



ANAIS DO EVENTO

ISSN: 2675-8008 | V.3 n.4 (2022)



**III Congresso Brasileiro
de Biologia Molecular
On-line | CONBRAMOL**

ORGANIZAÇÃO

Eventos Científicos Brasil
Instituto Multiprofissional de Ensino – IME
CNPJ 36.773.074/0001-08

PARCEIROS

Editora IME
Associação Brasileira de Educação a Distância – ABED

COMISSÃO CIENTÍFICA

Alexis Germán Murillo Carrasco
Amanda Gabrielly Santana Silva
Angelo Constantino Camilli
Brenda de Oliveira da Silva
Carolina Batista
Carolina Girotto Pressete
Cibele EDOM Bandeira
Daoana Carolaine Alka Cordeiro
Eliza Miranda Ramos
Fabiana Aparecida Caldart Rodrigues
Flavia Campos Vieira
Gercimar Martins Cabral Costa
Isabel Celeste Caires Pereira Gusmão
João Batista Vieira
Josias Alves Machado
Karina Midori Endo
Lilian Costa E Silva
Loren Queli Pereira
Marcieli Borba Do Nascimento
Michelle do Nascimento Sales
Moseli Romana
Nadja Maria da Costa Melo
Oswaldo Gomes Pinto
Rafaela Eloi de Almeida Alves
Rafaela Rossi Rosolen
Rubens Barbosa Rezende
Sâmmea Martins Vieira
Thaís Correia Magalhães
Thales Henrique Barbosa de Oliveira
Victor Augusto Benedicto dos Santos
Vivian Vasconcellos Soares



A editora IME é a editora vinculada ao **III Congresso Brasileiro De Biologia Molecular On-Line** (III CONBRAMOL) atuando na publicação dos anais do respectivo evento.

A editora IME tem como objetivo difundir de forma democrática o conhecimento científico, portanto, promovemos a publicação de artigos científicos, anais de congressos, simpósios e encontros de pesquisa, livros e capítulos de livros, em diversas áreas do conhecimento.

Os anais do **III CONBRAMOL** estão publicados na **Revista Multidisciplinar em Saúde** (ISSN: 2675-8008), correspondente ao volume 3, número 4, do ano de 2022.

APRESENTAÇÃO

O **III Congresso Brasileiro De Biologia Molecular On-Line** ocorreu entre os dias **03 a 06 de outubro de 2022**, considerado como um evento de caráter técnico-científico destinado a acadêmicos e profissionais com interesse na área biologia molecular.

Com objetivo central de difundir o conhecimento e estimular o pensamento científico, discutiu-se os temas atuais sobre biologia molecular compartilhou-se trajetórias e experiências de profissionais e pesquisadores atuantes na área, que contribuíram para a atualização e o aprimoramento de acadêmicos e profissionais. O III CONBRAMOL também contou com um espaço para apresentação de trabalhos científicos e publicações de resumos nos anais do evento.

PROGRAMAÇÃO

Dia 03 de outubro de 2022

Palestras:

- 08:00 - Abertura do Evento - Comissão Organizadora
- 09:00 - A genética da Síndrome da Lipodistrofia em pessoas vivendo com HIV - Carmela Farias da Silva
- 10:00 - Genômica, neuroimagem e psiquiatria: universos paralelos? - Cibele Edom Bandeira
- 11:00 - Genética e genômica de espécies animais, vegetais e de microrganismos: contribuições dos métodos de sequenciamento de ácidos nucleicos - Mariana Pires de Campos Telles
- 13:00 - A base para as técnicas de biologia molecular: PCR - Danillo Sales Rosa
- 14:00 - Modulação gênica do ômega-7 e seu impacto no metabolismo hepático e ganho de massa corporal - Maysa Mariana Cruz

Dia 04 de outubro de 2022

Palestras:

- 08:00 - Os Avanços da Genética Molecular para a Medicina de Precisão - Gilmara Ausech Antonucci
- 09:00 Caracterização polifásica de microrganismos de importância ambiental - Amanda Lys dos Santos Silva
- 10:00 - O uso do Sistema CRISPR/Cas na tipagem molecular de isolados de interesse médico - Keyla Vitória Marques Xavier
- 13:00 - Epigenética no melhoramento genético de plantas - Adielle Rodrigues da Silva
- 14:00 - Aplicação de técnicas da Biologia Molecular em estudos de fungos de interesse clínico - Ana Carolina do Prado

Dia 05 de outubro de 2022

Palestras:

- 08:00 - Biofilmes Polimicrobianos em infecções bacterianas - Juliana da Silva Reviello
- 09:00 - Alterações genéticas em Leucemia Mieloide Aguda - Vanessa Cristina Arfelli
- 10:00 - A genética forense no cenário nacional – como evoluir ainda mais? -

Caio Cesar Silva de Cerqueira

- 11:00 - A proteômica como ferramenta para entender os processos moleculares nos organismos - Irma Yuliana Mora Ocampo
- 13:00 - Desafio diagnóstico da Síndrome de Prader-Willi-Like: Aspectos Genotípicos e Fenotípicos - Letícia Lopes Cabral Guimarães da Fonseca
- 14:00 - Aplicação da qPCR como método diagnóstico para as Leishmanioses - Viviane Medeiros Silva

Dia 06 de outubro de 2022

Palestras:

- 08:00 - O papel da metilação da região promotora de genes supressores tumorais no desenvolvimento do cancer - Andrea Leite Camargo Santana
- 09:00 - Marcadores moleculares e o melhoramento vegetal! - Andreia Juliana Rodrigues Caldeira
- 10:00 - Aplicações da Citogenética Molecular - Alessandra Ribeiro Torres
- 11:00 - Como os marcadores moleculares podem ajudar no melhoramento genético vegetal? - Jordana Caroline Nagel
- 13:00 - Homeostase: como as plantas regulam a via central de sinalização do ácido abscísico? - João Guilherme Portugal Vieira
- 15:00 - Encerramento do Evento - Comissão Organizadora.



SIMULAÇÕES MOLECULARES DA INTERAÇÃO DA REGIÃO CONSERVADA DE CISTEÍNAS DO ECTODOMÍNIO DA PROTEÍNA G DO HRSV COM O RECEPTOR CELULAR CX3CR1 DO HOSPEDEIRO

JOÃO VICTOR PILOTO; ÍCARO PUTINHON CARUSO

Introdução: O Vírus Sincicial Respiratório humano (hRSV) é um dos principais causadores de doenças respiratórias agudas como bronquiolite e pneumonia em crianças e idosos. Atualmente, as patologias causadas pelo hRSV não são bem entendidas e os resultados de desenvolvimento de vacinas não são satisfatórios. A infectividade do vírus está relacionada com suas proteínas de membrana e dentre elas a glicoproteína G ou proteína G, que é responsável pela ligação do vírus à célula epiteliais aéreas do hospedeiro e consequente instalação da infecção. Esta glicoproteína exerce um importante papel como antígeno de reconhecimento, sendo alvo para identificação do RSV através de anticorpos. Há evidências na literatura de que a proteína G interage com um receptor celular, conhecido como CX3CR1, porém não informações estruturais experimentais sobre essa interação. **Objetivo:** O objetivo principal é caracterizar computacionalmente através de simulações computacionais, tais como modelagem molecular, docking molecular, dinâmica molecular e cálculos de energia livre de ligação, da interação da região conservada de cisteínas do ectodomínio da proteína G do hRSV com o receptor celular CX3CR1 do hospedeiro e suas isoformas. **Metodologia:** A partir da abordagem de modelagem molecular, modelos estruturais para as quatro isoformas do receptor celular foram calculados, os quais passaram por uma etapa de 300 ns de simulação de dinâmica molecular em bicamada lipídica de POPC para avaliação de suas estabilidades estruturais. Em seguida, cálculos de docking molecular buscaram pela conformação mais provável do peptídeo da G na interação com a região N-terminal do barril de hélices alfa do CX3CR1. **Resultado:** Foram realizadas simulações de 300 ns as quais reportaram a estabilidade estrutural do modelo proposto para o complexo CX3CR1/peptídeo da G, apontando os resíduos LYS-171, GLY-177, TYR-179, GLN-184 e ARG-272 da proteína que se destacam por sua importância para a estabilização da interação com o peptídeo, uma vez que participam de ligações de hidrogênio. **Conclusão:** As informações estruturais produzidas no presente trabalho podem trazer luz ao mecanismo de interação da proteína G do hRSV com o receptor celular CX3CR1, assim como proporcionar uma visão molecular do processo de adesão do vírus à célula do hospedeiro.

