



# I SIMPÓSIO INTEGRADO DOS PPGs UNIPAMPA/URUGUAIANA

## **ANAIS DO EVENTO**

**Outubro de 2017**



## Apresentação

O I Simpósio Integrado dos Programas de Pós-Graduação (PPGs) da Universidade Federal do Pampa (Unipampa), Campus Uruguiana, ocorreu nos dias 26 e 27 de outubro de 2017 com a integração dos PPGs de Ciência Animal, Ciências Farmacêuticas, Bioquímica e Ciências Fisiológicas.

O evento a integração dos grupos de pesquisa a fim de compartilhar as experiências, reunindo a comunidade acadêmica para discutir sobre os desafios regionais e os desafios das diferentes áreas.

O Simpósio também possui a finalidade de atualização pesquisadores e socialização do conhecimento sobre as pesquisas realizadas na Unipampa, através de apresentações de trabalhos na forma Oral ou Pôsteres e os trabalhos culminam neste caderno de resumos.

## Organização:

Programa Multicêntrico de Pós-graduação  
em Ciências Fisiológicas- SBFis



## APOIO:



2017



### **Organização e editoração eletrônica:**

Daiana da Silva de Avila

Mauren Assis de Souza

### **Idioma: Português/Inglês**

*O conteúdo dos resumos de trabalhos aqui apresentados é de inteira responsabilidade dos autores de cada trabalho.*

*A comissão organizadora não se responsabiliza pela veracidade dos dados apresentados, pela exatidão das informações e não pode assumir nenhuma responsabilidade legal ou financeira por quaisquer erros ou omissões que possam ter ocorrido.*



## **Comissão científica**

*Cristiane Denardin*

*Daiana da Silva de Ávila*

*Eduardo Bohrer*

*Elton Denardin*

*Fabiana Barcelos*

*Fávero de Paula*

*Fernando Mesquita*

*Giulia Wiggers Peçanha*

*Gustavo Guerra*

*Juliano Azeredo*

*Liane Vargas*

*Luiz Henkes*

*Maria Eduarda Lima*

*Mateus Sudano*

*Morgana Duarte*

*Pâmela Mello-Carpes*

*Rafael Roehrs*

*Robson Puntel*

*Sandra Elisa Haas*

*Simone Pinton*

*Vanderlei Folmer*

*Vanusa Manfredini*

## Sumário

|  |    |
|--|----|
| EFEITO AGUDO DO EXERCÍCIO FÍSICO EM DIFERENTES HORAS DO DIA SOBRE O DESEMPENHO NEUROMUSCULAR E COGNITIVO EM HUMANOS .....  | 10 |
| AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE PRELIMINAR DO CORANTE TARTRAZINA IN SILICO .....   | 11 |
| DEGENERAÇÃO LEUCOCITÁRIA INDUZIDA POR DIFERENTES METAIS EM ÁGUAS DA BACIA DO RIO URUGUAI, ABRANGÊNCIA DE URUGUAIANA .....  | 15 |
| AVALIAÇÃO IN VITRO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO AROMATIZANTE $\Gamma$ -HEXALACTONA FRENTE A ISOLADOS CLÍNICOS DE DERMATÓFITOS. ....   | 17 |
| DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ANALÍTICO POR CROMATOGRAFIA A GÁS PARA A DETERMINAÇÃO MULTIRESÍDUOS DE PESTICIDAS .....  | 19 |
| MODULAÇÃO DA VIA DAS QUINURENINAS NA LESÃO AURICULAR AGUDA INDUZIDA PELA RADIAÇÃO UVB EM CAMUNDONGOS.....  | 21 |
| CURCUMINA NANOENCAPSULADA REDUZ NÍVEIS DE INTERLEUCINA PRÓ-INFLAMATÓRIA EM MODELO ANIMAL DA DOENÇA DE ALZHEIMER .....  | 22 |
| ANALISE DAS POSSÍVEIS ATIVIDADES DO ACARICIDA FLUAZURON NO ORGANISMO HUMANO UTILIZANDO MODELO COMPUTACIONAL (IN SILICO) ...  | 23 |
| RESVERATROL: COMPORTAMENTO PRÓ E ANTIOXIDANTE DIANTE EXPOSIÇÃO AO FERRO EM <i>Caenorhabditis elegans</i> .....   | 25 |
| DELINEAMENTO DE NANOEMULSÕES CATIÔNICAS COM SUPERFÍCIE MODIFICADA .....  | 27 |
| AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO TIMEROSAL SOBRE PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS EM <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> .....  | 29 |
| IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DE <i>LEISHMANIA SP</i> EM CÃES DE ÁREA ENDÊMICA DO SUL DO BRASIL.....   | 30 |
| EFEITO DO $\gamma$ -ORYZANOL SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO EM CARNEIROS SUBMETIDOS À INSULAÇÃO ESCROTAL.....  | 32 |
| AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA PRELIMINAR E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DAS FOLHAS DE <i>Celtis ehrenbergiana</i> .....  | 34 |
| BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO EM ESPERMATOZOIDES BOVINOS EXPOSTOS AO MERCÚRIO E SUAS REPERCUSSÕES NA QUALIDADE ESPERMÁTICA E NA CAPACIDADE DE FERTILIZAÇÃO IN VITRO (FIV) .....        | 36 |
| CARACTERIZAÇÃO IN VITRO DOS MECANISMOS ENVOLVIDOS NA REGULAÇÃO DA MATRIZ EXTRACELULAR E DO FENÓTIPO CELULAR DO EPITÉLIO ENDOMETRIAL BOVINO POR ESTRADIOL E PROGESTERONA .....                | 38 |
| EFEITO DA MODULAÇÃO DA ENZIMA ACIL-COA SINTETASE DE CADEIA LONGA SOBRE A DISTRIBUIÇÃO MORFOMÉTRICA DAS GOTAS LIPÍDICAS CITOPLASMÁTICAS AO LONGO DO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO INICIAL ..... | 40 |
| AVALIAÇÃO DOS ESPERMATOZOIDES BOVINOS EXPOSTOS AO MERCÚRIO EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES E TEMPOS .....  | 42 |
| A EXPOSIÇÃO AO ALUMÍNIO EM DOSE EQUIVALENTE A EXPOSIÇÃO HUMANA É O SUFICIENTE PARA DESENCADear ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS EM  |    |

|   |    |
|---|----|
| HIPOCAMPO: O PAPEL DA COX-2 E MICROGLIA FRENTE AS ALTERAÇÕES COGNITIVAS.....  | 43 |
| EFEITOS DO EXTRATO AQUOSO DE MACA PERUANA ( <i>Lepidium Meyenii</i> ) SOBRE PARAMETROS RELACIONADOS A VITALIDADE E REPRODUÇÃO EM CAENORHABDITIS <i>Elegans</i> .....                          | 45 |
| A EXPOSIÇÃO DE RATOS AO ALUMÍNIO EM DOSE EQUIVALENTE A EXPOSIÇÃO HUMANA PROMOVE DANOS HISTOPATOLÓGICOS EM CÓLON E AUMENTA O ESTRESSE OXIDATIVO SISTÊMICO .....                                | 47 |
| ESTUDO DE MOLÉCULAS COM ATIVIDADE ANTIVIRAL POTENCIAL: MODELAGEM MOLECULAR EM ALVO DDX3 HUMANA E AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE COMPOSTOS.....  | 49 |
| DESENVOLVIMENTO DE NANOCÁPSULAS CONTENDO DIFERENTES ÓLEOS ESSENCIAIS PARA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA .....   | 51 |
| AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE, MUTAGENICIDADE E GENOTOXICIDADE DO EXTRATO AQUOSO DE <i>Sisyrinchium vaginatum</i> (CANÇALÁGUA). .....   | 52 |
| DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO POR CLAE PARA DETERMINAÇÃO DA TIROFIBRINA E SUAS PRINCIPAIS IMPUREZAS DE SÍNTESE.....   | 54 |
| AVALIAÇÃO PRELIMINAR DA GENOTOXICIDADE IN VIVO DO EXTRATO AQUOSO LIOFILIZADO DE CEIBA SPECIOSA.....   | 56 |
| MECANISMOS ENVOLVIDOS NO EFEITO DA NOVIDADE NA EXTINÇÃO E PERSISTÊNCIA DA EXTINÇÃO DAS MEMÓRIAS AVERSIVAS. ....   | 58 |
| PERFIL TRANSCRIPCIONAL DA CRIOTOLERÂNCIA EM EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS IN VITRO .....  | 60 |
| EFEITO PROTETOR DO ÁCIDO CAFEICO CONTRA OS DANOS COMPORTAMENTAIS E OXIDATIVOS INDUZIDOS PELO ÁCIDO METILMALÔNICO EM <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> . ....                                     | 61 |
| CRISINA REVERTE PERDA DE MEMÓRIA INDUZIDA PELO HIPOTIREOIDISMO EM CAMUNDONGOS FÊMEAS. ....  | 63 |
| EFEITO PROTETOR DO GAMA ORIZANOL FRENTE A ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS E BIOQUÍMICAS NAS MOSCAS DA FRUTA <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> EXPOSTAS A UMA DIETA COMPOSTA POR GORDURA TRANS .....   | 65 |
| INDUÇÃO DE OSTEOARTRITE DE JOELHO EM RATOS POR MONÓIDOACETATO DE SÓDIO .....  | 67 |
| A EXPOSIÇÃO AO CHUMBO EM BAIXAS DOSES AUMENTA A PRESSÃO ARTERIAL E A RESPOSTA VASCULAR EM ARTÉRIAS DE RESISTÊNCIA DE RATOS.....   | 69 |
| EFEITOS CITOTÓXICOS DO ACARICIDA FLUAZURON EM LINFÓCITOS HUMANOS EM CULTURA CELULAR.....  | 70 |
| EFEITO DA ESTIMULAÇÃO COGNITIVA E DO EXERCÍCIO FÍSICO EM UM MODELO ANIMAL DE DOENÇA DE ALZHEIMER.....   | 71 |
| $\gamma$ -ORIZANOL EXERCE EFICÁCIA SOBRE ALTERAÇÕES DOPAMINÉRGICAS E COMPORTAMENTAIS DE ACASALAMENTO EM <i>Drosophila melanogaster</i> SUBMETIDAS AO ESTRESSE LEVE CRÔNICO IMPREVISÍVEL ..... | 73 |
| EFEITO DO COMPOSTO 7-CLORO-4-(FENILSELANIL) QUINOLINA EM UM MODELO DE DOENÇA DE PARKINSON INDUZIDA POR ROTENONA EM <i>Drosophila melanogaster</i> .....                                       | 75 |

|   |     |
|---|-----|
| ESTUDO DE ESTABILIDADE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL DE NANOCÁPSULAS CONTENDO CURCUMINA COM DIFERENTES REVESTIMENTOS.....  | 77  |
| ESTUDO DE CARACTERÍSTICAS NEUROMECÂNICAS, COGNITIVAS E BIOQUÍMICAS DETERMINANTES DA PERCEPÇÃO DE ESFORÇO EM ATLETAS DE ENDURANCE.....   | 79  |
| PERFIL DE SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS DE ENTEROBACTÉRIAS ORIUNDAS DE CARNES BOVINAS COMERCIALIZADAS EM SUPERMERCADOS DA CIDADE DE URUGUAIANA– ESTUDO PILOTO.....  | 81  |
| DETERMINAÇÃO DO TEOR DE ETANOL EM ELIXIRES POR ENTALPIMETRIA NO INFRAVERMELHO.....  | 83  |
| INTERAÇÕES IN VITRO ENTRE ANTIINFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDAIAS (AINES) E ANTIFÚNGICOS CONTRA CÉLULAS PLANCTÔNICAS E BIOFILME DO COMPLEXO SPOROTHRIX SCHENCKII .....   | 84  |
| REPROTOXICIDADE DE FORMULAÇÃO À BASE DE GLIFOSATO EM CAENORHABDITIS ELEGANS NÃO SE DEVE A PRESENÇA DO INGREDIENTE ATIVO .....   | 86  |
| DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS CONTENDO ÓLEO DE ROMÃ.....   | 88  |
| ESTUDO DA ESTABILIDADE DE NANOPARTÍCULAS CONTENDO ANTI-INFLAMATÓRIOS .....  | 89  |
| AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DE NANOCÁPSULAS DE 4-FENILTELANIL-7-CLOROQUINOLINA EM CAENORHABDITIS ELEGANS .....   | 91  |
| AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIBACTERIANO DE NANOEMULSÕES CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE MURTA PELO MÉTODO DA MICRODILUIÇÃO EM CALDO HIDROLISADO DE CLARA DO OVO PREVINE O DANO OXIDATIVO INDUZIDO PELO MERCÚRIO EM ARTÉRIAS DE RESISTÊNCIA DE RATOS ..... | 94  |
| ÓLEO ESSENCIAL DE CORIANDRUM SATIVUM: EFEITO ANTIFÚNGICO SOBRE ASPERGILLUS FLAVUS LINK. ....  | 95  |
| NANOEMULSÕES À BASE DE OLEILAMINA: CARACTERIZAÇÃO FÍSICO QUÍMICA AO LONGO DO TEMPO E EM DIFERENTES pHs. ....  | 97  |
| AVALIAÇÃO DO EFEITO PRO-OXIDANTE DO COMPOSTO 2- FENILETINIL-BUTILTÉLURIO FRENTE A CEPAS ESCHERICHIA COLI.....   | 99  |
| EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM DIFERENTES ÓLEOS VEGETAIS SOBRE O PERFIL LIPÍDICO HEPÁTICO DE RATOS HIPERLIPIDÊMICOS. ....  | 100 |
| MÉTODOS DE QUANTIFICAÇÃO LIPÍDICA DE EMBRIÕES PRODUZIDOS IN VITRO ATRAVÉS DO PROGRAMA IMAGE J CORADOS POR SUDAN BLACK B.....  | 102 |
| OCORRÊNCIA DO POLIMORFISMO ALA16VAL DA MNSOD EM POPULAÇÃO DE AGRICULTORES DO INTERIOR DO RIO GRANDE DO SUL (RESULTADOS PARCIAIS).....   | 104 |
| KNOCKDOWN GÊNICO DE EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS IN VITRO. ....  | 106 |
| EFEITO DO FLAVONOIDE HESPERIDINA EM UM MODELO DE PARKINSON INDUZIDO POR FERRO EM Drosophila melanogaster. ....  | 108 |
| EFEITO DA ACUPUNTURA COM DIFERENTES ACUPONTOS NA DOR NEUROPÁTICA INDUZIDA PELA LIGADURA PARCIAL DO NERVO CIÁTICO EM CAMUNDONGOS. ....   | 110 |

|  |     |
|--|-----|
| MODELAGEM MOLECULAR E ESTUDO DE DOCKING COMPUTACIONAL DOS COMPOSTOS 20-HIDROXIECDYSONA E KAEMPFEROL-3-(6'-P-COUMAROIL-GLUCOPIRANOSIDIO DO EXTRATO DE FOLHAS DE SIDA TUBERCULATA EM RECEPTORES OPIÓIDES. .... | 112 |
| AVALIAÇÃO DE ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS E COMPORTAMENTAIS EM <i>Drosophila melanogaster</i> EXPOSTAS A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE PROTEÍNA NA DIETA.....  | 113 |
| PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE LIPOSSOMAS CONTENDO EXTRATO AQUOSO DE PITANGA ROXA <i>Eugenia uniflora</i> PARA UTILIZAÇÃO EM <i>Caenorhabditis elegans</i> .....   | 114 |
| EFEITO DA MODULAÇÃO DA ACIL-COA SINTETASE DE CADEIA LONGA NO DESENVOLVIMENTO E CRIOTOLERÂNCIA DE EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS IN VITRO.....   | 116 |
| AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMALÁRICA, CITOTÓXICA E HEMOCOMPATIBILIDADE IN VITRO DE NANOCÁPSULAS POLIMÉRICAS CONTENDO QUININA.....   | 118 |
| TOXICIDADE AGUDA DAS PEÇONHAS DE <i>Philodryas patagoniensis</i> e <i>Bothrops diporus</i> PARA <i>Artemia salina</i> .....  | 119 |
| DINÂMICA DA INCIDÊNCIA DA APOPTOSE NA RETOMADA DO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO APÓS A CRIOPRESERVAÇÃO.....  | 121 |
| DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOEMULSÕES CONTENDO ÓLEOS ESSENCIAIS.....  | 123 |
| AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA 5-CL-ISATINA-3-OXIMA NO METABOLISMO DA GLICOSE FRENTE À INTOXICAÇÃO AGUDA POR ORGANOFOSFORADO EM RATOS.....   | 124 |
| ESTUDOS DE MODELAGEM MOLECULAR, BUSCA DE FÁRMACÓFORO, TRIAGEM VIRTUAL DE CHALCONAS COM ATIVIDADE ANTI-STAPHYLOCOCCUS AUREUS.....   | 126 |
| PERFIL NOCICEPTIVO DE RATOS COM OBESIDADE. ....  | 128 |
| AVALIAÇÃO DO PERFIL DE SENSIBILIDADE GERAL DE BACIOS GRAM NEGATIVOS HOSPITALARES DE URUGUAIANA/RS. ....  | 129 |
| ESTUDOS DE MODELAGEM MOLECULAR, BUSCA DE FARMACÓFORO, TRIAGEM VIRTUAL DE CHALCONAS COM ATIVIDADE ANTI-STAPHYLOCOCCUS AUREUS.....   | 131 |
| VALIDAÇÃO DE MÉTODO INDICATIVO DA ESTABILIDADE POR HPLC PARA DETERMINAÇÃO DE TADALAFILA E SILDENAFILA.....   | 132 |
| PCR-US COMO MARCADOR INFLAMATÓRIO ASSOCIADO À HIPERTENSÃO ARTERIAL SISTÊMICA EM POPULAÇÃO NEGRA DO SUL. ....   | 134 |
| EFEITO DO AGULHAMENTO SECO SOBRE MODELO DE DOR MUSCULAR INDUZIDA POR SALINA ÁCIDA EM RATOS. ....   | 136 |
| HIDROLISADO DE CLARA DE OVO PREVINE O ESTRESSE OXIDATIVO INDUZIDO POR MERCÚRIO SOBRE RINS E FÍGADO DE RATOS. ....  | 138 |
| AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE PROTEÇÃO OU REVERSÃO DA 5-CLORO-ISATINA-3-OXIMA NA INTOXICAÇÃO AGUDA COM MALATHION EM <i>Caenorhabditis elegans</i> . ....   | 139 |
| DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS CONTENDO ÓLEOS ESSENCIAIS. ....   | 141 |

|  |     |
|--|-----|
| EFEITOS DA EXPOSIÇÃO CRÔNICA AO CLORETO DE COBRE (CUCL <sub>2</sub> ) SOBRE PARÂMETROS CARDIOVASCULARES, REPRODUTORES E DE ESTRESSE OXIDATIVO DE RATOS. .... | 143 |
| DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FORMULAÇÕES TÓPICAS NANOPARTICULADAS CONTENDO FILTRO SOLAR E ANTIOXIDANTE. ....  | 145 |
| AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA CLOZAPINA E DAS NANOCAPSULAS SPAN 60 E LIPOID 45 NO COMPORTAMENTO DO MODELO ALTERNATIVO CAENORHABDITIS ELEGANS. ....                | 147 |
| AVALIAÇÃO DA RELAÇÃO GENE X AMBIENTE: EFEITOS DO MANGANÊS NA DOENÇA DE HUNTINGTON EM CAENORHABDITIS ELEGANS. ....  | 149 |
| PAPEL DE NANOPARTÍCULAS DE LUTEÍNA SOBRE O MODELO EXPERIMENTAL DE DOENÇA DE PARKINSON EM <i>Drosophila Melanogaster</i> . ....                               | 151 |
| AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DE NANOPARTÍCULAS DE ZEÍNA CONTENDO AZADIRACTINA EM <i>C. elegans</i> . ....  | 153 |
| PERFIL DA PESQUISA EM ENSINO DE FISIOLOGIA NO BRASIL. ....   | 155 |

## **EFEITO AGUDO DO EXERCÍCIO FÍSICO EM DIFERENTES HORAS DO DIA SOBRE O DESEMPENHO NEUROMUSCULAR E COGNITIVO EM HUMANOS**

Marcos Roberto Kunzler (Autor principal e apresentador); Felipe Pivetta Carpes (Orientador)

**Introdução:** O exercício físico tem mostrado alterações fisiológicas momentâneas importantes que refletem no rendimento esportivo. Evidências sugerem que a adição de uma segunda tarefa cognitiva associada ao exercício influencia no comportamento imediato. Aliado a isso, o horário do dia em que o exercício é praticado também pode afetar o desempenho agudo em tarefas físicas e cognitivas. **Objetivos:** Este projeto de pesquisa quer determinar se há um efeito agudo do exercício físico, cognitivo e combinado sobre o desempenho em variáveis neuromusculares e cognitivas de jovens adultos fisicamente ativos, identificando interferências da hora do dia sobre respostas fisiológicas. **Metodologia:** Propomos avaliar em laboratório, a função neuromuscular e o desempenho cognitivo de indivíduos fisicamente ativos, sob distintas condições de exercício, aplicando protocolos de esforço físico e tarefas cognitivas, individualmente e combinadas, em diferentes horas do dia. Questionários sobre cronotipo, sono e informações pessoais serão aplicados. A organização do projeto organizará os participantes em quatro grupos: Grupo 1 (GRUPO CONTROLE – GC); Grupo 2 (GRUPO EXERCÍCIO FÍSICO – GEF); Grupo 3 (GRUPO EXERCÍCIO COGNITIVO – GEC); e Grupo 4 (GRUPO EXERCÍCIO FÍSICO E COGNITIVO – GEFC). Todos os grupos serão avaliados em laboratório, pela manhã entre 7:00 e 9:00 horas, e no início da noite entre 18:00 e 20:00 horas. A temperatura corporal interna e externa será monitorada (Termografia). Como intervenções, os participantes do GEF serão submetidos a um teste incremental de esforço máximo, em um ciclossimulador. Participantes do GEC realizarão exercícios cognitivos com jogos eletrônicos envolvendo tempo de reação e atenção seletiva. Já os participantes do GEFC realizarão os exercícios físico e cognitivo ao mesmo tempo, de forma combinada. Como referência para o estudo, os participantes do GC permanecerão em repouso sem executar nenhuma atividade pelo mesmo período das intervenções dos demais grupos. Antes e imediatamente após cada exercício de intervenção os participantes serão avaliados, em um quadro agudo, sobre variáveis de potência e ativação elétrica neuromuscular (eletromiografia), controle postural (plataformas de força), tempo de reação, memória e atenção seletiva (softwares específicos). **Resultados esperados:** Esperamos que ocorra um efeito agudo negativo do exercício físico sobre o desempenho neuromuscular e a função cognitiva, mas um efeito agudo positivo do exercício cognitivo e uma potencialização desse efeito na melhora aguda do desempenho quando os exercícios forem combinados. Esperamos também que a hora do dia regule o efeito agudo dos exercícios sobre desempenho neuromuscular e cognitivo. Com isso, esperamos identificar possíveis interações entre os mecanismos fisiológicos que atuam no exercício e seus reflexos sobre o desempenho físico, cognitivo e o ritmo circadiano. Os resultados terão importantes implicações práticas para o treinamento físico e cognitivo.

## **AValiação DA TOXICIDADE PRELIMINAR DO CORANTE TARTRAZINA IN SILICO**

Jassana Moreira Floriano - Autora Principal e Apresentadora;

Taís Fernanda Andrzejewski Kaminski - Co-autora;

Pamella Eduardha Espindola Chaves - Co-autora;

Jéssica Tamara Limberger- Co-autora;

Emanoeli da Rosa - Co-autora;

Michel Mansur Machado - Co-orientador;

Luís Flávio Souza de Oliveira - Orientador.- Universidade Federal do Pampa, Uruguaiana, RS, Brasil).

Tartrazina é um corante artificial, amplamente utilizado em alimentos, medicamentos e cosméticos. Entretanto, a literatura científica, até o momento, não dá conta de uma prospecção aproximada e segura da realidade de exposição de humanos e animais ao corante, tampouco esgota a lacuna existente sobre a concentração mínima capaz de causar danos. Este cenário impõe a necessidade de pesquisas que avaliem a toxicologia da tartrazina e seus possíveis efeitos à saúde. Uma das alternativas que tem ganhado atenção com o desenvolvimento tecnológico, é a metodologia in silico ou experimentação através de simulação computacional, que tenta prever o comportamento de um determinado composto elegendo variáveis presentes em organismos vivos através de aplicações matemáticas específicas estabelecidas a partir de base de dados associada a moléculas. Assim, este trabalho propôs avaliar previamente a toxicologia da Tartrazina em um modelo in silico, a fim de facilitar a compreensão preditiva do comportamento deste composto. Neste sentido, foi realizada uma análise computacional sobre parâmetros de bioatividade e propriedades que poderiam estar relacionadas ao mecanismo de ação da tartrazina pelo programa Molinspiration Cheminformatics, versão 2017, que está disponível de forma gratuita na internet. Os resultados obtidos demonstraram que a tartrazina possui baixa modulação aos receptores PPCR, aos canais iônicos, receptores nucleares e aos inibidores de quinases e proteases, ou seja, parece não exercer efeito sobre estímulo ou inibição de importantes alvos moleculares que vêm de encontro com a sustentação de efeitos adrenérgicos e colinérgicos, ou mesmo sobre a modulação de biossinalização e de citoesqueleto, pelo menos de forma direta. Por outro lado, demonstrou alta capacidade de ligação aos aceptores de H ( $n_{ON}=13$ ), o que refere interferências nas pontes H e na molécula de DNA, sugerindo causar danos. Tendo em vista que não é possível explorar todas as possibilidades, pois todo método in silico tem suas limitações preditivas, há necessidade de submeter a molécula de tartrazina a testes in silico complementares a fim de que seus resultados cooperem com os desenhos experimentais in vitro, ex vivo e in vivo para que o processo de experimentação

obtenha resultados passíveis de serem confrontados com vistas a um posicionamento final quanto sua toxicidade e, por extensão, à sua segurança de uso.

## **AVALIAÇÃO DA PROLIFERAÇÃO CELULAR DE LEUCÓCITOS HUMANOS EXPOSTOS A TRATAMENTO COM SULFATO DE FERRO (II) EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES**

Apresentador Emmanoeli da Rosa  
Colaborador Jéssica Tamara Limberger  
Colaborador Paola Ribeiro Motta  
Colaborador Juliana Gonçalves Ribeiro  
Colaborador Queila Daiane Fonseca do Amaral  
Colaborador Luísa Zuravski  
Colaborador Pamella Eduardha Espindola Chaves  
Co-Orientador Michel Mansur Machado  
Orientador Luís Flávio Souza de Oliveira

A anemia por deficiência de ferro é a mais comum das carências nutricionais, tendo grande prevalência em crianças entre seis e dezoito meses, mulheres em período gestacional e idosos. Os danos à saúde acarretados pela carência de ferro no organismo comprometem o desenvolvimento mental e podem acarretar em problemas no sistema imune do indivíduo. No Brasil, dados epidemiológicos apontam que nas últimas décadas houve um aumento dos casos de anemia ferropriva (AF) também em crianças em idade escolar. O sulfato de ferro (II) ainda é a principal estratégia no tratamento e prevenção da AF. Os estudos sobre a genotoxicidade do sulfato de ferro (II) ainda são escassos, mesmo sendo empregado amplamente em diferentes ciclos da vida. Dada a importância em se saber os efeitos ao nível celular da suplementação com o mesmo, o objetivo foi avaliar a influência do sulfato de ferro (II) sobre a proliferação celular em cultura de leucócitos humanos. Para o preparo da cultura celular foi utilizado meio RPMI, enriquecido com soro fetal bovino (20%) e estreptomicina (1%). A obtenção da matriz biológica em estudo, ou seja, leucócitos humanos para realização das culturas e, por extensão, para o protocolo utilizado neste trabalho, foi aprovada pelo Comitê de Ética da Universidade Federal do Pampa, sob o número 27045614.0.0000.5323. O ensaio foi realizado em triplicata, nas concentrações de 1, 2, 5 e 10 µg/mL de sulfato ferroso (II) equivalentes ao ferro elementar. Para o controle negativo foi utilizado tampão fosfato pH 7,4 e para o controle positivo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 4 µM. Após 72h de incubação a 37°C, em atmosfera a 5% de CO<sub>2</sub>, as amostras foram homogeneizadas e uma alíquota foi adicionada à câmara de Neubauer, onde foi realizada contagem do número de células para cada amostra. A análise dos dados, expressos em média e desvio padrão de células/mm<sup>3</sup>, foi realizado pela análise de variância de uma via (ANOVA), complementada pelo teste de multicomparação de Tukey, considerando resultado significativo quando p<0,05. Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa no número de células/mm<sup>3</sup> em

todas as concentrações testadas quando comparadas ao controle negativo ( $5,6 \times 10^6$  cel/mm<sup>3</sup>), evidenciando que o sulfato ferro (II) não interferiu na proliferação celular, nestas concentrações. Contudo, outros ensaios ainda se fazem necessários para que se possa estabelecer a partir de qual concentração o mesmo passa a ocasionar danos a leucócitos.

## **DEGENERAÇÃO LEUCOCITÁRIA INDUZIDA POR DIFERENTES METAIS EM ÁGUAS DA BACIA DO RIO URUGUAI, ABRANGÊNCIA DE URUGUAIANA**

Autor: Paola Ribeiro Motta Co-autores: Jéssica Tamara Limberger; Pamella Eduardha Espindola Chaves; Luísa Zuravski; Queila Daiane Fonseca do Amaral; Emmanoeli da Rosa; Juliana Gonçalves Ribeiro; Co-orientador: Michel Mansur Machado. Orientador: Luís Flávio Souza de Oliveira.

Os metais pesados fazem parte do ambiente e, em alguns casos, da matéria viva, ocorrendo naturalmente em pequenas concentrações, variando de partes por bilhão a partes por milhão. Entre eles, elementos como Zn, Fe, Mn, Cu, Co e Mo são essenciais para os organismos; outros oligoelementos, como Hg, Pb e Cd, não possuem nenhuma função biológica conhecida e são responsáveis por efeitos adversos na comunidade biótica. Não obstante, mesmo aqueles que possuem uma função biológica, mas se presentes em altas concentrações, podem causar toxicidade para os organismos. O rio Uruguai, com um comprimento total de 1.838 Km e uma área de drenagem de quase  $3,65 \times 10^5$  Km<sup>2</sup>, é o segundo afluente em importância da bacia do rio de La Plata. A geologia da bacia é complexa e inclui um mosaico de rochas vulcânicas (basálticas) e sedimentares juntamente com sedimentos aluviais quaternários. Uruguaiana tem sua captação de água para consumo do Rio Uruguai, além de apresentar na dieta o consumo de peixes locais. Assim, o presente estudo buscou quantificar em um primeiro momento quantificar a presença de metais pesados nas amostras de água e, a partir disso, estudar seu efeito sobre leucócitos humanos. O protocolo experimental utilizado para análise foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), sob o número de registro 0089.0.243.000-07. A avaliação do índice de degeneração de leucócitos humanos (LDI) foi avaliado de acordo com Lima, Soares, Grecco, Galizzi e Cançado, (2001), onde  $LDI = \text{neutrófilos tóxicos} / \text{neutrófilos totais} \times 100$ . Os metais analisados foram Cu, Cd e Mn (que correspondem aos metais analisados com níveis acima dos permitidos pela legislação – RDC 357 do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA). Todas as amostras foram analisadas em triplicata. A análise de dados do ensaio de LDI, expressos em média e desvio padrão, foi realizada pela análise de variância de uma via (ANOVA), complementada pelo teste de Dunnett, considerados significativos quando  $p < 0,05$ . Os resultados demonstram a presença de citotoxicidade, como evidenciado por um aumento na frequência de granulação aumentada em neutrófilos, com todas as amostras mostrando um aumento significativo em relação ao controle negativo (tampão PBS pH 7,4) (4%), F (8,62), com  $p < 0,0001$ . O Cu

apresentou um índice de degeneração de leucócitos variando de 11,8% a 12,5%; Cd, de 13,0% a 15,6%; e Mn, de 15,6% para 22,5%. Os resultados encontrados chamam atenção do possível impacto à saúde de animais e de humanos que utilizam a água do rio Uruguai, apontando para a necessidade de políticas públicas apropriadas para corrigir e evitar a contaminação do rio. Ademais, há o interesse do grupo de continuar os estudos dentro do contexto toxicológico das lesões observadas nesse estudo na perspectiva de explicar o mecanismo pelo qual houve a lesão leucocitária.

## **AVALIAÇÃO IN VITRO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO AROMATIZANTE $\gamma$ -HEXALACTONA FRENTE A ISOLADOS CLÍNICOS DE DERMATÓFITOS.**

Luísa Zuravski (autor principal e apresentador), Daiane Dalla Lana (co-autor), Alexandre Meneghello Fuentefria (co-autor),

Luís Flávio Souza de Oliveira (co-autor), Michel Mansur Machado (co-autor), Vanusa Manfredini (orientador).

As dermatofitoses são micoses cutâneas superficiais causadas por fungos filamentosos dermatofíticos de três gêneros anamórficos, *Microsporum*, *Trichophyton* e *Epidermophyton*, os quais geralmente, afetam tecidos queratinizados ou semiqueratinizados da epiderme, pêlos e unhas. O quadro clínico mais comum de dermatofitose inclui despigmentação, placas anulares, prurido e perda de cabelo, com lesões tipicamente conhecidas como tineas. O tratamento das dermatofitoses, em geral, está relacionado ao uso de antifúngicos tópicos e/ou sistêmicos, apresentando como problemática o surgimento de espécies multirresistentes. Assim, a investigação de moléculas que representem uma alternativa ao uso dos antifúngicos tradicionais é de grande relevância. Neste sentido, este estudo objetivou avaliar a atividade antifúngica do aromatizante  $\gamma$ -hexalactona frente a isolados clínicos de *Microsporum Canis*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* e *Trichophyton rubrum*. O aromatizante,  $\gamma$ -hexalactona, foi adquirido comercialmente da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA), diluído no meio de cultura RPMI e testado na faixa de concentrações de 0,05 - 500  $\mu\text{g/mL}$ . Os inóculos dos isolados clínicos analisados (*Microsporum Canis*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* e *Trichophyton rubrum*) foram procedentes de subcultivo em placas com ágar batata dextrose - ABD (Pronadisa, Madrid, Espanha), as quais foram incubadas entre 4 a 14 dias, em temperatura de 35 °C. Posteriormente ao preparo dos inóculos fúngicos, a concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada pelo método de microdiluição em caldo, de acordo com as diretrizes e normas da CLSI, documentos M38-A2. As microplacas foram incubadas a 35 °C e a leitura, após 4 dias (96 h) de incubação, foi realizada visualmente, considerando-se para determinação da CIM, 100% de inibição do crescimento fúngico, sempre em comparação com o crescimento do controle positivo. Dessa forma, considerou-se como CIM a menor concentração do composto capaz de inibir totalmente o crescimento das espécies fúngicas utilizadas no ensaio. O teste foi realizado em triplicata e o resultado dos valores de CIM expresso em  $\mu\text{g/mL}$ . O aromatizante,  $\gamma$ -hexalactona não demonstrou atividade antifúngica in vitro contra as espécies fúngicas utilizadas neste ensaio, nas concentrações avaliadas (0,05 - 500

µg/mL). Testes adicionais devem ser realizados para avaliação do potencial antifúngico frente a outros gêneros fúngicos.

