alves; PILATI, Giulia Von Tönnemann; SILVA, Izabella Thaís; STEINDEL,
Mário; FONGARO, Gislaine.

FONGARO, Gislaine
rafaelcada@hotmail.com
Universidade Federal de Santa Catarina

Palavras-chave: Fungos endofíticos; Manguezal; Virucida e antiviral; *Neofusicoccum parvum*.

1 INTRODUÇÃO

Ao longo da evolução dos seres relações se estabeleceram entre os seres. Dentre estas, algumas se desenvolveram como benéficas e outras patogênicas. A descoberta da penicilina por Alexander Fleming em 1928 trouxe o início da aplicação de compostos com atividade de inibição bacteriana em nossa sociedade. Os fungos por sua vez são microrganismos com capacidade de produzir variados biocompostos, dada a sua variação genética (BÉRDY, 2012; BACON; HINTON, 2014). Os fungos habitam diversos habitats e se relacionam de variadas formas com outros seres. Fungos endofíticos são definidos por apresentarem capacidade de hospedar tecidos vegetais sem causar sintomas, produzindo metabólitos secundários utilizados de forma benéfica pelos vegetais (RODRIGUEZ *et al.*, 2009). A Ilha de Florianópolis apresenta diversos habitats, sendo o manguezal um nicho singular. O manguezal apresenta desafios para as espécies vegetais, dada sua alta salinidade, baixa quantidade de oxigênio dissolvido e competição entre patógenos (RAJAMANI *et al.*, 2018). A busca por biocompostos se dá contra diversos patógenos, em especial os vírus. Os vírus são partículas que dependem de células para sua replicação, podendo contaminar ambientes. Vírus não envelopados apresentam maior resistência aos fatores ambientais, como variação de temperatura, pH e radiação ultravioleta. Sua resistência está associada as suas estruturas, apresentando suas proteínas receptoras celulares ancoradas ao capsídeo proteico (CARTER, 2005). Se tornando



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

então necessário a busca por novas moléculas e compostos com atividade de inibição de vírus no ambiente.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Para o processo de isolamento foi realizada coleta de amostras vegetais no manguezal do Itacorubi nas coordenadas 27°35'16.1"S e 48°30'31.2"W. Foram obtidas culturas axênicas a partir de fungos isolados de tecidos internos da região da folha da espécie *Avecinnia schaueriana*. O fungo caracterizado como *Neofusicoccum parvum* teve suas características micro, macromorfológicas e molecular analisadas para se chegar ao nível de espécie. O fungo *N. parvum* foi submetido a uma fermentação em estado sólido utilizando 90g de arroz orgânico e 90mL de água destilada previamente autoclavados e mantidos por 14 e 21 dias de fermentação. Após o período estipulado foi realizada a maceração química utilizando CH₃OH e CH₂Cl₂ e obtido o extrato bruto após filtração e rotaevaporação. O extrato total de 21 dias obtido foi analisado quanto à sua citotoxicidade em células de linhagem VERO, L929 e A549 e ensaios virucida e antiviral usando os modelos virais *Murine hepatitis viruses* (MHV-3) e Adenovírus humano (HAdV-2).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os ensaios de citotoxicidade estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Citotoxicidade

Linhagem celular	Concentração de CC ₅₀
VERO	>500 ug/mL
L929	>500 ug/mL
A549	>500 ug/mL

Os resultados dos ensaios virucida e antiviral foram delimitados a partir das concentrações avaliadas no ensaio de citotoxicidade.

A Tabela 2 apresenta os dados obtidos dos ensaios virucida e antiviral em redução de logs.

Tabela 2 – Virucida

Modelo viral	Concentração do extrato total	Redução de partículas virais
MHV-3	250 ug/mL	N.d
HAdV-2	250 ug/mL	N.d

N.d – não detectado



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

Tabela 3 – Antiviral

Modelo viral	Concentração do extrato	Redução de partículas virais
MHV-3	500 ug/mL	N.d
HAdV-2	500 ug/mL	N.d

N.d – não detectado

O resultado de citotoxicidade indica o valor que deverá ser tóxico para 50% das células, sendo este acima da maior concentração testada, indicando a possibilidade de uso em variadas concentrações do extrato total. O ensaio virucida e antiviral realizados nas concentrações apresentadas não demonstraram inibição das glicoproteínas virais (ensaio virucida) e tão pouco do processo de replicação viral dos vírus em suas células hospedeiras.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se, portanto, que o fungo *Neofusicoccum parvum* ao ser submetido a fermentação em estado sólido por 21 dias em arroz orgânico não produziu compostos com atividade de inibição de modelos virais envelopados e não envelopados utilizado no ensaio.