Palavras-chave: Simulações computacionais, Hrsv, Proteína g, Receptor celular cx3cr1, Modelagem molecular.



ANÁLISE SOBRE O USO DE BIÓPSIA LÍQUIDA NO DIAGNÓSTICO PRECOCE E MONITORAMENTO DO CÂNCER DE MAMA: REVISÃO DE LITERATURA

VIVIANE CAMPOS VAZ; ADRIANA TAVEIRA DA CRUZ PERES

Introdução: O câncer de mama é uma doença que acomete muitas pessoas no mundo. Por conta disso, novas formas de análise surgiram para auxiliar no diagnóstico e seu tratamento — dentre elas, o uso de biópsia líquida em técnicas de biologia molecular, que é capaz de garantir um rastreamento precoce e um monitoramento mais individual e eficiente. **Objetivo:** O presente artigo tem como objetivo divulgar o uso de biópsia líquida como material a ser analisado para rastreamento e monitoramento de câncer mamário. **Metodologia:** Trata-se de uma revisão bibliográfica, tendo como base pesquisa bibliográfica e análise qualitativa. Para a coleta de dados, foram consultadas as bases On-line SciElo, INCA e Pubmed, havendo procura dos descritores, tanto em inglês quanto em português: "ctDNA", "miRNA", "Células Tumorais Circulantes", "biópsia líquida", "câncer de mama", "monitoramento" e "diagnóstico precoce". Os critérios de inclusão foram artigos em português, espanhol e inglês com texto completo e disponível entre os anos 1998 e 2021 e que se encaixassem dentro do tema proposto. Foram excluídos artigos que não fossem relevantes para o tema da pesquisa. Após a busca considerando estas especificações, foram selecionados 39 artigos. **Resultados:** Os resultados alcançados mostram que o material contido na biópsia líquida (CTCs, ctDNA e miRNA) possui a capacidade de ser deveras útil. Durante a doença mamária em fase inicial, os miRNA são o melhor material para rastreamento precoce e as CTCs são melhores para prognóstico; já para monitoramento durante a terapia, todos os componentes presentes na biópsia líquida possuem serventia para validar diferentes informações, como doença residual mínima e resistência aos tratamentos, fornecendo achados mais completos acerca do quadro dos pacientes. Apesar dos resultados animadores, ainda não é possível estimar sua aplicabilidade clínica, uma vez que não há um grande número de pesquisas multicêntricas para embasar melhor a sua eficácia em diferentes grupos. **Conclusão:** A biópsia líquida tem grande potencial para auxiliar no diagnóstico precoce e no monitoramento durante a terapia oncológica mamária, garantindo uma visão mais individual e personalizada. Há, ainda, oportunidades para investigar melhor sua aplicabilidade em diferentes populações, o que garantirá resultados precisos sobre sua eficácia em diferentes grupos populacionais.

Palavras-chave: Biópsia líquida, Câncer de mama, Detecção precoce, Monitoramento de câncer de mama, Células tumorais circulantes.



COMPREENDENDO A IMPORTÂNCIA DAS LIGAÇÕES DE HIDROGÊNIO NA FORMAÇÃO DE COMPLEXOS DNA-PROTEÍNA USANDO UM JOGO DE BIOINFORMÁTICA

RENATO MASSAHARU HASSUNUMA; WILSON MASSASHIRO YONEZAWA

Introdução: As proteínas de ligação ao DNA desempenham importante papel na replicação, reparo e transcrição do DNA. As ligações de hidrogênio intermoleculares são formadas a partir da interação entre átomos doadores e aceptores de elétrons das bases nitrogenadas do DNA e das cadeias laterais dos resíduos de aminoácidos das proteínas. Para que uma proteína reconheça uma sequência de DNA, ocorrem diversos tipos de interações entre estas biomoléculas, incluindo as ligações de hidrogênio. As ligações de hidrogênio desempenham papel importante não apenas na formação do complexo DNA-proteína, mas também em sua estabilização após a ligação da proteína ao segmento de DNA.

Objetivo: O objetivo principal da atual pesquisa foi analisar os quebra-cabeças do modo educacional do Jogo Foldit[®], com a proposta de verificar a sua utilização como ferramenta de ensino de Biologia Molecular, especialmente em relação à formação dos complexos DNA-proteína por meio de ligações de hidrogênio.

Metodologia: Foram analisados os 39 quebra-cabeças dos 11 níveis do modo educacional do Foldit[®], sendo selecionados aqueles onde houvesse a formação de complexos DNA-proteína. Os quebra-cabeças selecionados foram analisados de forma a verificar como o jogo apresenta a formação de ligações de hidrogênio nestes complexos.

Resultados e discussão: A partir do levantamento realizado, foi observado que o quebra-cabeça *DNA and protein* (DNA e proteína, na tradução livre) pode ser considerado um recurso pedagógico interessante para o ensino da formação do complexo DNA-proteína. Na resolução deste desafio, o jogador deve realizar a substituição de dois resíduos de alanina, os quais podem ser trocados por resíduos de asparagina e lisina, por exemplo. Com isso, ocorre a formação de duas ligações de hidrogênio com o DNA que aumentam a estabilidade do complexo formado.

Conclusão: A análise dos 39 quebra-cabeças do modo educacional do Foldit[®] mostrou que vários desafios podem ser utilizados para explicar as ligações de hidrogênio intramoleculares. O quebra-cabeça *DNA and protein* foi o que melhor representou a interação de uma proteína de ligação ao DNA. Neste quebra-cabeça é possível observar que esta ligação depende da natureza das cadeias laterais da proteína, que estabelecem interações com as bases nitrogenadas do DNA.

Palavras-chave: Biologia computacional, Dna, Jogos educacionais, Proteínas.



PREDIÇÃO *IN SILICO* DE DOMÍNIOS FUNCIONAIS DA LECTINA BOL E CLONAGEM MOLECULAR PARA EXPRESSÃO EM SISTEMA MICROBIANO

CAMILA APARECIDA COELHO BRAZÃO; CHRISTIANE ELIZA MOTTA DUARTE

RESUMO

As lectinas apresentam exercem funções de adsorção e infiltração de patógenos em hospedeiros, potencial imunomodulador e imunoestimulador, além da capacidade de se ligarem de forma específica e reversível a carboidratos, devido à presença de um domínio de reconhecimento deles. A lectina BOL, extraída de floretes de couve-flor foi caracterizada por ensaios funcionais e de bioinformática, a fim de predizer futuros ensaios bioquímicos.