## **DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ANALÍTICO POR CROMATOGRAFIA A GÁS PARA A DETERMINAÇÃO MULTIRESÍDUOS DE PESTICIDAS**

Isadora Dias Marques – Autor/apresentador

Jefferson de Jesus Soares - Co-autor

Rafael Roehrs - Co-autor

Lisiane Bajerski - Co-autor

Daniela Teixeira Rodrigues - Co-autor

Elton Luis Gasparotto Denardin - Coorientação

Clésio Soldateli Paim – Orientação

**INTRODUÇÃO:** Nos últimos anos tem havido uma preocupação crescente com relação à presença de resíduos de pesticidas nos alimentos, devido aos possíveis efeitos adversos à saúde dos seres humanos se expostos por longos períodos a essas substâncias químicas. A cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-EM) tem sido amplamente utilizada para a análise multiresíduo de pesticidas em diversos produtos alimentícios. A separação cromatográfica pode ser demorada quando se é analisado um número grande de compostos, na tentativa de contornar este problema várias estratégias têm sido adotadas, dentre elas, estabelecer o tipo de coluna, polaridade da fase estacionária/composição, diâmetro interno das colunas capilares, o tipo de injeção da amostra, a rampa de temperatura da coluna, o fluxo ou velocidade do gás carreador. **OBJETIVOS:** desenvolver método analítico por GC-EM para determinação de uma mistura padrão de pesticidas. **METODOLOGIA:** Uma solução da mistura dos pesticidas padrão em acetonitrila a 500 µg/mL foi utilizada no desenvolvimento do método analítico. Na análise utilizando GC-MS, foram realizados diferentes modos de varredura da espectrometria de massas, a varredura "Scan", a Corrente de Íons Monitorados (MIC) e o monitoramento seletivo de íons (SIM). No modo Scan, foi possível analisar todos os íons presentes no padrão. O MIC é uma ferramenta do software que possibilitou selecionar apenas os picos de interesse da análise feita com o Scan e fazer um novo cromatograma apenas com os íons de interesse. O modo SIM permitiu detectar apenas os íons selecionados pelo operador. O método inicial utilizado para a análise de pesticidas por cromatografia a gás utilizou colunas de fase apolar (Rtx-5, dimensões: 30 m x 0,25 mm d.i.; 0,25 µm) e programação de temperatura lenta, totalizando 62 minutos de análise. Inicialmente, utilizou-se a mesma coluna, razão de divisão de fluxo de 1,7 e injeção de 1 µL do padrão no modo splitless. A programação do forno foi: 50°C por 5 minutos, seguido de rampa de 10°C min<sup>-1</sup> até 300°C, mantido por 32 minutos, totalizando 45 minutos de análise com menor valor de resolução de 0,83. Um novo método foi otimizado

utilizando a mesma coluna capilar e mesma razão de divisão, no entanto modificou-se o volume de injeção do padrão para 2 µL no modo splitless. A programação do forno foi: 70°C por 1 minuto, em seguida uma rampa de 20°C min<sup>-1</sup> até 200°C, e após outra de 4°C min<sup>-1</sup> até 250°C totalizando 30 minutos de análise com ganho de resolução com valor mínimo de 1,0. RESULTADOS: Os resultados finais demonstraram o desenvolvimento de um método simples e rápido para a determinação de 16 pesticidas. CONCLUSÃO: A GC-EM é uma ferramenta de alta eficácia para quantificação de resíduos de pesticidas em uma serie de matrizes, incluindo alimentos. O método desenvolvido demonstrou-se rápido e permite determinar os pesticidas com boa resolução e baixos limites de detecção e quantificação.

## **MODULAÇÃO DA VIA DAS QUINURENINAS NA LESÃO AURICULAR AGUDA INDUZIDA PELA RADIAÇÃO UVB EM CAMUNDONGOS**

Manuela Piegas

Cristiano Jesse

Este estudo investigou os efeitos do inibidor 1-metil triptofano (1-MT) da enzima indolamina 2,3-dioxigenase (IDO) sobre lesões auriculares de camundongos expostos à radiação UVB que comparam os efeitos desta inibição contra inflamação, estresse oxidativo, metabolitos e as enzimas da via das quinureninas. Os camundongos receberam 10 µl do veículo e três doses (0,5 µg / µl, 1,0 µg / µl e 2,0 µg / µl) do inibidor (1-MT) da enzima IDO topicamente antes de 24 horas da exposição à radiação UVB. O presente estudo demonstrou que o tratamento com 1-MT contra a radiação UVB nas lesões da orelha dos camundongos foi eficaz na atenuação das seguintes alterações, diminuindo a espessura e inflamação das orelhas irradiadas, diminuiu os níveis de proteínas de carbonilação e substâncias reativas tiobarbitúricas (TBARS) níveis de glutathione (GSH), reduzindo assim o estresse oxidativo causado pela radiação UVB nos ouvidos de camundongos. Diminuição dos níveis de factor de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucina 1 beta (IL-1 $\beta$ ), interleucina 6 (IL-6), interferão gama (INF- $\gamma$ ), interleucina 13 (IL-13), interleucina 17 (IL -17) e factor kappa nuclear B (NF-kB) reduzindo os níveis de citocinas inflamatórias. Aumento dos níveis de TRIP no site, diminuindo assim os seus metabolitos, tais como kynurenine (KYN), ácido kynurenic (KYNA), 3-Hidroxiquinurenina (3-HK), ácido 3-hidroxi-antranílico (3-HAA), ácido antranílico (AA) e quinolínico ácido (QUIN). Aumento das atividades das enzimas envolvidas em KPs, incluindo IDO, kynurenina 3-monooxygenase (KMO), kynurenina aminotransferase (KAT) e kynureninase (KYNU).

Em conclusão, esses resultados demonstram que a inibição da enzima IDO causou atenuação da inflamação, estresse oxidativo e ativação de KPs. Além disso, sugerem que a inibição de IDO, seja com produtos sintéticos ou naturais, pode fornecer uma nova abordagem terapêutica para o tratamento e prevenção de lesões causadas pela radiação UVB na pele.

## **CURCUMINA NANOENCAPSULADA REDUZ NÍVEIS DE INTERLEUCINA PRÓ-INFLAMATÓRIA EM MODELO ANIMAL DA DOENÇA DE ALZHEIMER**

Juliane Lopes Oliveira (apresentador e autora principal); Renata Giacomeli (co-orientadora); Cristiano Ricardo Jesse (orientador).

A doença de Alzheimer (DA) é um transtorno neurodegenerativo e a forma mais comum de demência, afetando 36 milhões de pessoas em todo o mundo. A DA caracteriza-se clinicamente pela perda progressiva de função cognitiva, distúrbios neuropsiquiátricos e comportamentais. A neuroinflamação é um fator importante na patogênese de DA, que inclui a ativação das células gliais (por exemplo, microglia e astrócitos) e a expressão de mediadores inflamatórios como a Interleucina 1- $\beta$  (IL-1 $\beta$ ). A curcumina tem sido investigada como um potencial composto tanto para prevenção quanto tratamento de DA. No entanto, o uso de curcumina in vivo ainda é limitado pela sua baixa biodisponibilidade, devido à sua instabilidade sob condição fisiológica. Sistemas nanoparticulados têm sido amplamente utilizados como proposta para aumentar absorção e melhorar as características físico-químicas de substâncias.

**OBJETIVO:** Investigar os efeitos neuroprotetores de nanocápsulas poliméricas contendo curcumina em um modelo de DA induzido por peptídeo  $\beta$ -amilóide 1-42 (A $\beta$ 1-42) comparativamente à curcumina livre. Os camundongos receberam, por via oral, curcumina livre (50 mg / kg) ou nanoencapsulada (1 ou 10 mg/kg), durante 14 dias após a injeção intracerebroventricular de A $\beta$ 1-42 ou veículo (Ceua nº 002/2015). Após o tratamento, os animais foram submetidos ao teste comportamental do Labirinto aquático de Morris. O córtex pré-frontal, o hipocampo e o sangue foram removidos para ensaios de expressão de proteína e dosagem de fatores pró-inflamatórios (IL-1 $\beta$ ). Os resultados foram avaliados utilizando a análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de Duncan, diferenças inferiores a  $p < 0,05$  foram consideradas significativas. Os resultados indicam que o tratamento foi capaz de atenuar o comprometimento de memória causado pelo peptídeo, observado através dos parâmetros como tempo no quadrante correto e latência para o local da plataforma. Além disso, a curcumina nanoencapsulada na dose de 10 mg/kg teve um efeito significativamente maior na redução da expressão do RNAm e dos níveis aumentados da IL-1 $\beta$  induzidos por A $\beta$ 1-42, sugerindo que a veiculação da curcumina em nanopartículas contornou a sua instabilidade, permitindo o uso de doses menores. Conclui-se que a curcumina representa uma abordagem farmacológica no tratamento da DA e sua nanoencapsulação potencializa seu efeito, permitindo a redução de dose.

## **ANALISE DAS POSSÍVEIS ATIVIDADES DO ACARICIDA FLUAZURON NO ORGANISMO HUMANO UTILIZANDO MODELO COMPUTACIONAL (IN SILICO)**

Juliana Gonçalves Ribeiro (autor principal),  
Jéssica Tamara Limberger (Colaborador),  
Paola Ribeiro Motta (Colaborador),  
Luísa Zuravski (Colaborador),  
Queila Daiane Fonseca do Amaral (Colaborador),  
Emanoeli da Rosa (Colaborador),  
Pamella Eduardha Espindola Chaves (Colaborador),  
Luís Flávio Souza de Oliveira (Co-Orientador),  
Michel Mansur Machado (Orientador).

Hoje em dia, uns dos principais meios para controlar diversos parasitas em animais são pela aplicação de acaricidas. No mercado existem várias classes de acaricidas, dentre eles, os mais utilizados e vendidos no mercado atualmente é o Fluazuron. Pertencente ao grupo das benzoilfeniluréias, seu mecanismo de ação atua pela interferência da formação da quitina do carrapato, assim, interrompendo o ciclo de vida. As frequentes contaminações dos aplicadores, torna o Fluazuron um risco de saúde pública, e, portanto, deve ter seus efeitos conhecidos para humanos. Objetivo do atual estudo foi utilizar os modelos computacionais (*in silico*), para verificar as possíveis atividades do acaricida Fluazuron no organismo humano. Para este objetivo, utilizamos o website *Way2Drug* (<http://www.way2drug.com/>). Este site utiliza um banco de dados de regiões moleculares e ações conhecidas de outros fármacos já testados e as compara para estimar as possíveis atividades com o medicamento veterinário Fluazuron.

Foram analisadas de cento e quarenta e duas atividades previstas da molécula do Fluazuron no organismo humano. Como resultado efetivo, foram considerados aquelas atividades com efeitos acima de 25% de alterações. Com este parâmetro, foram totalizadas trinta e cinco atividades como possíveis interações organismo-Fluazuron.

As atividades com possibilidade de interação são: Tratamento do transtorno do trato biliar, inibidor da produção de citoquinas, Antidiabético, Tratamento de transtornos autoimunes, Antiobesidade, Bloqueador de canal de cloreto, Tratamento de aterosclerose, Antineoplásico, Inibidor da DNA polimerase I, Antialérgico, Inibidor da angiogênese, inibidor de RNA, Tratamento da artrite reumatoide, Imunossupressor, Tratamento de esclerose múltipla, entre outros. Entre estes parâmetros, a maior atividade prevista na molécula do Fluazuron foi à de tratamento do transtorno do trato

biliar, com probabilidade de 63% de atividade, seguido pela inibição da produção de citocinas (55% de chance) e como antidiabético (com 53%).

Pode se verificar que o modelo *in silico*, foi eficaz para o *screening* de atividades em comparação ao banco de dados do software, demonstrando o aumento ou inibição no organismo humano. O modelo *in silico*, é um meio alternativo para dar o início de diversos tipos de pesquisas, tendo vários modelos computacionais gratuitos no mercado, assim tornando a pesquisa com um valor de baixo custo.

## **RESVERATROL: COMPORTAMENTO PRÓ E ANTIOXIDANTE DIANTE EXPOSIÇÃO AO FERRO EM *Caenorhabditis elegans***

Marcell Valandro Soares, Autor principal; Daiana Silva de Ávila, Orientador; Robson Luiz Puntel, Co-orientador.

Com o aumento na incidência de doenças neurodegenerativas como a Doença de Parkinson e Alzheimer, cada vez mais tem se obtido interesse em estudar moléculas com potenciais terapêuticos. Diante a isso destacamos o resveratrol um polifenol alvo de muitos estudos, estes vem demonstrando sua capacidade antioxidante e neuroprotetora. O ferro é um componente essencial em nosso organismo, porém um desequilíbrio em sua concentração pode gerar danos graves aos órgãos, por conta de seu caráter redox, promove um aumento de espécies reativas, muitos estudos associam que a perturbação na homeostase do ferro pode ocasionar no surgimento de neurodegeneração. Nesse contexto o trabalho busca avaliar o potencial antioxidante e neuroprotetor do resveratrol frente à toxicidade e neurotoxicidade do ferro utilizando o modelo *Caenorhabditis elegans*. As cepas utilizadas neste trabalho foram a tipo selvagem N2 Bristol e OH7547. Métodos: Para os experimentos, os animais tiveram seu estágio sincronizado através do tratamento de hermafroditas adultos grávidos com solução de lise para obtenção de embriões que ficam em meio líquido de um dia para o outro para que eclodam no primeiro estágio larval (L1). Os vermes em L1 foram separados em quatro grupos, dois grupos que foram pré ou pós-tratados com 750  $\mu\text{M}$  de ferro ou 26  $\mu\text{M}$  de resveratrol e outros dois grupos tratados com os compostos isolados, todos por 30 min em meio líquido. Logo após foram efetuadas quatro lavagens com água destilada e dois grupos sofreram tratamentos posteriores, ao final os tratamentos foram removidos através de lavagens e os vermes postos em placas com meio de cultivo NGM e *E.coli* OP50 por 48 horas em incubadora a 20°C. Alguns ensaios foram realizados logo após os tratamentos, citando o ensaio para medir o estresse oxidativo. Outros ensaios se deram após 48 horas, no qual foi realizada contagem de sobrevivência, longevidade e separados vermes para serem fotografados em microscópio de fluorescência para análise atividade neuronal. Foi observado que a sobrevivência diminuiu no grupo de vermes tratados previamente com resveratrol e posteriormente com ferro em relação àqueles que foram apenas tratados com resveratrol, pré-tratados com ferro e posteriormente com resveratrol e o grupo controle não tratado. Vermes tratados com ferro foram os que apresentaram os maiores níveis de espécies reativas, também foi observada uma diminuição da atividade neuronal, o que corrobora com o comportamento de compostos polifenois, onde podem exercer um potencial pró-oxidante assim como antioxidante dependendo do tipo de situação.

Os resultados obtidos com resveratrol demonstram que em situações de perturbação na homeostase do ferro consegue exercer seu efeito antioxidante e neuroprotetor, porém em determinadas situações atua como um agente pró-oxidante.

## **DELINEAMENTO DE NANOEMULSÕES CATIÔNICAS COM SUPERFÍCIE MODIFICADA**

Cristine Scheuer (autora mestranda); Michel Copelo Galarça (coautor graduando); Mariani Machado Vasconcellos (coautora graduanda); Andressa Viapiana Naimayer (coautora graduanda); Helder Ferreira Teixeira (colaborador UFRGS), Sandra Elisa Haas (colaboradora UNIPAMPA), Fernanda Bruxel (orientadora).

Nanocarreadores do tipo nanoemulsões (NE) óleo/água são amplamente utilizadas visando a liberação de diferentes fármacos e/ou moléculas. Permitem uma melhora na eficácia terapêutica e contornam problemas tecnológicos relacionados ao fármaco. Além disso, modificações em sua superfície têm sido realizadas, visando seu direcionamento a células-alvo específicas. Porém, parâmetros relacionados à constituição da formulação podem influenciar suas propriedades físico-químicas, aspectos biotecnológicos e no perfil de associação e/ou liberação de moléculas nelas incorporadas. Assim, este trabalho teve por objetivo o delineamento de NE isentas de fármaco por meio de um estudo fatorial de matriz 2x2, visando a modificação da superfície da NE com transferrina (TF). Materiais e métodos: As NE se constituíram de triglicerídeos de cadeia média, lecitina de gema de ovo, 1,2-dioleil-3-trimetilamônio-propano (DT), polissorbato 80 (P80), glicerol e água, produzidas por emulsificação espontânea. O delineamento fatorial se deu com duas variáveis, em dois níveis cada: P80 (0,5 ou 1,0%) e DT (0,07 ou 0,14%). As variáveis de saída foram: diâmetro médio de gotícula e polidispersão (Span) (Mastersizer®), e potencial zeta (Zetaplus®). Posteriormente, às formulações selecionadas, foram associadas diferentes concentrações (0,05-0,3%) de TF, seguidas de nova caracterização físicoquímica. As formulações apresentaram baixa polidispersão e diâmetros médios de 130-180nm, com potencial zeta de -15 a +44mV. O desenho fatorial não encontrou significância estatística nas interações de 2ª ordem. Sobre o efeito principal, a concentração do DT influenciou significativamente ( $p=0,004$ ) nos valores de potencial zeta, contrariamente ao efeito do P80 ( $p=0,109$ ). Assim, foi possível a seleção de duas formulações, ambas contendo 0,14% DT, nas concentrações de P80 de 0,5% (NE2) e 1,0% (NE4), apresentando respectivamente o menor tamanho médio de gotícula ( $0,137\text{nm} \pm 0,003$  e  $0,136\text{nm} \pm 0,002$ ), menor polidispersão ( $1,090 \pm 0,007$  e  $1,108 \pm 0,080$ ) e maior carga positiva ( $40,3\text{mV} \pm 5,5$  e  $32,9\text{mV} \pm 2,7$ ). Após a adição de concentrações crescentes de TF à NE2, houve uma redução progressiva da carga positiva, que pode ser atribuída à adsorção da TF à superfície da gotícula, devido à presença do lipídio catiônico DT. Após a adição de TF à NE4, a variação de PZ observada foi muito grande, impossibilitando a leitura pelo equipamento. Provavelmente, a maior

quantidade de P80 nesta formulação poderia estar formando um filme protetor ao DT, que estaria dificultando a adsorção da proteína, resultando em uma instabilidade física da formulação. Dessa forma, visando a posterior incorporação de fármaco lipofílico ao núcleo oleoso da nanoemulsão, a NE2 apresentou as propriedades físico-químicas mais adequadas e será utilizada para dar continuidade aos experimentos.

## **AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO TIMEROSAL SOBRE PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS EM DROSOPHILA MELANOGASTER**

Matheus Chimelo Bianchini AUTOR/ APRESENTADOR, Évelen Copello De Oliveira CO-AUTOR, Thiago Felipe Tamborena Félix CO-AUTOR, José Luiz Ribeiro Portela CO-AUTOR, Laurence Noetzold Mendes CO-AUTOR, Robson Luiz Puntel ORIENTADOR

O Mercúrio (Hg) é um conhecido contaminante ambiental, encontrado naturalmente em vulcões, oceanos e gêiseres. Sua contaminação, também, advém da ação humana através da utilização nas indústrias e na mineração de metais preciosos. O tiosalicilato de etilmercúrio, também conhecido como Timerosal ou mertiolate é um composto que desde 1930 é utilizado como conservante em vacinas. Desde então, através das décadas vem se discutindo os efeitos causados por esse composto em organismos vivos. Considerando, que ainda existem formas de exposição ao Timerosal, e que ainda seus efeitos ainda não estão completamente conhecidos, o objetivo do nosso trabalho é avaliar os efeitos da exposição ao Timerosal em *D. melanogaster* sobre parâmetros comportamentais. As moscas da espécie *D. melanogaster* selvagens foram expostas a diferentes concentrações de Timerosal (10, 25, 50 e 100  $\mu\text{M}$ ) para avaliação da sobrevivência. Uma vez determinado o tempo e dose de exposição (CL 50 em 4 dias), as moscas foram divididas em dois grupos: (1) Controle e (2) Timerosal 25 $\mu\text{M}$  expostas pelo período de 4 dias. Os ensaios comportamentais (campo aberto, geotaxia negativa e teste ao calor nocivo), foram realizados no final do 4<sup>a</sup> dia para avaliar a capacidade locomotora e de sensibilidade. Os testes comportamentais foram analisados utilizando o teste T de Student's. E os testes de sobrevivência foi utilizada a análise de ANOVA - MANOVA seguida de Tukey's quando apropriado. A diferença entre os grupos foi considerada significativa quando  $p < 0,05$ . A exposição ao Timerosal foi capaz de induzir uma diminuição na sobrevivência dos animais de maneira tempo e concentração dependente. Além disso, observamos que existe um déficit locomotor, diminuição no número de cruzamentos (31,14%) e de escalada (50%), associado a uma perda de sensibilidade (19,14%) quando expostas ao calor no grupo Timerosal quando comparado com controle. Nossos resultados demonstram que o Timerosal possui características tóxicas devido a diminuição da sobrevivência. Além disso, conseguimos observar que as moscas tratadas com Timerosal apresentaram uma diminuição locomotora e de sensibilidade. Entretanto, ainda se faz necessário mais estudos para compreender os mecanismos pelos quais o Timerosal exerce seu efeito tóxico.

## **IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DE LEISHMANIA SP EM CÃES DE ÁREA ENDÊMICA DO SUL DO BRASIL.**

Taiane Acunha Escobar (Autora Principal e Apresentadora), Gabriela Döwich (co-autora),  
Leticia Carvalho Cantele (co-autora), Bruno Gotinski Romero (co-autor), Luísa Zuravski (co-  
autora), Claudia Acosta Duarte (co-autora), Irina Lübeck (co-autora), Vanusa Manfredini  
(coordenadora)

*Leishmania* é um gênero de protozoários da família Trypanosomatidae, que inclui os parasitos causadores das leishmanioses, são transmitidas através do inseto vetor *Lutzomyia longipalpis*. As formas humana (LVH) e canina (LVC) ocorrem endemicamente em diversas regiões do mundo e estão presentes em todos os estados do Brasil. Desta forma a leishmaniose é considerada um grave problema de saúde pública mundial. No município de Uruguaiana, extremo oeste do Rio Grande do Sul, há um alto índice de cães infectados e notificação de casos humanos. Os cães, principais reservatórios domésticos são diagnosticados através de técnicas sorológicas, conforme as orientações do sistema de saúde brasileiro. Entretanto, a utilização dessas técnicas nem sempre apresenta uma especificidade adequada para a realização das medidas de controle, desta forma, a utilização de técnicas moleculares pode ser uma alternativa promissora para o diagnóstico e acompanhamento dos casos positivos. Devido ao aumento progressivo de casos caninos, este trabalho teve como objetivo utilizar a técnica de diagnóstico molecular PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) para verificar a presença de material genético de *Leishmania* sp em cães residentes em região endêmica para LVC no município de Uruguaiana - Rio Grande do Sul, Brasil. Foram selecionados 18 cães sem raça definida, com idade e sexo variados. Para a realização das análises moleculares, foram colhidas amostras de sangue em tubos com EDTA. A purificação do material genético foi realizada conforme o método de *Salting Out* e logo após, utilizaram-se os pares de iniciadores que codificam as regiões do kDNA do protozoário, para a amplificação do material genético. Os produtos amplificados foram analisados por eletroforese em gel de agarose corados por brometo de etídeo e visualizados em sistema de fotodocumentação com luz ultravioleta (Alphamager). Foram consideradas positivas as amostras que apresentaram fragmentos com bandas de 145 pares de base (pb). Como controle positivo foi utilizado DNA das cepas *L. (L.) infantum* (MOHM/BR/1974/PP75 gentilmente cedidas pelo Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ). Os fragmentos de kDNA da região LT1 do protozoário *Leishmania* sp. foram observados em 9 amostras testadas, indicando que, embora, amostras de aspirado de linfonodo e lesões de pele são melhores para realizar o diagnóstico

molecular, também é possível detectar material genético de *Leishmania* sp em sangue periférico. e que os iniciadores utilizados para codificar regiões do cinetoplasto do protozoário são alternativas para o diagnóstico da enfermidade.

## **EFEITO DO $\gamma$ -ORYZANOL SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO EM CARNEIROS SUBMETIDOS À INSULAÇÃO ESCROTAL**

Autor Principal: Eduarda Escobar; Coordenador: Francielli Weber Santos Cibir.

O aumento da temperatura testicular é um efeito causador da degeneração testicular e consequente falha na qualidade e produção seminal em carneiros. Entre os mecanismos relacionados com o dano testicular, está o estresse oxidativo. O  $\gamma$ -oryzanol é um componente do óleo de farelo de arroz, que vem sendo descrito como potente antioxidante, e também por demonstrar melhoras significativas quando testado em nível de sistema reprodutor masculino. Nesse contexto, este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da suplementação com 33mg/PM/dia de  $\gamma$ -oryzanol diante à degeneração testicular induzida através de insulação escrotal em carneiros. Para isso foram utilizados 8 carneiros, os quais foram divididos em 2 grupos: Insulação escrotal (Controle) e Insulação escrotal mais  $\gamma$ -oryzanol (Gamma). Os carneiros foram submetidos à insulação escrotal induzida pela colocação de bolsa térmica durante 72 horas. O grupo Gamma recebeu 33 mg/PM de  $\gamma$ -oryzanol por via oral uma vez ao dia, iniciando 7 dias antes da insulação, durante a insulação e 20 dias após a insulação, totalizando 30 dias de tratamento. Amostras de sêmen foram coletadas semanalmente durante as 11 semanas de experimento, para avaliações bioquímicas relacionadas ao estresse oxidativo. Coletas de tecido testicular para análise foram realizadas ao final do experimento através de orquiectomia. As análises realizadas tanto em sêmen como no tecido testicular foram: Peroxidação lipídica (TBARS), Espécies reativas de oxigênio (ROS) e Potencial antioxidante total (FRAP). Em sêmen, os níveis de TBARS mostraram-se significativamente aumentados no grupo Controle imediatamente após o insulto térmico, já nos animais que receberam o  $\gamma$ -oryzanol este aumento não foi significativo, no entanto, na 5ª semana foi observada uma peroxidação lipídica maior no grupo Gamma em relação ao Controle. Em relação aos níveis de ROS houve aumento na 9ª semana em ambos os grupos. Já FRAP teve uma redução significativa imediatamente após a insulação no grupo Controle, enquanto que no grupo Gamma essa redução ocorreu na 3ª semana. Na 10ª semana houve aumento de FRAP no grupo Gamma levando a uma diferença significativamente maior do que o grupo Controle. Nas avaliações feitas no tecido testicular FRAP mostrou uma redução de 21% no grupo tratado com  $\gamma$ -oryzanol em relação ao grupo Controle. Em relação aos níveis de ROS o grupo Gamma teve redução de 26% quando comparado com o grupo Controle. Para os níveis de TBARS não houve diferença significativa entre os grupos. Considerando as avaliações realizadas o  $\gamma$ -oryzanol teve efeito protetor e terapêutico

parcial sobre a degeneração, aumentando a capacidade antioxidante total em sêmen e reduzindo espécies reativas de oxigênio a nível de tecido testicular. No entanto, mais estudos são necessários para avaliar a possível utilização do  $\gamma$ -oryzanol como terapia e proteção da degeneração testicular causada pelo aumento da temperatura.

## AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA PRELIMINAR E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DAS FOLHAS DE *Celtis ehrenbergiana*

Mylena da Silva Vargas (autor principal, apresentador); Heloisa Aiolfi Padilha (co-autor); Natiele Figueiredo da Rosa (co-autor); Vanessa Bley Ribeiro (co-autor); Fabiane Moreira Farias (orientador)

As folhas de *Celtis ehrenbergiana* são utilizadas pela população, na forma de decocção para uso tópico, no tratamento de afecções de pele, como cicatrizante de dermatofitose e acne e para tratar micoses de unhas. Porém, na literatura não existem estudos realizados com essa espécie relacionados à sua composição química ou atividade farmacológica. Dessa forma, o objetivo do trabalho foi avaliar os principais grupos de metabólitos e a possível atividade antibacteriana de *Celtis ehrenbergiana*. O material vegetal foi coletado no município de Uruguaiana – RS, entre os meses de novembro de 2016 a janeiro de 2017. Para a obtenção dos extratos e realização dos testes de caracterização fitoquímica preliminar, as folhas de *Celtis ehrenbergiana* foram secas em estufa (40 °C) e trituradas em um micromoinho de facas. O extrato aquoso foi obtido por decocção com água por 30 minutos. O extrato metanólico foi preparado por maceração com metanol e posteriormente submetido ao processo de partição líquido-líquido, com solventes de polaridade crescente. Foram realizados os doseamentos de polifenóis totais e flavonoides totais em espectrofotômetro e a avaliação da possível atividade antibacteriana de *C. ehrenbergiana* foi realizada pelo método de microdiluição em caldo, conforme Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2015), frente à cepas de *S. aureus* (ATCC 29213), *S. aureus* (ATCC 25923), *E. coli* (ATCC 25922), *E. coli* (ATCC 35218), *P. aeruginosa* (ATCC 27853), *Acinetobacter* e *S. coagulase negativo*. A partir da caracterização fitoquímica preliminar, foi possível sugerir que os principais grupos de metabólitos presentes nas folhas de *C. ehrenbergiana*, são: taninos, flavonoides, saponinas e alcaloides. As quantidades de polifenóis totais e flavonoides totais encontradas para o extrato aquoso foram de  $41,73 \pm 1,67$  mgE de ácido gálico / g de extrato e  $4,65 \pm 1,58$  mgE de quercetina / g de extrato, respectivamente. Para o extrato metanólico, as concentrações encontradas foram:  $42,26 \pm 1,92$  mgE de ácido gálico / g de extrato e  $6,69 \pm 1,90$  mgE de quercetina / g de extrato. No teste *in vitro*, *C. ehrenbergiana* apresentou Concentração Inibitória Mínima maior que 256 µg/mL, porém o extrato aquoso não apresentou inibição em nenhuma concentração testada. Os resultados permitiram observar que nenhum extrato de *Celtis ehrenbergiana* foi capaz de inibir o

crescimento das bactérias em concentrações inferiores a 100mg/mL, sugerindo que a espécie não se constitui como um agente antimicrobiano promissor. Como os estudos com as espécies do gênero são escassos, os resultados obtidos são relevantes, pois fornecem dados farmacológicos sobre *Celtis*.

## **BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO EM ESPERMATOZOIDES BOVINOS EXPOSTOS AO MERCÚRIO E SUAS REPERCUSSÕES NA QUALIDADE ESPERMÁTICA E NA CAPACIDADE DE FERTILIZAÇÃO IN VITRO (FIV)**

Elane Fabíola de Sousa Jerônimo da Silva (autora principal e apresentadora), Daniele Missio (co-autora), Caroline Silveira Martinez (co-autora), Franck Maciel Peçanha (co-autor), Fábio Gallas Leivas (co-autor), Daniela dos Santos Brum (co-autora), Giulia Alessandra Wiggers (coordenadora)

Diferentes exposições ao Mercúrio (Hg) estão relacionadas com infertilidades em animais e humanos, e parte deste efeito tem sido atribuído à capacidade oxidante do metal. No entanto, ainda não estão claros quais os efeitos e mecanismos de ação da exposição a baixas concentrações de Hg sobre gametas masculinos e qual o seu impacto na fertilização in vitro. Com isso, esse estudo avalia os efeitos de diferentes doses de Hg sobre a qualidade espermática, capacidade de fertilização in vitro (FIV) e sua relação com os biomarcadores de estresse oxidativo em espermatozoides bovinos. Sêmen de dois touros *Bos taurus* de fertilidade comprovada (05 repetições) foi utilizado e as palhetas de sêmen foram descongeladas à 35°C por 20". As amostras foram homogeneizadas e os espermatozoides selecionados por gradientes descontínuos de Percoll. Foram divididos em grupos e incubados por 2h a 37°C, em meio SP-TALP: Controle (Ct - 0,0 µM/mL), Hg 8nM/mL e Hg 8µM/mL. Após período, foram analisados: a motilidade e vigor, morfologia e integridade da membrana plasmática dos espermatozoides. Os parâmetros de estresse oxidativo foram mensurados pelos níveis de espécies reativas de oxigênio (EROS), peroxidação lipídica e capacidade antioxidante total. Para a avaliação da taxa de fecundação dos espermatozoides expostos as diferentes concentrações de Hg, oócitos bovinos foram maturados por 24h. Após 18h de co-cultivo entre oócitos/espermatozoides (dose inseminante 2x10<sup>6</sup> espermatozoides/mL para cada grupo), os prováveis zigotos foram avaliados por epifluorescência. Os dados paramétricos foram analisados pelo teste t de Student e os não paramétricos pelo Mann-Whitney (p <0,05). Espermatozoides bovinos expostos por 2 horas ao Hg, na dose de 8µM/mL sofreram redução de: motilidade (Ct: 40% vs Hg 8µM/mL: 30%\* - \*p<0,05 vs Ct); número de espermatozoides normais (Ct: 86,5% vs Hg 8µM/mL: 76,2%\*); integridade de membrana (Ct: 25,5% vs Hg 8µM/mL: 17,2%\*) e aumento dos defeitos menores (Ct: 13,5% vs Hg 8µM/mL: 18,7%\*) e não houve modificações destes mesmos parâmetros na dose de 8nM/mL. No entanto, a exposição ao Hg em ambas concentrações expostas foram capazes de aumentar o estresse oxidativo: EROS (Ct: 39,7 ± 5,2; Hg

8nM/mL:  $56,4 \pm 3,8^*$ ; Hg 8 $\mu$ M/mL  $278,7 \pm 31,7^*\%$  -  $*p<0,05$  vs Ct); Peroxidação Lipídica (Ct:  $143,3 \pm 17,4$ ; Hg 8nM/mL:  $223,5 \pm 18,0^*$ ; Hg8 $\mu$ M/mL:  $64,1 \pm 6,7^*\%$ ) e reduzir a Capacidade Antioxidante Total (Ct:  $44,6 \pm 5,6$ ; Hg 8nM/mL:  $27,6 \pm 1,7^*$ ; Hg 8 $\mu$ M/mL:  $26,3 \pm 0,7^*\%$ ). A exposição ao Hg na concentração de 8 $\mu$ M reduziu significativamente a taxa de fecundação e penetração dos espermatozoides (Ct: 78% vs Hg 8 $\mu$ M/mL: 54%\* -  $*p<0,05$  vs Ct). A exposição ao mercúrio em baixas concentrações favorece o aumento do estresse oxidativo e promove efeitos negativos na qualidade espermática e na capacidade de fertilização in vitro na dose de 8 $\mu$ M/mL.