5 REFERÊNCIAS

- BACON, C. W.; HINTON, D. M. Microbial endophytes: Future challenges. *In: Advances in Endophytic Research*. [s.l.] Springer India, 2014. p. 441–451.
- BÉRDY, J. **Thoughts and facts about antibiotics: Where we are now and where we are heading** *Journal of Antibiotics* 18 ago. 2012. Disponível em: <www.nature.com/ja>. Acesso em: 8 jul. 2022.
- CARTER, M. J. Enterically infecting viruses: Pathogenicity, transmission and significance for food and waterborne infection. *Journal of Applied Microbiology*, v. 98, n. 6, p. 1354–1380, 2005.
- RAJAMANI, T.; SURYANARAYANAN, T. S.; MURALI, T. S.; THIRUNAVUKKARASU, N. Distribution and diversity of foliar endophytic fungi in the mangroves of Andaman Islands, India. *Fungal Ecology*, v. 36, p. 109–116, 1 dez. 2018.
- RODRIGUEZ, R. J.; WHITE, J. F.; ARNOLD, A. E.; REDMAN, R. S. Fungal endophytes: Diversity and functional roles: Tansley review. *New Phytologist*, v. 182, n. 2, p. 314–330, 2009.



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

A INFLUÊNCIA DO CROMOSSOMO 4 SOBRE A RESPOSTA COMPORTAMENTAL DE FÊMEAS EM UMA DOSE AGUDA DE FENPROPOREX

KREMER, Rafael; OLIVEIRA, Breno R.F.; BOEDER, Ariela M.;
ARAÚJO, Júlia F.P.; PEREIRA, Aline G.

IZÍDIO, Geison S.
rafael.kremer@uffs.edu.br

Universidade Federal de Santa Catarina / Universidade Federal da Fronteira Sul

Palavras-chave: comportamento; ratos congênicos; fenproporex; Anxrr16.

1 INTRODUÇÃO

O Fenproporex (FEN) foi o segundo anorexígeno a base de anfetamina (AMPH) mais utilizado no mundo para o tratamento da obesidade (Cohen, 2009). Ainda que tenha sido desenvolvido com o intuito de fornecer supressão do apetite sem efeitos estimulantes, estudos clínicos demonstram que o uso de FEN, especialmente em mulheres, pode produzir ansiedade, palpitações, insônia e abuso (Cohen, 2009).

De fato, estudos experimentais têm demonstrado que a administração de FEN em ratos promove elevada concentração de AMPH encefálica após 5min, cujo pico é alcançado após 15min (Coutts et al., 1986). Além disso, comportamentos do tipo estimulante, como o aumento da locomoção e estereotipia (Rezin et al., 2014), e o completo bloqueio da ingestão de alimentos foram observados com maior sensibilidade em fêmeas (Mattei & Carlini, 1996). Dessa forma, sabendo-se que a farmacogenética do FEN não é totalmente compreendida, faz-se necessário estudos adicionais que avaliem a resposta ao uso do FEN em distintas variantes genéticas.

Em ratos, especialmente fêmeas, o cromossomo 4 (Chr4) demonstra efeito pleiotrópico ao uso de etanol (Anjos et al., 2022), sensibilização à cocaína (Vendrusculo et al., 2009) e transtornos psiquiátricos (de Medeiros et al., 2014). Em nosso laboratório foi desenvolvida uma linhagem congênica denominada SLA16, a qual possui o locus gênico *Anxrr16* do Chr4 de ratos Lewis dentro do “background” genético de ratos espontaneamente hipertensos (SHR) (de Medeiros et al., 2014).

Como essas linhagens isogênicas de ratos são submetidas aos mesmos efeitos ambientais, esses modelos genéticos únicos de ratos permitem avaliar a influência da região genômica *Anxrr16*, no Chr4, sobre o comportamento após a administração de fármacos. Assim, o presente estudo avaliou no teste de campo aberto (CA) a atividade locomotora espontânea, as reações estereotípicas, o comportamento tipo ansiedade e as funções autonômicas de fêmeas das linhagens SLA16 e SHR após a administração aguda de FEN.

VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

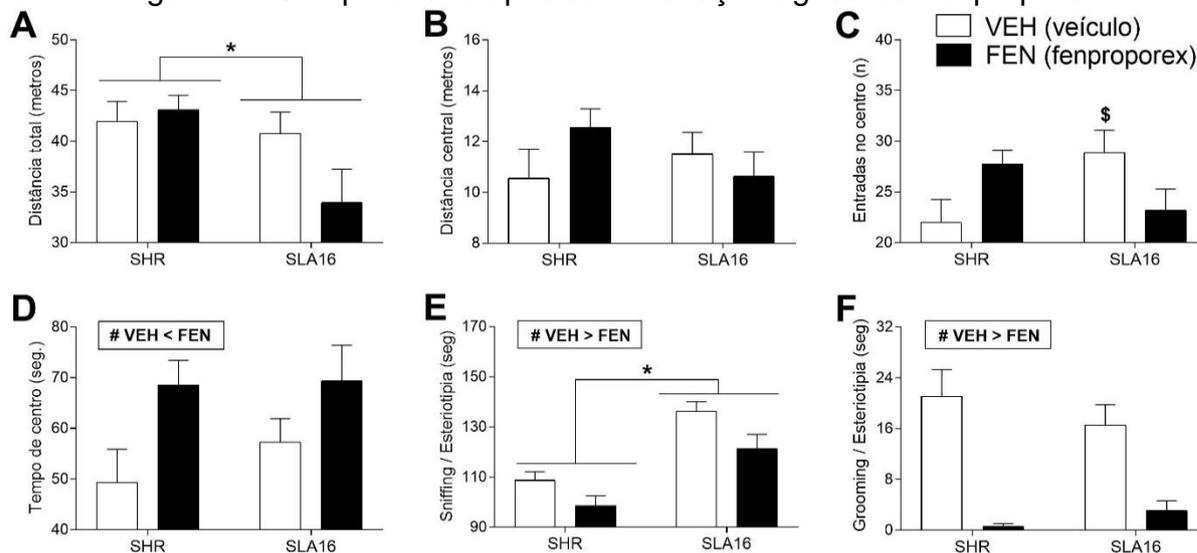
2 MATERIAL E MÉTODOS

Ratas fêmeas das linhagens SHR e SLA16 receberam aos 61 dias de idade uma injeção de FEN (4mg/kg, IP) ou veículo (VEH; 0,9%NaCl, IP). Após 15min da administração os animais foram submetidos ao CA para investigação da locomoção, estereotipias, ansiedade e funções autonômicas (Izidio et al., 2005). O projeto possui o CEUA-UFSC nº9500240920. Para as análises estatísticas (ANOVA de duas vias / Teste de Duncan) usou-se o software *Statistica*.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

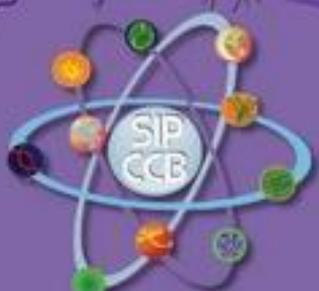
A administração de FEN aumentou o tempo de centro (F(1,34)=7,12;p<0,05;1D) e diminuiu o tempo de periferia (F(1,34)=7,12;p<0,05), “sniffing” (F(1,34)=8,20;p<0,05;1E) e “grooming” (F(1,34)=46,11;p<0,05;1F). Nenhuma diferença de tratamento foi verificada quanto a distância total e central percorrida. O FEN diminuiu a frequência de “grooming” (F(1,33)=94,88; p<0,05).

Figura 1 – Campo aberto após administração aguda de Fenproporex



Fonte: O(s) autor(es).