Palavras-chave: Lectina BOL; predição *in silico*; lectinas; domínios funcionais.

1 INTRODUÇÃO

As lectinas estão distribuídas na natureza e são encontradas em todas as classes e famílias dos organismos vivos (Sharon e Lis, 1987). Dentre as funções que exercem, destacam-se o favorecimento a adsorção e infiltração de patógenos em hospedeiros (Ngundi *et al.* 2006; Swanson *et al.* 2010; Silva *et al.* 2012), defesa contra insetos, micro-organismos e parasitas (Coelho *et al.* 2007; Erdmann *et al.* 2009; Kuroki *et al.* 2012; Brinkmann *et al.* 2013) e reconhecimento de sítios de ligação específicos para estabelecimento de simbiose (Peumans e Van Damme, 1995).

O isolamento e caracterização de novas lectinas, bem como investigação de seus efeitos biológicos sobre a resposta imune têm sido alvo de diversos estudos em decorrência da ampla aplicabilidade desse tipo de pesquisa nas áreas biomédicas. Recentemente identificou-se uma nova lectina isolada de *Brassica oleracea var. Botrytis* denominada BOL. A proteína foi extraída a partir de floretes de couve-flor e ensaios preliminares mostraram que a fagocitose e a produção de óxido nítrico por macrófagos foram estimuladas na presença de BOL, o que demonstra a possibilidade dessa lectina atuar como agente imunoestimulador capaz de auxiliar na ativação da imunidade inata. (Duarte *et al.* 2017).

Apesar do potencial imunomodulador de BOL, o processo de extração e purificação dessa proteína de fontes vegetais mostrou-se uma etapa limitante para a realização dos ensaios funcionais. Portanto, a clonagem dessa lectina e expressão em sistema heterólogo pode aumentar a disponibilidade e facilitar a purificação da proteína de interesse. Adicionalmente, a predição *in silico* da lectina BOL pode fornecer inferências importantes sobre o papel funcional e os efeitos biológicos dessa proteína. Aqui, nós apresentamos os resultados iniciais de predição *in silico*, identificação de domínios funcionais e estrutura tridimensional de BOL, bem como

análise de restrição e desenho de *primers*, que são etapas cruciais para a clonagem molecular em vetor de expressão recombinante.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

As estruturas secundária e terciária de BOL foram preditas com os programas SOPMA (http://npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_sopma.html), Phyre2 (<http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/phyre2/html/page.cgi?id=index>) e RaptorX (<http://raptorx.uchicago.edu/ContactMap/>). Os domínios funcionais foram selecionados com base na estrutura dos aminoácidos que compõe BOL, determinados via <https://www.ebi.ac.uk/Tools/hmmer/>. Para análise de restrição, utilizou-se o programa Ncb cutter, (<http://nc2.neb.com/NEBcutter2/>) e após o desenho de *primers* já incluindo as sequências de restrição, o conteúdo GC e a temperatura de *melting* foram determinados através da OligoAnalyzer (<https://www.idtdna.com/calc/analyzer>).

3 RESULTADOS E CONCLUSÃO

O acesso on-line ao GenBank do NCBI possibilitou a obtenção da sequência gênica de *Brassica oleracea* var. *Botrytis lectin mRNA*, através do número de acesso: MN937259.1. Os *primers forward* e *reverse* para a clonagem do gene foram desenhados a partir da análise dos sítios de restrição do vetor pGEX-4T-1. Desse modo, foram escolhidas enzimas que não clivam o interior da sequência do gene alvo e geram extremidades coesivas complementares após a clivagem do vetor de destino. A partir da análise do vetor pGEX-4T-1, foram selecionadas as enzimas *EcoRI* e *Sall*, e os sítios de restrição reconhecidos por essas enzimas foram adicionados aos *primers reverse* e *forward*, respectivamente. Em ambos os *primers* foram acrescentados seis pares de bases - TAA GCA (*Leader Sequence*), com o objetivo de aumentar a eficiência da clivagem. Os *primers* desenhados, *forward* e *reverse*, respectivamente, apresentam conteúdo GC de 43,8% e Temperatura de *Melting* de 60.9 °C; conteúdo GC de 45,5% e TM de 63.6 °C.

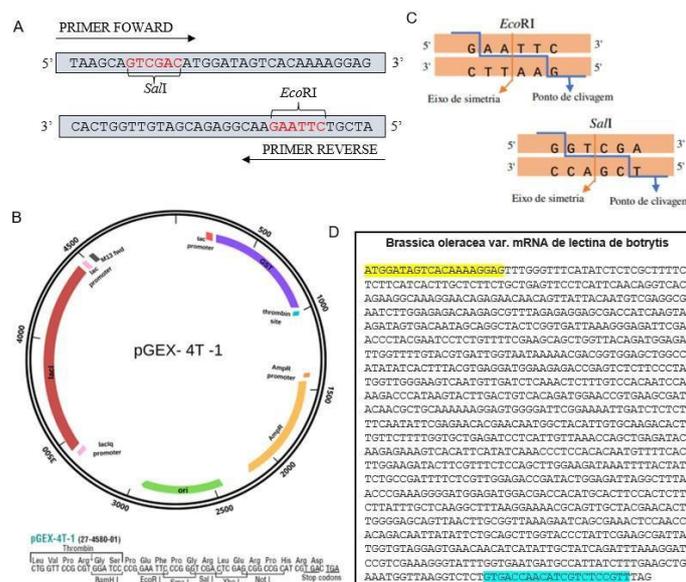


Figura 1: Representação dos primers forward e reverse desenhados para o processo de clonagem. Em A e D estão ilustradas as sequências finais, incluindo, os pares de bases escolhidos, o sítio de restrição e a sequência de oligonucleotídeos complementares ao gene de interesse. Na letra B, com destaque em amarelo está a sequência de bases utilizadas no primer

forward e em azul, a sequência utilizada no primer reverse. A letra C ilustra esquematicamente as enzimas de restrição selecionadas, seus eixos de simetria e pontos de clivagem.

A tabela a seguir apresenta uma relação das sequências dos primers, posições deles no gene e suas respectivas temperaturas de anelamento (TA).

PRIMER	SEQUÊNCIAS	POSIÇÃO	Ta (°C)
Forward	5'-TAAGCAGTCGACATGGATAGTCACAAAAGGAG-3'	1-20	55,9
Reverse	5'-CACTGGTTGTAGCAGAGGCAAGAATTCTGCTTA-3'	997-1018	58,3

As proteínas são polímeros de aminoácidos que se diferenciam entre si e moldam suas propriedades através de diferentes cadeias laterais, pela capacidade de formação de estruturas secundárias e de interação com íons e água (LEHNINGER, T. M *et al* 2014). A utilização do SOPMA auxilia na predição de estruturas secundárias a partir da estrutura primária. Os níveis estruturais de organização das proteínas dividem-se em: estruturas primárias, secundárias, terciárias e quaternárias sendo que, as principais estruturas secundárias são a alfa hélice e a folha-beta (BRUICE, Paula Yurkanis. 2006).

De acordo com o programa SOPMA, BOL apresenta 24,86% de probabilidade de formar a estrutura secundária alfa-hélice (Hh), 32,57% de folha-beta, 8,86% de volta-beta e 33,71% de *Random coil*.