## **CARACTERIZAÇÃO IN VITRO DOS MECANISMOS ENVOLVIDOS NA REGULAÇÃO DA MATRIZ EXTRACELULAR E DO FENÓTIPO CELULAR DO EPITÉLIO ENDOMETRIAL BOVINO POR ESTRADIOL E PROGESTERONA**

Thamiris Vieira Marsico (1º autora/apresentadora)

Fernando Silveira Mesquita (Orientador)

Mateus José Sudano (Co-orientador)

A manipulação farmacológica do ciclo estral, cuja aplicação permite maximizar o número de fêmeas bovinas a se tornarem prenhes, não seria possível sem a elucidação dos mecanismos moleculares de ação e processos celulares que envolvem a atividade dos hormônios do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal. Inúmeros estudos têm relatado a correlação positiva entre as concentrações de estradiol (E2) e progesterona (P4) pré- e pós-ovulatórias, respectivamente, o desenvolvimento do concepto e fertilidade. Adicionalmente, relatos acerca da regulação da expressão gênica endometrial pelos esteroides ovarianos sugerem a relevância do ambiente endócrino periovulatório na preparação da receptividade uterina para o desenvolvimento embrionário. Mormente, durante as 2 primeiras semanas de prenhez o embrião depende exclusivamente do conteúdo uterino, conteúdo este que é definido pela capacidade de transporte, síntese e secreção de moléculas de diferente natureza bioquímica pelas células do epitélio endometrial. Nossos dados recentes demonstraram que (1) o perfil transcriptômico endometrial variou de acordo com o ambiente endócrino periovulatório (E2 pré- e P4 pós-ovulatória), e que (2) o perfil transcriptômico sugestivo de maior ou menor atividade proliferativa foi validado por meio de marcadores proteicos de proliferação. Adicionalmente, os dados transcriptômicos indicam a regulação diferencial de transcritos associados à matriz extracelular (MEC) e a moléculas transportadoras em resposta aos ambientes endócrinos periovulatórios distintos, sugerindo a regulação do fenótipo celular endometrial pelos esteroides ovarianos através da modulação da composição e organização da matriz extracelular local. Dessa forma, o nosso objetivo geral é caracterizar a interação molecular entre os esteroides ovarianos, a composição da MEC endometrial (colágenos e moléculas associadas) e a atividade proliferativa das células do epitélio endometrial por meio de um modelo in vitro. Como hipótese central, acredita-se que a exposição aos esteroides ovarianos regula a atividade proliferativa das células do epitélio endometrial por meio da regulação da organização das fibras de colágeno na MEC. Para obtenção destes resultados, serão feitas coletas de úteros

provenientes de abatedouros onde posteriormente será feita a recuperação enzimática das células e cultivo in vitro. Após isso, serão feitos 5 experimentos onde será analisado se a proliferação celular do epitélio endometrial após 24h de cultivo está sob influência da organização das fibras de colágeno e dos esteroides ovarianos (Experimento 1) e/ou a inibição da síntese de colágenos na MEC e dos esteroides ovarianos (Experimento 3). Além disso, será testado se a pré-exposição aos esteroides ovarianos e a organização das fibras de colágeno também influencia a proliferação celular do epitélio endometrial após 24h quando inserido o insulin-like growth factor 1 (IGF1) no meio de cultivo (Experimento 5). Já os experimentos 2 e 4 seguirão o mesmo modelo do experimento 1 e 3 respectivamente, porém será avaliado a influência na expressão de colágenos após cultivo de 48h via qPCR. Espera-se confirmar a hipótese central deste projeto, onde E2 e P4 regulam diferencialmente a proliferação celular e expressão de componentes da MEC. Além disso, a proliferação induzida por E2 depende da configuração de colágenos da MEC e a síntese de colágenos é necessária para regulação da proliferação celular mediada por E2.

Financiadores: CAPES - Bolsa / FAPERGS - Auxílio financeiro.

Palavras-chave: ambiente uterino; biotecnologia da reprodução; colágenos; expressão gênica; hormônios esteroides.

## **EFEITO DA MODULAÇÃO DA ENZIMA ACIL-COA SINTETASE DE CADEIA LONGA SOBRE A DISTRIBUIÇÃO MORFOMÉTRICA DAS GOTAS LIPÍDICAS CITOPLASMÁTICAS AO LONGO DO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO INICIAL**

Fernanda Alves Pereira (autora principal, apresentadora), Mateus José Sudano (Orientador)

A produção de embriões in vitro (PIV) é uma técnica amplamente utilizada e proporciona benefícios como aumento de produtividade em curto período de tempo. Entretanto, o desenvolvimento embrionário in vitro apresenta problemas como acúmulo de gotas lipídicas no citoplasma celular devido ao grande aporte de substrato dos meios onde são cultivados (Accorsi et al 2016, Mucci et al 2006). Diversas avaliações têm sido realizadas com intuito de analisar conteúdo lipídico de oócitos e embriões, como a microscopia de luz e microscopia eletrônica utilizando corantes fluorescentes (Barceló-Fimbres e Seidel 2007, De La Torre-Sanchez et al 2006). A Acil-CoA Sintetase de cadeia longa (ACS) integra a família Acil-COA Sintase que participa da via metabólica dos lipídeos (Alves-Bezerra, et al 2016). Os produtos de ACS atuam regulando enzimas, sinalização celular, fornecem energia através de sua oxidação e são coordenados por proteínas específicas que indicam as vias de atuação (Grevengoed et al 2014). Nesse contexto, o objetivo deste trabalho é analisar o efeito dos moduladores positivo e negativo da Acil-COA Sintase de cadeia longa sobre acúmulo lipídico de oócitos imaturos, embriões de 2 células, 8-16 células, mórula e blastocisto. Ovários de abatedouro serão utilizados para a obtenção dos oócitos que serão submetidos à maturação in vitro (MIV) por 24 horas e fertilização in vitro (FIV) por 18 horas. Após este período, os possíveis zigotos serão desnudados e transferidos para o meio SOFaaci com 2,5% de soro fetal bovino (SFB) (Sudano et al 2011) para formar os seguintes grupos: Controle (placebo de PBS), ACS- (dose 10-1x do modulador positivo da enzima Acyl-CoA sintetase de cadeia longa – ACS), e ACS+ (dose 10x do modulador positivo da enzima ACS). Os oócitos imaturos, embriões de duas células, embriões de 8-16 células, mórula e blastocisto, oriundas dos diferentes tratamentos serão coletadas ao longo do experimento (n= 30-40), fixados em paraformaldeído a 4% e submetidos à técnica fluorescente de Nile Red (Molecular Probes, Eugene, OR, EUA). As gotas lipídicas serão analisadas com auxílio de microscopia confocal (Genicot, et al 2005, Murilo et al 2017) e classificadas de acordo com seu tamanho: pequena < 2  $\mu$ M; média 2-6  $\mu$  M, e grande >6  $\mu$ M. Os dados serão analisados por ANOVA, onde será adotado o nível de significância de 5% ( $P < 0.05$ ).

Resultados esperados: A adição dos moduladores positivos e negativos da enzima Acil-CoA Sintetase de cadeia longa irá influenciar de diferentes modos no acúmulo lipídico no citoplasma células ao longo do desenvolvimento inicial do embrião. O modulador negativo atuará inibindo o conteúdo lipídico no citoplasma celular, reduzindo as gotas lipídicas de tamanhos grande, médio e pequeno. Por outro lado, o modulador positivo irá promover aumento do conteúdo lipídico no citoplasma celular, aumentando as gotas lipídicas de tamanhos grande, médio e pequeno.

## AVALIAÇÃO DOS ESPERMATOZOIDES BOVINOS EXPOSTOS AO MERCÚRIO EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES E TEMPOS

Bauer GV<sup>1</sup>, Silva EFSJ<sup>2</sup>, Missio D<sup>3</sup>, Martinez CS<sup>2</sup>, Peçanha FM<sup>2</sup>, Leivas FG<sup>3</sup>, Brum DS<sup>3</sup>, Wiggers GA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Graduanda em Medicina Veterinária, Universidade Federal do Pampa, Uruguiana, RS.

<sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Universidade Federal do Pampa, Uruguiana/RS, Brasil

<sup>3</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Pampa, Uruguiana/RS, Brasil

O mercúrio (Hg) é um metal pesado, não essencial, distribuído de forma onipresente no ambiente. Estudos prévios *in vitro* apontam que a exposição ao Hg em altas doses (50µM - 300µM), com intervalos de tempos variados, pode estar relacionada a alterações morfológicas e na redução de motilidade espermática. Embora esses indicativos apontem a toxicidade do Hg em gametas masculinos, eles não mimetizam seus efeitos reais à saúde humana, visto que a população em geral está exposta a baixas concentrações deste metal. O presente estudo objetiva analisar o efeito da exposição a diferentes concentrações de HgCl<sub>2</sub> e tempos sobre os espermatozoides bovinos. Foram utilizados sêmen de dois touros *Bos taurus* de fertilidade comprovada (05 repetições) e essas palhetas descongeladas à 35°C por 20", as amostras homogeneizadas e a seleção espermática realizada por gradientes descontínuos de Percoll. Em seguida foram divididos e incubados nos tempos 0,5h e 2h a 37°C, em meio SP-TALP em: a) Controle (Ct – sem adição de HgCl<sub>2</sub>), b) Hg8nM e c) Hg8µM. Após cada tempo de exposição, foram avaliados os parâmetros de motilidade total e progressiva, velocidade curvilínea (VCL), velocidade linear progressiva (VSL), velocidade média da trajetória (VAP-µm/s) e hiperatividade das células pelo *Sperm Class Analyzer* (SCA). Os dados paramétricos foram analisados pelo teste t de Student e os não paramétricos por Mann-Whitney ( $p < 0,05$ ). Espermatozoides bovinos expostos por 0,5h numa concentração de Hg8nM não sofreram alterações nos dados estudados, entretanto no grupo Hg8µM apresentou redução significativa na motilidade progressiva (Ct: 31 (26 - 34) vs 8µM: 16 (11 - 26)\* - \* $p < 0,05$ ); VCL (em -µm/s - Ct: 59,8 ± 2,1 vs Hg8µM: 43,6 ± 3,1\*); VSL (em µm/s: Ct: 31,7 ± 1,2 vs Hg8µM: 21,3 ± 2,6\*). Os efeitos deletérios aumentaram com o tempo em 2h de exposição nos espermatozoides expostos ao Hg, houve redução na motilidade total (Ct: 47(27 - 54) vs Hg8µM: 31(25 - 35)\*); motilidade progressiva (Ct: 35(20 - 39) vs Hg8nM: 11(9 - 19)\* vs Hg8µM: 14(11 - 29)\*); VCL (Ct: 51,0 ± 2,8 vs Hg8nM: 39,7 ± 4,4\* vs Hg8µM: 40,8 ± 2,8\*); VSL (Ct: 27,2 ± 2,0 vs Hg8nM: 17,6 ± 1,7\*) e hiperatividade (Ct: 8(4 - 13) vs Hg8µM: 3(1 - 4)\*). Estes resultados indicam reduções significativas nos parâmetros espermáticos a partir de 0,5h de exposição ao Hg e que esses danos evoluíram com o aumento do tempo para 2h. O maior tempo de exposição propiciou danos espermáticos mesmo na concentração de 8nM. Assim, espermatozoides expostos em baixas concentrações ao Hg sofrem efeitos deletérios que podem repercutir negativamente na sua capacidade de fertilização.

## **A EXPOSIÇÃO AO ALUMÍNIO EM DOSE EQUIVALENTE A EXPOSIÇÃO HUMANA É O SUFICIENTE PARA DESENCADEAR ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS EM HIPOCAMPO: O PAPEL DA COX-2 E MICROGLIA FRENTE AS ALTERAÇÕES COGNITIVAS**

Caroline Silveira Martinez, autor principal e apresentador; Caroline D. C. Alterman, co-autor; José Antonio Uranga Ocio, co-autor; Franck Maciel Peçanha, co-autor; Dalton Valentim Vassallo, co-autor, Christopher Exley, co- autor; Marta Miguel, co-autor; Pâmela B. Mello-Carpes, co-coordenador; Giulia Alessandra Wiggers, coordenador.

A exposição humana ao alumínio (Al) tem aumentado consideravelmente nas últimas décadas. Recentemente desenvolvemos um modelo de exposição em baixas doses que simula a exposição humana ao Al pela dieta. Observamos que ratos expostos ao Al por 60 dias apresentam alterações cognitivas semelhantemente ao encontrado em uma dose de exposição 12 vezes maior. Parte desses efeitos foram atribuídos ao aumento do estresse oxidativo e disfunção colinérgica. Objetivamos aprofundar o conhecimento acerca dos mecanismos de ação do Al. Para isso, ratos Wistar foram divididos: i) Controle a (Cta - água ultrapura, gavagem); ii) Alumínio (Al – AlCl<sub>3</sub> na dose de 100 mg/kg por 42 dias, gavagem), iii) Controle b (Ctb - água ultrapura, água de beber); iv) Alumínio (Al – AlCl<sub>3</sub> na dose de 8,3 mg/kg por 60 dias, água de beber). A dose de 8,3 mg/kg (Martinez et al. 2017) foi calculada baseando-se na média de exposição humana diária ao Al. Após período de exposição as memórias de curta e longa duração foram avaliadas pelo teste de reconhecimento de objetos, atividades locomotora e exploratória pelo teste de campo aberto, a ansiedade pelo teste do labirinto em cruz elevado e limiar da dor por hot plate. Após, os animais foram eutanasiados e realizou-se em hipocampo: análise histológica, marcação com Congo Red para verificar a presença de placas senis e/ou aglomerados  $\beta$ -amilóides, imunohistoquímica para marcadores inflamatórios: ciclooxigenase-2 (COX-2, 1:75, Santa Cruz Biotechnology, Inc) e microglia ativada (anti-IBA, 1:500, Wako Chemicals, USA, Inc) e, imunofluorescência para verificar a específica presença de Al no hipocampo (lumogallion - TCI Europe N.V. Belgium), bem como a marcação de núcleos celulares por DAPI (4',6-Diamidino-2-phenylindole dihydrochloride, 1:10.000, Santa Cruz Biotechnology, Inc). Realizou-se análise de variância (ANOVA), seguido do post-hoc de Bonferroni ( $P < 0,05$ ). Registro no CEUA Unipampa 028/2014. A exposição ao Al não alterou os parâmetros de ansiedade, locomoção ou dor nos animais. No entanto, independente da dose, o Al prejudicou a memória de longa e curta duração. Na análise histológica, o Al na dose de 8,3 mg/kg induziu angiopatia nos vasos do

hipocampo enquanto que a dose mais alta de exposição parece levar a morte neuronal. O Al aumenta a presença de microglia ativada e a ativação da via da COX-2 no hipocampo (microglia: Cta:  $1,4 \pm 0,2$  vs Al 100:  $6,4 \pm 0,5^*$ ; Ctb  $1,4 \pm 0,2$  vs Al 8,3:  $4,8 \pm 1,1^*$  number of microglia/campo; COX-2: Cta:  $2,2 \pm 0,2$  vs Al 100:  $3,8 \pm 0,2^*$ ; Ctb  $2,2 \pm 0,2$  vs Al 8,3:  $3,4 \pm 0,2^*$  intensidade de imunorreatividade \*vs Ct) e, promove específica fluorescência na presença de lumogallion demonstrando a deposição de Al no tecido hipocampal. A exposição ao Al em uma dose de exposição humana é suficiente para promover a deposição do metal no hipocampo, desencadeando respostas inflamatórias e comprometendo as funções cognitivas, alterações similares as encontradas em doenças neurodegenerativas como a doença de Alzheimer.

## **EFEITOS DO EXTRATO AQUOSO DE MACA PERUANA (*Lepidium Meyenii*) SOBRE PARAMETROS RELACIONADOS A VITALIDADE E REPRODUÇÃO EM *CAENORHABDITIS Elegans***

Luiz Eduardo Ben Pilissão ( autor principal) Cristiane Nutri ( co-autor) Cristiane Denardin (co-autor) Daiana Avila (orientador)

A Maca peruana (*Lepidium Meyenii*) é um vegetal nativo da região do Peru. O consumo do tubérculo deve-se ao seu valor nutritivo e conteúdo fitoquímico, suas propriedades medicinais estão conectadas à fertilidade e à vitalidade. Entretanto, tais efeitos não estão reportados na literatura científica. O presente estudo tem como objetivo avaliar os efeitos do extrato aquoso da maca sobre a reprodução e sobrevivência de nematodeos *Caenorhabditis elegans*. Este nemátóide é não-parasita, de curto ciclo de vida, sendo que os hermafroditas podem gerar até 300 novos descendentes. Adquiriu-se a maca peruana do comércio local, do qual se obteve um extrato aquoso que foi filtrado e diluído. Os *C. elegans* (tipo selvagem e da cepa DH1033) foram sincronizados e quando atingiram o estágio larval L1, foram utilizados para os ensaios. Utilizou-se um total de 2000 vermes em L1, os quais foram expostos ao extrato da maca peruana em diferentes concentrações (41,25; 123,75; 247,5; 330 ug/ul) durante 30 minutos em meio líquido contendo M9. As análises de sobrevivência foram obtidas pela contagem dos vermes vivos, em placas NGM/*E. coli*, 48h após o tratamento. Em prol de verificar o tamanho da ninhada, um verme foi transferido para uma nova placa NGM/OP50, após 48h do tratamento. Depois de 24h, esse mesmo verme foi transferido para uma nova placa e o número de ovos/progênie foi contabilizado. Para complementar o estudo referente a postura de ovos, utilizou-se um outro método, por meio de uma solução de lise. Posteriormente ao tratamento, 5 vermes de cada concentração e do controle foram transferidos para uma lâmina de vidro, contendo 20ul da solução de lise. Após alguns minutos, houve o rompimento do corpo deste verme e seus ovos, até então no interior de seu corpo, foram liberados e contabilizados. Para compreender o mecanismo envolvido nesses efeitos avaliamos os níveis de vitelogeninas, que são proteínas, transportadas para o vitelo para manter o aporte de energia durante o desenvolvimento do embrião, marcadas com GFP. A análise estatística foi obtida pela ANOVA, de uma via seguida de múltiplas comparações com post teste de Tukey pelo software Graphpad. Assim, os resultados mostraram que a maca causou uma redução na sobrevivência, principalmente na concentração de 330ug/ul. Além disso, o extrato causou uma diminuição significativa no tamanho da ninhada a partir de 123,75ug/ul, bem como redução no número de

ovos dos vermes, em contraste com o os efeitos tradicionalmente atribuídos à maca. Nossos resultados também mostram que o extrato da maca causou uma degradação lipídica bastante elevada. Além disso, os níveis de vitelogeninas foram nitidamente diminuídos. Com isso, conclui-se que a utilização do extrato da maca peruana, nestas concentrações em *C. elegans* tem efeitos contrários aos efeitos atribuídos e esperados desse tubérculo, já que a maca é utilizada em virtude dos seus benefícios sobre a vitalidade e fertilidade. Agradecemos ao CNPq pelo suporte financeiro

## **A EXPOSIÇÃO DE RATOS AO ALUMÍNIO EM DOSE EQUIVALENTE A EXPOSIÇÃO HUMANA PROMOVE DANOS HISTOPATOLÓGICOS EM CÓLON E AUMENTA O ESTRESSE OXIDATIVO SISTÊMICO**

Paola Zambelli Moraes<sup>a</sup>, Caroline Silveira Martinez<sup>a</sup>, José Antonio Uranga Ocio<sup>b</sup>, Dalton

Valentim Vassallo<sup>c</sup>, Franck Maciel Peçanha<sup>a</sup>, Marta Miguel<sup>d</sup>, Giulia Alessandra Wiggers<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Programa de Pós Graduação em Bioquímica, Universidade Federal do Pampa, Uruguiana, Rio Grande do Sul, Brasil, <sup>b</sup>Departamento de Ciencias Básicas de la Salud, Universidad Rey Juan Carlos, Alcorcón, España, <sup>c</sup>Departamento de ciências Fisiológicas, Universidade Federal do Espírito Santo e Escola de Medicina da Santa Casa de Misericórdia (EMESCAM), Vitória, Espírito Santo, Brasil, <sup>d</sup>Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación, Madrid, España.

O alumínio (Al) é o terceiro elemento mais abundante na crosta terrestre e a exposição humana a esse metal é praticamente inevitável. A exposição ao Al parece desencadear respostas pró-oxidantes e citotóxicas em diferentes sistemas e órgãos. Entretanto, os reais efeitos da exposição humana ao Al a longo prazo não são conhecidos. O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito da exposição ao Al em duas doses distintas: uma dose correspondente a exposição humana ao metal e, comparar com uma dose de exposição alta com conhecidos efeitos tóxicos. Para isso, ratos *Wistar* foram divididos em: i) Controle a (Cta - água ultrapura, gavagem); ii) Alumínio (Al – AlCl<sub>3</sub> na dose de 100 mg/kg por 42 dias, gavagem), iii) Controle b (Ctb - água ultrapura, água de beber); iv) Alumínio (Al – AlCl<sub>3</sub> na dose de 8,3 mg/kg por 60 dias, água de beber). A dose de 8,3 mg/kg (Martinez et al. 2017) foi calculada baseando-se na média de exposição humana diária ao Al. Após período de exposição os animais foram eutanasiados e realizou-se análise histopatológica em rim, fígado, tecido adiposo e cólon; imunofluorescência para verificar a específica presença de Al no tecido hepático e renal (lumogallion - TCI Europe N.V. Belgium) e, biomarcadores de estresse oxidativo sistêmico: níveis de espécies reativas, peroxidação lipídica e capacidade antioxidante total em plasma. Os dados foram analisados por análise de variância (ANOVA), seguido do post-hoc de Bonferroni ( $P < 0,05$ ). Registro no CEUA Unipampa 028/2014. A exposição ao Al não causou alterações histológicas em rim, fígado e tecido adiposo, entretanto o cólon dos animais tratados com Al apresentou alterações histopatológicas com danos a mucosa e presença de inflamação (Cta:  $2,3 \pm 0,6$  vs Al 100:  $6,2 \pm 0,6^*$ ; Ctb  $4,2 \pm 0,7$  vs Al 8,3:  $5,6 \pm 0,4^*$  vs Ct alterações / campo). A análise de fluorescência revelou a específica presença de Al no tecido renal e o metal, independente da dose, aumentou os níveis de estresse oxidativo plasmático (espécies reativas: Cta:  $197,7 \pm 14,2$  vs Al 100:  $346,9 \pm 31,6^*$ ; Ctb  $323,3 \pm 38,9$  vs Al 8,3:  $898,8 \pm 107,7^*$  UF \*vs Ct; Peroxidação lipídica: Cta:  $27 \pm 3,1$  vs Al 100:  $43,7 \pm$

5.1\*; Ctb  $24,7 \pm 1,1$  vs Al 8,3:  $37,3 \pm 4,1^*$  mg/MDA/mL plasma \*vs Ct; capacidade antioxidante total: Cta:  $132.9 \pm 7.9$  vs Al 100:  $214.1 \pm 15.6^*$ ; Ctb  $121,9 \pm 9,7$  vs Al 8,3:  $187,1 \pm 12,1^*$  FRAP  $\mu\text{mol/L}$ ). Nossos resultados demonstram que o Al promove danos histopatológicos e inflamação em cólon e, ao investigar em roedores uma dose de exposição semelhante a contaminação humana comparando-a com uma dose alta, observamos que os efeitos do Al são similares a uma exposição 12 vezes maior. Além disso, nossos dados sugerem que o aumento do estresse oxidativo e inflamação são os principais responsáveis pela ação tóxica do Al.

#### Agradecimentos:

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico [CNPq 406715/2013-0, 203503/2015-5]; Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior; Programa Nacional de Cooperação Acadêmica; Pró-reitoria de Pesquisa - Universidade Federal do Pampa [Nº 10.134.14] e governo da Espanha [MINECO - AGL2012-32387, CSIC – Intramural 201570I028 and SAF2015-69294-R].

## **ESTUDO DE MOLÉCULAS COM ATIVIDADE ANTIVIRAL POTENCIAL: MODELAGEM MOLECULAR EM ALVO DDX3 HUMANA E AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE COMPOSTOS.**

OLIVEIRA, Alisson Felipe de (autor principal e apresentador), BRUM, Mário Celso Sperotto (coordenador); PAULA, Fávero Reisdorfer (coordenador)

Vírus são organismos biológicos acelulares de estrutura simples que necessitam de uma célula hospedeira para se multiplicarem, seus processos infecciosos causam enfermidades que atingem a população e animais no mundo inteiro. Os fármacos antivirais utilizados na terapêutica, em sua maioria, visam inibir proteínas e enzimas virais ou do hospedeiro utilizadas em sua replicação. As proteínas virais podem sofrer mutações, resultando em surgimento de resistência aos antivirais. Devido a isso, se torna necessário à identificação de novos alvos e o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas. Estudos recentes sugerem que, cofatores celulares estão envolvidos em etapas importantes da replicação viral. O DEAD-box RNA helicase DDX3 é uma enzima humana, que interage com proteínas codificadas por alguns vírus que a usam para favorecer a sua replicação. O presente trabalho objetivou estudar através de modelagem molecular (avaliação de estrutura e docking molecular), as interações do tidiazuron (candidato a agente antiviral), junto ao sítio ativo da DDX3. Além disso, realizar a avaliação de parâmetros toxicológicos in silico, e de biodisponibilidade oral (Regra de Lipinski) do composto. Os softwares ChemDraw, Chem3D Ultra e Spartan for Windows 08 foram utilizados para desenho, otimização de geometria molecular da estrutura através do emprego de cálculo de mecânica quântica AM1 e DFT/B3LYP com base de dados 6.31G\*. O software Igemdock foi utilizado para estudos de docking molecular entre a estrutura cristalografada 3D da DDX3 (Protein Data Bank - PDB ID: 2I4I) e o composto tidiazuron. A análise de toxicidade in silico do composto, foi realizada através do programa computacional Osiris Property Explorer. O programa Molinspiration foi empregado para o estudo de propriedades físico-químicas e aplicação da Regra dos Cinco de Lipinski. Os resultados dos estudos teóricos demonstram que o tidiazuron não viola nenhuma das regras dos cinco, apontando essa substância como promissora a apresentar uma boa biodisponibilidade oral. O composto tidiazuron apresentou alto risco teórico para o efeito reprodutivo, devido à presença de fragmentos estruturais potencialmente tóxicos. A partir de resultados de docking molecular foram identificadas interações do tipo ligações de H entre os resíduos de aminoácidos TYR 200, GLY229 e GLU 285, interações por forças de Van der Waals THR 226, GLY229, LYS 230, THR 231 e interações eletrostáticas

entre GLY 227, SER 228, LYS 230, THR 231, TYR 200, GLN 207 entre o sítio ativo da DDXE com o tidiazuron. Neste cenário, a inibição de DDX3 por uma pequena molécula pode ser explorada para o desenvolvimento de agente antiviral de amplo espectro, para uso veterinário e também humano.

## **DESENVOLVIMENTO DE NANOCÁPSULAS CONTENDO DIFERENTES ÓLEOS ESSENCIAIS PARA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA**

Luiz Torres Neto (Autor/Apresentador); Cheila Denise Ottonelli Stopiglia (Co-orientadora);  
Eduardo André Bender (Orientador);

Óleos essenciais são advindos do metabolismo secundário de plantas em suas mais diversas partes, apresentando-se como uma rica fonte de compostos biologicamente ativos. Na natureza, os óleos essenciais desempenham um papel importante na proteção das plantas como agentes antibacterianos, antivirais, antifúngicos e inseticidas. Vários estudos confirmam e evidenciam a eficácia de óleos essenciais de plantas na inibição da atividade antimicrobiana, entretanto esses óleos são sensíveis ao oxigênio, à luz e a temperatura o que torna sua utilização inviável. Assim, novas tecnologias que possibilitem o uso destes óleos são necessárias. Nanopartículas poliméricas são sistemas matriciais que podem ser utilizados como carreadores de fármacos. Estes apresentam-se com tamanho de partícula inferior a 1  $\mu\text{m}$  e diferem-se entre si de acordo com sua composição e organização a nível molecular. Nosso trabalho tem como objetivo o desenvolvimento e avaliação da atividade antimicrobiana de nanocápsulas contendo óleos essenciais de Tomilho (*Thymus vulgaris*) (NcT) e Cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) (NcC). As nanocápsulas serão obtidas através do método de precipitação do polímero pré-formado que consiste na dissolução de duas fases, uma orgânica (FO) contendo o polímero poli-epsilon caprolactona (PCL), monoestearato de sorbitano (SPAN 60), e o óleo essencial. E uma fase aquosa (FA) contendo água MilliQ® e polissorbato 80 (Tween 80). As nanocápsulas serão avaliadas quanto ao diâmetro de partícula e polidispersão (SPAN) por difratometria de laser (Mastersizer 2000 Malvern®) e espectroscopia de correlação de fótons. Seu pH medido através do potenciômetro Hanna®. A partir disso, será avaliada o potencial de atividade antimicrobiana de NcT e NcC através da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) pelo método de microdiluição em caldo (CLSI – protocolo M38-A2 para fungos e M100-S25 para bactérias). Serão utilizados isolados clínicos de *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e do complexo *Sporothrix schenckii*. Ao final, esperamos uma inibição parcial ou completa do crescimento microbiano, tendo as nanocápsulas NcT e NcC como uma alternativa tecnológica de uso dos óleos essenciais em frente aos tradicionais antimicrobianos sintéticos.

## **AValiação da Citotoxicidade, Mutagenicidade e Genotoxicidade do Extrato Aquoso de *Sisyrinchium vaginatum* (CANCHALÁGUA).**

Laura Lanes Etcheverria<sup>(1)</sup>; Weliton Baldin<sup>(2)</sup>; Bruno Melo Baptista<sup>(3)</sup>; Fabiane Moreira Farias<sup>(4)</sup>

<sup>(1)</sup> Autor apresentador; Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas; Universidade Federal do Pampa; Uruguaiana, RS; (lauraletcheverria@gmail.com)

<sup>(2)</sup> Autor principal; Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas; Universidade Federal do Pampa; Uruguaiana, RS;

<sup>(3)</sup> Autor colaborador; Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas; Universidade Federal do Pampa; Uruguaiana, RS

<sup>(4)</sup> Orientadora; Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas e Curso de Farmácia; Universidade Federal do Pampa; Uruguaiana, RS; [fabianefarias@unipampa.edu.br](mailto:fabianefarias@unipampa.edu.br); (737073330-00)

No Brasil, o emprego de plantas medicinais é comum e difundido em todo o território, em decorrência da grande diversidade vegetal, do fácil acesso, ao baixo custo do tratamento e, principalmente, da crença de que os produtos de origem natural não são capazes de fazer mal à saúde. Entretanto, este é um pensamento equivocado, tendo em vista que muitas espécies vegetais podem promover sintomas adversos, interações com medicamentos e sinais de toxicidade. A Resolução Nº 90 (2004), publicada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, apresenta os estudos de citotoxicidade, mutagenicidade e genotoxicidade como testes de toxicologia pré-clínica que devem ser realizados para garantir a segurança no emprego de medicamentos fitoterápicos ou derivados vegetais que os originam. Embora a literatura científica careça de informações fitoquímicas e farmacológicas para a maior parte das espécies utilizadas no país, o emprego de plantas medicinais entre a população brasileira é um fato. Assim, a investigação da toxicidade das espécies vegetais utilizadas pelas diferentes comunidades constitui uma forma importante de garantir a segurança no uso das mesmas. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi realizar a investigação preliminar da toxicidade *in vitro* de *Sisyrinchium vaginatum* (canchalágua), cujo chá é amplamente empregado na região noroeste do Estado do Rio Grande do Sul para o tratamento de infecções do trato urinário. Para isso, o extrato aquoso de *S. vaginatum* foi preparado por decocção, simulando o método de preparo no uso popular. A avaliação da citotoxicidade foi realizada pelo teste da viabilidade celular, que utilizando o método de Azul de Tripam. A mutagenicidade foi avaliada pelo teste de Micronúcleo e a genotoxicidade foi investigada empregando o ensaio cometa. Em todos os testes foram utilizados: tampão PBS (pH 7,2), como controle negativo; peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), como controle positivo; e diferentes concentrações de

extrato aquoso de *S. vaginatum* (200, 100, 10 e 1  $\mu$ g/mL). Resultados expressos como média  $\pm$  desvio padrão, obtidos por ANOVA de uma via, com posterior teste de Brown-Forsythe. Valores considerados estatisticamente significativos para  $p < 0,05$ . Os resultados demonstraram que nenhuma concentração do extrato foi capaz de induzir a formação de micronúcleos, sugerindo ausência de mutagenicidade, ou de causar dano ao DNA, pelo observado no ensaio cometa. Contudo, as concentrações de 200, 100 e 10  $\mu$ g/mL reduziram significativamente a viabilidade celular, sugerindo um efeito citotóxico. Este resultado demonstra que, ainda que a espécie possa apresentar potencial atividade farmacológica, possui um efeito citotóxico que pode colocar a saúde da população em risco. Estudos sobre a composição química e as atividades farmacológicas da espécie ainda estão sendo realizados e, juntamente com os resultados apresentados neste trabalho, constituem os primeiros dados disponibilizados sobre *Sisyrinchium vaginatum*.

Palavras chave: uso seguro plantas medicinais; avaliação toxicológica;

## **DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO POR CLAE PARA DETERMINAÇÃO DA TIROFIBANA E SUAS PRINCIPAIS IMPUREZAS DE SÍNTESE.**

Adriane Lettnin Roll Feijó, autor principal e apresentador; Fernanda Macke Hellwig, co-autora; Marcelo Donadel Malesuik, Orientador

As doenças cardiovasculares pertencem à classe de patologias relacionadas ao coração e vasos sanguíneos, atingindo cerca de 17,5 milhões de óbitos anuais no Brasil. Dentre os novos fármacos utilizados como recurso terapêutico pode-se citar a Tirofibana, um antiplaquetário não peptídico, intravenoso, de uso hospitalar, que mimetiza os sítios sequência arginina-glicina-ácido aspártico. Atualmente é comercializado no país na forma farmacêutica injetável com nome Agrastat®, na concentração de 0,25 mg/mL. Devido à crescente preocupação em relação ao controle de qualidade dos medicamentos, se faz necessário o desenvolvimento de metodologia analítica confiável capaz de detectar e quantificar sua composição, bem como suas impurezas de síntese. Diante do exposto, este trabalho se propôs a desenvolver metodologia analítica para determinação do Cloridrato de Tirofibana, na presença de duas impurezas de síntese por Cromatografia Líquida de alta eficiência (CLAE). Foi preparada uma solução de trabalho de 50 µg/mL a partir da diluição do fármaco Agrastat® em metanol. As impurezas de síntese analisadas foram Impureza A e Impureza C, as quais foram diluídas em metanol para obtenção das soluções de trabalho de 220 µg/mL e 280 µg/mL, respectivamente. O desenvolvimento da metodologia foi realizado em detector DAD a 226 nm, utilizando coluna C18 (250 mm x 4,6 mm, 5 µm) em temperatura ambiente, com fase móvel composta por trietilamina 0,1% acidificada e acetonitrila, em diferentes pHs e proporções. O pH da fase móvel foi acidificado com ácido fosfórico e testado nos valores de 3,0; 3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5 e 6,0, sendo o resultado mais satisfatório obtido em pH 5,5. Os ensaios realizados com diferentes proporções de fase móvel foram compostos por 78:22, 75:25, 70:30 e 65:35, trietilamina 0,1%:acetonitrila, respectivamente. A melhor proporção foi em 75:25, apresentando boa adequabilidade do sistema. Após determinação individual dos compostos, foi realizado um mix contendo 200 µL de cada solução de trabalho. Foi possível boa resolução entre os picos, com tempos de retenção de 3,9 minutos para Impureza A, 6,6 minutos para a Tirofibana e 10,2 minutos para Impureza C. O sistema cromatográfico apresentou simetria de pico igual a 1,00 para impureza A e Tirofibana e 0,93 para impureza C, com número de pratos teóricos de 9669, 9814 e 5111, respectivamente. Outros ensaios estão sendo planejados, tais como fluxo em gradiente, com intuito de melhorar a eficiência cromatográfica, visando melhor

otimização. Todavia, até o presente, os resultados obtidos pelo método proposto apresentam boas perspectivas para sua validação. Agradecimentos: FAPERGS.