Em relação as linhagens, os ratos SHR percorreram maior distância total do que os SLA16 (F(1,34)=4,80; p<0,05;1A), possivelmente devido ao efeito de aplicação do veículo, uma vez que no grupo controle sem veículo houve maior distância percorrida pelos SLA16 (dados não mostrados). O comportamento de “sniffing” foi maior na linhagem SLA16 do que na SHR (F(1,32)=32,84;p<0,05;1E). Interações foram observadas, sendo: o número de entradas centrais maior no grupo VEH.SLA16 (F(1,33)=8,07;p<0,05;1C), a quantidade de movimentos verticais foi maior no grupo FEN.SLA16 (F(1,34)=1,38;p<0,05), a área periférica percorrida foi menor no grupo FEN.SLA16 (F(1,32)=4,45;p<0,05) e o comportamento de “climbing” foi maior no



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

grupo FEN.SLA16 ($F(1,33)=7,72;p<0,05$). Esses resultados fornecem evidências de um efeito farmacogenético, pois as linhagens diferem quanto à sensibilidade ao FEN. Não houve diferenças quanto à defecação entre os grupos experimentais.

Apesar do FEN ter aumentado o tempo central e diminuído o tempo periférico no CA, houve aumento do número de entradas ao centro e nenhuma modificação em relação a distância central percorrida e a defecação. Dessa forma, podemos estimar que a administração de FEN de forma aguda não modificou os comportamentos do tipo ansiedade uma vez que tomados em conjunto os dados não apresentam confluência de resultados. Quanto aos comportamentos estereotipados, 4mg/Kg de FEN atuou como um potente estimulante, uma vez que de maneira similar Antoniou e colaboradores (1998) observaram que doses elevadas de AMPH reduzem a frequência e duração do “grooming” enquanto doses baixas aumentam os mesmos.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho revelou diferente sensibilidade entre as linhagens SLA16 e SHR após a administração de uma única injeção intraperitoneal de fenproporex, demonstrando a influência de uma região do cromossomo 4 na resposta comportamental de fêmeas frente aos efeitos desse anorexígeno do tipo-anfetamina.

5 REFERÊNCIAS

- Cohen, P.A. Imported fenproporex-based diet pills from Brazil: a report of two cases. **J. Gen. Intern. Med.** 24, 430–33, 2009.
- Coutts, R.T., Nazarali, A.J., Baker, G.B., and Pasutto, F.M. Metabolism and disposition of N-(2-cyanoethyl)amphetamine (fenproporex) and amphetamine: study in the rat brain. **Can. J. Physiol. Pharmacol.** 64, 724–28, 1986.
- Rezin, G.T., Furlanetto, C.B., Scaini, G., Valvassori, S.S., Gonçalves, C.L., Ferreira, G.K., Jeremias, I.C., Resende, W.R., Cardoso, M.R., Varela, R.B., et al. Fenproporex increases locomotor activity and alters energy metabolism, and mood stabilizers reverse these changes: a proposal for a new animal model of mania. **Mol. Neurobiol.** 49, 877–92, 2014.
- Mattei, R., and Carlini, E.A. A comparative study of the anorectic and behavioral effects of fenproporex on male and female rats. **Braz. J. Med. Biol. Res.** 29, 1025–30, 1996.
- de Medeiros, G.F., Corrêa, F.J., Corvino, M.E., Izídio, G.S., and Ramos, A. The long way from complex phenotypes to genes: The story of rat chromosome 4 and its behavioral effects. **World J. Neurosci.** 04, 203–15, 2014.
- Vendruscolo, L.F., Izídio, G.S., and Takahashi, R.N. Drug reinforcement in a rat model of attention deficit/hyperactivity disorder--the Spontaneously Hypertensive Rat (SHR). **Curr. Drug Abuse Rev.** 2, 177–83, 2009.
- Izídio, G.S., Lopes, D.M., Spricigo, L., and Ramos, A. Common variations in the pretest environment influence genotypic comparisons in models of anxiety. **Genes Brain Behav.** 4, 412–19, 2005.



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

NEUROTOXICIDADE INDUZIDA PELO FUNGICIDA MANCOZEB E SUA POSSÍVEL RELAÇÃO COM A DOENÇA DE PARKINSON

SILVA, Suzana; FARINA, Marcelo;
COLLE, Dirleise.

suzanadasilva1997@gmail.com

Universidade Federal de Santa Catarina

Palavras-chave: Mancozeb; Neurotoxicidade; Doença de Parkinson.