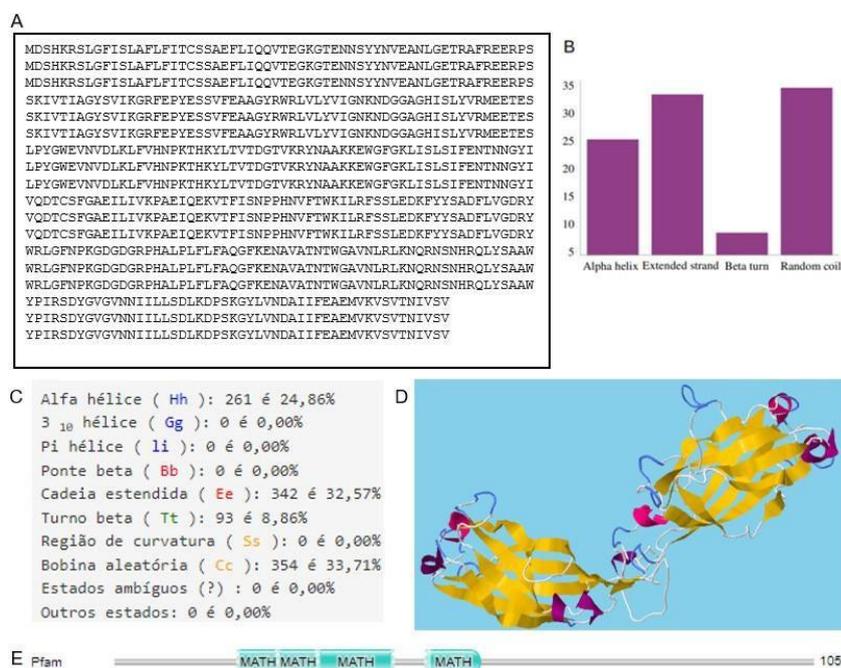


Figura 2: Em A está representado a estrutura primária da proteína Lectina BOL, enquanto nas letras B e C está ilustrada a probabilidade da obtenção de estruturas secundárias através da sequência utilizada. A letra D caracteriza-se por uma representação estrutural do estado nativo da lectina BOL. A informação sobre a estrutura é obtida pelo Protein Data Bank (PDB) com o código de identificação MN937259.1, relativo à estrutura do gene. Através do código

genético foi possível a identificação dos aminoácidos e, por fim, da proteína, por meio do programa.

A predição da estrutura tridimensional foi gerada com o RaptorX usando como modelo a estrutura da proteína 2F1X. As cores indicam os diferentes tipos de estruturas secundárias. Em magenta é representada a estrutura de α -hélice, em amarelo a estrutura de folhas- β , em azul a estrutura de *loops* e em branco as regiões sem estruturas definidas, ditas como *random coil*. Por fim, a letra E indica a análise da sequência através do programa HMMER, obtendo uma visualização de *Sequence Matches and Features*, na qual a lectina apresenta uma estrutura com uma dobra similar a cúpula, típica das lectinas do tipo L, entretanto, contendo apenas domínios MATH em sua estrutura. Proteínas contendo domínios MATH são comuns em mamíferos e participam de vias de sinalização proteína-proteína, sendo responsáveis por diferentes respostas celulares que vão desde ativação, diferenciação e mesmo morte celular (Arch *et al.* 1998; Dhillon *et al.* 2019). Contudo, até o momento, não foram identificadas proteínas com domínios MATH que reconhecem carboidratos. Apesar de requerer validação experimental, esse achado, pode representar um novo modelo de interação ainda não descrito para proteínas com domínios MATH.

REFERÊNCIAS

- ADAR R, STREICHER H, ROZENBLATT S, SHARON N. 1997. Synthesis of soybean agglutinin in bacterial and mammalian cells. **Eur J Biochem** 249: 684-689.
- ARCH RH, GEDRICH RW, THOMPSON CB. Tumor necrosis factor receptor-associated factors (TRAFs)—a family of adapter proteins that regulates life and death. **Genes Dev.** (1998) 12:2821–30. 10.1101/gad.12.18.2821
- BRINKMANN CR, JENSEN L, DAGNÆS-HANSEN F, HOLM IE, ENDO Y, FUJITA T, THIEL S, JENSENIUS JC, DEGN SE. 2013. Mitochondria and the lectin pathway of complement. **J Biol Chem.** 288(12):8016-27.
- BRUICE, Paula Yurkanis. **Química Orgânica.** 4. ed, volume 2. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2006).
- COELHO MB, MARANGONI S, MACEDO MLR. 2007. Insecticidal action of *Annona coriacea* lectin against the flour moth *Anagasta kuehniella* and the rice moth *Corcyra cephalonica* (Lepidoptera: Pyralidae). **Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.** 2007.146(3):406-14.
- DHILLON B, ALEITHAN F, ABDUL-SATER Z, ABDUL-SATER AA. The Evolving Role of TRAFs in Mediating Inflammatory Responses. **Front Immunol.** 2019;10:104. Published 2019 Feb 4. doi:10.3389/fimmu.2019.00104
- ERDMANN H, STEEG C, KOCH-NOLTE F, FLEISCHER B, JACOBS T. 2009. Sialylated ligands on pathogenic *Trypanosoma cruzi* interact with Siglec-E (sialic acid-binding Ig-like lectin-E). **Cell Microbiol.** 11(11):1600-11.

GHAZARIAN H, IDONI B, OPPENHEIMER SB. 2011. A glycobiology review: carbohydrates, lectins and implications in cancer therapeutics. **Acta Histochem.** 113(3):236-47.

KILPATRICK, D. C. **Mechanisms and assessment of lectin-mediated mitogenesis.** 1999. *Mol Biotechnol.* 11(1):55-65.

KUROKI K, FURUKAWA A, MAENAKA K. 2012. Molecular recognition of paired receptors in the immune system. **Front Microbiol.** 3:429.

LEHNINGER, T. M., NELSON, D. L. & COX, M. M. **Princípios de Bioquímica.** 6ª Edição, 2014. Ed.).

LI, C.; CHEN, J.; LU, B.; et al. 2014. Molecular switch role of Akt in Polygonatum odoratum lectin-induced apoptosis and autophagy in human non-small cell lung cancer A549 cells. **PLOS One** v.9, e101526.

MAZALOVSKA M, KOUOKAM JC. Plant-Derived Lectins as Potential Cancer Therapeutics and Diagnostic Tools. **Biomed Res Int.** 2020 May 15; 2020:1631394.

NGUNDI MM, TAITT CR, MCMURRYSCOTT A, KAHNE D, LIGLER FS. 2006. Detection of bacterial toxins with monosaccharide arrays. **Biosens Bioelectron.** 21(7):1195-201.

SILVA FL, PIMENTA RS, SILVA JFM, CORRÊA DAN, CORRÊA JUNIOR A. 2012. The influence of carbohydrates in the interaction of Paracoccidioides brasiliensis with CCL-6 cells in vitro. **Rev Soc Bras Med Trop.**45(6):739-744

SWANSON MD, WINTER HC, GOLDSTEIN IJ, MARKOVITZ DM. 2010. A lectin isolated from bananas is a potent inhibitor of HIV replication. **J Biol Chem.** 285(12):8646–55.