## **AVALIAÇÃO PRELIMINAR DA GENOTOXICIDADE IN VIVO DO EXTRATO AQUOSO LIOFILIZADO DE CEIBA SPECIOSA.**

Bruno Melo Baptista - Autor principal; Thiane Martins Messina - co-autor; Mylena Vargas da Silva - co-autor; Michel Machado Mansur - co-autor; Luis Flávio Souza de Oliveira - co-autor; Fabiane Moreira Farias - Orientador

As doenças cardiovasculares pertencem à classe de patologias relacionadas ao coração e vasos sanguíneos, atingindo cerca de 17,5 milhões de óbitos anuais no Brasil. Dentre os novos fármacos utilizados como recurso terapêutico pode-se citar a Tirofibana, um antiplaquetário não peptídico, intravenoso, de uso hospitalar, que mimetiza os sítios sequência arginina-glicina-ácido aspártico. Atualmente é comercializado no país na forma farmacêutica injetável com nome Agrastat®, na concentração de 0,25 mg/mL. Devido à crescente preocupação em relação ao controle de qualidade dos medicamentos, se faz necessário o desenvolvimento de metodologia analítica confiável capaz de detectar e quantificar sua composição, bem como suas impurezas de síntese. Diante do exposto, este trabalho se propôs a desenvolver metodologia analítica para determinação do Cloridrato de Tirofibana, na presença de duas impurezas de síntese por Cromatografia Líquida de alta eficiência (CLAE). Foi preparada uma solução de trabalho de 50 µg/mL a partir da diluição do fármaco Agrastat® em metanol. As impurezas de síntese analisadas foram Impureza A e Impureza C, as quais foram diluídas em metanol para obtenção das soluções de trabalho de 220 µg/mL e 280 µg/mL, respectivamente. O desenvolvimento da metodologia foi realizado em detector DAD a 226 nm, utilizando coluna C18 (250 mm x 4,6 mm, 5 µm) em temperatura ambiente, com fase móvel composta por trietilamina 0,1% acidificada e acetonitrila, em diferentes pHs e proporções. O pH da fase móvel foi acidificado com ácido fosfórico e testado nos valores de 3,0; 3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5 e 6,0, sendo o resultado mais satisfatório obtido em pH 5,5. Os ensaios realizados com diferentes proporções de fase móvel foram compostos por 78:22, 75:25, 70:30 e 65:35, trietilamina 0,1%:acetonitrila, respectivamente. A melhor proporção foi em 75:25, apresentando boa adequabilidade do sistema. Após determinação individual dos compostos, foi realizado um mix contendo 200 µL de cada solução de trabalho. Foi possível boa resolução entre os picos, com tempos de retenção de 3,9 minutos para Impureza A, 6,6 minutos para a Tirofibana e 10,2 minutos para Impureza C. O sistema cromatográfico apresentou simetria de pico igual a 1,00 para impureza A e Tirofibana e 0,93 para impureza C, com número de pratos teóricos de 9669, 9814 e 5111, respectivamente. Outros ensaios estão sendo planejados, tais como fluxo em gradiente, com intuito de melhorar a eficiência cromatográfica, visando melhor

otimização. Todavia, até o presente, os resultados obtidos pelo método proposto apresentam boas perspectivas para sua validação. Agradecimentos: FAPERGS.

## **MECANISMOS ENVOLVIDOS NO EFEITO DA NOVIDADE NA EXTINÇÃO E PERSISTÊNCIA DA EXTINÇÃO DAS MEMÓRIAS AVERSIVAS.**

autor principal: Nieve Alves; coordenador: Pâmela Billig Mello Carpes

A extinção refere-se a um novo aprendizado, ou seja, aprende-se a inibir a evocação de determinada memória. A terapia de exposição é amplamente utilizada no tratamento de transtornos relacionados ao medo a fim de promover a extinção da memória aversiva. No entanto, a eficácia dessa terapia é limitada. Recentemente, nosso grupo demonstrou que a exposição à novidade pode facilitar a extinção da memória aversiva. Porém, os resultados disponíveis não avaliam a duração do efeito desta estratégia. Objetivo: avaliar a persistência da extinção da memória aversiva facilitada pela exposição à novidade. Metodologia: serão utilizados 65 ratos Wistar divididos em 6 grupos: (i) grupo controle; (ii) grupo novidade–exposição a um ambiente novo; (iii) grupo ambiente familiar, (iv) grupo dopamina exógena, (v) grupo ambiente familiar + dopamina exógena, e (vi) grupo naive. Os animais do grupo (i) serão treinados no aparato de Esquiva Inibitória (EI), e 24 horas mais tarde serão submetidos a 3 (três) sessões de extinção com intervalos de 90 min entre as sessões. 24 horas depois, estes animais passarão pela primeira sessão de retenção (teste para medir a retenção da memória de extinção), que ocorrerá também 3, 7, 14 e 21 dias após a última sessão de extinção. O grupo (ii) passará pelos mesmos procedimentos, mas 30 min antes da primeira sessão de extinção, os animais serão expostos a uma novidade (ambiente novo – campos aberto). Os animais do grupo (iii) serão expostos ao campo aberto 24 horas antes do treino na EI, para que este deixe de ser novidade. Após, passarão pelos mesmos procedimentos do grupo (i), mas, 30 min antes da primeira sessão de extinção eles serão novamente expostos ao campo aberto (já familiar) durante 5 min, assim, espera-se isolar o efeito da exposição ao campo aberto do efeito da exposição à novidade. O grupo (iv) será treinado na EI, e, 30 min antes da primeira sessão de extinção, os animais receberão uma microinjeção intrahipocampal de dopamina exógena; posteriormente passarão pelas sessões de extinção (3 sessões) e retenção. Assim, espera-se verificar se a dopamina tem o mesmo efeito da novidade. O grupo (v) passará pelos mesmos procedimentos do grupo (iii), e, adicionalmente, imediatamente após a exposição ao campo aberto no dia da extinção, receberão uma microinjeção intrahipocampal de dopamina exógena. No grupo (vi), os animais não sofrerão qualquer tipo de intervenção (controle absoluto para experimentos bioquímicos). Além dos experimentos comportamentais, os níveis de BDNF hipocampal serão comparados entre os grupos. Este trabalho foi aprovado pelo

CEUA/Unipampa (protocolo 018/2017) Resultados esperados: espera-se que o efeito positivo da novidade na extinção da memória aversiva demonstre persistência, e que a dependência da dopamina no efeito da novidade seja comprovada, relacionando-se com o aumento de BDNF hipocampal.

## **PERFIL TRANSCRICIONAL DA CRIOTOLERÂNCIA EM EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS IN VITRO**

Diana Caetano, Rafaela Rodrigues, Clara Barrela, Andréa Basso, Mateus José Sudano,  
Fernando Mesquita

A criopreservação embrionária é uma tecnologia assistida da reprodução que possibilita o armazenamento de embriões excedentes derivados da produção in vitro e programas de transferência de embriões, a fim de comercializá-los ou transferi-los no momento mais interessante. É considerada uma das áreas mais desafiadoras dentre as biotecnologias da reprodução, onde a baixa taxa de prenhez pós-descongelação é a principal justificativa pelo inexpressivo número de embriões PIV criopreservados no Brasil e no mundo. Estes embriões são considerados mais sensíveis quando comparados aos seus homólogos derivados in vivo, sensibilidade a qual está associada principalmente ao elevado conteúdo lipídico presente no citoplasma embrionário, incluindo diversas diferenças morfológicas, fisiológicas e metabólicas. A presente proposta tem como objetivo elucidar estratégias e entender os mecanismos envolvidos na capacidade de sobrevivência dos embriões PIV após a criopreservação. Assim como identificar genes diferencialmente expressos (GDE's) entre embriões viáveis e não-viáveis após a criopreservação para o estabelecimento de assinaturas moleculares da competência e criotolerância embrionária. Para testar a hipótese de que genes expressos em blastocistos viáveis (alta criotolerância) e não viáveis (baixa criotolerância) após a criopreservação, estão diretamente envolvidos a processos biológicos nobres ligados a competência embrionária, metabolismo lipídico, e capacidade de sobrevivência após a criopreservação, o modelo com alta (definido como blastocistos que re-expandiram e eclodiram após 12 h de re-cultivo) e baixa criotolerância (definidos como blastocistos que re-expandiram, porém não eclodiram após 12 h de re-cultivo) após a criopreservação, será estabelecido para conduzir uma abordagem do padrão de expressão gênica entre os perfis estudados, através da tecnologia de sequenciamento de nova geração (RNA-seq). Com a realização do experimento espera-se aprofundar o conhecimento de GDE's em embriões criotolerantes e não-criotolerantes, além de auxiliar no esclarecimento de quais são as vias responsáveis pelo comprometimento embrionário após o processo de criopreservação.

## **EFEITO PROTETOR DO ÁCIDO CAFEICO CONTRA OS DANOS COMPORTAMENTAIS E OXIDATIVOS INDUZIDOS PELO ÁCIDO METILMALÔNICO EM DROSOPHIL MELANOGASTER.**

José Luiz Ribeiro Portela (Autor/Apresentador)

Neste trabalho utilizamos o ácido metilmalônico (AMM) como um pró-oxidante, causador da acidemia metilmalônica (AM) que é caracterizado pelo acúmulo do AMM nos fluidos corporais e tecidos, onde as manifestações clínicas são principalmente neurológicas e incluem atraso mental, atrofia cerebral, convulsões e deficiência cognitiva (Royes LF et al 2007 & Deodato F, et al 2006). Nesse contexto, vários estudos investigam a utilidade das intervenções antioxidantes em modelos animais que mimetizem algumas dessas situações e, têm sido mostradas evidências de eficácia terapêutica em alguns casos (Rocha, C.R et al 2012 & Prauchner, C.A. et al 2016). O ácido caféico e seus derivados tem demonstrado ter funções antioxidantes, supressão da peroxidação lipídica cerebral, e foi capaz de reduzir o infarto cerebral após isquemia cerebral em ratos (Schonfeld, P. et al 2006 & Zapelini, P.H. et al 2008). Animais invertebrados como *Drosophila melanogaster* têm sido um eficiente modelo de estudo e amplamente explorado como uma poderosa ferramenta genética para a compreensão de complexos problemas biológicos. Neste contexto, o objetivo deste estudo visa mostra o efeito protetor do ácido caféico, frente ao dano oxidativo e locomotor do AMM em *Drosophila melanogaster*. Metodologia: Modelo de estudo: *D. melanogaster* de tipo selvagem (cepa Harwich) obtidos do Centro Nacional, Bowling Green, Ohio, EUA. Ensaio realizados: Teste de sobrevivência, Geotaxia Negativa, Determinação TBARS e Análise Estatística. Resultados: No ensaio de sobrevivência o AMM, aumenta o número de moscas mortas em 40%, após 48h, quando comparado ao controle, entretanto, o co-tratamento com ácido caféico, inibe este efeito reduzindo em 20% a mortalidade. No ensaio de Geotaxia negativa, o AMM, induz déficit locomotor nas moscas, reduzindo em 40% a escalada das mesmas, permanecendo no fundo do frasco, mas, no entanto, o co-tratamento com ácido caféico reduz tais efeitos de dano locomotor. No ensaio do TBARS, o mesmo induz aumento da peroxidação lipídica tanto no corpo quanto na cabeça dos homogeneizados de moscas, quando comparado ao controle, no entanto o co-tratamento com ácido cafeico, reduziu este dano a níveis de controle. A exposição ao AMM é capaz de induzir um desequilíbrio oxidativo em tecidos de *D. melanogaster*, o qual parece estar associado a um dano locomotor e a mortalidade nos animais expostos a esse. No entanto, o ácido cafeico minimizou as alterações causadas pelo AMM, sugerindo efeito protetor contra as alterações causadas por esse ácido orgânico. Salientamos, contudo, a necessidade de

mais ensaios a fim de melhor elucidar o(s) mecanismo(s) envolvidos no efeito tóxico do AMM e no efeito protetor do AC em moscas co-tratadas com esses.

## **CRISINA REVERTE PERDA DE MEMÓRIA INDUZIDA PELO HIPOTIREOIDISMO EM CAMUNDONGOS FÊMEAS.**

Vandreza Cardoso Bortolotto (Autora principal - apresentadora)

Franciane Cabral Pinheiro (Co-autora)

Stífani Machado Araujo (Co-autora)

Márcia Rósula Poetini (Co-autora)

Luana Barreto Meichtry (Co-autora)

Shanda de Freitas Couto (Co-autora)

Francielli Polet de Almeida (Co-autora)

Marina Prigol (Orientadora - coordenadora)

O hipotireoidismo é uma doença caracterizada pela disfunção da tireoide, que tem importante papel na regulação de hormônios T3 (triiodotironina) e T4 (tiroxina), o tratamento do hipotireoidismo geralmente é a suplementação destes hormônios, contudo, como esta disfunção endócrina não possui cura e provoca diversos efeitos colaterais, tais como distúrbios neurológicos: depressão, ansiedade e perda de memória, é imprescindível a pesquisa por novos fármacos. Neste contexto, o presente estudo investigou o efeito protetor do flavonoide crisina no desempenho cognitivo e na memória em camundongos fêmeas hipotireoideas. Primeiramente os animais foram divididos em dois grupos: controle e metimazol (0,1% de metimazol + 0,475% de sacarose). O hipotireoidismo foi induzido pela exposição contínua ao fármaco antitireoideo metimazol na água, durante 31 dias, ao final destes dias foi dosado os níveis de T3 e T4 pela veia caudal dos animais, avaliando se realmente estavam com hipotireoidismo. Para avaliar o efeito da crisina neste modelo, os animais destes dois grupos (eutireoideo e hipotireoideo) foram subdivididos em quatro grupos: eutireoideo, eutireoideo + crisina, hipotireoideo, hipotireoideo + crisina. A crisina foi administrada na dose de 20mg/kg, durante 28 dias consecutivos. Ao final deste período os animais passaram por testes comportamentais de campo aberto e reconhecimento de objeto à curto e longo prazo. Todos os procedimentos experimentais foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética da Unipampa (027/2016). No teste de campo aberto, não houve alteração na atividade de locomoção entre os grupos avaliados. No teste de reconhecimento de objeto, o grupo hipotireoidismo exibiu uma diminuição no índice de reconhecimento de objetos à curto prazo, uma vez que este grupo aumentou o tempo de exploração dos objetos, porém ficou maior tempo no objeto já conhecido, assim diminuindo o % de memória, em comparação com o grupo controle. O tratamento com crisina foi capaz de diminuir o tempo exploração nos objetos, e obteve o mesmo % de memória que o grupo controle a curto prazo. No teste a longo prazo, obtivemos resultados parecidos com a curto prazo, o grupo hipotireoidismo diminuiu o % de memória e aumentou o tempo de exploração dos objetos, contudo neste caso, o tratamento com crisina foi capaz de reverter essa perda de memória, aumentando o %

de memória (ficando um maior tempo no objeto novo), e diminuindo o tempo exploração nos objetos, em comparação com o grupo controle. Os resultados obtidos até o momento, sugerem que o hipotireoidismo afeta a memória de reconhecimento à curto e longo prazo, e o tratamento com crisina é capaz de reverter essa perda à longo prazo. Contudo, é necessário mais resultados a fim de demonstrar o mecanismo da crisina em restaurar a perda de memória induzida pelo hipotireoidismo.

## **EFEITO PROTETOR DO GAMA ORIZANOL FRENTE A ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS E BIOQUÍMICAS NAS MOSCAS DA FRUTA DROSOPHILA MELANOGASTER EXPOSTAS A UMA DIETA COMPOSTA POR GORDURA TRANS**

Luana Barreto Meichtry (Autor principal e apresentador), Marina Prigol (Orientador e coordenador), Lucas Magno Lopes Lemos (Coautor), Márcia Rósula Poetini (Coautor), Vandrezza Cardoso Bortolotto (Coautor), Elize Aparecida Santos Musachio (Coautor), Stéfani Machado Araújo (Coautor), Shanda de Freitas Couto (Coautor)

A alimentação é essencial à vida, e é um dos principais contribuintes para a homeostasia do organismo. O consumo de alimentos industrializados vem crescendo frequentemente na população, estes alimentos passam por tipos de processamentos que visam melhorar aspectos do mesmo, tornando-os mais atraentes ao consumidor. No entanto, esses alimentos podem ser considerados uma ameaça substancial à saúde, visto que, muitos desses, tendem a ser mais elevados em gorduras saturadas e gorduras trans. Assim como a gordura saturada, a gordura trans também tem um efeito negativo à saúde, podendo provocar alterações metabólicas prejudiciais à mesma. Além disso, um consumo em excesso de gorduras pode acarretar em aumento de peso corporal e má regulação da glicose, podendo resultar na geração de radicais livres levando ao estresse oxidativo. Frente a diversos problemas relacionados à saúde, a procura por compostos naturais que visem reduzir o impacto causado por agentes patogênicos ao organismo vem crescendo continuamente. Compostos fenólicos naturais como o gama orizanol, são conhecidos por obterem grande espectro de atividades biológicas, tendo propriedades antioxidantes e terapêuticas à saúde. Sendo assim, esse trabalho tem como objetivo avaliar o efeito protetor do gama orizanol, um composto presente no óleo do farelo de arroz, frente a alterações comportamentais e bioquímicas nas moscas da fruta *Drosophila melanogaster* expostas a uma dieta composta por gordura trans. As moscas serão tratadas durante 7 dias e divididas em 6 grupos: (1) Dieta padrão, (2) Gordura trans (onde os valores de gordura da dieta padrão serão substituídos por gordura trans na mesma proporção), (3) Gordura trans 50% (onde os valores de gordura da dieta padrão serão substituídos pelo dobro de gordura trans), (4) Gama orizanol, (5) Gordura trans + Gama orizanol e (6) Gordura trans 50% + Gama orizanol. Durante o tratamento serão avaliadas a taxa de sobrevivência, o peso corporal e atividade locomotora das moscas. Também serão avaliados os níveis de glicose, triglicerídeos, peroxidação lipídica, geração de espécies reativas, a atividade da enzima catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e acetilcolinesterase (AChE). Por fim, serão avaliadas a viabilidade celular e mitocondrial. Através destas metodologias citadas

acima, esperamos descobrir quais alterações a gordura trans pode causar, e se o composto gama orizanol tem efeito protetor neste modelo, assim como, seus mecanismos os quais exerceriam proteção.

## **INDUÇÃO DE OSTEOARTRITE DE JOELHO EM RATOS POR MONOIDOACETATO DE SÓDIO**

Marciele Dulor Amaral (apresentador), Eloá Ferreira Yamada (autor principal), Morgana Duarte da Silva (co-orientador), Vanderlei Folmer (orientador)

A Osteoartrite (OA) pode ser definida como a condição degenerativa que afeta as articulações sinoviais, caracterizando-se por um processo degenerativo cartilaginoso e de desgaste do osso subcondral provocando um quadro inflamatório. Em decorrência do processo inflamatório, há um aumento da permeabilidade vascular e consequentemente uma migração de células inflamatórias como os neutrófilos, acarretando um quadro álgico e edema. O monoiodoacetato de sódio (MIA) é uma substância que leva a lesões muito semelhantes à OA humana, devido à inibição da enzima gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase. Assim, o objetivo do presente estudo foi analisar as alterações decorrentes por diferentes doses de MIA na articulação do joelho. Os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Unipampa, protocolo 004/2016. Foram utilizados 40 ratos Wistar machos, com aproximadamente 250g de peso corporal. Os animais foram divididos em Grupo Controle, no qual receberam 50µl de soro fisiológico, Grupo MIA 0,5mg, Grupo MIA 1,0mg e o Grupo MIA 1,5mg (todas as doses de MIA foram diluídas em 50µl de soro fisiológico). Os animais receberam uma injeção intra-articular de MIA no joelho direito. Para avaliar o edema articular foi utilizado um paquímetro digital. O limiar nociceptivo mecânico foi avaliado através dos filamentos de Von Frey, analisando os diferentes graus de estimulação mecânica nociva (retirada da pata) ou inócua (permanência da pata), provocada pelos filamentos. As avaliações de edema e do limiar nociceptivo foram realizadas antes das injeções intra-articulares, e nos dias 1, 4, 7, 11 e 14 após intervenção. Após a eutanásia, foi realizado o ensaio de Mieloperoxidase para verificar o acúmulo de neutrófilos. Os dados foram tratados estatisticamente através da análise de variância de uma via (ANOVA), e foram considerados significativos aqueles que obtiveram  $p < 0,05$ . No primeiro dia, 24h após as injeções de MIA, constatou-se a presença de edema, nos grupos MIA 0,5 e 1,5mg, quando comparado ao grupo controle ( $p < 0,05$ ). Por outro lado, nas avaliações subsequentes os resultados não foram significativos. No teste de Von Frey, os animais que receberam dose de 1,0mg apresentaram resultados estatisticamente significantes nos dias 1, 4 e 7. O grupo MIA 1,5mg, obteve redução significativa no limiar de retirada da pata em todas as avaliações, caracterizando hipersensibilidade mecânica. No ensaio de Mieloperoxidase apenas o grupo MIA 1,5mg apresentou diferenças significativas em relação ao grupo controle, o que pode caracterizar maior ação dos neutrófilos. Dessa forma, foi possível observar que o MIA, na dose de 1,5mg, provoca

uma ação mais lesiva aos tecidos, uma vez que se verificou presença de edema, de quadro álgico e de atividade de neutrófilos, caracterizando um processo inflamatório e um provável aumento do stress oxidativo, por aumento de radicais livres.

## **A EXPOSIÇÃO AO CHUMBO EM BAIXAS DOSES AUMENTA A PRESSÃO ARTERIAL E A RESPOSTA VASCULAR EM ARTÉRIAS DE RESISTÊNCIA DE RATOS**

José Eudes Gomes Pinheiro Júnior (autor principal e apresentador), Paola Zambelli Moraes (co-autora), Caroline Silveira Martinez (Co-autora), Elane Fabíola de Sousa Jerônimo da Silva (Co-autora), Pedro Henrique Dorneles Costa (Co-autor), Veronica Ivachuk da Silva (Co-autora), Giovanna Bauer Valério (Co-autora), Marina Diaz Rodrigues (Co-autora), Natália Casanova dos Santos (Co-autora), Franck Maciel Peçanha (Coordenador), Giulia Alessandra Wiggers Giulia Alessandra Wiggers (Coordenadora)

O chumbo (Pb) é um metal pesado, tóxico e cumulativo, contaminante comum do ambiente e seus efeitos sobre a saúde dependem do tipo de exposição, dose e consequentemente dos seus níveis sanguíneos do metal. O presente estudo tem como objetivo avaliar os efeitos da exposição crônica a baixa dose de acetato de chumbo sobre o sistema cardiovascular, especificamente sobre a resposta contrátil a fenilefrina (PHE) em artérias mesentéricas de resistência (AMR) e os níveis de pressão arterial em ratos. Ratos Wistar machos com 12 semanas (CEUA Unipampa - 035/2016). Foram divididos aleatoriamente em dois grupos tratados por 30 dias: a) Controle (Ct), b) Chumbo (Pb) – (1ª dose: 10µg/100g; doses subsequentes: 0,125 µg/100g, via intramuscular). Ao final do tratamento os ratos foram anestesiados e submetidos à canulação da artéria carótida para mensuração da pressão arterial sistólica (PAS) e pressão arterial diastólica (PAD). Após os ratos foram eutanasiados e as AMR foram removidas, divididas em segmentos de 2 mm montadas em um miógrafo de vasos de resistência com imersão de órgãos em solução Krebs-Henseleit aquecida e aerada por mistura carbogênica. Foram realizadas curvas concentração-resposta à PHE na presença do endotélio e os resultados estão expressos em média ± EPM, e foi utilizado teste t de “student” não-pareado e ANOVA seguido por pós-teste de Bonferroni ( $p < 0.05$ ). A exposição ao acetato de chumbo não alterou a resposta contrátil ao cloreto de potássio (KCl) indicando a integridade da musculatura lisa vascular (Ct:  $4.18 \pm 0.20$  mN/mm vs Pb:  $4.07 \pm 0.20$  mN/mm). No entanto, a exposição ao Pb aumentou a resposta contrátil a PHE na resposta máxima ( $R_{\text{máx}}$  - Ct:  $102.5 \pm 5.0$  vs Pb:  $119.7 \pm 11.8^*$  em percentual da contração do KCl,  $p < 0.05$ ), sem alterar a sensibilidade ( $pD_2$  - Ct:  $-4.10 \pm 0.23$  vs Pb:  $-4.28 \pm 0.24$ ). O Pb elevou a PAS (Ct:  $114.7 \pm 2.5$  mmHg vs Pb:  $138.5 \pm 4.7^*$ ,  $p < 0.05$ ) e PAD (Ct:  $93.2 \pm 1.8$  vs Pb:  $112.6 \pm 1.9^*$  mmHg,  $p < 0.05$ ). Nossos resultados demonstram que a exposição ao Pb em baixas doses e de forma sub-crônica é capaz de comprometer as respostas vasculares e elevar a pressão arterial em ratos, o que confirma o potencial tóxico do metal no sistema cardiovascular.

## **EFEITOS CITOTÓXICOS DO ACARICIDA FLUAZURON EM LINFÓCITOS HUMANOS EM CULTURA CELULAR**

Apresentador) Pamella Eduardha Espindola Chaves

(Colaborador) Jéssica Tamara Limberger

(Colaborador) Paola Ribeiro Motta

(Colaborador) Luísa Zuravski

(Colaborador) Queila Daiane Fonseca do Amaral

(Colaborador) Emanneli da Rosa

(Colaborador) Luís Flávio Souza de Oliveira

(Co-Orientador) Michel Mansur Machado

(Orientador) Juliana Gonçalves Ribeiro

Atualmente, uma das mais utilizadas formas de controlar parasitas na produção animais é pelo uso de acaricidas. No mercado existem várias classes de acaricidas, podendo ser classificadas como de contato ou sistêmicos. Dentre os acaricidas mais utilizados e vendidos no mercado atualmente, podemos destacar o Fluazuron, 3 [3 (3-chloro-5-trifluoromethyl-2-pyridinyloxy) - 4-chlorophenyl] - 1 (2, difluorobenzoyl 6) - urea, no qual tem como formulação o “pour-on” no qual significa aplicar o medicamento ao longo do dorso do animal. Pertencente ao grupo das benzoilfeniluréias, seu mecanismo de ação atua pela interferência da formação da quitina do carrapato, a qual é responsável pelo endurecimento de seus exoesqueletos e interrompendo o ciclo de vida. O objetivo deste estudo foi avaliar a citotoxicidade do Fluazuron em linfócitos humanos a partir de cultura celular. Para isso, uma curva de citotoxicidade dose-efeito foi determinada nas células de interesse usando o acaricida Fluazuron dissolvida em tampão PBS pH 7,4 em doses variando de 0,1 µg/mL a 1000 µg/mL, para determinar a concentração letal de 50% (CL50). As culturas de linfócitos foram preparadas usando 0,5 mL de linhagens celulares isoladas a partir de sangue periférico por concentração de densidade em Histopaque e imediatamente transferidas para meio RPMI 1640 suplementado com 25% de soro bovino fetal, 1% de estreptomicina / penicilina e 2% de fitohemaglutinina. As células foram mantidas a 37°C durante 72h numa incubadora com 5% de CO<sub>2</sub>. Analisamos a proliferação celular por contagem de células em uma câmara de Neubauer. Os dados foram expressos como média ± desvio padrão (SD). A análise de regressão não linear foi utilizada para determinar a LC50. A média de linfócitos encontrados no controle negativo (NC) foi de 60.000 ± 1500. As culturas tratadas com Fluazuron apresentaram contagens de linfócitos variando de 25.667 ± 3.512 células/mm<sup>3</sup> zero células vivas nas maiores concentrações testadas. A CL50 calculada para linfócitos foi de 7,187 µg/mL. Embora amplamente utilizado, o Fluazuron demanda atenção devido a sua potencial citotoxicidade. Mecanismo de estudos de ação estão sendo conduzidos para elucidar esses efeitos.

## **EFEITO DA ESTIMULAÇÃO COGNITIVA E DO EXERCÍCIO FÍSICO EM UM MODELO ANIMAL DE DOENÇA DE ALZHEIMER**

Leticia Rossi Daré (autor principal)

Alexandre Garcia dos Santos (colaborador)

Niége Alves (colaboradora)

Pâmela Billig Mello Carpes (coordenadora)

A doença de Alzheimer (DA) é uma doença neurodegenerativa crônica que gera a morte de neurônios e desordem da estrutura e função do cérebro, levando à perda gradual da memória. O uso de terapias alternativas, como treinamentos físicos e cognitivos, são estratégias importantes para auxiliar na prevenção e no tratamento da doença e promover a qualidade de vida dos pacientes. **OBJETIVO:** Avaliar se a estimulação cognitiva tem efeito positivo na prevenção e no tratamento da DA e se esses efeitos se assemelham aos promovidos pelo exercício físico. Adicionalmente, serão investigados os efeitos agudos da atividade física no déficit cognitivo causado pela DA. **METODOLOGIA:** Serão utilizados 184 ratos Wistar machos, divididos em três grandes estudos: Prevenção, Tratamento, e, Exercício Agudo. A cada estudo, os animais serão divididos em grupos, sendo eles: Estudo 1 (Prevenção): (a) controle; (b) DA; (c) estimulação cognitiva; (d) estimulação cognitiva + DA; (e) exercício físico; (f) exercício físico + DA;. Estudo 2 (Tratamento): (a) controle; (b) DA; (c) estimulação cognitiva; (d) estimulação cognitiva + DA; (e) exercício físico; (f) exercício físico + DA. Estudo 3 (Exercício Agudo): (a) controle; (b) DA; (c) exercício agudo; (d) exercício agudo + DA. Para mimetização de algumas características da DA, a proteína  $\beta$ -amilóide será administrada via intrahipocampal por cirurgia estereotáxica. Os grupos sham receberão o mesmo volume de salina. Nos estudos 1 e 2 serão realizados treinamento cognitivo e físico. O treinamento cognitivo será realizado através do Labirinto de Barnes (LB) modificado, de forma que os animais serão treinados diariamente nesta tarefa, durante quatro semanas. O treinamento físico será realizado durante quatro semanas em esteira rolante própria para roedores, 30 min/dia, três vezes por semana. Já no estudo 3, no qual serão investigados os efeitos do exercício agudo, os animais serão submetidos a uma sessão única de exercício em esteira rolante por 30 minutos, logo após uma tarefa de aprendizagem. Para avaliação da memória serão realizados os testes de reconhecimento de objetos e reconhecimento social. Outros parâmetros cognitivos serão avaliados, tais como: ansiedade (Labirinto em Cruz Elevado) e comportamento exploratório (Campo Aberto). Na análise histológica serão avaliadas as alterações morfológicas (HE), apoptose (técnica de Tunel) e corpo celular (coloração de Nissl). Nas análises bioquímicas serão avaliadas a atividade da enzima acetilcolinesterase e os níveis de BDNF por Western Blot.

**RESULTADOS ESPERADOS:** Espera-se que a estimulação cognitiva seja capaz de prevenir o desenvolvimento da DA e atenuar os danos causados pela doença de forma similar ao exercício físico. Como tratamento, espera-se que as duas intervenções sejam capazes de reverter, ao menos parcialmente, os déficits ocasionados pela DA. Por fim, espera-se que o exercício agudo realizado logo após uma sessão de aprendizagem promova melhora desta aprendizagem.

**$\gamma$  -ORIZANOL EXERCE EFICÁCIA SOBRE ALTERAÇÕES  
DOPAMINÉRGICAS E COMPORTAMENTAIS DE ACASALAMENTO EM  
*Drosophila melanogaster* SUBMETIDAS AO ESTRESSE LEVE  
CRÔNICO IMPREVISÍVEL**

Stífani Machado Araujo (Autor Principal/Apresentadora), Marcia Rósula Poetini (Co-autor),  
Vandrezza Cardoso Bortolotto (Co-autor), Shanda de Freitas Couto (Co-autor), Francielli Polet  
de Almeida (Co-autor), Franciane Cabral Pinheiro (Co-autor), Luana Barreto Meichtry (Co-  
autor), Marina Prigol (Orientadora)

O  $\gamma$ -orizanol, extraído do óleo do farelo do arroz, é descrito por possuir efeito antioxidante em diversos modelos testados. Associado a isso, sabe-se que situações imprevisíveis de estresse diário durante um longo período de tempo constituem um fator etiológico em muitas doenças. Sendo assim se faz importante o seu estudo em modelos animais, atualmente utiliza-se o modelo de estresse leve crônico imprevisível para simular em animais o desenvolvimento de estresse crônico, do inglês, *chronic unpredictable mild stress* (CUMS). O estresse crônico tem sido associado a problemas como disfunção sexual em animais e este pode interferir na atividade sexual através de mudanças emocionais e cognitivas que distraem o indivíduo de focar em pistas sexuais, embora a diminuição da libido seja mais frequentemente relatada, as dificuldades de excitação, disfunção erétil em homens, e orgasmo ausente também são prevalentes. O comportamento sexual em seres humanos é influenciado pela neurotransmissão dopaminérgica, e as moscas tem um ciclo sexual normal que consiste em fases sucessivas de namoro e acasalamento. O objetivo de nosso trabalho foi avaliar a eficácia de  $\gamma$ -orizanol sobre alterações dopaminérgicas e comportamentais de acasalamento em *Drosophila melanogaster* submetidas ao estresse leve crônico imprevisível. Foram utilizadas moscas *Drosophila melanogaster* machos divididas em quatro grupos: [1] Controle, [2]  $\gamma$ -orizanol 25 $\mu$ M, [3] CUMS, [4]  $\gamma$ -orizanol 25 $\mu$ M+CUMS. As moscas foram submetidas a vários fatores de estresse (estresse ao frio, estresse ao calor, inanição e privação de sono) de uma forma imprevisível e crônica com um horário aleatório durante dez dias. Ao terminar os tratamentos, as moscas foram submetidas a análises *in vivo*, testes comportamentais de acasalamento, e análise *ex vivo* dos níveis de dopamina. Em nosso trabalho o grupo CUMS teve um aumento na latência para a cópula, menor duração de cópula e menor duração de acasalamento como um todo. Este efeito pode estar relacionado, com os níveis diminuídos de dopamina observados no grupo CUMS, uma vez que dopamina é sugerida ser responsável por instigar o namoro, e a receptividade do sexo feminino para o comportamento de corte do sexo masculino em moscas. O tratamento com  $\gamma$ -orizanol foi capaz de reverter estas alterações no comportamento de namoro

das moscas induzidas pelo CUMS, além de atuar parcialmente na restauração dos níveis dopaminérgicos na cabeça da mosca. Em um estudo realizado anteriormente podemos observar que  $\gamma$ -orizanol é capaz de prevenir a diminuição dos níveis dopaminérgicos na cabeça mosca da fruta, quando submetidas à exposição a um agente químico como a rotenona. Tomados em conjunto nossos resultados demonstram que  $\gamma$ -orizanol exerce efeito benéfico sobre as alterações comportamentos de acasalamento em *Drosophila melanogaster* quando submetidas ao estresse leve crônico imprevisível, e este fato está relacionado com os níveis de dopamina.