1 INTRODUÇÃO

Os agrotóxicos são compostos amplamente utilizados na agricultura. Desde 2008 o Brasil é considerado o maior consumidor de agrotóxicos do mundo. Somente em 2020, foram comercializadas 685.745,68 toneladas desses compostos no país, sendo o Mancozeb, o terceiro mais utilizado (1). O Mancozeb (MZ) é um fungicida pertencente a subclasse dos Etilenobisditiocarbamatos (EBDCs). Estruturalmente se assemelha ao Maneb e ao Zineb, tendo a presença de dois metais em sua estrutura química: Manganês (Mn) e Zinco (2). O Mn, apesar de ser um metal importante para os sistemas biológicos, pode se acumular no tecido cerebral e causar manganismo, uma condição semelhante à Doença de Parkinson (DP) idiopática (3). A DP é uma doença neurodegenerativa caracterizada pela perda progressiva de neurônios dopaminérgicos na substância negra compacta e comprometimento da função motora (4). Estudos anteriores em modelo *in vitro* e *in vivo*, demonstram toxicidade dopaminérgica após exposição ao MZ e outros EBDCs (5-7). Entretanto, a neurotoxicidade deste agrotóxico e seu possível envolvimento com o desenvolvimento da DP foi pouco explorado até o presente momento. Tendo em vista isso, o objetivo deste estudo é avaliar a toxicidade do fungicida MZ em células de neuroblastoma humano, SH-SY5Y, as quais possuem características de neurônios dopaminérgicos e são consideradas um bom modelo para estudar a DP.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas células de neuroblastoma humano (SH-SY5Y) cultivadas em meio DMEM-F12, suplementado com 10% de soro fetal bovino, 2 mM de glutamina, 0,28 µg/µL de gentamicina e 250 µg de anfotericina B e mantidas a 37°C em uma atmosfera contendo 5% de CO₂. O MZ, adquirido da Sigma-Aldrich, foi dissolvido no veículo dimetilsulfóxido (DMSO) em uma concentração que não excedeu 0,05%. As células foram expostas ao veículo ou ao MZ nas concentrações de 1, 3, 6, 10, 15, 20 e 30 µM durante 24 horas. Em experimentos paralelos, as células foram expostas a 6 e 20 µM de MZ durante 1, 3, 6, 12, 24 e 48 horas. Em seguida, foi realizado o ensaio

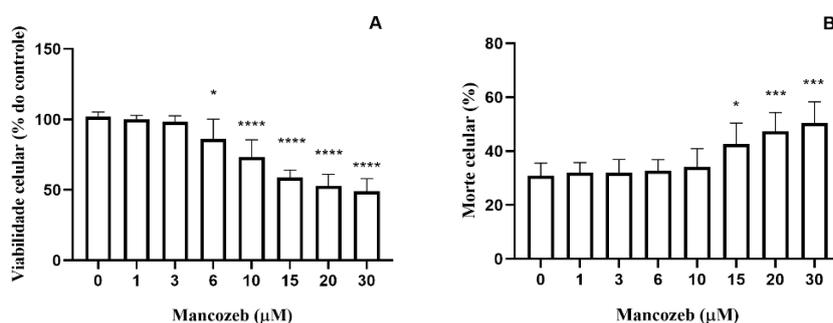
VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

de redução do MTT para avaliação da viabilidade celular e o ensaio de incorporação do iodeto de propídio (IP) para avaliação da morte celular. As análises estatísticas foram feitas no programa Graphpad Prism 8.4.3 (Dotmatics 2022). Diferenças entre os grupos foram avaliadas através de ANOVA de uma via, seguido do teste de *post hoc* de Dunnett. Os dados foram representados como média \pm erro padrão da média e as diferenças foram consideradas significativas para $p < 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a realização dos experimentos foram observadas reduções significativas na viabilidade celular, após 24h de exposição ao MZ, nas concentrações de 6, 10, 15, 20 e 30 μM (Fig. 1A). Além disso, a exposição à 15, 20 e 30 μM de MZ causou um aumento significativo na incorporação do IP, indicando morte celular (Fig. 1B).