BIOMARCADORES METABÓLICOS E INFLAMATÓRIOS NA NEFROPATIA DIABÉTICA EM RATOS WISTAR ADULTOS E IDOSOS

JOYCE REGINA SANTOS RAIMUNDO; GLAUCIA RAQUEL LUCIANO DA VEIGA; BEATRIZ DA COSTA AGUIAR ALVES; JÉSSICA FREITAS ARAÚJO ENCINAS; FERNANDO LUIZ AFFONSO FONSECA

Introdução: A Diabetes Mellitus (DM) é um distúrbio multifatorial caracterizado por hiperglicemia e sem tratamento, evolui com desenvolvimento de lesões microvasculares, levando ao dano de órgãos alvo como os rins. Os marcadores usualmente utilizados para diagnóstico da nefropatia diabética (ND), quando alterados, refletem doença renal já instalada, desta forma, o estudo de novos biomarcadores para detecção precoce pode trazer novas perspectivas preventivas. **Objetivos:** Avaliar em ratos diabéticos adultos e idosos, a expressão de genes envolvidos nas vias inflamatórias (PTX3, TNFR, VEGF) metabólicas e (CD147, MCT1, MCT4) e analisar correlações existentes com biomarcadores séricos utilizados para diagnóstico da ND. **Metodologia:** Os animais induzidos ao DM com Aloxana foram divididos em: diabético adulto (DMA), diabético idoso (DMI), controle sham adulto (CSA) e controle sham idoso (CSI). Após 30 dias da confirmação da DM, amostras foram colhidas para análises bioquímicas e de expressão de genes envolvidos nas vias inflamatórias (PTX-3, TNFR, VEGF) e metabólicas (MCT1, MCT4 e CD147). **Resultados:** Grupo DMA apresentou menores expressões de TNFR e CD147 no bulbo e de VEGF no tecido renal. Houve correlação negativa entre CD147 no tecido renal e ureia plasmática. Grupo DMI não apresentou variações significantes na expressão dos genes estudados, no entanto, correlações positivas foram observadas no tecido cerebral, entre TNFR e glicemia e entre CD147 e creatinina urinária. **Conclusão:** A menor expressão de TNFR, CD147 e VEGF no grupo DMA, pode indicar ativação de mecanismos regulatórios negativos protetores e a ausência desse perfil no grupo DMI pode estar associado a uma intermissão deste mecanismo de *feedback* negativo, associado ao envelhecimento. A correlação negativa entre CD147 e ureia e a correlação positiva entre TNFR e hiperglicemia e entre CD147 e creatinina urinária, propõe uma modulação de expressão de genes envolvidos no metabolismo e na pró-angiogênese. TNFR está relacionado a inflamação e a fibrose e VEGF com a esclerose, portanto poderiam ser estudados como candidatos a biomarcadores para risco de desenvolvimento de fibrose e esclerose. Além de participar do transporte de lactato, CD147 está envolvido na ativação de metaloproteinases, que participam do remodelamento tecidual, podendo desta forma ser estudado como candidato a biomarcador de progressão.

Palavras-chave: Biomarcadores, Diabetes mellitus, Nefropatia diabética.



IDENTIFICAÇÃO DA SÍNDROME CRI-DU-CHAT PELA TÉCNICA MOLECULAR DE HIBRIDIZAÇÃO GENÔMICA COMPARATIVA POR MICROARRANJOS (CGH-ARRAY)

BEATRIZ RODRIGUES PEIXOTO; RAYANNA MARTINS CHAGAS

Introdução: A biologia molecular compreende diversos campos, dentre eles há um no qual é responsável pelo estudo e compreensão das síndromes relacionadas a alterações cromossômicas. No meio destas, evidencia-se a síndrome Cri-Du-Chat (SCDC), conhecida popularmente como a síndrome do miado do gato, causada pela deleção do braço curto do cromossomo 5, afetando o desenvolvimento da laringe. É considerada rara pois afeta apenas 1:50.000 ou 1:15.000 nascimentos em todo o mundo. Seu diagnóstico é difícil pois necessita de técnicas moleculares de alta precisão, diante disto destaca-se a técnica CGH-*array*, no qual consegue realizá-lo antes do nascimento por meio do isolamento do DNA fetal no sangue materno. **Objetivo:** Demonstrar a eficácia da técnica molecular CGH-*array* no diagnóstico da SCDC, salientando suas características e expressões moleculares e físicas desde o desenvolvimento fetal até a vida adulta. **Metodologia:** Para sua elaboração foram utilizados artigos disponíveis em bases de dados como Google Scholar, SciELO e PubMed, sendo selecionados de acordo com o assunto de interesse e nos idiomas espanhol, inglês e português, além de livros físicos e online. **Resultados:** O CGH-*array* é composto pela plataforma interligada a um *software* atualizado com todas as alterações estruturais descobertas até o presente momento, sua maior vantagem é conseguir diagnosticar com rapidez e eficiência, além da possibilidade da identificação de alterações que podem estar presentes em outros cromossomos, mesmo que seja mínima. Há também desvantagens, caso estas alterações não sejam estruturais a plataforma não consegue realizar a identificação. **Conclusão:** A síndrome afeta os indivíduos em diversos âmbitos, seja ele em sua característica física ou até mesmo imunologicamente, estando mais suscetíveis a infecções, visto isso, é indispensável que os responsáveis busquem um auxílio adequado com equipe multidisciplinar e fornecer um ambiente familiar acolhedor e estável. Síndromes causadas por alterações genéticas, até os dias atuais, não possuem formas de reversão, mas, indivíduos afetados conseguem ter uma vida em sociedade como qualquer outro.

Palavras-chave: Cgh-array, Cri-du-chat, Cromossomo 5, Diagnóstico molecular, Síndrome.



DIAGNÓSTICO DA SÍNDROME DE KLINEFELTER POR MEIO DA TÉCNICA MOLECULAR DE HIBRIDIZAÇÃO *IN SITU* POR FLUORESCÊNCIA (FISH)

RAYANNA MARTINS CHAGAS; BEATRIZ RODRIGUES PEIXOTO

Introdução: Em 1942, Harry F. Klinefelter juntamente com alguns colaboradores, observou alguns casos de homens que deram entrada em um hospital de Massachusetts com ginecomastia e alto nível de excreção do hormônio folículo estimulante (FSH), com alguns anos de estudo, o cientista descreveu como sendo uma síndrome genética, dando-a o nome de Síndrome de Klinefelter. Anos mais tarde, em 1959, uma dupla de cientistas, conseguiu caracterizá-la como uma trissomia do cromossomo sexual, sendo adicionado ao conjunto um “X”, levando aos indivíduos afetados características ditas como femininas, além de maior possibilidade de desenvolvimento de doenças devido a baixa imunidade. **Objetivo:** estudar e descrever a síndrome de Klinefelter, detalhando os seus principais sintomas, como a doença acaba afetando a vida de homens que a possuem e sua forma de diagnóstico molecular, que é realizado pela técnica de hibridização *in situ* fluorescente (FISH), retratando suas fases pré-analítica e analítica. **Metodologia:** Para a confecção deste trabalho foi realizada uma busca nos artigos disponíveis em bases de dados gratuitas e pagas como SciELO, PubMed, Google Scholar e similares, livros, revistas e jornais da área da saúde. **Resultados:** Quando se trata de diagnóstico, na Patologia Molecular temos a hibridização *in situ* por fluorescência (FISH) como o principal e mais moderno método utilizado atualmente, o qual consiste em sondas de ácidos nucleicos marcadas com coloração fluorescente em cores distintas que se ligam as sequências de DNA, elas indicam se há ausência ou presença de alterações nos genes daquele tecido que está sendo analisado. Sua principal vantagem é a sensibilidade, a técnica consegue analisar diferentes áreas do cromossomo ao mesmo tempo, quanto mais sondas são aplicadas maior seu alcance, contudo é necessário uma boa quantidade de amostra, caso contrário não é possível realizar a análise, sendo esta sua principal desvantagem. **Conclusão:** Há estudos que levantam a hipótese de que se descoberta ainda na fase da infância com os tratamentos adequados possa haver reversão de algumas manifestações clínicas, porém início dos sintomas ocorrem na fase da puberdade, em determinados casos apenas na fase adulta, dificultando o tratamento precoce.