## **EFEITO DO COMPOSTO 7-CLORO-4-(FENILSELANIL) QUINOLINA EM UM MODELO DE DOENÇA DE PARKINSON INDUZIDA POR ROTENONA EM *Drosophila melanogaster***

Shanda de Freitas Couto (autor principal e apresentador), Stéfani Machado Araujo (coautor),  
Marcia Rósula Poetini (coautor), Vandrezza Cardoso Bortolotto (coautor), Luana Barreto  
Meichtry (coautor), Manoela do Sacramento, Diego da Silva Alves (coautor), Marina Prigol  
(orientador/coordenador)

A neurodegeneração na doença de Parkinson (DP) parece estar apoiada por múltiplos mecanismos como: a inibição do complexo mitocondrial, agregação anormal de proteínas, e o estresse oxidativo. O papel do estresse oxidativo na DP não está claro, porém, estudos apontam o dano oxidativo como significativo na sua patogênese. Nesse sentido, a busca por compostos naturais e/ou sintéticos com ação antioxidante tem aumentado. Recentemente estudos apontam importantes ações dos compostos quinolínicos em conjunto com orgânicos de selênio. Dentre esses o 7-cloro-4-(fenilselanil) quinolina (4-PSQ), um derivado quinolínico contendo selênio, que tem demonstrado relevantes ações farmacológicas principalmente atribuídas às propriedades antioxidante, antiinflamatória, anti-noceptiva e ansiolítica. Diante do exposto, objetivou-se avaliar o efeito do composto 4-PSQ na mortalidade, nos parâmetros comportamentais e na atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE) em um modelo de DP induzido por rotenona (ROT) em *Drosophila melanogaster*. Para o experimento moscas adultas (1 a 4 dias) foram divididas em quatro grupos, com 50 cada: (1) controle, (2) 4-PSQ 25µM, (3) ROT 500µM, (4) 4-PSQ 25µM+ROT 500µM; e expostas a ROT e 4-PSQ por 7 dias, de acordo com os respectivos grupos. Foram realizadas análises: de mortalidade, sendo contabilizadas as moscas mortas diariamente durante o período experimental; testes comportamentais, através de geotaxia negativa e ensaio de campo aberto; e a avaliação da atividade da AChE na cabeça e corpo das moscas. As moscas expostas a ROT apresentaram aumento na mortalidade, danos locomotores, e aumento nos níveis da AChE, nas regiões da cabeça e corpo das moscas, fenótipo similar a DP. Tais achados são consistentes com estudos recentes em modelos de neurotoxicidade em ratos e *Drosophila melanogaster*. Evidências sugerem um papel significativo da degeneração de neurônios colinérgicos na fisiopatologia das doenças neurodegenerativas. E propõem o envolvimento da AChE na patogênese da DP, em que o aumento da expressão dessa enzima parece induzir a morte das células neuronais. Neste sentido, substâncias que atuem com inibidores da AChE, e que aumentam a disponibilidade da acetilcolina na fenda sináptica, podem ser uma estratégia de tratamento potencial para melhorar a função colinérgica. O tratamento com 4-PSQ foi capaz de reverter os

danos causados pela ROT, melhorando a mortalidade, atuando na restauração dos déficits colinérgicos periféricos, e na manutenção da função motora das moscas. Um estudo recente com derivados de quinolina verificou inibição da atividade cerebral da AChE, in vitro, porém, esse efeito não se manteve in vivo, pois o 4-PSQ não apresentou efeito na inibição da AChE no córtex cerebral de camundongos. Dessa forma, sugere-se um possível efeito protetor do composto 4-PSQ, em modelo de DP induzida por ROT em *Drosophila melanogaster*, evidenciados pelos resultados sobre os parâmetros comportamentais e atividade da AChE periférica.

## **ESTUDO DE ESTABILIDADE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL DE NANOCÁPSULAS CONTENDO CURCUMINA COM DIFERENTES REVESTIMENTOS**

Renata Bem dos Santos - Autora e apresentadora

Kelly Ayumi Nakama - Colaboradora

Daniele Rubert Nogueira Librelotto - Colaboradora

Clarisse Rolim - Colaboradora

Sandra Elisa Haas - Coordenadora

A Curcumina é um composto extraído da *Curcuma longa*, possui coloração amarela e apresenta inúmeras propriedades medicinais, das quais se destacam o efeito anti-inflamatório e antitumoral. A mesma é instável na presença de luz e em mudanças bruscas de pH, além de ser praticamente insolúvel em água, acarretando em baixa biodisponibilidade, o que torna seu uso restrito. A nanoencapsulação de fármacos tem como função aumentar a biodisponibilidade e a solubilidade, além de ter demonstrado aumentar a seletividade sobre células tumorais. Este trabalho teve como objetivo a caracterização e o estudo de estabilidade de nanocápsulas com diferentes revestimentos contendo curcumina, além de avaliar a atividade antitumoral das mesmas frente às linhagens celulares MCF-7 e HepG2. As nanocápsulas foram preparadas de acordo com o método de Nanoprecipitação. Foram desenvolvidas e otimizadas quatro diferentes formulações, as quais diferenciavam-se por seu tipo de revestimento, sendo duas catiônicas e duas aniônicas. A caracterização físico-química e a avaliação de estabilidade das nanocápsulas foi realizada através da análise do tamanho de partícula, SPAN, potencial zeta, pH, doseamento e taxa de encapsulação nos dias 0, 10, 30 e 60. A avaliação da atividade antitumoral foi realizada comparando as diferentes nanocápsulas e o fármaco livre através da viabilidade celular e concentração inibitória (IC<sub>50</sub>) utilizando ensaio MTT. As formulações apresentaram diâmetro entre 118 e 261 nm e índice de polidispersão menor que 2, mostrando-se estáveis no decorrer do tempo, com  $p < 0,05$ . Para pH obteve-se valores entre 4,3 a 5,2. O potencial zeta foi de -26,7 a 33,9. O doseamento apresentou-se estável no decorrer do tempo, com valores próximos a 100%. Para a linhagem celular MCF-7 as nanocápsulas apresentaram citotoxicidade maior quando comparadas à curcumina livre, sendo a concentração com maior diferença entre os tratamentos a de 15  $\mu$ M. Enquanto para o fármaco livre obteve-se IC<sub>50</sub> próximo à 40  $\mu$ M, para algumas nanocápsulas o IC<sub>50</sub> foi menor que 10  $\mu$ M, mostrando um aumento da atividade da curcumina quando nanoencapsulada. A linhagem celular HepG2 possui proliferação mais rápida, porém é mais sensível à morte quando em contato com o fármaco mesmo em sua forma livre. O IC<sub>50</sub> para o fármaco livre foi de aproximadamente 16  $\mu$ M, enquanto das nanocápsulas foi de aproximadamente 10  $\mu$ M. Os valores de IC<sub>50</sub>

foram estimados, pois as concentrações utilizadas, em sua maioria, foram menores que o necessário para inibir 50% da concentração celular. Através deste estudo pode-se obter informações bastante relevantes em relação à estabilidade e à atividade das nanocápsulas contendo diferentes revestimentos. Sendo elas estáveis no decorrer do tempo, tanto em função de diâmetro, SPAN, potencial zeta, pH, doseamento e taxa de encapsulação. Além disso, a curcumina nanoencapsulada apresenta atividade antitumoral potencializada quando comparada ao fármaco livre, independentemente do revestimento utilizado.

## **ESTUDO DE CARACTERÍSTICAS NEUROMECÂNICAS, COGNITIVAS E BIOQUÍMICAS DETERMINANTES DA PERCEPÇÃO DE ESFORÇO EM ATLETAS DE ENDURANCE**

Renato Ribeiro Azevedo, Felipe Pivetta Carpes

A percepção de esforço é um importante marcador de intensidade durante exercícios (Eston, 2012). Ela é usada de maneiras tão diversas como prever a capacidade do exercício, avaliar as mudanças no status do treinamento e explicar as mudanças no ritmo. O esforço percebido parece estar diretamente relacionado ao comando motor central durante a execução de movimentos (De Morree et al., 2012). Sugere-se ainda que essa percepção dependa pouco feedback aferente dos músculos, estando mais associada com mecanismos cognitivos (Marcora, 2009). A percepção de esforço possui boa correlação com marcadores de desempenho, como por exemplo a capacidade máxima de um indivíduo transportar e metabolizar oxigênio, e marcadores de fadiga e desgaste neuromuscular (Coquart et al., 2014). Sendo assim, investigar os fatores que mais determinam a percepção de esforço é importante no contexto do esporte de endurance, que por ter uma longa duração apresenta características específicas que influenciam a fadiga, como a capacidade do atleta em manter um determinado nível de atenção e adequada eficiência na execução do gesto motor. Também o nível de treinamento pode influenciar a percepção de esforço, por motivos como diferenças na capacidade neuromuscular dos atletas e experiência com eventos de endurance. Diante disso o objetivo deste projeto é determinar a influência de características neuromecânicas, cognitivas e bioquímicas sobre a percepção de esforço em atletas de endurance. Nossa hipótese é de que a percepção do esforço seja menor em sujeitos treinados e esteja mais associada com mudanças neuromusculares do que em indivíduos menos treinados, onde fatores cognitivos podem ser mais determinantes. Métodos: Serão selecionados 30 ciclistas amadores do sexo masculino para a formação de dois grupos: treinados e menos treinados. Os participantes realizarão um protocolo de ciclismo simulado em cicloergômetro (Lode Excalibur Sport Ergometer, Groningen, Holanda), com duração de 3 horas, com cadência e potência pré-determinada a partir de teste incremental máximo. Durante o exercício, avaliações periódicas serão realizadas para determinar a percepção de esforço, concentrações de lactato e cortisol, variações térmicas corporais, fadiga mental, concentração, atividade elétrica neuromuscular, produção de força e dor. Resultados esperados: Este trata-se um dos experimentos que serão realizados como parte de um projeto de tese de doutorado. Ao final do experimento, esperamos determinar as diferenças entre indivíduos treinados e menos treinados quanto ao

desempenho de endurance. Conforme nossa hipótese, consideramos que marcadores de fadiga a atividade neuromuscular melhor expliquem a percepção de esforço em indivíduos treinados. Nos indivíduos menos treinados, o desempenho cognitivo, como fadiga mental, concentração e marcadores de estresse poderão ser os determinantes, especialmente pelo fato destes indivíduos terem menor experiência com o treinamento de longa duração.

**PERFIL DE SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS DE  
ENTEROBACTÉRIAS ORIUNDAS DE CARNES BOVINAS  
COMERCIALIZADAS EM SUPERMERCADOS DA CIDADE DE  
URUGUAIANA- ESTUDO PILOTO**

TICIANE DA ROSA PINHEIRO (autor principal e apresentadora); CHEILA O. STOPIGLIA  
(coordenador)

A carne bovina é um dos alimentos mais valorizados para consumo, devido ao seu alto valor nutricional. Os antibióticos são frequentemente utilizados para tratamento de infecções em seres humanos e animais, ou para a profilaxia de animais produtores de alimentos. As enterobactérias são amplamente encontradas na natureza e na microbiota intestinal dos seres humanos e animais, mas também podem ser encontradas na condição de agentes patogênicos, sendo causa importante de infecções do trato urinário e infecções abdominais e, por isso, a resistência antimicrobiana nesses micro-organismos é preocupante. Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi realizar um estudo piloto para isolar, identificar e avaliar os micro-organismos presentes em carnes bovinas, traçando seus perfis fenotípicos e avaliando suas respostas frente aos antimicrobianos. Foram adquiridas três amostras de carne bovina, pesando cerca de 300g cada. Foram pesados  $25 \pm 0,2$ g e adicionado 225 ml de solução salina peptonada 0,1%. As amostras, após serem homogeneizadas em câmara com agitação orbital, foram diluídas na faixa de  $10^{-1}$  a  $10^{-5}$  em água peptonada. Uma alíquota de 25  $\mu$ L de cada diluição foi adicionada sobre a superfície de placas de Petri contendo o meio de cultura MacConkey. Após, foram incubadas a  $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$  por 24 horas. Posteriormente, foram analisados os tipos morfológicos das colônias isoladas a partir da técnica de coloração de Gram e, então, foram realizados os testes fermentação de açúcares, motilidade, sulfato, indol, citrato, urease e descarboxilação da lisina. Para o ensaio de suscetibilidade aos antimicrobianos, foi usada a técnica de disco difusão em ágar, conforme descrito pelo Clinical and Laboratory Standards Institute. Foram identificados um total de seis micro-organismos oriundos de três amostras de carne, sendo: *Enterobacter* spp. (n=1), *Enterobacter cloacae* (n=1), *Klebsiella oxytoca* (n=1), *Salmonella* spp. (n=1), e *Klebsiella pneumoniae* (n=2). Dos cinco diferentes antibióticos testados, *Enterobacter cloacae* (n=1) apresentou resistência à quatro deles, *Enterobacter* spp.(n=1), *Salmonella* spp.(n=1) e *Klebsiella oxytoca* (n=1) apresentaram resistência à três antibióticos testados, enquanto que os dois isolados de *Klebsiella pneumoniae* mostraram-se sensíveis aos cinco antibióticos testados. O isolado de *Salmonella* spp. apresentou resistência a cefazolina, devendo ser observado, pois esse micro-organismo está descrito em inúmeros surtos de toxinfecções. Outro resultado importante foi a

presença dos gêneros *Klebsiella* e *Enterobacter*, pois essas espécies são potencialmente patogênicas. Diante dos resultados obtidos no estudo piloto, foi possível identificar contaminação com micro-organismos indesejáveis e problemas envolvendo resistência bacteriana na carne bovina. Financiamento: PAPG/UNIPAMPA

## **DETERMINAÇÃO DO TEOR DE ETANOL EM ELIXIRES POR ENTALPIMETRIA NO INFRAVERMELHO**

Karolina Cunha Shlosser - Autora principal e apresentadora

Dra. Fabiana E. Barcelos da Silva - Orientadora

Dr. Juliano Smanioto Barin - Co-orientador

Alessandra Stangherlin Oliveira - Colaboradora

O etanol é uma substância encontrada em diversas formulações farmacêuticas sendo bastante utilizado como solvente ou para a preservação da formulação como agente antimicrobiano. Dentre as formulações farmacêuticas que contém esta substância pode-se citar os elixires, preparações hidroalcoólicas que apresentam de 20 a 50% de etanol. Para a determinação desta substância em medicamentos há dois métodos oficiais descritos na Farmacopeia Brasileira, o método por destilação e por cromatografia gasosa (CG). Estes métodos apresentam alguns inconvenientes como elevado tempo de análise, necessidade de grande quantidade de amostra, custo elevado de equipamento e a necessidade de estrutura laboratorial e analistas especializados. Neste contexto, o presente trabalho tem por objetivo desenvolver uma metodologia analítica utilizando o método de Entalpimetria no Infravermelho (TIE, do inglês Thermal Infrared Entalphyetry) para a determinação de etanol em elixires. Esta técnica é baseada na avaliação da diferença de temperatura ( $\Delta T$ ) de uma determinada reação medida por meio de uma câmera de infravermelho. A técnica foi otimizada a partir dos fatores: volume total de amostra, velocidade de dispensação da amostra e velocidade de agitação. Além destes fatores, a interferência de álcoois com estrutura semelhante ao etanol será avaliada, devido os mesmos serem comumente utilizados neste tipo de formulação. O etanol contido nas amostras comerciais em estudo foi determinado por CG para fins de comparação com os resultados obtidos pelo método proposto. Análises prévias dos elixires Dexametasona, Elixir 914® e Olina® por TIE demonstraram que estes continham 8,9%, 9,9% e 40,7% de etanol respectivamente, enquanto a análise por CG apresentou 4,6%, 7,3% e 35,8% de etanol respectivamente. A partir destes resultados pode-se sugerir que houve interferência de outros álcoois contidos nestas formulações na determinação do etanol por TIE, devido aos valores encontrados serem superiores àqueles obtidos pelo método oficial. Análises posteriores serão realizadas com o objetivo de otimizar os parâmetros da técnica e minimizar as interferências observadas. Após esta etapa, a técnica será validada de acordo com as especificações da ANVISA.

## **INTERAÇÕES IN VITRO ENTRE ANTIINFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDAIS (AINES) E ANTIFÚNGICOS CONTRA CÉLULAS PLANCTÔNICAS E BIOFILME DO COMPLEXO SPOROTHRIX SCHENCKII**

Gabriela Seibert (autor principal, apresentador) Cheila Denise Ottonelli Stopiglia (Orientadora)

A esporotricose é uma micose subcutânea que acomete tanto seres humanos quanto animais, geralmente relacionada à inoculação traumática com espinhos ou farpas contaminadas pelos agentes etiológicos, espécies do complexo *Sporothrix schenckii*. Os biofilmes fúngicos apresentam características fenotípicas diferentes, como diferenças de sensibilidade aos antifúngicos e maior resistência frente às defesas do hospedeiro, sendo responsáveis por diferentes quadros clínicos. O aumento da resistência aos antifúngicos convencionais trouxe grandes desafios à gestão de infecções causadas por fungos. O objetivo deste estudo é avaliar a eficácia in vitro de AINES (aspirina, ibuprofeno e diclofenaco sódico) isolados e em combinação com agentes antifúngicos (fluconazol - FLU, itraconazol - ITC, voriconazol - VOR, caspofungina - CAS, cetoconazol - CTZ e anfotericina B - AMB) contra células planctônicas e biofilmes de isolados do complexo *Sporothrix schenckii*. Serão utilizados vinte isolados clínicos de agentes da esporotricose, oriundos da micoteca do Laboratório de Microbiologia, da Universidade Federal do Pampa. Antes dos experimentos, todos os isolados serão repicados em ágar batata dextrose e incubados a 25 °C durante 7 dias. As Concentrações Inibitórias Mínimas dos AINES e dos antifúngicos serão testadas usando o método de microdiluição em caldo em placas de 96 poços, de acordo com o protocolo M38-A2 do Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI (2008). Para formação dos biofilmes será utilizado a metodologia descrita por Brilhante et al. (2017). As células serão suspensas com 0,9% de salina estéril para obter-se uma concentração de inóculo de  $2 \times 10^5$  conídios/mL. Alíquotas de 1000 µL de cada inóculo serão transferidas para placas de poliestireno de 24 poços e incubadas a 25°C durante 24 horas, para a etapa de pré-adesão. Após o sobrenadante de cada poço será removido e será adicionado 1000 µL de meio RPMI 1640 tamponado a pH 7,0 com MOPS 0,165 M. As placas serão incubadas durante 5 dias a 25 °C para a formação dos biofilmes e realização dos ensaios posteriores. Para células planctônicas, a suspensão de esporos será ajustada em espectrofotômetro e, posteriormente, o inóculo será diluído na proporção 1:50 em caldo RPMI-MOPS. Serão utilizados os antifúngicos, nas concentrações 128 a 0,25 µg/mL para o FLU; 16 a 0,03 µg/mL para ITC, CTZ e AMB; 32 a 0,06 µg/ml para CAS e de 1 a 0,0002 µg/ml para VOR. Para os biofilmes, FLU, CTZ, ITC, VOR e AMB serão utilizados em uma

concentração variando de 1024 a 2  $\mu\text{g/ml}$ , e CAS na concentração 64 a 0,016  $\mu\text{g/ml}$ . Os dados obtidos serão analisados utilizando o índice de concentração inibitória fracionada (FICI). Com este estudo esperamos verificar sinergismo entre os AINEs em combinação com antifúngicos, podendo assim, ser uma estratégia de terapia para tratar infecções invasivas pelo complexo *Sporothrix schenckii*.

## **REPROTOXICIDADE DE FORMULAÇÃO À BASE DE GLIFOSATO EM CAENORHABDITIS ELEGANS NÃO SE DEVE A PRESENÇA DO INGREDIENTE ATIVO**

Mauricio Tavares Jacques (autor principal), Daiana Silva Ávila (orientadora)

Pesticidas são amplamente utilizados em todo o mundo, dentre os quais se destaca o glifosato, por seu sucesso comercial e uso indiscriminado. A intoxicação aguda e crônica de humanos e animais, a contaminação de solos e alimentos são as consequências da atual demanda e vendas desses produtos. Além disso, pesticidas como o glifosato são vendidos em formulações comerciais, as quais possuem ingredientes inertes, constituintes comumente majoritários, que têm composição e proporção desconhecidas. Diante desse cenário, estudos toxicológicos que investiguem a composição e a interação dos inertes com o princípio ativo são necessários. Com este fim, o seguinte trabalho propôs estudos comparativos de toxicologia entre glifosato e sua formulação comercial utilizando o modelo alternativo *Caenorhabditis elegans*. Para investigar efeitos na letalidade (concentração letal 50%) e desenvolvimento (comprimento corporal), vermes no estágio larval L4 foram expostos primeiramente em meio líquido por 30 minutos a diferentes concentrações do ingrediente ativo (glifosato em sal de isopropilamina) e sua formulação comercial. Ao fim desse período, os vermes foram transferidos para um meio sólido, onde a exposição continuou por mais 48 horas. A capacidade reprodutiva foi avaliada através do tamanho da ninhada, análises morfológicas de oócitos e através da cepa MD701 (bcls39), a qual possibilita a visualização de células germinativas em apoptose. Em adição, a composição de metais pesados na formulação comercial também foi analisada através de ICP-MS (Universitat Potsdam, Alemanha). Todos os experimentos foram realizados em duplicatas, repetidos no mínimo 3 vezes e os dados obtidos foram analisado com ANOVA de uma via seguido de post hoc de Tukey. Apenas a formulação comercial de glifosato apresentou significativamente efeitos negativos no tamanho da ninhada, comprimento do corpo, alterações no tamanho dos oócitos e maior número de células apoptóticas. A análise de metais mostrou a presença de Hg, Fe, Mn, Cu, Zn, As, Cd e Pb na formulação comercial, entretanto tais metais não são descritos no rótulo. Alguns trabalhos relacionam metais pesados com danos a reprodução e desenvolvimento em *C. elegans*, porém mais estudos são necessários para estabelecer essa relação, pois na formulação comercial analisada, os metais foram constituintes minoritários dos inertes e não necessariamente exerceram papel nos efeitos observados. Contudo, ao comparar os efeitos da formulação comercial com seu ingrediente ativo, o primeiro apresentou grande

toxicidade, demonstrando que a presença de ingredientes inertes exerce efeito sinérgico sob a toxicidade do ingrediente ativo.

## **DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS CONTENDO ÓLEO DE ROMÃ**

Taiane Medeiro Ciocheta (Autor principal e apresentador), Letícia Marques Colomé  
(coordenador), Eduardo André Bender (Co-coordenação)

Os óleos vegetais apresentam potencial efeito na prevenção de doenças crônicas, principalmente pelos antioxidantes naturais presentes em sua composição. O óleo oriundo da fruta de nome romã (*Punica granatum* L.) é estudado como fonte funcional e nutracêutica, trazendo em sua composição principalmente ácidos graxos, vitaminas, polissacarídeos, polifenóis e minerais. Dentre os ácidos graxos conjugados encontrados no óleo de romã destacam-se os ácidos oleico, linoleico, palmítico, púnico e esteárico que apresentam papel importante na prevenção de doenças cardiovasculares. Já o conteúdo fenólico contribui para atividade antioxidante que desempenha papel importante na prevenção e tratamento do câncer. A nanoencapsulação de óleos vegetais surge como uma possibilidade de melhorar a eficácia, aumentar a estabilidade destes óleos farmacologicamente ativos, facilitando a penetração em certas barreiras biológicas e possibilitando a aplicação por diferentes vias. Dentro desta contextualização o presente trabalho teve como objetivo preparar suspensões de nanocápsulas poliméricas contendo como núcleo oleoso óleo de romã e caracterizá-las em termos de parâmetros físico-químicos como tamanho de partícula, distribuição de tamanho, potencial zeta e pH. As nanocápsulas foram preparadas pelo método de disposição interfacial de polímero pré-formado utilizando polímero biodegradável poli ( $\epsilon$ -caprolactona) (PCL). O tamanho de partícula foi avaliado pela técnica de difratometria de laser utilizando o equipamento Mastersizer® 2000 (Malvern Instruments), o potencial zeta foi obtido através de eletroforese, utilizando equipamento Zeta Plus (Brookhaven Instruments Corporation) e a determinação do pH foi realizada por potenciômetro (Hanna®). Como resultados obtiveram-se nanopartículas de tamanho médio de 283 nm, com potencial zeta, medida indireta da carga de superfície da partícula, de -18,5 mV, Span, indicativo do índice de polidispersão do sistema, de 1,89 e pH na faixa de 5,76. Avaliando-se os resultados obtidos, conclui-se que este estudo demonstrou a viabilidade do desenvolvimento de formulações contendo óleo de romã, sendo considerado um possível sistema carreador de substâncias ativas.

## **ESTUDO DA ESTABILIDADE DE NANOPARTÍCULAS CONTENDO ANTI-INFLAMATÓRIOS**

Kelly Ayumi Nakama (apresentador e autor), Carlos Eduardo Rosa da Silva (co-autor), Sandra Elisa Haas (coordenador)

A doença de Alzheimer (DA) é a causa mais comum de demência entre idosos, eventualmente os indivíduos afetados por esta doença tornam-se incapazes de desenvolverem atividades diárias colocando-se em risco e em necessidade de ajuda em todos os aspectos da vida diária. Os anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs) estão sendo estudados como uma terapia emergente para enfrentar a neuroinflamação, pois eles exercem efeitos benéficos que vão além da ação sobre as enzimas cicloxigenases (COX). Os curcuminoides (CCM) possuem baixa solubilidade e biodisponibilidade, além de serem altamente instáveis quando expostos a luz e a determinadas condições de pH. O meloxicam (MLX) apresenta uma alta permeabilidade intestinal e uma baixa solubilidade aquosa. A nanotecnologia vem sendo utilizada como uma estratégia promissora para melhorar a dissolução, biodisponibilidade, proteger os fármacos de uma possível degradação. O objetivo deste trabalho é avaliar a distribuição dos fármacos nas nanopartículas desenvolvidas através da técnica de ultrafiltração-centrifugação e avaliar a fotoestabilidade e a cinética de degradação da CCM e do MLX livres e encapsulados. Para a avaliação da distribuição foi utilizado o algoritmo proposto por Oliveira e colaboradores (2012), as nanopartículas (NP) foram diluídas em água ultrapurificada e centrifugadas, o ultrafiltrado foi coletado e analisado no Cromatógrafo líquido de alta eficiência acoplado a arranjo de fotodiodos (CLAE-DAD), com um método previamente validado. O estudo de fotoestabilidade foi realizado em uma câmara de foto estabilidade UV revestida com espelho, contendo lâmpadas UV, no total foram avaliados 6 grupos (CCM, MLX, CCM + MLX em solução e NP-MLX, P-CCM e NP-CCM + MLX), o experimento durou 12 horas, após as amostras foram analisadas em CLAE-DAD. Na determinação da ordem de reação, foram avaliados os mesmos 6 grupos do estudo de fotoestabilidade, onde a ordem de reação foi determinada com o auxílio do software Micro Math Scientist®. No estudo de distribuição dos fármacos NP-MLX apresentou tipo III de distribuição e NP-CCM apresentou tipo VI. Para a foto-estabilidade, MLX e CCM livres apresentaram 88,4% e 51,9% e o MLM + CCM livre obtiveram 47,6% e 55,4% de degradação. As NP MLX e CCM apresentaram 9,8% e 25,8% e NP MLX + CCM apresentaram 20,4% e 38,8% de degradação, respectivamente. O MLX e a CCM sozinhos, livres e encapsulados apresentaram uma reação da ordem um, o MLX associado a CCM livre e encapsulado obtiveram a reação de ordem dois. Foi possível

determinar o perfil de distribuição dos fármacos nas diferentes NPs, bem como verificar que as NP são capazes de protege-los da degradação fotolítica.

## **AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DE NANOCÁPSULAS DE 4-FENILTELANIL-7-CLOROQUINOLINA EM CAENORHABDITIS ELEGANS**

Ana Thalita Soares, Willian Salgueiro, Kelly Ayumi, Sandra Haas, Daiana Ávila

Os compostos orgânicos de telúrio são amplamente estudados principalmente devido às suas propriedades farmacológicas e toxicológicas. O composto 4-feniltelanil-7-cloroquinolina foi descrito recentemente por apresentar efeitos biológicos em *C.elegans* em exposição aguda modulando vias de transcrição como SKN-1 (homólogo ao NRF2 em mamíferos) e DAF-16 (homólogo do FOXO em mamíferos), os quais regulam a transcrição de genes de proteção e anti-envelhecimento. Entretanto, a janela terapêutica deste composto é estreita (CL50 de 42  $\mu$ M). Por este motivo, uma estratégia inovadora é nanoencapsular este composto buscando uma redução na toxicidade e otimizando a eficácia terapêutica. Nesse contexto o objetivo desse estudo é avaliar se o composto PTQ nanoencapsulado possui menor toxicidade crônica, quando comparado à sua forma livre, em *C. elegans*. Metodologia: Os vermes N2 (tipo selvagem) foram expostos a partir do estágio larval L1 ao PTQ livre ou nanoencapsulado (5 $\mu$ g/mL e 10 $\mu$ g/mL) durante 30 minutos em meio líquido a cada 24h por 3 dias. Após a exposição os animais foram submetidos a lavagens para a retirada do tratamento e transferidos para placas NGM contendo bactéria *E. coli* como fonte de alimento e mantidos à 20°C. A sobrevivência dos nematoides foi avaliada através da contagem dos vermes vivos. Para avaliação da reprodução a postura dos ovos foi contada durante o período reprodutivo onde um verme foi transferido diariamente até o fim do período reprodutivo. Para determinação da peroxidação lipídica, as espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foram determinadas através dos níveis de malondialdeído (MDA). Os testes foram repetidos pelo menos 3 vezes. Os resultados obtidos foram avaliados através de ANOVA de uma via, seguido do teste post hoc de Tukey. Os resultados foram considerados significativos quando  $p < 0,05$ . Resultados: A exposição ao PTQ livre diminuiu a sobrevivência e a reprodução dos animais e aumentou os níveis espécies reativas ao ácido Tiobarbitúrico (TBARS), quando comparados ao grupo controle, demonstrando sua toxicidade. A nanocápsula de PTQ foi capaz de reduzir parcialmente esses efeitos, aumentando a sobrevivência e o tamanho da ninhada e reduzindo os níveis de TBARS na concentração de 5 $\mu$ g/mL. Conclusão: Os resultados preliminares demonstram que o nanoencapsulamento diminuiu a toxicidade do composto PTQ em *C. elegans*, possivelmente por melhorar as propriedades biofarmacêuticas do mesmo.

## **AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIBACTERIANO DE NANOEMULSÕES CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE MURTA PELO MÉTODO DA MICRODILUIÇÃO EM CALDO**

José Valdir da Silva Corrêa Junior, Cleci Menezes Moreira, Cheila Denise Ottonelli Stopiglia,  
Fernanda Bruxel

Um dos graves problemas de saúde pública é a resistência dos patógenos aos fármacos. Devido a este cenário, a busca por novas substâncias antimicrobianas a partir de fontes naturais, tem ganhado grande importância nas companhias farmacêuticas. Os óleos essenciais são produtos do metabolismo secundário dos vegetais, que estão sendo cada vez mais utilizados devido às suas diferentes propriedades antissépticas, bactericidas, antivirais, entre outras. Visando aperfeiçoar as características físico-químicas desses óleos, destaca-se a Nanotecnologia, com a produção de nanoemulsões. Neste contexto, o objetivo desse trabalho foi avaliar a atividade antibacteriana do óleo essencial de murta (*Blepharocalyx salicifolius*) incorporado em nanoemulsão. Métodos: As nanoemulsões foram preparadas através do procedimento de emulsificação espontânea. Elas foram compostas pelo óleo essencial de *B. salicifolius*, monooleato de sorbitano, polissorbato 20 e água (NE-O). Uma formulação controle contendo triglicerídeos de cadeia média como fase oleosa também foi preparada (NE- C). As formulações foram caracterizadas quanto à distribuição do tamanho de gotícula (Mastersizer®) e potencial zeta (PZ) (Zetaplus®) imediatamente após o preparo. A atividade antibacteriana foi determinada pelo método de microdiluição em caldo, frente a quatro isolados clínicos de *Staphylococcus aureus*. Foram utilizadas diluições seriadas do óleo livre, da NE-O e da NE-C na faixa de concentração de 0,19 mg/mL a 100mg/mL de óleo, além de cloranfenicol (0,39µg/mL a 200µg/mL). As nanoemulsões apresentaram um diâmetro médio (D[4,3]) de cerca de 120nm (NE-O) e 500nm (NE-C), com valores de Span inferiores a 2 e um PZ negativo tanto para NE-C (-40,32±1 mV) quanto para NE-O (-37,18±6,5 mV). A Concentração Inibitória Mínima (CIM) obtida para NE-O variou de 1,56 a 0,19mg/ml, sendo relativamente menor quando comparado com o óleo livre (CIM de 12,5 a 1,56mg/mL). Esses resultados podem estar relacionados à deposição de um maior número de gotículas na superfície da célula microbiana, expondo maior quantidade da substância ativa e aumentando o tempo de contato com o microorganismo. Conclusão: Este estudo demonstrou que foi possível produzir uma nanoemulsão contendo óleo de murta com as propriedades físico-químicas adequadas para este tipo de formulação e

que o óleo incorporado à nanoemulsão apresentou melhor atividade antibacteriana em relação ao óleo livre frente aos isolados clínicos avaliados.

## **HIDROLISADO DE CLARA DO OVO PREVINE O DANO OXIDATIVO INDUZIDO PELO MERCÚRIO EM ARTÉRIAS DE RESISTÊNCIA DE RATOS**

Alyne Goulart Escobar, Janaina Trindade Piagette, Danize Aparecida Rizzetti, Franck Maciel Peçanha, Marta Miguel, Giulia Alessandra Wiggers.

O mercúrio (Hg) é um metal presente no meio ambiente, no entanto, não possui função biológica, e seus efeitos tóxicos ocorrem em diversos órgãos e sistemas. Em diferentes tipos de leitos vasculares, o Hg é capaz de alterar o tônus e a capacidade de vasoconstrição e vasodilação, o que está diretamente relacionado ao aumento do estresse oxidativo produzido pelo metal. Neste contexto, o hidrolisado de clara de ovo (HCO), um alimento funcional com capacidade antioxidante conhecida, pode exercer efeitos protetores contra as agressões geradas pela exposição ao Hg. Objetivo: Avaliar se o HCO é capaz de prevenir ou reduzir os efeitos da exposição prolongada a baixas doses de Hg sobre parâmetros de reatividade vascular e estresse oxidativo. Materiais e Métodos: Ratos Wistar machos foram tratados durante 60 dias com: a) Grupo Controle: solução salina (i.m.); b) Grupo Hidrolisado: HCO (1 g/kg/dia, por gavagem); c) Grupo Mercúrio: HgCl<sub>2</sub> (1ª dose de 4,6 µg/kg, doses subsequentes de 0,07 µg/kg/dia, i.m.); d) Grupo Hidrolisado-Mercúrio. Após o período de tratamento, experimentos de reatividade vascular foram realizados em artérias mesentéricas, onde foi analisada a resposta vasoconstritora à noradrenalina (NE) na presença de L-NAME (inibidor da óxido nítrico sintase) e VAS2870 (inibidor da NADPH oxidase). Ainda, em amostras de artérias mesentéricas, foram avaliados os níveis de peroxidação lipídica e tiol-não protéico. Resultados: A exposição ao Hg aumentou a resposta contrátil à NE relacionado ao envolvimento de espécies reativas da NADPH oxidase, reduziu a modulação de óxido nítrico (NO) endotelial nessa resposta e os níveis de tiol-não proteico. O HCO foi capaz de prevenir o aumento da resposta contrátil à NE, do envolvimento de espécies reativas da NADPH oxidase e a diminuição da participação do NO. Além disso, impediu a redução dos níveis de tiol-não protéico em artérias mesentéricas. Conclusão: O HCO atua como um agente protetor sobre os danos oxidativos induzidos pelo Hg e poderia ser usado como alternativa ou tratamento complementar para as disfunções vasculares promovidas pelo metal.