Figura 1. Citotoxicidade do fungicida MZ em células SH-SY5Y

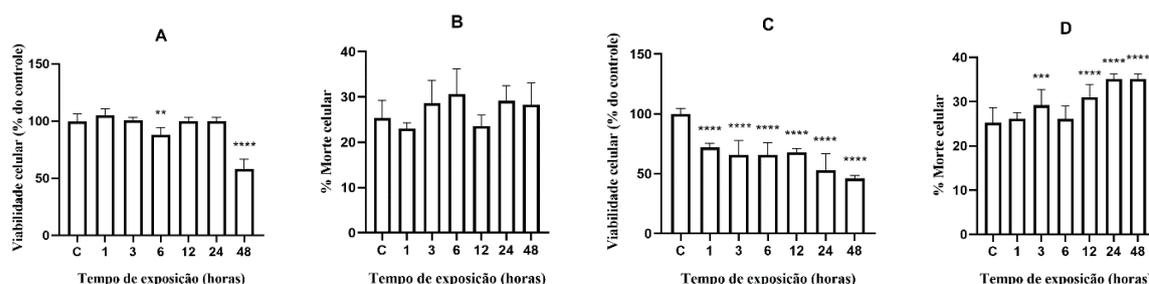


As células foram expostas ao MZ (1- 30 μM) durante 24 horas. A viabilidade celular foi avaliada pela redução do MTT e expressa pela porcentagem do controle (células não tratadas, 100%) (A). A incorporação do IP foi expressa pela porcentagem do controle positivo de morte (células tratadas com triton, 100%) (B). Cada barra representa a média \pm EPM de 3 – 4 experimentos independentes. * $p \leq 0,05$ e **** $p \leq 0,0001$ indicam diferença quando comparados ao grupo controle (células não tratadas), através de ANOVA de uma via seguido pelo teste de *post hoc* de Dunnett.

Em seguida, a toxicidade temporal do fungicida foi analisada. As células foram expostas às concentrações de 6 e 20 μM do MZ e os ensaios de viabilidade e morte celular foram realizados após 1, 3, 6, 12, 24 e 48 horas. O MZ, na concentração de 6 μM , causou uma diminuição significativa na viabilidade celular após 48 horas de exposição (Fig. 2A), sem induzir morte celular (Fig. 2B). Já a concentração de 20 μM do fungicida reduziu significativamente a viabilidade celular após 1 hora de exposição (Fig. 2C). Além disso, a exposição ao MZ 20 μM induziu um aumento na incorporação do IP em 3 horas (Fig. 2D).

VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

Figura 2. Citotoxicidade temporal do MZ em células SH-SY5Y



As células foram expostas ao MZ nas concentrações de 6 μM (A e B) e 20 μM (C e D) durante 1, 3, 6, 12, 24 e 48 horas. A viabilidade celular foi avaliada pela redução do MTT e expressa pela porcentagem do controle (células não tratadas, 100%) (A e C). A incorporação do IP foi expressa pela porcentagem do controle positivo de morte (células tratadas com triton, 100%) (B e D). Cada barra representa a média \pm EPM de 3 – 8 experimentos independentes. ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$ e **** $p \leq 0,0001$ indicam diferença quando comparados ao grupo controle, através de ANOVA de uma via seguido pelo teste de post hoc de Dunnett.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos até o momento, demonstram que o MZ causa toxicidade nas células SH-SY5Y em baixas concentrações. Porém, mais experimentos são necessários para avaliar seu mecanismo de neurotoxicidade, bem como o potencial envolvimento do MZ no desenvolvimento da DP.