Palavras-chave: Alterações cromossômicas, Diagnóstico molecular, Fish, Síndrome de klinefelter, Trissomia do “x”.



ATIVIDADE ANTIVIRAL DE NANOEMULSÕES DE CURCUMINA

MAINE VIRGÍNIA ALVES CONFESSOR; MARIA ANNDRESSA ALVES AGRELES; AZAEL FRANCISCO SILVA NETO; ELISANGELA AFONSO DE MOURA KRETZSCHMAR; ISABELLA MACÁRIO FERRO CAVALCANTI

Introdução: Doenças infecciosas tem se disseminado mais rapidamente e, apesar de existirem diversos fármacos antivirais, estes não são capazes de eliminar todos os vírus potencialmente letais. Assim, novas opções terapêuticas são necessárias. A *Cúrcuma longa* L. apresenta fitoconstituintes, como a curcumina (CUR), que lhe conferem diversos efeitos medicinais. Entretanto, os curcuminoides são hidrofóbicos, fotossensíveis e degradados em condições alcalinas, dificultando a aplicação clínica. Nesse sentido, é de suma importância mecanismos que favoreçam a eficácia de entrega desses fitoconstituintes, destacando-se as nanoemulsões (NEs), que apresentam alta eficiência de carregamento, estabilidade de diluição e propriedades não irritantes. **Objetivo:** Realizar uma revisão para identificar e analisar NEs contendo *Cúrcuma longa*/curcumina para o tratamento das doenças virais. **Materiais e Métodos:** Realizou-se a revisão através da busca de artigos por meio do PubMed/MedLine, Science Direct, SciELO e Google Scholar, utilizando os DeCS *curcumin OR Cúrcuma longa, nanoemulsion e antimicrobial* e o operador booleano AND, selecionando artigos em inglês ou português publicados nos últimos 10 anos e excluindo as produções bibliográficas do tipo trabalhos de conclusão de cursos, dissertação, enciclopédias, resumos, capítulos de livros e aqueles materiais que não atendiam aos objetivos propostos. **Resultados:** NEs contendo CUR apresentam tamanho de partícula variável entre 24,8nm e 195nm, sendo na sua maioria monodispersa e com potencial zeta negativo. Essas NEs têm demonstrado atividade contra o HPV-16, os vários vírus da dengue e o HIV. Essas NEs apresentam atividade *in vitro* e *in vivo* promissora, sendo seu uso validado, inclusive, frente à Neoplasias intraepitelial vulvar (NIV), tendo em vista que a *NE-CUR* apresentou 90% de morte de células infectadas por HPV, quando associada com terapia fotodinâmica. **Conclusão:** NEs são sistemas eficazes para a encapsulação da cúrcuma/curcumina no combate ao HPV-16, HIV e vírus da dengue. Essas NEs devem ser avaliadas frente a outros vírus causadores de doenças e novos estudos clínicos devem ser realizados para corroborar os achados, além de promover segurança terapêutica no uso dessas NEs.

Palavras-chave: Nanotecnologia, Cúrcuma, Antimicrobiano.



A IMPORTÂNCIA DAS TÉCNICAS DA BIOLOGIA MOLECULAR PARA A PERÍCIA FORENSE NA RESOLUÇÃO DE CASOS CRIMINAIS

LUCAS DOS SANTOS SA; LUANA SOUZA SANTOS; KEVIN DE JESUS FERREIRA

RESUMO

Introdução: a biologia molecular é uma disciplina que utiliza conhecimentos da genética e biologia, para dessa forma decifrar as etapas que sucedem os fluxos de informação genética durante a replicação, transcrição e tradução, tendo assim como objetivo elucidar todos os fatores relacionados ao dogma central da biologia molecular, através dos avanços dessa área científica foram desenvolvidas metodologias que permitem a análise do genoma humano. **Metodologia;** o trabalho foi realizado por meio de uma revisão literária, as fontes de pesquisas foram diferentes sítios eletrônicos. **Objetivos;** identificar as principais metodologias da biologia molécula utilizadas em investigações criminais, descrever como esses métodos auxiliam a perícia na resolução de casos. **Resultados;** As técnicas da biologia molecular são ferramentas essenciais para identificar uma pessoa a partir de seu material genético, tendo papel fundamental nas atividades realizadas pela perícia forense, devido o avanço dessas tecnologias é possível montar o perfil genético de um suspeito, e conseqüentemente condená-lo ou inocentá-lo apenas com a análise de uma ampla variedade de amostras biológicas, como sangue, sêmen, cabelo, tecidos, dente, ossos. por meio do método de PCR é possível amplificar uma amostra de DNA encontrada na cena do crime, posteriormente são usadas técnicas que permitem separar os fragmentos com base em seu peso molecular, como a eletroforese em gel, ou eletroforese de capilar para fazer assim sua visualização, Com isso os profissionais designados, com o auxílio de marcadores de fluorescência vão detectar e analisar regiões específicas dos genes que apresentam polimorfismo, o principal tipo de polimorfismo observado nesse caso são os microssatélites (STR), com base nesses marcadores genéticos, é possível descobrir a identidade do criminoso, ao se comparar o perfil genético do suspeito com a amostra encontrada na cena do crime, dessa forma diversas infrações como homicídio, latrocínio, abuso sexual que ficaram anos sem resposta foram solucionados com o uso de exames de DNA. **conclusão;** foi constatado que avanços da biologia molecular apresentaram papel fundamental no desfecho de uma ampla variedade de crimes, contribuindo assim ao longo dos anos para o trabalho da perícia tornando essenciais em investigações criminais.

Palavras-chave: Biologia molecular; Eletroforese em gel; Perícia forense; Reação em cadeia polimerase.

1 INTRODUÇÃO

A perícia criminal é uma área do setor público encarregada em auxiliar o poder judiciário em realizar suas tarefas e obrigações, contribuindo dessa forma para a administração e cumprimento das leis em relação as necessidades apresentadas pela

sociedade. Nesse processo a perícia utiliza o conhecimento de diversas áreas das ciências da natureza e humanas ,dentre elas a química, biologia, física, antropologia , e uma que se destaca é a genética forense.(FRANCO, 2022).A genética forense é umas das vertentes das ciências forenses designada para auxiliar a justiça na investigação e resolução de crimes através da análise do DNA presente em vestígio biológicos encontrados na cena do crime por meio de técnicas da genética e biologia molecular(DECANINE, 2016)..