## **ÓLEO ESSENCIAL DE CORIANDRUM SATIVUM: EFEITO ANTIFÚNGICO SOBRE ASPERGILLUS FLAVUS LINK.**

Ivan da Silva Kulmann (Apresentador e autor principal); Flávio Dias Ferreira (Coordenador); Karolina Cunha Schlosser (Co-autora); Adriane Roll Feijó (Co-autora)

Produtos alimentícios são altamente susceptíveis a diversas contaminações, o crescimento fúngico é uma das principais preocupações por causar grandes perdas econômicas e ainda serem potenciais produtores de micotoxinas, desencadeando alto risco à saúde humana e animal. O *Aspergillus flavus* é um dos principais fungos contaminantes, desenvolve-se durante e pós-colheita de produtos agrícolas, em substratos oleaginosos e cereais. Devido a elevada incidência de fungos e seus metabólitos secundários na cadeia alimentar, métodos de prevenção tornam-se necessários a fim de reduzir seus potenciais risco à saúde humana, desta forma, os extratos de plantas apresentam-se promissores. O *Coriandrum sativum* L. (*C. sativum*) é amplamente utilizado na culinária devido às suas propriedades aromáticas e conservante alimentício, apresenta em sua composição diversas substâncias terpênicas, como monoterpenos e sesquiterpenos, evidenciando relatos de diversas atividades biológicas, como antioxidante, anti-inflamatória, antibacteriana e antifúngica. Desta forma, o presente estudo teve por objetivo determinar a concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração fungicida mínima (CFM) do óleo essencial de *C. sativum* sobre o *Aspergillus flavus*. Para determinação da CIM o inóculo foi cultivado em tubos contendo ágar Sabouraud dextrosado (SDA). As colônias fúngicas foram cobertas com 5 mL de solução salina a 0,85% e homogeneizada. A mistura de hifas e conídios foi transferida para um tubo falcon, e deixado em repouso por 15 minutos para sedimentação. O sobrenadante foi coletado por aspiração e transferido para outro tubo falcon, completou-se o volume com solução salina a 0,85% e a densidade do inóculo foi ajustada para 80.5% de transmitância a 530 nm, em espectrofotômetro. O óleo essencial foi distribuído em diluição seriada, em tubos de ensaio, testado em 10 concentrações que variaram de 0,10 a 0,01%. Adicionou-se 500 µL do inóculo aferido, 500 µL do caldo sabouraud dextrosado e 500 µL do óleo essencial na concentração ajustada com solução Tween 80 a 0,01%. As placas foram incubadas a 25 °C em B.O.D. por 72 horas. Em cada tubo de teste foi incluído um controle positivo, representado pelo crescimento do fungo isolado na ausência de óleo essencial, e controle negativo, que corresponde a ausência de óleo e de fungo. Para determinação da CFM foram adicionados 200 µL de cada concentração utilizada para o CIM, em placas de petri contendo SDA e, posteriormente realizado esfregaço. Logo após as

placas foram incubadas à 25 °C por 72 horas. Todas as análises foram realizadas em triplicada. Após leitura, observou-se que a CIM e a CFM foi de 70 µL de óleo essencial de *C. sativum*. Com a realização deste estudo pode-se observar que o óleo essencial de Coentro apresenta-se como uma alternativa promissora a ser utilizada como antifúngico. É importante ressaltar que outros estudos se fazem necessários para avaliar a toxicidade deste óleo, bem como sua viabilidade de aplicação.

## **NANOEMULSÕES À BASE DE OLEILAMINA: CARACTERIZAÇÃO FÍSICO QUÍMICA AO LONGO DO TEMPO E EM DIFERENTES pHs.**

Suevo D. F.; Naimayer A. V.; Ávila D. S.; Bruxel F.

Nanoemulsões (NE) catiônicas são dispersões de óleo/água carregadas positivamente, para liberação de ácidos nucleicos. Elas geralmente contêm um lípido catiônico, como a oleilamina (OA), que confere melhor estabilidade e carga positiva à formulação, crucial para a associação do ácido nucleico via formação de um par iônico em meio aquoso. A associação dos ácidos nucleicos é dependente das interações eletrostáticas, sendo a ionização de OA pH-dependente. Portanto, o objetivo deste estudo foi caracterizar as propriedades físico-químicas das NE à base de OA ao longo do tempo, bem como em diferentes pHs, a fim de determinar o pH ideal para obtenção da maior carga positiva das formulações. **Materiais e métodos:** As NE foram preparadas por emulsificação espontânea e compostas por triglicerídeos de cadeia média, lecitina de gema de ovo, glicerol, água e OA em três concentrações diferentes: 1 mM (NE-OA1), 2 mM (NE-OA2) e 4 mM (NE-OA4). Também foram produzidas NE isentas de OA (NE-B). As formulações foram caracterizadas quanto à distribuição de tamanho de gotícula (Mastersizer®) e potencial zeta (PZ) (Zetaplus®) imediatamente após o preparo e após 30, 60 e 90 dias de armazenamento a 4° C. As propriedades físico-químicas também foram caracterizadas em soluções NaCl 1mM em diferentes pHs (4-12 unidades). As nanoemulsões catiônicas apresentaram-se monodispersas, com diâmetros de gotículas de 150-190nm e PZ positivo (11-46mV), diretamente proporcional à concentração de OA na formulação. Após 90 dias de armazenamento, identificou-se uma leve redução nos valores de PZ (-14-36 mV) para todas as NE, indicando a provável formação de ácidos graxos livres na formulação. A distribuição do diâmetro de gotícula manteve-se constante ao longo do tempo. Verificou-se ainda que os valores de PZ das NE catiônicas diminuíu progressivamente com o aumento do pH, de + 9mV (NE-OA1), + 40mV (NE-OA2) ou + 51mV (NE-OA4) até cerca de -50mV. A inversão da carga ocorreu a pH 7-8 (NE-OA1), pH 8-9 (NE-OA2) e pH 9-10 (NE-OA4), dependendo da concentração do lípido catiônico na formulação. Uma não-protonação parcial da oleilamina pode levar ao cancelamento de parte de sua contribuição catiônica para a carga global da formulação. O tamanho médio da gota (150-250nm) e o índice de polidispersidade (0,12-0,22) das formulações catiônicas variaram ligeiramente no pH da inversão da carga. As NE-B apresentaram distribuição de tamanho homogênea (210-218nm) e potencial zeta negativo (-19 a -63mV), independentemente da faixa de pH. Os resultados demonstram a influência da

concentração de OA nas propriedades físico-químicas das nanoemulsões, que mantiveram-se constantes ao longo de 90 dias (exceto o PZ). Visando garantir a maior carga positiva como a melhor condição para liberação de ácidos nucleicos, este trabalho sugere que o pH das NE à base de OA deve ser ajustado para valores entre 5-6 unidades.

## **AVALIAÇÃO DO EFEITO PRO-OXIDANTE DO COMPOSTO 2-FENILETINIL-BUTILTELURIO FRENTE A CEPAS ESCHERICHIA COLI.**

Franciane Cabral Pinheiro (Autor Principal), Marina Prigol (Orientador), Vandrezza Cardoso Bortolotto (Co-autor), Stéfani Machado Araújo (Co-autor), Franciele Cabral Pinheiro (Co-autor), Márcia Rósula Poetini (Co-autor), Shanda de Freitas Couto (Co-autor), Elize Aparecida Santos Musachio

A *Escherichia coli* é um microrganismo pertencente à família das Enterobacteriaceae, que tem comprovado papel como patógeno entérico e também extra intestinal, e está sendo relacionadas a 95% das infecções em unidades de saúde. Os compostos orgânicos de telúrio são substâncias bem conhecidas e são largamente utilizados na química orgânica, com uma crescente descrição de suas propriedades farmacológicas, a toxicidade dos compostos deve-se principalmente pela oxidação de grupos tióis de moléculas biologicamente ativas, inativando enzimas ou diminuindo a concentração de glutatona. Dentre os compostos orgânicos de telúrio destaca-se o 2-feniletinil – butiltelúrio (PEBT), que assim como outros compostos da mesma classe são conhecidos por seus efeitos toxicológicos dose dependente, tendo sua toxicidade relacionada à sua capacidade de oxidar cataliticamente os grupos sulfidril de várias substâncias, incluindo o tripeptídeo glutatona, proteínas e enzimas. No caso das enzimas, a oxidação de grupos tióis por este tipo de composto pode inibir a atividade enzimática, o que pode contribuir para a toxicidade celular. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito pro-oxidante do composto PEBT, bem como as alterações decorrentes deste efeito dentro da célula bacteriana de *Escherichia coli*. Para avaliar se o mecanismo de ação do composto PEBT sobre a célula bacteriana, estava relacionado à sua atividade pro-oxidante, foram dosados os níveis de espécies reativas (ER) extracelular; a atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) e a dosagem intracelular dos níveis de tióis não proteicos (NPSH) nas culturas bacterianas de *Escherichia coli* em presença ou ausência do composto nas concentrações de 0.96 mg/ml; 1.92mg/ml e 3.84mg/ml, que correspondem aos valores de 0,5 MIC, MIC e 2MIC, respectivamente. Nossos resultados demonstram que a presença do composto nas 3 concentrações testadas levou ao aumento na produção de ER no meio extracelular das células de *E. coli*, concomitante a uma diminuição dos níveis de tióis intracelulares e redução na atividade das enzimas antioxidante SOD e CAT. Contudo, nosso estudo sugere que o composto PEBT apresentou efeito pro-oxidante frente a cepas de *E.coli*, tendo como mecanismo de ação a geração de ER, oxidação de grupos tióis e diminuição das defesas antioxidantes da célula bacteriana.

## **EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM DIFERENTES ÓLEOS VEGETAIS SOBRE O PERFIL LIPÍDICO HEPÁTICO DE RATOS HIPERLIPIDÊMICOS.**

Deise Jaqueline Stroher, Bruna Machado Escobar, Thalia Pacheco dos Santos, Vanusa Manfredini

A composição de lipídios dietários pode influenciar não somente os componentes das membranas celulares e a mobilização dos triacilgliceróis presentes nas lipoproteínas séricas, mas também a deposição e a mobilização dos lipídios teciduais. Várias substituições alimentares ocorreram nos últimos tempos, dentre as quais a gordura saturada de origem animal pelos óleos vegetais. Essas mudanças foram propiciadas pela disponibilidade aumentada dos produtos de origem vegetal e pela divulgação de pesquisas mostrando a relação benéfica entre as dietas ricas em ácidos graxos poli-insaturados e a diminuição das doenças cardiovasculares. Alimentos que possuem elevada razão ácidos poliinsaturados/saturados têm demonstrado efeitos benéficos sobre o metabolismo lipídico. Entretanto, o consumo exacerbado destas fontes alimentícias poderá trazer graves consequências, visto que os ácidos graxos insaturados são altamente suscetíveis à peroxidação lipídica, podendo contribuir para o desenvolvimento de aterosclerose. Objetivo: avaliar o efeito da suplementação com diferentes óleos vegetais sobre o perfil lipídico hepático de ratos hiperlipidêmicos. Material e Métodos: Foram utilizados 54 ratos machos, divididos em 6 grupos (n=6), sendo que o grupo 1 recebeu dieta normolipídica (DN) e os demais dieta hiperlipídica (DH) durante todo o período experimental, sendo: Grupo 1(DN): 1mL de solução salina v.o.; Grupo 2 (DH): 1mL de solução salina v.o.; Grupo 3 (DH): sinvastatina 10mg/Kg v.o.; Grupo 4 (DH): 2mL de Óleo de cártamo v.o.; Grupo 5 (DH): 2mL de Óleo de chia v.o.; Grupo 6 (DH): 2mL de Óleo de coco v.o. Após 60 dias de suplementação os animais foram eutanasiados e o tecido hepático removido e congelado para posterior análise. Após a extração da gordura hepática total, o resíduo obtido foi ressuspensão com álcool isopropílico (1 mL) e as alíquotas foram utilizadas para a dosagem dos níveis de colesterol total e triglicerídeos, utilizando kits comerciais Labtest® e a leitura realizada por espectrofotometria. Resultados: Os níveis de gordura hepática total aumentaram significativamente nos grupos que receberam a suplementação com os óleos de cártamo, chia e coco, quando comparados aos grupos controle, salina e sinvastatina. Os níveis de colesterol total hepático foram maiores nos grupos suplementados com os óleos e os níveis de triglicerídeos hepáticos diminuíram significativamente no grupo que recebeu óleo de coco. Conclusão: Os achados serão

confirmados com a histologia do fígado e, se confirmados, indicarão que a suplementação com esses óleos deve ser usada com cautela.

## **MÉTODOS DE QUANTIFICAÇÃO LIPÍDICA DE EMBRIÕES PRODUZIDOS IN VITRO ATRAVÉS DO PROGRAMA IMAGE J CORADOS POR SUDAN BLACK B.**

Diego Borba Müller, Gabrielly de Freitas Sant'Anna, Roniele Santana Valente, Diana Pedroso  
Caetano e Mateus José Sudano

A avaliação semi-quantitativa do conteúdo lipídico embrionário é de extrema importância quando associada à produção *in vitro* de embriões (PIVE), visto que influencia diretamente na qualidade, criotolerância e sobrevivência embrionária. Os embriões produzidos *in vitro* devido à grande presença de nutrientes no ambiente ao qual são submetidos, apresentam um maior acúmulo de ácidos graxos em relação aos seus homólogos produzidos *in vivo* o que justifica a crescente demanda por metodologias que reduzam o acúmulo lipídico ao longo do desenvolvimento embrionário. O objetivo deste trabalho foi avaliar os métodos semi-quantitativos do conteúdo lipídico de embriões corados com o corante lipofílico Sudan Black B e avaliados no programa Image J visando a estabilidade nos resultados obtidos para aplicação em pesquisas. Blastocistos expandidos produzidos *in vitro* sob as mesmas condições metodológicas foram fixados em solução de formol 4% e posteriormente submetidos ao protocolo de coloração de Sudan Black B. Ao término da coloração os embriões foram dispostos em lâminas para realização da captura das imagens e posterior análise no programa Image J, onde foram mensurados os embriões corados por três metodologias distintas. O primeiro método 32bit o qual mostra seus resultados em intensidade de cinza presente na área selecionada dentro da zona pelúcida, a mensuração acontece pela presença de gotas lipídicas dentro do embrião graduando deste modo a intensidade de cinza apresentada no interior. Já o segundo método, denominado Binary, analisa a área corada em escala de preto padronizada pelo programa, onde toda a área determinada e selecionada pelo profissional é representante apenas do conteúdo embrionário presente dentro da zona pelúcida, deverá passar pela mensuração através da escala de intensidade de preto, determinando o mais corado e o menos corado em uma mesma escala representativa. No método Color Segmentation há a necessidade do recorte prévio de toda a área da foto que não desejamos quantificar, após a remoção o

técnico responsável pela quantificação estimará 3 cores presentes no embrião: mais escuro (corado), menos escuro (menos corado) e não corado. A análise dos resultados demonstra a porcentagem de gotas lipídicas grandes, pequenas que coram em menor intensidade e não corados sendo o mais claro. Os dados obtidos foram analisados por ANOVA no programa GraphPAD Prisma. Os métodos 32bit ( $0,99 \pm 0,05$ ), binary ( $0,95 \pm 0,05$ ) e color segmentation ( $1,11 \pm 0,03$ ) avaliados para semi-quantificação do conteúdo lipídico não diferiram ( $P > 0,05$ ). Observou-se uma estabilidade nos dados utilizados através da avaliação dos coeficientes de variação os quais mostraram-se muito próximos entre os métodos 32bit (0,95 - 1,2), binary (0,90 - 1,1), e color segmentation (1,0 - 1,2). Diante do exposto, conclui-se que qualquer um dos testes analisados poderá ser utilizado para quantificação lipídica embrionária sem qualquer prejuízo à fidedignidade dos resultados esperados.

## **OCORRÊNCIA DO POLIMORFISMO ALA16VAL DA MNSOD EM POPULAÇÃO DE AGRICULTORES DO INTERIOR DO RIO GRANDE DO SUL (RESULTADOS PARCIAIS)**

Diego Borba Müller, Gabrielly de Freitas Sant'Anna, Roniele Santana Valente, Diana Pedroso Caetano e Mateus José Sudan Jacqueline da Costa Escobar Piccoli (coordenador)  
Renata Montagner (autor principal e apresentador)  
Andressa Pedroso Belmonte (co-autor)  
Lyana Feijoo Berro (co-autor)  
Márcia Denise Pavanelo Cattelan (co-autor)

A Superóxido Dismutase (SOD) é uma enzima antioxidante do organismo que catalisa a dismutação do radical superóxido em peróxido de hidrogênio e oxigênio molecular. Ela existe em três formas, sendo que a MnSOD é a isoforma mitocondrial dependente de manganês. A MnSOD é sintetizada no citosol e se torna ativa após ser carregada para a mitocôndria. Uma mutação em seu gene gera o polimorfismo Ala16Val, onde há substituição de citosina por timina na sequência codificadora, convertendo o códon GCT (alanina) para GTT (valina). Isso resulta na produção de enzima com conformação alterada, dificuldade de carregamento para a mitocôndria e consequente menor atividade antioxidante. Na população de trabalhadores rurais, além dos riscos da exposição ocupacional a agrotóxicos, variações genéticas nas enzimas antioxidantes podem aumentar a predisposição ao desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis, como neoplasias, morbidades inflamatórias e cardiovasculares. Assim, este estudo tem como objetivo descrever as frequências alélicas e genóticas do polimorfismo Ala16Val da MnSOD em uma população de pequenos produtores rurais do interior de Santiago/RS. Os voluntários foram recrutados junto ao Sindicato de Trabalhadores Rurais do município e o DNA genômico foi isolado do sangue total utilizando kit de extração QIAamp®. O polimorfismo foi determinado por análise PCR-RFLP, em técnica adaptada de Duarte et al, 2010, onde produtos de amplificação são digeridos com a enzima de restrição HaeIII em banho-maria a 37°C por 16 horas e os fragmentos obtidos são visualizados em gel de agarose para identificação dos genótipos AA (23 e 85 pb) AV (23, 85 e 110 pb) ou VV (110 pb). Até o momento, 84 amostras de DNA já foram amplificadas e 11 genotipadas. Nestas, houve maior frequência do alelo A (77,3%) em relação ao alelo mutado V (22,7%). Não foi identificado genótipo VV, de menor eficiência enzimática e já relacionado a estresse oxidativo e diferentes disfunções no organismo. O genótipo AA, encontrado em 54,5% das amostras, leva à produção de enzima com maior capacidade antioxidante, porém também pode desencadear estresse oxidativo. Isso ocorre pois a dismutação continuada do superóxido provoca grande produção de

peróxido de hidrogênio e o acúmulo deste só é evitado com ação compensatória das demais enzimas antioxidantes ou compostos antioxidantes não enzimáticos. O peróxido de hidrogênio em excesso na célula pode desencadear a formação de outras espécies reativas de oxigênio, como radical hidroxila, e causar danos genotóxicos e lipoperoxidação. Indivíduos heterozigotos para MnSOD, genótipo AV, encontrado em 45,5% das amostras analisadas, tem eficiência enzimática intermediária em relação aos genótipos homozigotos. Assim que as genotipagens forem concluídas, pretende-se utilizar essas informações para verificar se a diminuição nas defesas antioxidantes observada em estudo anterior com essa população está relacionada à presença do polimorfismo Ala16Val no gene da MnSOD.

## **KNOCKDOWN GÊNICO DE EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS IN VITRO.**

Franciele Lanzarini (autora e apresentadora), Mateus José Sudano (coordenador), Janine de Camargo (membro equipe executora), Diego Borba Müller (membro equipe executora), Fernanda Alves Pereira (membro equipe executora), Thamiris Vieira Marsico (membro equipe executora), Mario Celso Sperotto Brum (membro equipe executora).

Os embriões PIV são menos resistentes a criopreservação que os embriões produzidos in vivo, e que o maior número de gotas lipídicas citoplasmáticas dos embriões PIV, quando comparada aos embriões produzidos in vivo, é apontado como uma das principais causas da sua baixa criotolerância. As elongases de ácidos graxos de cadeia muito longa (ELOVL) são enzimas que realizam o alongamento dos ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados. Segundo Bond et al. (2016), a enzima ELOVL 5 atua no alongamento dos ácidos graxos mono e poliinsaturados (Moon et al., 2009). Durante o desenvolvimento embrionário inicial foi observado que o nível de transcritos da enzima ELOVL5 está aumentado no estágio de mórula precedendo uma grande mudança no perfil lipídico no estágio blastocistos bovinos. Portanto, será conduzida o Knockdown gênico da ELOVL 5, no intuito de avaliar os benefícios e/ou prejuízos sobre conteúdo e perfil lipídico, competência e criotolerância embrionária. Produção in vitro dos embriões: A técnica de PIVE será executada como descrito anteriormente por SUDANO et al., 2011; 2012b; 2012c. Quatro dias após a fertilização será conduzido o Knockdown gênico (ELOVL5) durante o cultivo embrionário. Após a fertilização, nos dias 3, 7 e 8, respectivamente, serão avaliados clivagem e a produção de blastocistos. As estruturas embrionárias serão coletadas ao longo das réplicas do experimento e submetidos aos diferentes ensaios. Dessorção de matriz assistida a laser (MALDI-MS): Para estabelecimento do perfil lipídico de cada grupo experimental será utilizada a técnica de MALDI-MS, com matriz ácido 2,5-dipidroxibenzóico (DHB). A análise de espectrometria de massas será realizada no laboratório ThoMSon de Espectrometria de Massas. Extração de RNA, reação de transcrição reversa, e investigação do nível de transcritos por PCR em tempo real: A abundância relativa dos transcritos dos genes associados ao metabolismo serão investigadas em ensaios de PCR em tempo real (qPCR). Apoptose - TUNEL (Terminal deoxinucleotiltransferase Uracil Nick End Labeling): Será conduzida a técnica de TUNEL como descrito anteriormente (Sudano, et al. 2012b, Sudano, et al. 2011). Imunolocalização de proteínas: A imunolocalização de proteínas será conduzida como descrito por (Sakatani, et al. 2012). Análise estatística: Serão utilizados modelos uni e multivariados de dados com o auxílio de softwares estatísticos robustos. Resultados

esperados: Elucidar o papel da enzima ELOVL5 sobre a determinação do conteúdo e composição lipídica, competência, e criotolerância de embriões bovinos produzidos in vitro.

## **EFEITO DO FLAVONOIDE HESPERIDINA EM UM MODELO DE PARKINSON INDUZIDO POR FERRO EM *Drosophila melanogaster*.**

Marcia Rósula Poetini (autor principal); Stífani Machado Araújo; Vandrezza Cardoso Bortolotto; Francielli Polet de Almeida; Luana Barreto Meichtry; Shanda De Freitas Couto; Elise Aparecida Musachio; Marina Prigol (Orientadora).

A hesperidina (3',5,7-tri-hidroxi-4'-metoxi-flavanona-7-ramnoglicosídeo) (Hsd) é uma flavanona glicosídica (uma subclasse de flavonoides) que é encontrada em abundância em frutas cítricas. Tem sido bem demonstrado que a hesperidina apresenta propriedades farmacológicas, incluindo antioxidante, anti-inflamatória, neuroprotetora, entre outros. O ferro (Fe) é essencial em muitos processos biológicos, mas a desregulação do metabolismo do ferro está associado com dano celular e estresse oxidativo, sendo relatado como um evento comum em várias doenças neurodegenerativas, como Alzheimer e Parkinson. A homeostase cerebral do ferro é cada vez mais reconhecido como um alvo potencial para o desenvolvimento de terapias com drogas para distúrbios relacionados com o envelhecimento. Animais invertebrados, como a mosca da fruta *Drosophila melanogaster* (*D. melanogaster*) tem sido um modelo de estudo eficiente e amplamente explorados como ferramenta genética para a compreensão de alterações biológicas. O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito neuroprotetor do flavonoide hesperidina em um modelo de Parkinson induzido por ferro em *Drosophila melanogaster*. As moscas de ambos os sexos foram divididas em quatro grupos: 1) controle, 2) hesperidina (10 µM), 3) ferro (20 mM) e 4) hesperidina + ferro, cada grupo contendo 50 moscas cada, por um período experimental de 2 dias, submetidas a temperatura e umidade controlada. A sobrevivência das moscas foi analisada diariamente. Após o término dos tratamentos, as moscas foram submetidas ao teste de geotaxia negativa, após foram dosados os níveis de ferro na cabeça e no corpo das moscas e foi determinado os níveis de dopamina na cabeça das moscas. Com o presente estudo podemos verificar uma correlação negativa entre os níveis de Fe na cabeça das moscas e os níveis de dopamina na cabeça das moscas. Além disso, foi encontrada correlação positiva significativa entre os níveis de Fe na cabeça das moscas com o comportamento de geotaxia negativa. Isso demonstra que as moscas que apresentaram níveis mais elevados de Fe na cabeça apresentaram uma maior susceptibilidade à neurotoxicidade. Um resultado importante do nosso estudo é que o tratamento com Hsd promoveu a diminuição da concentração de Fe na cabeça das moscas, restaurou os níveis de dopamina e melhorou a função motora causada pelo Fe. No entanto a hesperidina não foi capaz de reduzir os níveis de ferro no corpo das moscas. Nossos

resultados demonstraram o efeito neuroprotetor da Hsd e sugerimos que este flavonoide pode atuar de maneiras diferentes para proteger os danos causados pela exposição ao Fe tais como sequestrando os radicais livres ou ainda quelando o ferro na cabeça das moscas, propriedades estas já demonstradas em outros estudos utilizando a hesperidina.

## **EFEITO DA ACUPUNTURA COM DIFERENTES ACUPONTOS NA DOR NEUROPÁTICA INDUZIDA PELA LIGADURA PARCIAL DO NERVO CIÁTICO EM CAMUNDONGOS.**

Caroline Cadore Ramires, autor e apresentador; Morgana Duarte da Silva, orientador.

A dor fisiológica é a sinalização de estímulos nocivos que inicia em estruturas do Sistema Nervoso Periférico e é conduzida até o Sistema Nervoso Central. Sua classificação é realizada de acordo com a duração ou com a patogênese. As neuropatias são condições que afetam os nervos e possuem poucas terapias disponíveis que impeçam ou revertam o dano causado por ela. Além disso, muitos pacientes são resistentes aos tratamentos farmacológicos convencionais. Pensando nas alternativas a esses tratamentos, reconhecemos as pesquisas com modelos experimentais em animais de laboratório e as terapias não farmacológicas, como a acupuntura, como formas de reconhecer e manejar a dor de forma mais eficaz. Apesar de seu baixo custo e poucos efeitos adversos, as pesquisas atuais discutem a efetividade da acupuntura e seus mecanismos, pois ainda existem muitas divergências acerca da validade, eficácia e efeitos neurobiológicos dessa terapia. Então, pensamos em desenvolver estudos para verificar o efeito da acupuntura no acuponto SP6 sobre uma lesão neuropática induzida por ligadura parcial do nervo ciático (LPNC) em camundongos e compará-lo ao efeito do tratamento farmacológico convencional e da técnica de acupuntura em diferentes acupontos no tratamento da dor neuropática periférica em camundongos. Serão utilizados camundongos (tipo Swiss) distribuídos em grupos: CONTROLE (submetido à LPNC e não tratado), FALSO OPERADO (submetido à cirurgia sem ligação do nervo), SP6, ST36, K13 (operados e tratados com acupuntura nos pontos SP6, ST36 e K13, respectivamente) e GABA (operado e tratado com fármaco gabapentina). Antes e depois da cirurgia, os animais serão avaliados quanto à sensibilidade mecânica e térmica ao frio. Após 7 dias do pós-operatório, os animais receberão o primeiro tratamento. Os grupos destinados a receber acupuntura serão tratados três vezes por semana por 10 minutos e avaliados 15 minutos após a retirada da agulha. O grupo que receber farmacologia convencional, receberá a medicamento diariamente. Todos os animais serão avaliados no 1º, 3º, 5º, 9º, 11º, 13º, 15º, 19º, 21º, 23º, 25º, 28º dias, após o início dos tratamentos. Após o término das avaliações de sensibilidade dolorosa, eles também serão avaliados quanto a coordenação motora e equilíbrio, atividade locomotora, memória aversiva de curto e longo prazo, depressão e ansiedade. Posteriormente os camundongos serão mortos por decapitação para realização de c-Fos no hipocampo e

testes de estresse oxidativo (atividade da catalase e da superóxido dismutase). Espera-se que a acupuntura seja capaz de reduzir a nocicepção induzida pela LPNC nos camundongos. Além disso, esse trabalho de pesquisa será a dissertação de mestrado no Programa Multicêntrico de Ciências Fisiológicas da UNIPAMPA e seus resultados serão publicados em uma revista científica de Qualis no mínimo B1 para Ciências Biológicas II, de âmbito internacional.

## **MODELAGEM MOLECULAR E ESTUDO DE DOCKING COMPUTACIONAL DOS COMPOSTOS 20-HIDROXIECDYSONA E KAEMPFEROL-3-(6'-P-COUMAROIL-GLUCOPIRANOSIDIO DO EXTRATO DE FOLHAS DE SIDA TUBERCULATA EM RECEPTORES OPIÓIDES.**

Mariana Sabo Fernandes<sup>1</sup>, Hemerson da Silva Rosa<sup>2</sup>, Vanderlei Folmer<sup>2</sup>, Fávero Reisdorfer Paula<sup>1,3</sup>.

A *Sida tuberculata* é uma planta que exerce efeito antinoceptivo potencial no corpo humano. Não se conhece o mecanismo de ação envolvido, porém suspeita-se que ocorra a participação de sistema opióide. Análises do extrato de folhas da *S. tuberculata* (STLE) por LC-UV-MS permitiram a identificação e caracterização de compostos ecdisteróides, flavonóides e alcaloides. Estudos de modelagem molecular e docking fornecem informações sobre interação de moléculas ativas e receptores biológicos e, neste caso, foram realizados com a finalidade de estudar os mecanismos pelos quais os compostos 20-Hidroxiecdysona (20HE) e Kaempferol-3-(6"-p-coumaroil)-glucopiranosidio (KCG) podem estar atuando em receptores opióides. O software Spartan'08, para Windows, que emprega métodos de cálculo de mecânica quântica AM1 e DFT/B3LYP com base de dados 6.31G, foi utilizado para desenho, otimização de geometria e análise conformacional dos dois compostos estudados, o 20HE e KCG. Os estudos de docking foram realizados com o emprego do software Igemdock 2.1. Os receptores opióides  $\mu$  (Mi - PDB ID: 4DKL),  $\delta$  (Delta - PDB ID: 4EJ4),  $\kappa$  (Kappa - PDB ID: 4DJH) foram baixados do Protein Data Bank (PDB). Uma avaliação prévia dos receptores permitiu a seleção do receptor de opióides  $\mu$  e sua cavidade BFO. Os estudos de interação de 20HE e KCG com os resíduos de aminoácido da porção BFO tiveram valores de energia de -97,11 e -117.30 Kcal.mol, respectivamente, o que sugere menor energia de interação do KCG em relação ao 20HE. Os principais aminoácidos envolvidos na interação foram ASP-147 e TYR-326, resultantes principalmente de forças de Van der Waals e ligação de hidrogênio. O estudo de docking molecular permitiu avaliar a interação entre compostos do extrato de STLE e receptores específicos envolvidos no efeito antinoceptivo, sugerindo interação principal em receptores opióides do tipo  $\mu$ . A interação dos compostos 20HE e KCG, em receptor  $\mu$ , está em concordância com a literatura que têm apontado interação destes compostos com os receptores opióides.

## **AVALIAÇÃO DE ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS E COMPORTAMENTAIS EM *Drosophila melanogaster* EXPOSTAS A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE PROTEÍNA NA DIETA.**

Marina Prigol- Orientadora  
Stífani Machado Araújo- coautor  
Vandreza Cardoso Bortolotto- coautor  
Márcia Róssula Poetini- coautor  
Shanda de Freitas Couto- coautor  
Luana Barreto Meichtry- coautor  
Franciane Cabral Pinheiro- coautor  
Elize Aparecida Santos Musachio- autor

A dieta hiperproteica é bem descrita por aumentar a ovoposição, melhorar a receptividade feminina e retardar o envelhecimento de moscas *Drosophila melanogaster*. No entanto ainda não existem estudos que avaliem os possíveis efeitos adversos causados por dietas hiperproteicas em moscas. O objetivo de nosso projeto será avaliar alterações bioquímicas e comportamentais em na mosca da fruta *Drosophila melanogaster* expostas a diferentes concentrações de proteína na dieta. Serão utilizadas *Drosophila melanogaster*, de ambos sexos, divididas em 4 grupos, contendo 50 moscas em cada: (1) Controle (12% de proteína da dieta padrão), (2) 30% de proteína, (3) 50% de proteína, (4) 90% de proteína. A dieta padrão corresponde a farinha de milho, fermento biológico, germe de trigo, sacarose, leite em pó e Nipagin. As moscas serão mantidas em incubadora BOD, em ciclo claro/escuro de 12h, em temperatura de  $(25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C})$ , e 60 % de umidade), por 7 dias. Para avaliar a mortalidade, será contabilizado o número de moscas mortas diariamente até o 7º dia. Após isso, serão realizados os testes comportamentais de geotaxia negativa, e ensaio de campo aberto e por fim, a atividade da enzima acetilcolinesterase (Ache). Além disso, também serão avaliados os níveis de espécies reativas, os níveis de peroxidação lipídica, e a atividade das enzimas antioxidantes catalase e superóxido dismutase e dosagem de proteína. Espera-se que uma dieta hiperproteica principalmente nas maiores concentrações, acarrete em alterações comportamentais e bioquímicas nas moscas.

## **PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE LIPOSSOMAS CONTENDO EXTRATO AQUOSO DE PITANGA ROXA *Eugenia uniflora* PARA UTILIZAÇÃO EM *Caenorhabditis elegans*.**

Juliana F. F. Roncato, Daniela Camara, Mônica Pascoli, Leonardo Fernandes Fraceto, Cristiane Denardin, Sandra Haas, Daiana Ávila.

Este trabalho teve como objetivo preparar lipossomas contendo extrato aquoso de Pitanga Roxa (*Eugenia uniflora*) para utilização em experimentação em *Caenorhabditis elegans* além de proceder sua caracterização, garantindo que serão um veículo adequado para transportar o extrato até o organismo modelo. O extrato foi preparado com frutos fornecidos pela EMBRAPA-CPACT-Pelotas/RS previamente lavados e retirados os caroços, utilizando-se, portanto, somente a polpa e a casca. Para a extração dos compostos fenólicos, cem gramas de amostra congelada foram homogeneizadas com 300 mL de uma solução etanólica (95°GL) em bquer protegido da luz, utilizando-se um misturador ultra-turrax por 5 minutos, e a seguir foram colocadas em agitador magnético por 30 minutos. As amostras foram centrifugadas por 5 min a 3.000 rpm e o sobrenadante foi recuperado. O sobrenadante recuperado foi evaporado em aparelho evaporador rotatório utilizando-se temperaturas entre 40-45°C e vácuo. Os lipossomas contendo extrato de pitanga roxa, uranila (marcado fluorescente) ou vazias foram preparados por evaporação em fase reversa contendo lecitina (Lipoid S-75), acetato de etila e água, formando uma emulsão, a qual foi submetida a ultrassom (6 min) originando uma dispersão homogênea de micelas lipídicas. O solvente orgânico foi evaporado sob pressão reduzida a temperatura de 35 °C, levando a formação de um organogel viscoso, que em seguida foi revertido a nanovesículas após a adição de 25 mL de água sob agitação. O tamanho de partícula dos lipossomas foi avaliado pela técnica de difratometria de laser (LD) utilizado o equipamento Mastersizer 2000. O pH e o valor do Span, que é um indicativo da polidispersão do sistema, também foi utilizado para a caracterização das formulações. Por fim, os lipossomas foram administrados a nematoides *Caenorhabditis elegans* (tipo selvagem) e estes foram fotografados em microscópio de fluorescência. Os resultados foram submetidos a análise de variância de uma via (ANOVA) seguido de comparações de post hoc de Tukey ( $p < 0,05$ ). Os valores obtidos por difratometria de laser demonstram que tanto os lipossomas contendo extrato ou água apresentaram valores de diâmetros de partícula semelhantes, ou seja, nenhuma diferença de tamanhos significativa foi observada. Os valores de Span, o qual é um indicativo da amplitude da distribuição granulométrica, demonstraram uma estreita distribuição de

tamanho, uma vez que quanto menor os valores de Span, menor a variabilidade de tamanho entre os lipossomas. O tamanho final das partículas resultou adequado para ingestão por *C. elegans* por apresentar dimensões semelhantes à bactéria *Escherichia coli* que é seu padrão alimentar. Desta maneira, conclui-se que, a técnica utilizada para a preparação de lipossomas contendo extrato aquoso de pitanga roxa foi adequado para utilização no modelo de experimentação pretendido, conforme as caracterizações realizadas.