5 REFERÊNCIAS

- 1 IBAMA (2021). Vendas de agrotóxicos e afins no Brasil no período de 2000 a 2021. Disponível em: <<https://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#boletinsanuais>> Acesso em 02/10/2022.
- 2 KANCHI, S.; SINGH, P.; BISETTY, K.. Dithiocarbamates as hazardous remediation agent: a critical review on progress in environmental chemistry for inorganic species studies of 20th century. **Arabian Journal Of Chemistry**, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 11-25, jan. 2014. Elsevier BV.
- 3 PERL, Daniel P.; OLANOW, C. Warren. The Neuropathology of Manganese-Induced Parkinsonism. **Journal Of Neuropathology & Experimental Neurology**, [S.L.], v. 66, n. 8, p. 675-682, ago. 2007. Oxford University Press (OUP).
- 4 POEWE, Werner *et al.* Parkinson disease. **Nature Reviews Disease Primers**, [S.L.], v. 3, n. 1, p. 1-21, 23 mar. 2017. Springer Science and Business Media LLC.
- 5 DOMICO, Lisa M. *et al.* Acute neurotoxic effects of mancozeb and maneb in mesencephalic neuronal cultures are associated with mitochondrial dysfunction. **Neurotoxicology**, [S.L.], v. 27, n. 5, p. 816-825, set. 2006. Elsevier BV.
- 6 NEGGA, Rekek *et al.* Exposure to Glyphosate- and/or Mn/Zn-Ethylene-bis-Dithiocarbamate-Containing Pesticides Leads to Degeneration of γ -Aminobutyric Acid and Dopamine Neurons in *Caenorhabditis elegans*. **Neurotoxicity Research**, [S.L.], v. 21, n. 3, p. 281-290, 16 set. 2011. Springer Science and Business Media LLC.
- 7 COSTELLO, S. *et al.* Parkinson's Disease and Residential Exposure to Maneb and Paraquat From Agricultural Applications in the Central Valley of California. **American Journal Of Epidemiology**, [S.L.], v. 169, n. 8, p. 919-926, 3 mar. 2009. Oxford University Press (OUP).



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

PROSPECÇÃO DE CELULASES E XILANASES EM LEVEDURAS ISOLADAS DO INTESTINO DE LAGARTAS *Spodoptera frugiperda*

TADIOTO, Viviani; GIEHL, Anderson;
TRAMONTIN, Marco A; BERNARDI, Oderlei.

ALVES, Sérgio Luiz Jr.
vivitadioto@gmail.com

Palavras-chave: Carboximetilcelulose; xilana; enzimas; xilanase; celulase.

1 INTRODUÇÃO

Em decorrência da massiva utilização dos automóveis movidos a combustíveis fósseis, os passivos ambientais gerados de forma crescente têm preocupado a sociedade. O Brasil tem uma posição de destaque na produção de etanol de primeira geração (1G) pelo processo de fermentação, visto que boa parte dessa tecnologia é determinada pela levedura aplicada no processo fermentativo, da espécie *Saccharomyces Cerevisiae*. Essa ampla produção de etanol 1G deixa como subproduto residual de sua fermentação o bagaço lignocelulósico, que pode ser reaproveitado para um aumento da produção de etanol existente. Dentre as enzimas necessárias e reponsáveis pelo processo de degradação do bagaço lignocelulósico para conversão em etanol, através da ação hidrolítica, estão as enzimas celulases e as xilanases que cepas industriais de *S. Cerevisiae* não possuem.

Um dos maiores gargalos da produção de etanol 2G é o custo elevado dessas enzimas utilizadas na degradação da celulose e da hemicelulose nesse processo, o que torna a produção pouco acessível para as usinas sucroalcooleiras (ADITIYA, et al., 2016; MUPONDWA, et al., 2017). Com isso, este estudo se propôs a identificar e caracterizar enzimas hidrolíticas expressas por linhagens de leveduras isoladas do intestino da lagarta da espécie *Spodoptera frugiperda* em sua fase larval; visto que esta apresenta condições de degradação lignocelulósica em seu intestino.



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

2 METODOLOGIA

As linhagens de leveduras utilizadas neste trabalho foram isoladas a partir do intestino de lagartas *Sp. frugiperda* que foram cedidas pelo Grupo de Pesquisa em Resistência de Insetos (G-PR) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). As lagartas foram criadas em condições ambientais ótimas, alimentadas com folhas de milho e subsequentemente, submetidas ao processo de dissecação. Foi realizado o esgotamento em placas de Petri contendo meios sintéticos e as leveduras foram isoladas pela morfologia da colônia.

Para a atividade celulase, as leveduras foram submetidas a crescimento celular durante 5 dias em meios sólidos contendo carboximetilcelulose (CMC) a 30°C. Ao fim deste período, o corante vermelho de Congo foi adicionado às placas para detecção da atividade celulolítica através da manifestação de halos sem coloração na superfície do meio.