A biologia molecular tem como alvo de estudo o DNA humano, buscando assim compreender a estrutura e função dos genes, com ênfase no entendimento dos fatores envolvidos nos mecanismos de transcrição, tradução e conseqüentemente síntese protéica, (LEITE, 2013). A genética forense apresenta grande papel na resolução de crimes , quando a evidência em questão a ser analisada, é algum tipo de vestígio biológico, que apresente material genético, seja ele o RNA ou DNA, que estão localizadas em diversos tecidos do corpo humano, como por exemplo células do tecido sanguíneo , tecido ósseo, epitelial, muscular, ou em fios de cabelo, sêmen, dente , através da análise de duas amostras de DNA é possível estabelece o parentesco entre dois desconhecidos , ou identificar corpos mutilados ou queimados. Desse modo é necessário manusear esses materiais corretamente, pois é importante evitar sua contaminação para assim evitar o surgimento de resultados inconclusivos.(FRANCO, 2022).Na era contemporânea por meio da técnica de PCR é possível réplica uma amostra de DNA, e em seguida realizar uma análise de regiões específicas de polimorfismo genético classificadas como TSRs (Short Tandem Repeats) que devido alta variabilidade na sequência de nucleotídeos de uma Pessoa para a outra são considerados elementos essenciais na identificação humana, Com isso o DNA é uma peça fundamental durante investigações criminais(FRANCO, 2022).

Desse modo tanto crimes de natureza sexual, como estupro, assédio sexual, atentado ao pudor e também acidentes em grande escala como desabamentos e desastres de avião ou incêndios , que resultam em uma grande quantidade de corpos de difícil identificação, devido a análise física ser impossível, podem ser solucionados(PENA, 2005). Diante das informações expostas, se faz necessário disseminar conhecimento relacionado ao desenvolvimento da biologia molecular. O presente trabalho tem o objetivo de identificar as principais metodologias da biologia molécula utilizadas em investigações criminais, descrever como esses métodos auxiliam a perícia na resolução de casos .

2 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho foi feito através de uma revisão literária, foram analisados artigos relacionados ao tema, em específicos os que abordavam o desenvolvimento e importância dos métodos como o PCR e eletroforese para a resolução de crimes, a pesquisa foi do tipo exploratória com abordagem qualitativa, as fontes de pesquisa forma sítios eletrônicos como Google acadêmico, Scielo, ao todo foram analisados 18 trabalhos, dentre eles estão artigos científicos e monografias, e relatórios estaduais que se encontram em português e inglês.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O DNA tem papel fundamental na resolução de crimes, diversos tipos de amostras biológicas podem ser analisadas , para então depois se isolar o material genético presente na evidência, para assim seguir com todos os métodos que permitem montar um perfil genético, isso possibilita comprovar o vínculo de um suspeito com a cena do crime, sendo assim indispensável ,pois diversos vestígios biológicos como sangue, sêmen, cabelo,

tecidos, urina, dente, ossos de cadáver, contém essa matéria prima utilizada para diferenciar duas pessoas (ARAÚJO, 2017). Nos dias de hoje para se montar o perfil genético de uma pessoa, é necessário utilizar os métodos adequados para se identificar e amplificar os segmentos de DNA conhecidos como microssatélites – STR's (short tandem repeats). (PENA, 2005; PINHEIRO, 2015).

A sigla STR é usada para se referir a microssatélites, que se caracterizam por serem sequências de repetição em tandem curtas formadas por uma quantidade de cerca 7 pares de bases, eles são usadas com frequência pela perícia na identificação de suspeitos, pois estão distribuídos de forma uniforme pelos cromossomos. (KOCK; ANDRADE, 2008; PINHEIRO, 2015). A amplificação do DNA é realizada pelo método de PCR após sua retirada dos vestígios, conseqüentemente para se montar o perfil genético são estudados 17 STR pré estabelecidos em associação com o gene da amelogenina (AMORIM, 2015)

A amplificação de sequências específicas do DNA é realizada em um termociclado, Por meio do método de PCR, que se tratar de um conjunto de etapas em que a amostra de DNA é introduzida em kits com outros componentes, que no caso são os primers, Taq DNA polimerase, pares de bases, solução tampão que posteriormente são submetidos a 3 etapas, cada etapa ocorrendo em temperaturas distintas com o objetivo de criar um ambiente ideal que permita a ampliação da amostra, o propósito da primeira etapa chamada de desnaturação é a separação da fita dupla do DNA, para isso a temperatura é elevada a 90° graus, o calor desestabiliza as pontes de hidrogênio, dividindo a dupla fita, a segunda etapa se chama anelamento, nela os primers identificam o fragmento de interesse e se pareiam a fita molde, para isso a temperatura diminui para 60° graus, na terceira etapa chamada de extensão a Taq DNA polimerase usa os primers como base para selecionar os pares de bases dispersos na amostra para ampliar a molécula a uma temperatura de 72° graus, esses processos são repetidos inúmeras vezes até se obter a quantidade de DNA necessário. (MELLO; FONSECA-COSTA, 2005; ALMEIDA, et al., 2010).

A eletroforese em gel é um método utilizado para realizar a separação de moléculas com base em seu peso molecular e sua carga negativa com o auxílio do gel de agarose que atua como um suporte, o gel é submetido a uma corrente elétrica em um polo oposto ao que se encontra a amostra, o campo elétrico atua como um sinalizador que será responsável por atrair os fragmentos de DNA. (MAGALHÃES et al., 2005). As amostras são depositadas em poços em uma extremidade paralela ao campo elétrico, o gel por ser uma substância porosa funciona como um filtro molecular, e os fragmentos se deslocam em uma velocidade proporcional ao seu tamanho, dessa forma os fragmentos de tamanhos menores vão percorrer um trajeto mais longo em menos tempo, enquanto os maiores ficaram retidos ao longo do polímero. (MAGALHÃES et al., 2005). Os fragmentos com a mesma quantidade de pares de base, possuem o mesmo peso molecular, dessa forma ao migrarem ao longo do gel eles formaram bandas que podem ser visualizadas com o uso luz UV após a adição de corantes. (ROCHA, ANDRADE, 2015).

A eletroforese em capilar baseia-se em princípios semelhantes a eletroforese em gel, porém é uma metodologia mais analítica e eficaz quando o objetivo em questão é a separação de moléculas com relação a sua carga negativa, as amostras de DNA são injetadas em finos tubos denominados capilares onde eletrodos aplicam uma corrente elétrica, essa estratégia permite a regulação da temperatura, sendo assim possível usar cargas elétricas mais fortes, o que acelera o processo, diferente da eletroforese convencional que demanda de mais tempo. (VOET; VOET; PRATT, 2014). A eletroforese em capilar se diferencia do método tradicional, por não utilizar nenhum tipo de gel, após as amostras serem inseridas nos capilares, elas migraram para dentro dos tubos pela aplicação de uma corrente elétrica, a medida que esses fragmentos se deslocam eles são atingidos por lasers responsáveis por detectar as regiões dos alelos onde se encontram os STR por meio dos fluoróforos, que

captam a energia dos lasers, para em seguida emití-las em certos comprimentos de onda, o que gera picos de luzes que podem ser visualizados e interpretados em gráficos (RICHTER, 2016).

Lynda Mann e Dawn Ashworth são duas garotas que viviam na Inglaterra, porém não tinham nenhum vínculo familiar ou de amizade, mas foram vítimas de abuso sexual e latrocínio em condições muito semelhantes, para solucionar o caso a Polícia organizou um programa de doação de sangue, nas regiões próximas a localidade onde os delitos ocorreram, após ter acesso as amostras biológicas da população, foi feita uma comparação com os vestígios presentes na cena do crime, porém nenhum suspeito foi encontrado. (CHEMELLO, 2007). O verdadeiro agressor era um homem que não residia nas proximidades, após interrogatórios de indivíduos próximos ao possível criminoso, a Polícia conseguiu ter acesso ao DNA do suspeito para assim realizar a análise e comparação com o material genético proveniente do sêmen que foi encontrado nos cadáveres, dessa forma foi comprovado que a autoria do crime pertencia a Colin Pitchfork que se tornou a primeira pessoa condenada à prisão graças a provas de análise de DNA, que posteriormente se declarou culpado (AMABIS; MARTHO, 1995).