## **EFEITO DA MODULAÇÃO DA ACIL-COA SINTETASE DE CADEIA LONGA NO DESENVOLVIMENTO E CRIOTOLERÂNCIA DE EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS IN VITRO.**

Roniele Santana Valente (primeira autora e apresentadora)  
Mateus José Sudano (coordenador).

A produção in vitro de embriões (PIVE) é uma importante ferramenta reprodutiva capaz de formar novos indivíduos através de técnicas laboratoriais que possibilitam uma interação entre oócitos e espermatozoides fora do trato reprodutivo de uma fêmea. A técnica apresenta-se como uma estratégia para obtenção de embriões que podem ser destinados à pesquisa básica e estudo da fisiologia embrionária, bem como utilizados em escala comercial como forma de exploração do potencial genético de reprodutores selecionados. Um dos entraves da PIVE é a sensibilidade à criopreservação, resultando em taxas de concepção menores após a inóvulação, e tal fato parece estar relacionado com o maior conteúdo lipídico encontrado nestes embriões. As Acil-CoA sintetases de cadeia longa (ACS) são uma família de enzimas que ativam ácidos graxos e fornecem substratos para praticamente todas as vias metabólicas que catabolizam ácidos graxos ou sintetizam lipídios complexos. Deste modo, o objetivo do presente projeto é testar a hipótese de que a utilização de moduladores negativos das ACS em meio de cultivo embrionário resulta em embriões com menor conteúdo lipídico e maior criotolerância. Oócitos provenientes de ovários de abatedouros serão selecionados e maturados em meio base (TCM 199 modificado) mantidos em estufa aquecida a 38,5°C e 5% de CO<sub>2</sub> em ar. Após 22-24 horas de maturação os oócitos serão fecundados em meio Talp modificado. Após um período de 18 horas de co-cultivo os possíveis zigotos serão transferidos para meio de cultivo Fluido Sintético do Oviduto modificado (mSOF) onde permanecerão por oito dias. Durante o período de cultivo (D4) os embriões serão aleatoriamente distribuídos em grupos que receberão a suplementação do modulador positivo (ACS+), negativo (ACS-), associação de ambos moduladores (ACS+/-) e grupo controle (sem adição de moduladores). Considerando-se como dia 0 o dia da fecundação, os embriões serão analisados em D2 quanto a taxa de clivagem, e D7 e D8 quanto a taxa de produção de blastocistos. Um estudo piloto (1000 oócitos) será conduzido para determinar a melhor dosagem das drogas entre 5 concentrações (100x, 10x, 1x, 10-1x e 10-2x). A maior dose de cada modulador que não afetar o desenvolvimento e a qualidade embrionária será selecionada para utilização nas réplicas seguintes. Após os blastocistos produzidos serão vitrificados pelo método Cryotop® e avaliados quanto a crio-

resistência (taxas de re-expansão e eclosão). Adicionalmente, serão coletadas amostras dos diferentes grupos para análise de conteúdo e perfil lipídico através das técnicas de coloração Sudan Black B e MALDI-MS, respectivamente, expressão gênica (qPCR) e viabilidade celular (TUNEL). Para análise estatística, modelos uni (ANOVA) e multivariados (PLS-DA) de dados serão utilizados. Será adotado o nível de significância de 5% ( $P < 0.05$ ). Ao final deste projeto pretende-se definir uma metodologia de produção de embriões de melhor criotolerância e composição lipídica satisfatória.

## **AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMALÁRICA, CITOTÓXICA E HEMOCOMPATIBILIDADE IN VITRO DE NANOCÁPSULAS POLIMÉRICAS CONTENDO QUININA.**

Tamara Ramos Maciel (Autora principal e apresentadora); Flávia Elizabete Guerra Teixeira (Colaboradora); Amanda Luisa da Fonseca (Colaboradora); Fernando Varotti (Colaborador); Sandra Elisa Haas (Coordenadora).

A quinina (QN) tem sido o fármaco de escolha para o tratamento da malária, em virtude da resistência à cloroquina. Porém pode causar efeitos adversos como arritmia cardíaca grave, hipoglicemia e cinchonismo. Nosso grupo de pesquisa desenvolveu nanocápsulas (NC) contendo quinina (NC-QN) e comprou a eficácia in vivo em roedores (a cepa utilizada foi *Plasmodium berghei*), mas ainda não há resultados da atuação desta formulação frente ao *P. falciparum*. Sendo assim, o objetivo do trabalho foi avaliar a hemocompatibilidade, a citotoxicidade e a atividade antimalárica contra cepas de *P. falciparum* cloroquina-resistente (W2) e cloroquina sensível (3D7), da formulação NC-QN e seu controle (NC-BR). As NC foram preparadas através do método de nanoprecipitação. Para a realização do teste de hemólise o sangue total humano foi e os eritrócitos (5%v/v), após lavagem, foram incubados com concentrações crescentes de QN. A hemoglobina liberada foi determinado por espectrofotometria ( $\lambda=540$  nm). Para a avaliação da atividade antimalárica das NC, foram utilizadas cepas de *P. falciparum* cloroquina-resistente e cloroquina sensível. Após sincronização do estágio de desenvolvimento dos parasitas, as culturas forma incubadas com concentrações crescentes de QN (livre ou nano) e controles (salina ou NC-BR). Para a citotoxicidade foi utilizada o teste de redução do MTT, com linhagem humana de fibroblastos. A caracterização físico-química forneceu resultados similares aos publicados e já relatados pelo nosso grupo de pesquisa. No teste de hemólise, todas as formulações testadas apresentaram valores de hemólise inferior a 5%. A solução de QN apresentou redução da parasitemia, porém com a nanoencapsulação foi possível observar que os valores de redução no crescimento do *P. falciparum*, demonstrando a melhoria da atividade com o aprimoramento tecnológico da formulação. Os resultados sugerem que o aprimoramento tecnológico da administração da QN com base na nanotecnologia e capaz de melhorar a ação antimalárica do fármaco com reduzida toxicidade em células humanas.

## **TOXICIDADE AGUDA DAS PEÇONHAS DE *Philodryas patagoniensis* e *Bothrops diporus* PARA *Artemia salina*.**

Aline da Silva (apresentador), Hemerson da Rosa (autor), Marcio Tavares Costa (autor principal), Vanderlei Folmer (coordenador).

Existem cerca de 83 espécies de serpentes no Rio Grande do Sul. Dentre essas está a papa-pinto (*Philodryas patagoniensis*). Já a jararaca-pintada, *Bothrops diporus*, ocupa as regiões ao norte do estado e pertence a família Viperidae. Semelhanças entre a peçonha gerada pela *P. patagoniensis* e pelos viperídeos do gênero *Bothrops* são constatadas em seus constituintes, principalmente em relação a presença de metaloproteinases. Nas avaliações de toxicidade aguda em camundongos, a dose letal mediana (DL50) estabelecida para o veneno de *P. patagoniensis* foi de 58,58 µg/animal. Concentração próxima ao da *B. jararacussu*, (58,80µg/camundongo), ao da *B. alternatus* (67,5µg/camundongo) e maior do que a *B. jararaca* (24,7µg/camundongo). Contudo, organismos simples estão cada vez mais presentes como modelos alternativos na pesquisa de peçonhas. Um destes organismos é a *Artemia salina*, uma espécie de micro-crustáceo utilizada como bioindicador de toxicidade. Assim, o presente estudo visa determinar o grau de toxicidade aguda das peçonhas de *P. patagoniensis* e *B. diporus* para *A. salina*. Para isso, foram capturados seis exemplares da espécie *P. patagoniensis* e uma de *B. diporus*, cujas identificações foram realizadas por meio de comparação com bibliografia especializada. Mensalmente, os espécimes eram ordenhas para obtenção da peçonha. Em seguida, a peçonha bruta era centrifugada e o sobrenadante utilizado na obtenção das concentrações a serem testadas. A concentração de proteína estabeleceu-se pelo método de Bradford. Os nauplii de artêmias foram coletadas após 24 horas do preparo dos cistos em água salinizada a 3% com iluminação e aeração constantes, e transferidas individualmente para microplacas. Em seguida, expostos a cinco diferentes concentrações de cada peçonha. Como controle, utilizou-se solução de cloreto de sódio 0,9% estéril. Após 24 horas foram contabilizados os nauplii mortos. Três experimentos independentes e em triplicata foram avaliados. Considerou-se tóxico a  $DL50 < 1000 \mu\text{g/mL}$  e não tóxico  $\geq 1000 \mu\text{g/mL}^{-1}$ , de acordo com Meyer et al. Até o momento, a concentração proteica das peçonhas de *P. patagoniensis* e *B. diporus* foi de  $11,5 \pm 2 \text{ mg/mL}^{-1}$  e  $207,3 \pm 26 \text{ mg/mL}^{-1}$ , respectivamente. Esta diferença entre as concentrações das peçonhas é esperada, dada as características das espécies. Mais estudos evidenciam o potencial proteolítico do gênero *Philodryas* como superior aos venenos de *B. alternatus* e de *B. Jararaca*. Nas análises de toxicidade

aguda em artêmia, verificou-se a DL50 de 45.8 µg/mL-1 para a papa-pinto e 31.3 µg/mL-1 para a jararaca. Enquadrando-as como compostos com alto grau de toxicidade para este modelo. Salienta-se que este bioensaio é um indicativo de que as peçonhas em questão apresentam propriedades antiproliferativas. Especificamente, em linhagens celulares tipo 9PS (leucemia) e 9KB (carcinoma). Logo, este trabalho aponta para dois compostos de origem animal que podem se destacar na resolução de tais males.

## **DINÂMICA DA INCIDÊNCIA DA APOPTOSE NA RETOMADA DO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO APÓS A CRIOPRESERVAÇÃO.**

Autor principal: Janine de Camargo. Co-autores: Roniele Valente; Franciele Lanzarini; Andressa Minozzo Oliveira; Fernanda Alves Pereira; Mário Celso Sperotto Brum. Orientador: Mateus José Sudano.

A produção in vitro de embriões bovinos (PIV) mostra-se difundida comercialmente em larga escala sendo capaz de proporcionar uma produção embrionária mais abrangente, devido à resolução de problemas logísticos, auxiliando na expansão de estratégias comerciais entre países produtores de bovinos. A criopreservação de embriões bovinos PIV contribui para o estabelecimento dessas estratégias, pois possibilita o armazenamento e distribuição global do material produzido, porém essa biotecnologia ainda apresenta uma ampla heterogeneidade na produção de embriões viáveis. Dessa maneira evidencia-se a necessidade de pesquisas básicas e aplicadas que proporcionem a investigação de momentos críticos que ocorrem na criopreservação os quais prejudicam o desenvolvimento da viabilidade embrionária. A partir da compreensão e aprimoramento desse gargalo biotecnológico será possível o estabelecimento de estratégias produtivas que viabilizem a expansão da produção de embriões com desenvolvimento saudável e com taxas de prenhez mais próximas as obtidas por embriões produzidos in vivo. Com o intuito de auxiliar a compreensão do processo de viabilidade embrionária, o objetivo do presente trabalho será investigar a ocorrência de apoptose na dinâmica de desenvolvimento embrionário de embriões PIV após a criopreservação. Produção in vitro de embriões: ovários de abatedouro serão utilizados para obtenção de oócitos que serão submetidos a maturação in vitro e fertilização in vitro, e cultivo in vitro como descrito anteriormente Sudano, et al.(2013). Vitrificação dos embriões: blastocistos expandidos (BX) grau I serão vitrificados pelo método Cryotop (Sanches et al.,2013). Aquecimento e re-cultivo dos embriões serão realizados, Sudano, et al. (2011). Os blastocistos após o aquecimento serão estratificados de acordo com a re-expansão da blastocela e eclosão para formar quatro grupos experimentais: blastocistos que não re-expandiram a blastocela 12 h após o aquecimento (NE12), re-expandiram a blastocela com 12 h e eclodiram com 24 h (E12H24), re-expandiram com 12 h e eclodiram com 48 h (E12H48), e que re-expandiram com 12 h e não eclodiram com 48 h (E12NH48). Após a estratificação os embriões serão submetidos a técnica de TUNEL (Sudano, et al. 2012). Para análise estatística, modelos uni e multivariados de dados serão utilizados com o auxílio de softwares robustos. Resultados Esperados: Como resultados esperam-se identificar a dinâmica da incidência de apoptose na retomada de desenvolvimento embrionário

após a criopreservação. A compreensão da dinâmica dos eventos moleculares que ocorrem na retomada do desenvolvimento embrionária, após a criopreservação, auxiliam no aprimoramento das biotecnologias utilizadas. Dessa maneira esses avanços biotecnológicos contribuem para o esclarecimento de gargalos presentes nas técnicas utilizadas na reprodução assistida proporcionando a ampliação do mercado comercial na produção de embriões bovinos PIV.

## **DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOEMULSÕES CONTENDO ÓLEOS ESSENCIAIS.**

Muriel Pando Pereira (Autora principal; apresentadora), Ilana Popoviche (Coautora), Vanessa Bley (Coautora), Sandra Elisa Haas (Coordenadora).

A utilização de óleos vegetais em formulações para diversos fins tem sido cada vez mais notória. Nanoemulsões estão ganhando importância devido sua ampla gama de aplicações potenciais. A aplicação de nanoemulsões com óleos essenciais para a produção de filmes pode potencializar o efeito antimicrobiano dos óleos essenciais. O objetivo deste trabalho foi desenvolver, caracterizar e avaliar a influência de diferentes tensoativos e concentrações de óleo vegetal no preparo de nanoemulsões. Para isso, as formulações foram desenvolvidas pelo método clássico de emulsificação espontânea variando o óleo (Óleo 1 e Óleo 2) suas concentrações (33 mg/mL e 64 mg/mL) e o tensoativo da fase hidrofílica (T1 e T2) totalizando oito formulações. Estas foram caracterizadas quanto ao pH pelo pHmetro Hanna, diâmetro de partícula pelo Mastersizer e potencial zeta pelo Zetasizer. Os óleos ainda foram caracterizados quanto à densidade utilizando picnômetro e viscosidade pelo viscosímetro rotatório Brookfield. O óleo 1 e o óleo 2 apresentaram densidade e viscosidades, respectivamente de 0,956 g/mL e 43,13 cP e de 0,956 g/mL e 45,19 cP. O pH das formulações variou entre 4,30 e 5,89 e notou-se que maiores concentrações de óleo reduzem o pH. Quanto ao diâmetro de partícula, o Span das formulações variou entre 0,783 e 1,266 e apresentaram D (4,3) entre 0,123 e 0,735  $\mu\text{m}$ , podendo então considerá-las todas adequadas já que obtiveram um Span menor que 2,0 e diâmetro médio em escala nanométrica. O potencial zeta das formulações se manteve entre -48,97 e -76,22. Pode-se concluir que foi possível preparar nanoemulsões com os óleos avaliados, sendo possível obter sistemas adequados utilizando-se a maior concentração de óleo, independentemente do tipo de tensoativo utilizado. Como perspectivas, visa-se também o desenvolvimento de nanocápsulas poliméricas e posterior estudo da atividade biológica frente a microrganismos.

## **AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA 5-CL-ISATINA-3-OXIMA NO METABOLISMO DA GLICOSE FRENTE À INTOXICAÇÃO AGUDA POR ORGANOFSFORADO EM RATOS.**

Anne Suély Pinto Savall, Eduarda Monteiro Fidélis, Alyson Ardaís Boneberg, Richard Ortiz, Daniel Henrique Roos, Simone Pinton.

A utilização de organofosforados (OFs) ocorre de forma bastante usual para o melhoramento agrícola devido aos seus efeitos no combate de pragas que prejudicam a produção de alimentos, há relatos que demonstram que a exposição aos OFs aumenta os níveis de glicose no sangue, estes estudos sugerem que o acúmulo de acetilcolina pode ser responsável pelo efeito hiperglicêmico. O Malation é um composto que pertence à classe dos OFs, altamente tóxico e com pouca especificidade, o que significa que afeta uma grande variedade de organismos. O tratamento clínico padrão para a intoxicação por OFs envolve a administração de atropina que auxilia na reativação da AChE inibida. No entanto, tanto os resultados experimentais quanto os achados clínicos demonstraram uma eficácia controversa das oximas contra intoxicações por OFs. A 5-Cl-isatina-3-oxima é uma oxima pertencente à classe das isatinas, a qual foi recentemente sintetizada e por esta razão não existem dados na literatura sobre seus usos ou aplicações. Desta forma, este estudo propõe analisar os efeitos da 5-Cl-isatina-3-oxima no metabolismo da glicose na atividade da AChE frente à intoxicação pela exposição aguda pelo OFs malation em ratos. Este protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) sob nº 024/2016 pela Universidade Federal do Pampa. Foram utilizados ratos Wistar machos divididos em quatro grupos (I-Controle, II-Oxima, III-Malation e IV-Malation+oxima) submetidos a administração oral da 5-Cloro-isatina-3-oxima via oral (50mg/kg gavage) que foi realizada imediatamente após a injeção intraperitoneal do malation (250mg/kg, i.p). Doze horas após a administração das drogas, os animais foram eutanasiados, o córtex e o hipocampo dissecados e o sangue coletado por punção cardíaca, os ensaios bioquímicos foram mensurados através do ensaio da AChE, os níveis plasmáticos de glicose foram determinados por ensaio colorimétrico usando kit comercial. Os resultados demonstraram que a exposição aguda ao malation induz um aumento significativo nos níveis de glicose plasmática e inibi a atividade da AChE no córtex, demonstrando sua toxicidade. Alguns estudos apresentam que este aumento na glicemia está envolvido na inibição da AChE, o que foi constatado neste estudo com a diminuição da atividade no córtex pré-frontal dos animais tratados com o malation. Importaneamente, o tratamento com a 5-Cloro-isatina-3-oxima foi capaz de

reverter a inibição da atividade da AChE e consequentemente impede o aumento da glicemia induzido pelo malathion. Este estudo traz dados que reforçam o efeito benéfico do uso das oximas contra a intoxicação por OFs e serve como base para futuros experimentos no qual pretendemos investigar melhor o mecanismo de ação da oxima.

## **ESTUDOS DE MODELAGEM MOLECULAR, BUSCA DE FÁRMACÓFORO, TRIAGEM VIRTUAL DE CHALCONAS COM ATIVIDADE ANTI-STAPHYLOCOCCUS AUREUS.**

Alex Geovane Da Silveira Pereira (Apresentador), Danillo Baptista Pereira (Autor Principal), Camila Coelho Rodrigues (Colaborador), Luana Campos (Colaborador), Fabiana Ernestina Barcellos Da Silva (Colaborador), Cheila Denise Ottonelli Stopiglia (Colaborador), Eduardo Borges De Melo (Colaborador), Fávero Reisdorfer Paula (Coordenador).

A incidência de resistência bacteriana em cepas patogênicas de *Staphylococcus aureus* Gram-positivo é um dos maiores desafios de saúde pública atualmente, uma vez que sua ocorrência pode resultar em tratamento ineficaz de infecções bacterianas. Alguns chalconas tem atividade antibacteriana potencial o que torna essas moléculas candidatas para o desenvolvimento de antibacterianos novos. Algumas metodologias de desenvolvimento de fármacos, como a modelagem molecular, a pesquisa de farmacóforo, triagem virtual, e toxicidade computacional podem ser aplicadas no desenvolvimento de chalconas bioativas. Neste trabalho estas metodologias foram utilizadas com o objetivo de apoiar a compreensão das propriedades estruturais que podem estar influenciando o anti-*S. aureus*. Estruturas químicas de cinco conjuntos de chalconas (cento e treze compostos bioativos) foram otimizadas e submetidas à análise conformacional no nível de teoria DFT/B3LYP 6-31G+ com o uso de software Spartan'08 for Windows. Todas as estruturas dos confôrmeros de menor energia, em grupos de trinta compostos, foram submetidas na pesquisa de farmacóforo com o emprego de software PharmaGist. Os modelos de farmacofóro gerados foram utilizados para triagem virtual no servidor ZINCpharmer, onde foram aplicados dois filtros, a regra dos cinco de Lipinski e a previsão de toxicidade pelo software online ADMETsar. Os cinco conjuntos de moléculas permitiram a determinação de quatorze modelos farmacóforos, nos quais os melhores modelos de suas respectivas classes apresentaram as características estruturais de dois anéis aromáticos (aromaticidade) e pelo menos uma região hidrofóbica, e também um grupo acceptor de ligação de hidrogênio. A análise de triagem virtual resultou na obtenção de 22.723.923 compostos com as propriedades físico-químicas dos farmacóforos. Com o uso dos filtros chegou-se a três compostos derivados de benzofurano e benzotiofênicos que são apresentados como candidatos a novos agentes anti-*S. aureus*. Esses estudos indicaram cinco modelos de farmacóforos que permitiram a compreensão de algumas características estruturais envolvidas na atividade anti-*S. aureus* que podem ser útil no planejamento de novos agentes antibacterianos a partir de derivados de chalconas.

Acknowledgments: Fundação Araucária (Protocolo 2010/7354); CNPq (Edital Universal No 458355/2014-3).

## **PERFIL NOCICEPTIVO DE RATOS COM OBESIDADE.**

Rafael Tamborena Malheiros (autor principal); Morgana Duarte da Silva (Orientadora).

A obesidade é um problema de saúde pública em todo o mundo, tendo triplicado sua prevalência nas últimas décadas. Os indivíduos obesos apresentam um desequilíbrio na ingestão de alimentos hipercalóricos, que geram o excesso de tecido adiposo com consequente ganho de peso. Segundo a literatura a obesidade é responsável por uma série de mudanças metabólicas, dentre estas, as alterações no sistema endócrino podem acarretar o aumento ou a redução do limiar de dor, devido ao processo inflamatório crônico gerado pelo tecido adiposo. Neste trabalho tem-se como objetivo verificar o perfil nociceptivo de ratos com obesidade induzida por diferentes dietas hipercalóricas. Serão utilizados 48 ratos do tipo Wistar machos (protocolo CEUA 039/2017). Os animais serão divididos em quatro grupos experimentais: (1) grupo controle (n=12), que receberá ração industrial balanceada (sem aditivos); (2) grupo 1 dieta hipercalórica de óleo de milho (n=12), composta por ração comercial acrescida de banha de porco e óleo de milho; (3) grupo 2 dieta hipercalórica hiperlipídica (n=12), que irá conter ração comercial acrescida de amendoim, chocolate ao leite e biscoito doce; (4) grupo 3 dieta hipercalórica de cafeteria (n=12), composta por ração comercial acrescida de patê, batatas fritas, bacon e biscoitos salgado. Uma semana antes e semanalmente após o início das dietas, até o 60º dia de indução de obesidade, todos os grupos serão avaliados quanto ao peso corporal, à circunferência torácica, o comprimento naso-anal e o Índice de Lee. Além disso, semanalmente ocorrerá a avaliação do perfil nociceptivo mecânico e térmico, utilizando o teste de nocicepção mecânica pelos filamentos de von Frey e o teste de acetona na pata (hiperalgesia térmica ao frio). Resultados esperados: Espera-se encontrar alteração do perfil nociceptivo dos animais com provável diferenciação nos resultados entre os grupos experimentais.

## **AValiação DO PERFIL DE SENSIBILIDADE GERAL DE BACILOS GRAM NEGATIVOS HOSPITALARES DE URUGUAIANA/RS.**

Gabriel Gollino; Caroline Bitencourt; Luísa Quatrin; Nathalia Auzani; Ilson Dias da Silveira;  
Rosa Helena Robales Siqueira; Vanessa Bley Ribeiro.

Bacilos gram negativos (BGN) são altamente associados às infecções comunitárias e hospitalares e o número de cepas multirresistentes a antibióticos tem aumentado consideravelmente. Diversos surtos devidos à KPC e outras carbapenemases já foram descritos no Brasil. Contudo, dados epidemiológicos de certas regiões ainda são escassos. Portanto, o objetivo deste trabalho foi investigar o perfil de sensibilidade (PS) de BGN hospitalares isolados em um laboratório da cidade de Uruguaiana, Rio Grande do Sul, que atende a comunidade e o único hospital da cidade. Culturas que resultaram em teste de sensibilidade (TS), entre outubro de 2016 e outubro de 2017, foram encaminhadas ao laboratório de Microbiologia da UNIPAMPA. O PS foi interpretado conforme as guidelines do Comitê Brasileiro de teste de sensibilidade aos antimicrobianos (BRCast). Testes fenotípicos (TF) com inibidores de beta-lactameses (ácido borônico (AB) e EDTA) foram realizados para os isolados resistentes ou com suscetibilidade reduzida aos carbapenêmicos imipenem (IMI) e/ou meropenem (MER), e as análises moleculares foram realizadas por PCR para os genes blaKPC, blaVIM, blaNDM, blaIMP e blaOXA-48. Durante o período, 453 isolados resultaram em TS por disco-difusão: 271 (59,8%) provenientes da comunidade e 182 (40,2%) de amostras hospitalares. Dos isolados hospitalares, 142 (78%) foram BGN. *E. coli* foi o microrganismo mais prevalente (n=47), sendo 72,3% provenientes de urina. O PS foi maior que 85% para cefalosporinas, amicacina (AMI) e gentamicina (GEN), 33,3% para ciprofloxacino (CIP), e apenas dois isolados foram resistentes para IMI e MER. *Klebsiella* spp. foi o segundo mais prevalente (n=39), isolada principalmente de amostras de urina (35,9%) e do trato respiratório (28,2%). A sensibilidade para cefalosporinas foi inferior a 54%, para GEN e AMI foi 80,7% e 92,3%, respectivamente. Para IMI e MER, o PS foi superior a 83%. *Pseudomonas* spp. totalizam 20 isolados e o PS não excedeu 60%, 85% e 82% para cefalosporinas, AMI, GEN e carbapenêmicos, respectivamente. *Acinetobacter* spp. somaram 25 isolados. O nível de resistência para ampicilina-sulbactam, GEN e CIP foi 47,3%, 64% e 79,1%, respectivamente. Um alto nível de resistência também foi observado para IMI e MER, totalizando 80% dos isolados. O TF com AB foi positivo para 13% dos isolados, dos quais dois confirmaram a presença do gene blaKPC. Para EDTA, 26 isolados tiveram resultados positivos. Até o momento, nenhum isolado foi positivo para os genes

blaVIM, blaNDM, blaIMP e blaOXA-48. A presença de outras enzimas, especialmente oxacilinasas, devem ser avaliadas para uma investigação mais completa dos mecanismos envolvidos na resistência à carbapenêmicos. De qualquer forma, a presença da KPC é suficiente para evidenciar a importância de estudos epidemiológicos no interior do estado, demonstrando que este não é só um problema restrito a cidades maiores ou capitais e merece a devida atenção dos profissionais e instituições de saúde.

## **ESTUDOS DE MODELAGEM MOLECULAR, BUSCA DE FARMACÓFORO, TRIAGEM VIRTUAL DE CHALCONAS COM ATIVIDADE ANTI-STAPHYLOCOCCUS AUREUS.**

Gabriel Gollino; Caroline Bitencourt; Luísa Quatrin; Nathalia Auzani; Ilson Dias da Silveira;  
Rosa Helena Robales Siqueira; Vanessa Bley Ribeiro.

A incidência de resistência bacteriana em cepas patogênicas de *Staphylococcus aureus* Gram-positivo é um dos maiores desafios de saúde pública atualmente, uma vez que sua ocorrência pode resultar em tratamento ineficaz de infecções bacterianas. Alguns chalconas tem atividade antibacteriana potencial o que torna essas moléculas candidatas para o desenvolvimento de antibacterianos novos. Algumas metodologias de desenvolvimento de fármacos, como a modelagem molecular, a pesquisa de farmacóforo, triagem virtual, e toxicidade computacional podem ser aplicadas no desenvolvimento de chalconas bioativas. Neste trabalho estas metodologias foram utilizadas com o objetivo de apoiar a compreensão das propriedades estruturais que podem estar influenciando o anti-*S. aureus*. Estruturas químicas de cinco conjuntos de chalconas (cento e treze compostos bioativos) foram otimizadas e submetidas à análise conformacional no nível de teoria DFT/B3LYP 6-31G+ com o uso de software Spartan'08 for Windows. Todas as estruturas dos conformêros de menor energia, em grupos de trinta compostos, foram submetidas na pesquisa de farmacóforo com o emprego de software PharmaGist. Os modelos de farmacóforo gerados foram utilizados para triagem virtual no servidor ZINCpharmer, onde foram aplicados dois filtros, a regra dos cinco de Lipinski e a previsão de toxicidade pelo software online ADMETSar. Os cinco conjuntos de moléculas permitiram a determinação de quatorze modelos farmacóforos, nos quais os melhores modelos de suas respectivas classes apresentaram as características estruturais de dois anéis aromáticos (aromaticidade) e pelo menos uma região hidrofóbica, e também um grupo aceptor de ligação de hidrogênio. A análise de triagem virtual resultou na obtenção de 22.723.923 compostos com as propriedades físico-químicas dos farmacóforos. Com o uso dos filtros chegou-se a três compostos derivados de benzofurano e benzotiofênicos que são apresentados como candidatos a novos agentes anti-*S. aureus*. Esses estudos indicaram cinco modelos de farmacóforos que permitiram a compreensão de algumas características estruturais envolvidas na atividade anti-*S. aureus*, que pode ser útil no planejamento de novos agentes antibacterianos a partir de derivados de chalconas.

## **VALIDAÇÃO DE MÉTODO INDICATIVO DA ESTABILIDADE POR HPLC PARA DETERMINAÇÃO DE TADALAFILA E SILDENAFILA.**

Mayara Aramburú Pinto, Marcelo Donadel Melsuik

A produção de medicamentos falsificados é um problema criminal que implica em sérios riscos à saúde. A literatura evidencia a falsificação de produtos para o tratamento da disfunção erétil (DE) onde é realizada adulteração da tadalafila (TAD) pela substituição e/ou adição de sildenafil (SIL). Isso pode levar a riscos pois além de conter componentes de natureza duvidosa, o produto não é produzido em ambiente controlado, o que pode afetar a estabilidade dos fármacos. O objetivo do trabalho é desenvolver e validar método indicativo de estabilidade para a determinação simultânea de TAD e SIL em formas farmacêuticas sólidas. Padrão: foram pesados 12,5mg de TAD e 50mg de SIL em 50mL de metanol. Foi retirada alíquota de 1 mL para balão volumétrico de 10 mL para concentração de 25 µg/mL TAD e 100µg/mL SIL. Amostra: mistura de excipientes com concentrações conhecidas de TAD e SIL, preparo idem padrão. Para a validação avaliou-se especificidade, linearidade, repetibilidade, precisão intermediária, exatidão robustez e Limite de Detecção (LD) e Quantificação (LQ) segundo a RDC nº 166/2017 Agência Nacional de Vigilância Sanitária. O melhor desempenho cromatográfico: Coluna Analítica Hypersil TM BDS C18 250 x 4,6 mm, 5 µm; Acetonitrila 80% : MeOH:Trietilamina pH 7,5 30:40:30, v/v; 1mL/min; 20 µL; 25°C; TAD 284 e SIL 292 nm; detector DAD. Especificidade realizada pela degradação forçada dos fármacos nas condições ácida, básica, oxidativa e fotolítica. O método determinou os fármacos com pureza na presença dos produtos de degradação. Linearidade preparou-se concentrações para TAD (2,5; 10; 15; 20; 25; 50 e 75µg mL<sup>-1</sup>) e SIL (5; 10; 15; 25; 50; 100 e 200µg mL<sup>-1</sup>). De acordo com análise de variância (ANOVA) as curvas apresentaram regressão linear significativa, sem desvio da linearidade. A precisão foi feita por repetibilidade e precisão intermediária, resultado expresso como desvio padrão relativo (DPR) de várias medições. Para a repetibilidade analisou-se seis replicatas da amostra na concentração a 25µg mL<sup>-1</sup> TAD e 100µg mL<sup>-1</sup> de SIL. A exatidão determinada pela da recuperação de padrão. O método atendeu às especificações com baixos percentuais de DPR (<2%). Exatidão apresentou resultados com recuperação média de 100,03% (DPR=0,22). Robustez testada pela alterações nos fatores críticos: pH da fase móvel, temperatura, comprimento de onda de detecção, proporção de acetonitrila, fabricante de coluna e fluxo. Os resultados apresentaram baixos valores de probabilidade de erro, comprovando a robustez. LD e LQ os cálculos foram efetuados pelo do sinal ruído.

Verificou-se como LD 0,08µg mL<sup>-1</sup> e 0,18µg mL<sup>-1</sup> para TAD e SIL, respectivamente. LQ obtido 0,12µg mL<sup>-1</sup> e 0,27µg mL<sup>-1</sup> para TAD e SIL, respectivamente, demonstrando sensibilidade. Os resultados obtidos foram correspondentes aos critérios de aceitação. O método é indicativo da estabilidade e pode ser empregado na rotina no controle de qualidade e colaborar com análise forense de produtos ilícitos.

## **PCR-US COMO MARCADOR INFLAMATÓRIO ASSOCIADO À HIPERTENSÃO ARTERIAL SISTÊMICA EM POPULAÇÃO NEGRA DO SUL.**

Patrícia Maurer - Autor principal e apresentador; Lyana Feijoo Berro - coautor; Fernandez dos Santos Garcia - coautor; Jacqueline da Costa Escobar Piccoli - Orientador.