Já a atividade xilanase foi avaliada em microplacas de 96 poços. Os sobrenadantes das células previamente crescidas em xilana foram adicionados a microplacas contendo 1% deste polissacarídeo como substrato da reação. Após 1 h a 50°C, o reagente DNS foi utilizado para a detecção de açúcares redutores formados com a hidrólise da xilana. Uma unidade de atividade enzimática (U) foi definida como a quantidade de enzima requerida para liberar 1 µmol de açúcar redutor por minuto nas condições do ensaio.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

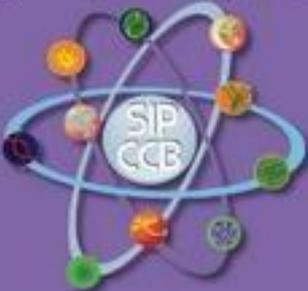
Isolamento de leveduras utilizadas

Foram isoladas 46 linhagens de leveduras do intestino da lagarta *Sp. frugiperda* alimentadas com folhas de milho. Essas cepas então como parte da coleção do Grupo de Pesquisa em Processos Enzimáticos e Microbiológicos da UFFS, receberam um código de identificação com o prefixo CHAP seguido de um número que acompanha a ordem da coleção.

Triagem de leveduras celulolíticas com vermelho de congo

As cepas foram submetidas à verificação da capacidade celulolítica a 30°C em meios sólidos contendo a carboximetilcelulose (CMC). Essa etapa mostrou que 30 das quarenta e seis linhagens analisadas possuem capacidades distintas de degradação da celulose, o que se observa pelo diâmetro dos halos formados após a adição do vermelho de Congo. A atividade celulase foi analisada com base no tamanho que o halo de degradação apresentou; elevadas atividades celulolíticas são associadas proporcionalmente com os maiores halos (CARVALHO, et al., 2021).

As linhagens que se destacaram com as maiores medidas de halos foram a CHAP-201, que apresentou o maior diâmetro de halo (2,7 cm); a CHAP-184, com halo de 2,3 cm de diâmetro; seguida das cepas CHAP-194 e CHAP-204, com 2,2 cm; CHAP-189, 2,1 cm; e, CHAP-181, 2,0 cm. Além dessas, as cepas CHAP-158, CHAP-160,



VIII Simpósio Integrado das Pós-Graduações do CCB - UFSC

CHAP-168, CHAP-171, CHAP-176, CHAP-200 e CHAP-206 também apresentaram halos maiores que a média, com diâmetros variando de 1,7 a 1,95 cm.

Triagem de leveduras xilanolíticas em microplacas

Das 46 cepas testadas, apenas quatro apresentaram atividade xilanase: CHAP-156, CHAP-157, CHAP-158 e CHAP-159. A linhagem CHAP-158 se destacou, apresentando atividade três a seis vezes superior em relação às outras três linhagens. As cepas CHAP-156, CHAP-157 e CHAP-159, por sua vez, apresentaram, respectivamente, atividade xilanase de 0,03 U mL⁻¹, 0,05 U mL⁻¹ e 0,06 U mL⁻¹ e halos de 1,0 cm, 0,7 cm e 1,2 cm.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A maioria das leveduras isoladas do intestino de larvas de *Sp. frugiperda* apresentou capacidade de produção da enzima celulase; das 46 linhagens testadas, 15 apresentaram halos de grandes diâmetros. Por outro lado, apenas quatro das 46 cepas apresentaram atividade xilanase, dentre as quais se destacou a CHAP-158 com elevada atividade quando comparada às outras três leveduras xilanolíticas. A CHAP-158 também apresentou a maior atividade celulolítica, demonstrando expressivo potencial de aplicação desta levedura em biorrefinarias que empreguem resíduos lignocelulósicos como matéria-prima. Nossos dados demonstram também o potencial biotecnológico da prospecção de leveduras na microbiota intestinal de insetos herbívoros.

5 REFERÊNCIAS

- ADITIYA, Harjon B. et al. Second generation bioethanol production: A critical review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 66, p. 631–653, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.07.015>>. Acesso em: set. 2022.
- CARVALHO, Jéssyca K. et al. Yeasts isolated from a lotic continental environment in Brazil show potential to produce amylase, cellulase and protease. *Biotechnology Reports*, v. 30, p. 630, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.btre.2021.e00630>>. Acesso em: set. 2022.
- MUPONDWA, Edmund. et al. Status of Canada's lignocellulosic ethanol: Part II: Hydrolysis and fermentation technologies. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 79, p. 1535–1555, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.11.037>>. Acesso em: set. 2022.