**Introdução:** A proteína C reativa é um marcador de inflamação sistêmica que participa diretamente no processo de aterogênese e modula a função endotelial. No caso da proteína C reativa ultrassensível (PCR-us), a dosagem pode ser realizada por imunoturbidimetria ou imunonefelometria, capazes de quantificar pequenas variações neste marcador, a partir de 0,05mg/dL com alta sensibilidade. Atualmente, é utilizada como marcador de inflamação crônica mais utilizado na prática clínica, cujos valores aumentados (>3mg/L) têm sido associados com maior risco de eventos cardiovasculares. Entretanto, os níveis de referência foram derivados, na maioria, de estudos com populações brancas de origem Europeia, e há limitações no uso da PCR-us como preditor de risco cardiovascular em outras populações. Considerando as diferenças étnicas na biologia e consequentemente no desenvolvimento de doenças, o objetivo do estudo foi verificar a associação da PCR-us com hipertensão em negros e fatores de risco para doença cardiovascular em brancos e negros. O projeto foi aprovado pelo Sistema CEP/CONEP, e após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido os participantes autodeclararam-se brancos ou negros (pretos ou pardos), e realizaram medidas antropométricas e coleta de sangue venoso de acordo com procedimentos padrão para análise de parâmetros laboratoriais. Os marcadores bioquímicos (glicose, perfil lipídico e hepático) foram realizados com kits comerciais em equipamento semiautomático ChemWell T (Labtest®). A medida do marcador inflamatório PCR-us foi realizada por método imunoturbidimétrico em equipamento Cobas Mira (Roche®). Os resultados foram analisados em programa SPSS v.20.0, através de estatística descritiva e apresentados em médias  $\pm$  desvio padrão; e as associações foram realizadas por meio do teste t de Student, sendo considerados significativas se  $p \leq 0,05$ . Participaram do estudo 300 pessoas, 115 (38,4%) negras, 86 (28,6%) pardas e 99 (33,0%) brancas. A idade média foi de  $50,3 \pm 14,5$  anos, e a maioria era do sexo feminino (78,7%). 155 voluntários (51,7%) eram hipertensos e destes, 102 (64,5%) utilizavam tratamento anti-hipertensivo. A média da PCR-us foi de  $6,64 \pm 6,60$  mg/L, indicando que toda a população estava com risco cardiovascular aumentado. A PCR-us foi associada com hipertensão arterial sistêmica (PCR-us hipertensos=7,36mg/L; PCR-us normotensos=5,90mg/L,  $p=0,05$ ), com tabagismo

(PCR tabagistas=10,18mg/L; PCR não tabagistas=7,09mg/L,  $p<0,01$ ) e com o sexo feminino (PCR mulheres=7,17mg/L; PCR homens=4,74mg/L,  $p<0,01$ ), mas não com a presença de síndrome metabólica, que analisa em conjunto a presença de diversos fatores de risco cardiovascular. A proteína C reativa foi associada com hipertensão em negros. Os resultados apontam a necessidade de se estabelecer níveis específicos para esta população, uma vez que a população inteira estudada apresentou uma média deste marcador inflamatório maior.

## **EFEITO DO AGULHAMENTO SECO SOBRE MODELO DE DOR MUSCULAR INDUZIDA POR SALINA ÁCIDA EM RATOS.**

Daniel Tassinari Felber - autor principal e apresentador

Morgana Duarte da Silva - orientadora.

A dor muscular é um problema clínico de saúde que apresentou diferentes descrições e terminologias com o desenvolvimento de pesquisas na área ao longo dos últimos séculos. Isso reflete a lenta evolução e compreensão sobre as alterações que possibilitam o surgimento de pontos hipersensíveis em bandas musculares tensas à palpação. As bandas tensas não apresentam aspecto inflamatório e, desde 1950, a denominação de pontos-gatilho (PG) miofasciais vem sendo utilizada para descrever estes distúrbios musculares, sendo atualmente o principal sinal da Síndrome de Dor Miofascial (SDM). Estudos em animais comprovaram que a infusão de salina ácida possibilita a ativação de nociceptores quimiossensíveis que promovem uma hiperalgesia local não inflamatória, semelhante à promovida pelos PGs. Devido ao seu caráter incapacitante e aos elevados custos em saúde promovidos pela SDM, a Fisioterapia tem papel importante na inativação dos PGs, aprimorando inúmeros recursos e terapias manuais para resolução dos sintomas e melhora da atividade muscular. Dentre estes recursos, o agulhamento seco (Dry Needling) está sendo disseminado no mundo todo, demonstrando resultados positivos na inibição da dor em PGs. Objetivos: Verificar o efeito do agulhamento seco sobre a nocicepção, edema e aspectos oxidativos em ratos submetidos ao modelo de dor muscular induzida por salina ácida. Metodologia: Para tanto serão utilizados ratos Wistar (machos, + 250 g) que serão organizados em 6 grupos: (1) controle – salina estéril intra-muscular (i.m.); (2 - 6) grupos intervenção – salina ácida e tratamentos: (agulhamento superficial); (4) agulhamento profundo, (5) agulhamento “twitch”; (6) pregabalina. A dor muscular será induzida pela injeção de 100 µl de salina ácida no músculo gastrocnêmio direito dos animais no 1º e 5º dia. Os animais passarão por uma avaliação basal e após a segunda injeção de salina: hiperalgesia mecânica (primária e secundária) - filamentos de von Frey e compressão com pinças calibradas no musculo; hiperalgesia térmica (frio) - acetona; edema muscular - paquímetro; atividade locomotora - campo aberto; e termografia clínica computadorizada - aquisição de imagens da pata com câmera termográfica específica. Após a avaliação, os animais dos grupos tratamentos serão submetidos à punção do músculo gastrocnêmio com agulha de acupuntura (0,20x30mm). Ao final, o músculo gastrocnêmio será retirado, e serão analisados os parâmetros oxidativos e a histologia do mesmo. A análise estatística dos dados será

realizada utilizando-se o Software GraphPad®, sendo expressos como média  $\pm$  erro padrão da média, considerado significativo  $p < 0,05$ . Resultados esperados: Espera-se que pelo menos um dos protocolos de agulhamento seco seja capaz de reduzir a hiperalgesia dos animais no modelo de dor induzida pela salina ácida.

## **HIDROLISADO DE CLARA DE OVO PREVINE O ESTRESSE OXIDATIVO INDUZIDO POR MERCÚRIO SOBRE RINS E FÍGADO DE RATOS.**

Danize Aparecida Rizzetti (Autor principal), Giulia Alessandra Wiggers (coordenadora), Grazielly Caroline da Silva (apresentadora), Franck Maciel Peçanha (autor), Alyne Goulart Escobar (autor), Janaina Piagette (autor), Dalton Valetim Vassallo (autor).

O mercúrio (Hg) tornou-se uma preocupação crescente em todo o mundo, devido aos seus efeitos deletérios, pela sua acumulação em órgãos alvo como rins e fígado, levando ao estresse oxidativo e à depleção do sistema antioxidante. Neste contexto, os peptídeos derivados da clara de ovo apresentam atividades biológicas e podem atuar como agentes antitóxicos, pelas suas propriedades antioxidantes. Objetivo: Nosso estudo testou a hipótese de que o hidrolisado de clara de ovo (HCO) é capaz de prevenir os efeitos oxidativos da exposição prolongada ao Hg nos rins e fígado de ratos. Material e Métodos: Ratos Wistar machos foram tratados por 60 dias com: a) Controle - Solução salina (i.m.); b) Hidrolisado - EWH (1 g/kg/dia, gavagem); c) Mercúrio - HgCl<sub>2</sub> (1ª dose 4,6 µg/kg, doses subsequentes 0,07 µg/kg/dia, i.m.); d) Hidrolisado-Mercúrio. No final do tratamento, os órgãos foram pesados, a concentração de Hg e ensaios histológicos foram realizados nos rins e no fígado; níveis de espécies reativas de oxigênio (EROS), peroxidação lipídica e capacidade antioxidante em rins e fígado também foram mensurados. Resultados: Não houve alterações no peso dos órgãos e na estrutura histológica dos rins e do fígado. No entanto, houve uma deposição significativa de metal nos rins e fígado quando comparado com ratos controle, a qual permaneceu elevada em ratos que receberam HCO (Rins - Controle: 6,3±0,2; Mercúrio: 685,2±73,0\*; Hidrolisado: 5,4±1,1; Hidrolisado-Mercúrio: 771,0±74,1#; Fígado - Controle: 0,4±0,1; Mercúrio: 4,3±0,5\*; Hidrolisado: 0,4±0,1; Hidrolisado-Mercúrio: 5,1±0,5#; ANOVA uma via, \*P<0,05 vs Controle e #P<0,05 vs Mercúrio). Além disso, o tratamento com HgCl<sub>2</sub> aumentou a peroxidação lipídica e diminuiu a capacidade antioxidante nos rins e no fígado de ratos expostos. No entanto, esses efeitos nocivos foram prevenidos pelo HCO. Conclusão: O HCO pode representar uma poderosa alternativa natural para proteger os rins e o fígado contra a toxicidade induzida por Hg.

## **AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE PROTEÇÃO OU REVERSÃO DA 5-CLORO-ISATINA-3-OXIMA NA INTOXICAÇÃO AGUDA COM MALATHION EM *Caenorhabditis elegans*.**

Alisson Rodrigues, Mauricio Tavares Jacques, Simone Pinton, Vanessa Carratu Gervini,  
Daiana Ávila.

Pesticidas são compostos químicos usados na agricultura para impedir o crescimento de organismos como plantas daninhas e insetos como a lagarta; porém, é comum que pessoas –principalmente agricultores- tenham contato direto com esses compostos. O malathion é um pesticida da classe dos organofosforados, e desse modo, quando entra em contato com o sistema nervoso, tem a capacidade de reagir e ligar-se irreversivelmente à acetilcolinesterase –uma enzima que hidrolisa a acetilcolina (Ach). Ao reagir, a acetilcolinesterase torna-se incapaz de degradar a Ach, o que resultará em um acúmulo de Ach na fenda sináptica, esse acúmulo faz com que ocorra constantes estímulos nervosos, já que acetilcolina permanece na fenda estimulando neurônios próximos. Nos nossos experimentos usamos a 5-cloro-isatina-3-oxima, uma oxima sintetizada pelo Laboratório de Catálise e Síntese Orgânica da FURG com o objetivo de reverter (pós oxima) a ligação do organofosforado com a acetilcolinesterase ou proteger (pré oxima) contra essa ligação. Para tanto, utilizamos *Caenorhabditis elegans* como um modelo experimental alternativo para esse ensaio. O *C. elegans* é um nematoide que oferece diversos benefícios por possuir um ciclo de vida curto (21 dias), ser transparente -permite visualizar neurônios-, baixo custo de manutenção e fácil manipulação. Nesse sentido, nosso objetivo foi avaliar o potencial de reversão/proteção da 5-cloro-isatina-3-oxima em *C. elegans* intoxicados com o malathion. Para isso, realizamos 3 tipos de ensaios; um para determinarmos a Concentração Letal (CL50) do malathion, um pré-malathion/pós oxima e outro pré oxima/pós malathion. Ambos ensaios foram feitos com vermes em estágio larval L1, tratados de forma aguda sendo expostos por 30 minutos aos compostos, lavados 3 vezes com salina, transferidos para placas de Petri contendo meio NGM e após 48h analisamos os resultados. A partir desses procedimentos, obtivemos uma CL50 do malathion comercial de 0,1483%. Em relação aos testes com a oxima, estatisticamente, ela não foi capaz de reverter o dano causado pelo pesticida em vermes ou protegê-los contra o mesmo. Desse modo, são necessários mais estudos para avaliar o efeito farmacológico de novas oximas, em especial comparando com uma oxima padrão como a pralidoxima, para que oximas eficientes que consigam

preservar ou reparar o dano causado pela toxicidade de organofosforados sejam encontradas.

## DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS CONTENDO ÓLEOS ESSENCIAIS.

Riciele Moreira de Moraes; Letícia Marques Colomé.

A utilização dos óleos vegetais no tratamento de várias patologias vem se destacando nas últimas décadas, devido a composição química de seus constituintes e suas propriedades medicinais. O óleo de copaíba (*Copaifera officinalis* L. - Leguminosae) originado da árvore de copaíba é constituído de uma resina sólida não volátil e um óleo essencial volatilizado, apresentando diversas atividades como: antitumoral, antibacteriana, cicatrizante e antifúngica; O cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* L.) pertence à família *Myrtaceae* tem como composto majoritário o eugenol, conferindo-lhe atividade antiviral, antiúlcera, antifúngica, entre outras. As nanocápsulas são sistemas vesiculares com tamanho inferior a 1 micrômetro em que o fármaco encontra-se confinado em uma cavidade aquosa ou oleosa rodeado por uma rede polimérica, sendo considerado um sistema reservatório. O objetivo deste estudo foi preparar e caracterizar nanocápsulas poliméricas contendo como núcleo oleoso diferentes óleos essenciais. As nanocápsulas (NC) foram preparadas pelo método de deposição interfacial de polímero pré-formado, utilizando polímero biodegradável poli- $\epsilon$ -caprolactona (PCL) e óleo de copaíba (NC-COP), óleo de cravo (NC-CRA) como núcleo oleoso, como controle triglicerídeo de cadeia média (NC-TCM). O tamanho de partícula e o Span foram avaliados pela técnica de difratometria de laser utilizando o equipamento Mastersizer® 2000 (Malvern Instruments). O potencial zeta foi determinado por método eletroforético pelo Zeta Plus (Brookhaven Instruments Corporation). O pH foi determinado pelo potenciômetro (Hanna®). Os resultados dos protocolos experimentais foram analisados estatisticamente mediante a aplicação de análise de variância (ANOVA) com nível de significância de 0,05. Como resultado, as suspensões de nanocápsulas foram preparadas com sucesso apresentando coloração branca leitosa e uniforme. O tamanho médio nas nanocápsulas apresentou valores entre 202 nm até 264 nm. Embora as nanocápsulas contendo TCM tenham apresentado um tamanho aparentemente superior em relação as demais formulações, não houve diferença significativa ( $p > 0.05$ ) no tamanho médio das nanocápsulas analisadas. A comparação do potencial zeta das nanocápsulas contendo diferentes óleos também revelou não haver diferença significativa entre as amostras. O pH de todas as formulações apresentou valores entre 4,48 e 5,71. O valor de Span variou entre 1,44 até 2,27, indicando homogeneidade da distribuição granulométrica, uma vez

que todos os valores se apresentaram próximos a 2. Visto que todas as formulações preparadas apresentaram valores satisfatórios em relação aos parâmetros avaliados, as nanocápsulas foram consideradas apropriadas para encapsulação dos óleos envolvidos neste estudo, constituindo-se assim um carreador promissor para futuros trabalhos envolvendo avaliações de estabilidade e eficácia terapêutica.

## **EFEITOS DA EXPOSIÇÃO CRÔNICA AO CLORETO DE COBRE (CUCL<sub>2</sub>) SOBRE PARÂMETROS CARDIOVASCULARES, REPRODUTORES E DE ESTRESSE OXIDATIVO DE RATOS.**

Janaina Trindade Piagette (autor principal, apresentador), Giulia Wiggers (coordenadora, orientador).

O Cobre (Cu) é amplamente distribuído na natureza e considerado um elemento essencial, o qual atua em diversas funções fisiológicas e bioquímicas no organismo humano. Para a população em geral, a maior parte deste micronutriente é obtida da dieta, por legumes, carnes, frutos secos e bebidas, inclusive água. Os efeitos do cobre (Cu) sobre os sistemas cardiovascular e reprodutor são pouco elucidados. Objetiva-se estudar os efeitos da exposição crônica CuCl<sub>2</sub> ao sobre os sistemas cardiovascular e reprodutor e, sobre biomarcadores de estresse oxidativo em ratos. Ratos Wistar serão divididos em dois grupos e tratados por 60 dias: Controle – (veículo) 1.1 ml salina, por gavagem.; b) CuCl<sub>2</sub>- 1.8 mg/Kg/dia de CuCl<sub>2</sub>, gavagem. A dose de cobre escolhida para o tratamento foi calculada baseado no dobro do valor da dose de Ingestão Diária Recomendada atualmente. Durante o tratamento será mensurada semanal a pressão arterial por pletismografia caudal. Após o final do tratamento, os animais serão anestesiados para a realização dos experimentos de medida de pressão invasiva e por conseguinte eutanasiados para a realização de pesagem de órgãos, análise de parâmetros espermáticos (produção diária de espermatozoide no testículo, contagem espermática, tempo de trânsito do espermatozoide no epidídimo, motilidade e morfologia espermática), análise histopatológica dos órgãos (cérebro, rim, fígado, coração, aorta, órgãos reprodutores e tecido adiposo), análise sanguínea e tecidual de estresse oxidativo (níveis de peroxidação, determinação da atividade das enzimas antioxidantes, concentração de Grupos Tióis não-protéicos –NPSH); análise da expressão proteica (eNOS, COX, SOD, Glutathione e Catalase); reatividade vascular de artérias de condutância (aorta) e resistência (mesentérica). Os resultados serão analisados de acordo com as características dos dados por teste-T não-pareado e análise de variância (ANOVA) de uma e duas vias seguido pelo pos-hoc de Bonferroni (P<0,05). Espera-se com este trabalho fomenta uma nova linha de investigação no laboratório de Fisiologia Cardiovascular com a inserção de um novo metal, o Cobre como objeto de investigação de seus efeitos desencadeados em um modelo de sobrecarga de cobre em doses superiores ao valor de ingestão diária recomendada e os possíveis mecanismos envolvidos nessas alterações. Ainda pretende-se aumentar o conhecimento acerca dos efeitos tóxicos de uma exposição crônica e prolongada ao

Cu, similar a exposição humana ao metal através suplementação vitaminica sem critérios e com a contaminação da água, sobre os sistemas reprodutor e cardiovascular, bem como, esclarecer os possíveis mecanismos envolvidos na ação do Cu sobre estes sistemas.

## **DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FORMULAÇÕES TÓPICAS NANOPARTICULADAS CONTENDO FILTRO SOLAR E ANTIOXIDANTE.**

Natalia Camargo Borba, autor principal. Letícia Colome, coordenador.

O câncer de pele é uma patologia crônica muito frequente no nosso país, associado a fatores ambientais, genéticos, infecciosos e sociais que colaboram diretamente para seu desenvolvimento. Tal tipo de câncer se apresenta sob a forma melanoma e não melanoma, sendo este último o mais frequente na população brasileira (POPIM et al, 2008). O principal objetivo do uso de protetores solares é a redução da quantidade de radiação UV absorvida pela pele humana. A formulação de fotoprotetores é baseada em filtros orgânicos ou inorgânicos. Um dos filtros mais utilizados são as benzofenonas, uma classe pertencente à categoria das cetonas aromáticas que possuem a habilidade de absorver e dissipar a radiação UVA (LORCA, 2012). Já quando se trata da proteção contra a radiação UVB, um dos filtros mais utilizados é o octilmetoxicinamato, porém o mesmo apresenta a desvantagem da fotoinstabilidade. O equilíbrio da pele pode ser alterado por diversos fatores, sendo a exposição solar um dos mais importantes por seus efeitos cumulativos, podendo ter como consequência o câncer de pele. Uma alternativa para a redução dos danos oxidativos induzidos pela radiação UV é a aplicação tópica de antioxidantes (SCOTTI et al., 2007). Curcuma longa é uma planta da família Zingiberaceae, sendo normalmente utilizada como tempero e corante alimentício. Nos seus rizomas são encontradas quatro curcuminóides, dentre elas a curcumina que apresenta uma acentuada propriedade antioxidante (CAMARGOS, 2013). A utilização da nanotecnologia tem aumentado consideravelmente o desempenho de fármacos e ativos cosméticos, visto que pode aumentar a estabilidade de diversos ativos e permitir uma liberação controlada das substâncias (MIHRANYAN, 2012). Considerando o exposto, o principal objetivo desse trabalho é o desenvolvimento de nanopartículas poliméricas contendo filtros solares (benzofenona e octilmetoxicinamato) associados à curcumina, visando obter-se uma formulação fotoprotetora com adicional efeito antioxidante, assim podendo prevenir o envelhecimento cutâneo. A preparação das nanopartículas poliméricas será realizada pelo método de deposição de polímero pré-formado. A caracterização físico-química será feita pela avaliação de tamanho e distribuição granulométrica, potencial zeta, pH, doseamento e taxa de encapsulação dos ativos. A estabilidade frente à luz também será aferida em câmaras de fotoestabilidade utilizando luz UVC. A permeação in vitro será avaliada em célula de difusão de Franz adaptada utilizando membranas naturais.

Serão elaboradas ainda formulações semissólidas para a obtenção de uma forma adequada para aplicação cutânea. Por último será realizada uma análise sensorial com o objetivo de comparar os dois veículos. Com o desenvolvimento deste projeto pretende-se obter uma formulação cosmética inovadora para a veiculação de octilmetoxicinamato, benzofenona e curcumina baseada em nanopartículas, a qual deve constituir-se em um filtro solar com adicional propriedade antioxidante.

## **AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA CLOZAPINA E DAS NANOCAPSULAS SPAN 60 E LIPOID 45 NO COMPORTAMENTO DO MODELO ALTERNATIVO CAENORHABDITIS ELEGANS.**

Luiz Brasil Lopes Rodrigues Junior (Autor Principal, Apresentador) Daiana Silva de Ávila (Orientadora).

O câncer de pele é uma patologia crônica muito frequente no nosso país, associado a fatores ambientais, genéticos, infecciosos e sociais que colaboram diretamente para seu desenvolvimento. Tal tipo de câncer se apresenta sob a forma melanoma e não melanoma, sendo este último o mais frequente na população brasileira (POPIM et al, 2008). O principal objetivo do uso de protetores solares é a redução da quantidade de radiação UV absorvida pela pele humana. A formulação de fotoprotetores é baseada em filtros orgânicos ou inorgânicos. Um dos filtros mais utilizados são as benzofenonas, uma classe pertencente à categoria das cetonas aromáticas que possuem a habilidade de absorver e dissipar a radiação UVA (LORCA, 2012). Já quando se trata da proteção contra a radiação UVB, um dos filtros mais utilizados é o octilmetoxicinamato, porém o mesmo apresenta a desvantagem da fotoinstabilidade. O equilíbrio da pele pode ser alterado por diversos fatores, sendo a exposição solar um dos mais importantes por seus efeitos cumulativos, podendo ter como consequência o câncer de pele. Uma alternativa para a redução dos danos oxidativos induzidos pela radiação UV é a aplicação tópica de antioxidantes (SCOTTI et al., 2007). Curcuma longa é uma planta da família Zingiberaceae, sendo normalmente utilizada como tempero e corante alimentício. Nos seus rizomas são encontradas quatro curcuminóides, dentre elas a curcumina que apresenta uma acentuada propriedade antioxidante (CAMARGOS, 2013). A utilização da nanotecnologia tem aumentado consideravelmente o desempenho de fármacos e ativos cosméticos, visto que pode aumentar a estabilidade de diversos ativos e permitir uma liberação controlada das substâncias (MIHRANYAN, 2012). Considerando o exposto, o principal objetivo desse trabalho é o desenvolvimento de nanopartículas poliméricas contendo filtros solares (benzofenona e octilmetoxicinamato) associados à curcumina, visando obter-se uma formulação fotoprotetora com adicional efeito antioxidante, assim podendo prevenir o envelhecimento cutâneo. A preparação das nanopartículas poliméricas será realizada pelo método de deposição de polímero pré-formado. A caracterização físico-química será feita pela avaliação de tamanho e distribuição granulométrica, potencial zeta, pH, doseamento e taxa de encapsulação dos ativos. A estabilidade frente à luz também será aferida em câmaras de fotoestabilidade utilizando luz UVC. A permeação in vitro

será avaliada em célula de difusão de Franz adaptada utilizando membranas naturais. Serão elaboradas ainda formulações semissólidas para a obtenção de uma forma adequada para aplicação cutânea. Por último será realizada uma análise sensorial com o objetivo de comparar os dois veículos. Com o desenvolvimento deste projeto pretende-se obter uma formulação cosmética inovadora para a veiculação de octilmetoxicinamato, benzofenona e curcumina baseada em nanopartículas, a qual deve constituir-se em um filtro solar com adicional propriedade antioxidante.

## **AVALIAÇÃO DA RELAÇÃO GENE X AMBIENTE: EFEITOS DO MANGANÊS NA DOENÇA DE HUNTINGTON EM CAENORHABDITIS ELEGANS.**

Sue Ellen Gabriela Girón de Souza, William Salgueiro e Daiana Ávila (colaboradora).

As doenças neurodegenerativas podem surgir dos mais diversos fatores, sendo eles ambientais ou genéticos, afetando de maneira progressiva e degenerativa pessoas de diferentes idades como, por exemplo, a Doença de Huntington (DH) ou o manganismo, uma condição neurológica que é caracterizada pela sinalização anormal da dopamina (DA), pelo estresse oxidativo, e a morte celular (Jeffrey E. Post, 1999). Usamos nematódeo *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) como modelo porque possui um ciclo de vida curto (Donald, 1997; Kenyon, 19884; Wood, 1988) e por sua possibilidade de geração de cepas transgênicas como as que expressam a poliglutamina humana direcionada para todos os neurônios do verme, como é o caso da cepa AM101 (*rmls110* [F25B3.3p::Q40::YFP]) (Gidalevitz T, et al., 2006). Neste trabalho utilizamos *C. elegans* mutantes como modelo, com o objetivo de avaliar a resistência a toxicidade do Mn em vermes mutantes, pois foi observado a expressão de PolyQ mutante podendo estar associada à resistência à toxicidade do Mn. Utilizamos a cepa AM101 *rmls110* [F25B3.3p::Q40::YFP], e a cepa N2 (tipo selvagem). Os vermes foram mantidos em condições padrão de cultura a 20°C, em placas de petri de plástico de 100 ou 150 mm de diâmetro contendo meio ágar 8P (3 g/L NaCl; 25 g/L ágar; 20 g/L peptona; 1 mM CaCl<sub>2</sub>; 5 mg/L colesterol; 1 mM MgSO<sub>4</sub>; 25 mM KPO<sub>4</sub>-2) contendo a linhagem NA22 de *Escherichia coli* (como alimento) para manutenção das culturas. Foi realizada uma exposição aguda com MnCl<sub>2</sub>, utilizando 1500 vermes na fase L1. Os vermes foram expostos por 30 minutos em diferentes concentrações de Mn (10mM a 200mM), em duplicatas, mantidas em homogeneizador a 20°C. Após o tratamento transferimos 50 vermes, observando nos dias 6, 9 e 12 pós-eclosão e utilizando 10 vermes para cada um dos dias. Os vermes que expressam a poliglutamina humana apresentaram menor taxa de mortalidade em relação aos selvagens expostos às mesmas concentrações de Mn, sugerindo que a expressão de PolyQ mutante pode estar associada à resistência à toxicidade do Mn, o que já foi observado em outros modelos como em camundongos e culturas de células estriatais (Benedetto et. al., 2010). Uma vez que a cepa AM101 expressa poliQ marcada com YFP observamos que o Mn induziu maior quantidade de agregados nos neurônios colinérgicos e dopaminérgicos ao longo dos dias. Os vermes da linhagem selvagem ao serem expostos ao Mn nas mesmas concentrações ao verme que expressa a poliglutamina

apresentou uma sobrevivência menor. Como foi visto (Williams, Blairanne B. et al) essa interação neuroprotetiva foi altamente específica de metal, sugerindo uma relação única entre a toxicidade mutante htt e Mn. Serão necessários mais trabalhos para avaliar os efeitos que o Mn causa na PolyQ, suas conseqüências na HD e se os fatores ambientais encontram-se influenciando ou não.

Agradecendo a colaboração do Lab GBToxCe e a FAPERGS por incentivar-me neste trabalho.

## **PAPEL DE NANOPARTÍCULAS DE LUTEÍNA SOBRE O MODELO EXPERIMENTAL DE DOENÇA DE PARKINSON EM *Drosophila Melanogaster*.**

Coordenador: Gustavo Petri Guerra

Autor principal: Eliana Jardim Fernandes

Apresentador: Eliana Jardim Fernandes

Coautor 1: Magna Sotelo Barrientos

Coautor 2: Márcia Rósula Poetini

Coautor 3: Stífani Machado Araujo

Coautor 4: Elize Aparecida Santos Musachio

Coautor 5: Shanda de Freitas Couto

Coautor 6: Vandrezza Cardoso Bortolotto.

A doença de Parkinson (DP) é a segunda doença neurodegenerativa mais comum em pessoas com idade acima dos 60 anos. O desenvolvimento de novas opções terapêuticas, sendo mais eficazes, seguras e que diminuam os efeitos colaterais, consiste em um dos objetivos do cenário científico internacional. A luteína, principal carotenoide encontrado no cérebro humano, é um possível candidato no tratamento de doenças neurodegenerativas. Assim, o objetivo do presente projeto será avaliar o efeito de nanopartículas de luteína sobre um modelo experimental de DP em *Drosophila melanogaster*, considerando um aumento na sua biodisponibilidade e o envolvimento do BDNF como possível mecanismo de ação. O tratamento será realizado com a indução da DP, as moscas receberão rotenona (dissolvido em etanol a 98%) será adicionada a dieta das moscas na concentração final de 500  $\mu\text{M}$ , responsável por causar 50% de morte das moscas após 7 dias de exposição. O meio alimentar total contém um volume de 1% de etanol. Após as moscas serão divididas em 7 grupos para administração das dietas nas seguintes formas: controle 5 ml de meio padrão (1% de ágar; 1% de levedura; 2% de sacarose; 1% de leite em pó; 0,08% de Nipagin), dieta contendo luteína na forma livre (2 ou 200  $\mu\text{M}$ ), óleo de oliva ou luteína na forma de nanopartículas (2, 6 ou 20  $\mu\text{M}$ ), durante 7 dias. Nanopartículas de luteína serão obtidas pela técnica de miniemulsificação e caracterizadas. Uma curva dose-efeito de luteína será realizada para definir a dose a ser utilizada nos experimentos subsequentes que verificarão o efeito da luteína sobre o modelo experimental de DP em *Drosophila melanogaster*. Para verificar o efeito da luteína sobre a DP, as moscas serão avaliadas nas tarefas comportamentais de Geotaxia negativa e Open-field. Se confirmado um aumento significativo dos efeitos da luteína

na forma de nanopartículas em relação a forma livre, como esperado, nos experimentos subsequentes será utilizada apenas a luteína na forma de nanopartículas. Em seguida, as moscas serão utilizadas para o preparo de amostras para realização da eletroforese (expressão BDNF), determinação dos indicadores de estresse oxidativo e níveis de dopamina. É esperado que a exposição das moscas a dieta contendo luteína promova proteção sobre o dano causado pelo modelo experimental de DP induzido por rotenona. Espera-se melhorar a atividade locomotora das moscas, prevenir alterações nos indicadores estresse oxidativo e principalmente aumentar a expressão de BDNF. Com a realização do presente projeto esperamos elucidar os mecanismos de ação da luteína, assim como, as alterações na sua biodisponibilidade contribuindo para definição da luteína como um alvo terapêutico no desenvolvimento de drogas para o tratamento da DP.

## **AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DE NANOPARTÍCULAS DE ZEÍNA CONTENDO AZADIRACTINA EM *C. elegans*.**

Danielle Araujo - Apresentador e Autor; Daiana Ávila - Coordenador; Mônica Pascoli - Autor Principal; Leonardo Fraceto - Coordenador Principal e Maurício Tavares Jacques - Autor.

Os biocidas podem ser substâncias químicas sintéticas ou de origem natural ou ainda micro-organismos que se destinam a destruir, tornar inofensivo, evitar ação ou exercer um controle sobre qualquer organismo vivo que seja considerado nocivo a determinada cultura. Atualmente os biocidas estão sendo largamente utilizados em todo mundo como um dos meios de se aumentar a produtividade na agricultura.

Uma das principais vantagens no emprego de biocidas botânicos é a sua rápida degradação pela luz solar e baixa persistência no ambiente. Em geral, os biocidas são seletivos à espécie de interesse, não sendo prejudiciais às espécies benéficas.

O óleo de neem, extraído da *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae), é um inseticida bem conhecido e utilizado. Algumas formulações a base de extratos orgânicos, de óleos brutos ou de limonoides purificados de suas sementes encontram-se disponíveis no mercado de diferentes países. A azadiractina é o metabolito mais importante produzido por essa espécie. Todas as partes das plantas apresentam esses componentes (caule, folhas e sementes), sendo a maior concentração presente nas sementes. Apesar da ampla gama de efeitos biológicos, o fato de serem fotoinstáveis e termolábeis tem limitado a eficácia das formulações comercializadas. Uma das soluções para contornar esse problema é o encapsulamento dos compostos naturais em escala nanométrica, o que, além de aumentar o efeito residual, possibilita o controle da liberação do ativo, permitindo melhorar a eficiência e a persistência dos biopesticidas. Nesse contexto, nosso objetivo foi avaliar os efeitos de interação de nanopartículas de zeína contendo azadiractina com organismo do solo *Caenorhabditis elegans* a fim de obter informações sobre o potencial de toxicidade. Os *C. elegans* no primeiro estágio larval (L1) foram obtidos por um processo de sincronização. Após 14 horas, as larvas recém eclodidas foram tratadas com diferentes concentrações de nanopartículas de zeína contendo azadiractina, nanopartículas vazias e formulação comercial de azadiractina, por 30 minutos, em meio líquido. Logo após este tratamento foi transferido para placas de Petri contendo NGM e *E. coli* OP50 por 48h. Após 48h (exposição crônica), os vermes foram analisados. Para os ensaios de sobrevivência, eles foram contados e comparados com o grupo controle a fim de traçar uma curva de sobrevivência e calcular a CL50. A reprodução foi avaliada através do tamanho da ninhada e para determinação do tamanho dos animais, fotos foram tiradas dos

diferentes grupos de tratamentos com o auxílio de um microscópio com câmera acoplada. Foi possível observar que a formulação comercial é mais tóxica ao *C. elegans* do que formulações de nanopartículas contendo azadiractina e as nanopartículas vazias, em todos os parâmetros. Os dados encontrados mostram, por meio da utilização de um modelo alternativo e complementar, a importância de encapsulação da azadiractina e as diferenças toxicológicas entre as formulações.

## **PERFIL DA PESQUISA EM ENSINO DE FISIOLOGIA NO BRASIL.**

Rui Seabra Machado (Autor principal-apresentador); Pâmela Billig Mello Carpes (Orientadora).

Um dos grandes desafios que a academia enfrenta é a formação dos recursos humanos para a área da saúde e ciências biológicas, áreas para as quais a fisiologia é um componente curricular básico importante para garantir o entendimento dos processos funcionais do corpo humano. Embora atualmente tenhamos tido alguns avanços nas metodologias utilizadas para o ensino de fisiologia, estes avanços pouco raramente são baseados em evidências científicas, pois poucas pessoas se interessam em pesquisar nesta área. O objetivo principal deste projeto de pesquisa é estudar o status da pesquisa em Ensino de Fisiologia no Brasil. Para tanto propomos: (i) verificar a inserção da linha de pesquisa em Ensino de Fisiologia nos programas de pós-graduação brasileiros; (ii) identificar os grupos de pesquisa com esta linha cadastrada no Diretório de Grupos de Pesquisa (DGP) do CNPq; (iii) verificar as produções relacionadas a esta linha destes grupos; e; (iv) avaliar as iniciativas de estimulação para estudo e pesquisa nesta área. Este estudo será pelos grupos de pesquisa brasileiros cadastrados no DGP do CNPq que tenham entre suas linhas de pesquisa o ensino de Fisiologia (ou termos correlatos), assim como pelos pesquisadores destes grupos. Os dados serão coletados em duas etapas: (i) pesquisas em base de dados oficiais do DGP/CNPq, na qual serão coletadas informações: (i) demais linhas de pesquisa trabalhadas no grupo; (ii) proporção das publicações na linha de Ensino em Fisiologia em relação as outras linhas do grupo; (iii) características do grupo como localização, número de integrantes, características da IES, etc; e; (ii) entrevista semiestruturada com os líderes dos grupos de pesquisa. Os resultados da primeira etapa serão analisados utilizando estatística descritiva. As entrevistas serão transcritas, analisadas e categorizadas. Esperamos encontrar um cenário embrionário desta linha de pesquisa - Ensino em Fisiologia, mesmo que os dados sejam poucos, dispersos e possivelmente insipientes. AGRADECIMENTOS – Este projeto conta com o apoio da CAPES, através da concessão de bolsa de estudos DS.