No ano de 2010, uma jovem italiana chamada Yara Gambiarasio que praticava exercícios físicos em seu cotidiano não retornou a sua residência localizada em Bergamo depois de realiza seus treinos habituais, após três meses, seu corpo foi encontrado mutilado em estado de decomposição, porém mesmo nesse estado, foi possível coletar vestígios biológicos que pertenciam ao provável suspeito. (SOSSI, 2015). Foi então organizado um programa de investigação com a finalidade de solucionar o caso, Durante o ano de 2012, com base no banco de dados de DNA da polícia, foram feitos mais de 15 mil exames de DNA, e com uma amostra de saliva, a perícia chegou ao nome de Giuseppe Guerinoni, porém foi constatado que o possível criminoso já havia falecido a mais de uma década atrás. (SOSSI, 2015).

Porém, após realizar um estudo com relação a árvore genealógica do suspeito, se obteve a informação que Giuseppe Guerinoni teve um casal de filhos bastardos, após encontra a localização do filho ilegítimo de Guerinoni. que se chama Massimo Giuseppe Bossetti no ano de 2014 Foi elaborada uma estratégia com o propósito de conseguir uma amostra biológica do novo suspeito, após a realização de uma blitz, foi possível coleta uma amostra de saliva, para então serem aplicadas as metodologias da biologia molecular, foi comprovado que a amostra de DNA encontrada na vítima pertenciam a Massimo Giuseppe Bossetti, que então foi preso (FARRELL, 2014). Em 2016 por meio de exames de DNA, o material genético de um preso foi comparando com vestígios biológicos coletados em mulheres vítimas de abuso sexual em crimes que ocorreram em 2012 e 2015, em regiões localizadas no estado da Bahia, após análises, a perícia conclui que o perfil genético do abusado pertencia ao suspeito. Acredita se, que o criminoso tenha feita outras vítimas. (SILVA, 2018).

Em 2014 foram relatadas a ocorrência de três crimes de violência sexual no Distrito Federal, em todos os casos foi possível coletar amostras que pertenciam aos possíveis suspeito, posteriormente foi feita uma análise que comprovou que as infrações foram cometidas pelo mesmo agressor, por meio de exames de DNA foi possível descarta outros dois suspeito, 2 anos depois com o auxílio do banco Nacional de perfil genético, se chegou a conclusão, que o culpado dos crimes já havia sido preso em Minas Gerais em 2015 por cometer o mesmo tipo de delito (SILVA, 2018).

4 CONCLUSÃO

O desenvolvimento da biologia molecular permitiu o aprimoramento de diversas metodologias que são empregadas na resolução de crimes pela perícia forense se tornando assim indispensáveis para o cumprimento da lei. Auxiliando assim a justiça na resolução de casos tanto na esfera civil, como também na jurídica. Por meio dessas técnicas é possível analisar o DNA de um suspeito, a partir de simples vestígios e assim comprovar o vínculo do infrator com a cena do crime.

REFERÊNCIAS

AMABIS, J. M.; MARTHO, G.R. Identificando pessoas pelo DNA: uma simulação. **Temas de Biologia**, n.1, p 1-4, 1995.

AMORIM, ANTÓNIO. Genética forense. **Nat Genet**, v. 6, n. 2, p. 130-5, 2015.

ARAÚJO, Samantha Kalil de. **Estudo das aplicações forenses do DNA na obtenção da identificação humana**. 2017.

CARDOSO, Kassya Munyse et al. A influência da PCR na perícia criminal. **AMAZÔNIA: SCIENCE & HEALTH**, v. 10, n. 2, p. 43-57, 2022.

CHEMELLO, E. Ciência forense: exame de DNA. **Química Virtual**. Disponível em: http://www.quimica.net/emiliano/artigos/2007mar_forense4.Pdf. Acesso em: 23 mar. 2017. COSTA, P. Cond.

DA SILVA LEITE, Viviane et al. Uso das técnicas de biologia molecular na genética forense. **Derecho y Cambio Social**, v. 10, n. 34, p. 21, 2013.

DECANINE, D. O papel de marcadores moleculares na genética forense. **Revista Brasileira de Criminalística**, v. 5, n. 2, p. 18-27, 2016.

FARRELL, N. The Murder Mystery Solved by DNA from the Back of a Postage Stamp. **Rev. Newsweek LLC**. Disponível em: <http://www.newsweek.com/2014/11/14/murdermystery-solved-back-stamp-282052.html>. Acesso em: 9 abr. 2017.

KOCH, Analara; ANDRADE, Fabiana Michelsen de. A utilização de técnicas de biologia molecular na genética forense: uma revisão. **Rbac**, v. 40, n. 1, p. 17-23, 2008.

MAGALHÃES, Vanda D. et al. Eletroforese em campo pulsante em bacteriologia-uma revisão técnica. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 64, n. 2, p. 155-161, 2005.

MELLO, Fernanda Carvalho de Queiroz; FONSECA-COSTA, Joseane. A utilidade da biologia molecular no diagnóstico da tuberculose. **Jornal Brasileiro De Pneumologia**, v. 31, p. 188- 190, 2005.

MINISTÉRIO DA JUSTIÇA E CIDADANIA (MJC). RIBPG. V RELATÓRIO DA REDE INTEGRADA DE BANCOS DE PERFIS GENÉTICOS. **Secretaria de Justiça e Segurança Pública**, 2016. Disponível em: <http://www.justica.gov.br/suaseguranca/ribpg/relatorio/v-relatorio-da-rede-integrada-de-bancos-de-perfis-geneticos-novembro-2016/view>. Acesso em 22 mai. 2017.

PENA, Sérgio DJ. **Segurança Pública: determinação de identidade genética pelo DNA.** In: Seminários Temáticos para a 3ª Conferência Nacional de C, T & I. Parcerias Estratégicas. 2005. p. 447-460.

PINHEIRO, M. F. Criminalística Biológica. In: CORTE-REAL, F.; VIEIRA, D. N. Princípios de genética forense. **Imprensa da Universidade de Coimbra/Coimbra University Press**, 2015. 197 p.

POMBO, Ana Maria Lima; DA COSTA FRANCEZ, Pablo Abdon; SILVA, R. S. **Risco de contaminação por DNA de alto peso molecular e por amplicons em Laboratório de Genética Forense no Brasil.** Revista Brasileira de Criminalística, v. 9, n. 2, p. 85-94, 2020.

RICHTER, V. S. Identificação Genética e Crime: a introdução dos bancos de DNA no Brasil. 2016. Tese (doutor em Antropologia Social) – **Programa de Pós Graduação em Antropologia Social da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Instituto de Filosofia e Ciências Humanas.** Porto Alegre, 2016

ROCHA, L.J.F.T; ANDRADE, L.A.C. **Utilização do Banco de Dados de Perfis Genéticos para a Resolução dos Casos Criminais e Identificação Humana do Estado de Alagoas.** Trabalho de Conclusão de Curso. Maceió-AL, 2015.

SOSSI, F. Donne fotografie tra i fantasmi del Mediterraneo. DEP - Deportate, **Esuli, Profughe, Bergano**, v.28, p.184-204, 2015.



POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DO LEITE ASININO EM FATORES ANTI-INFLAMATÓRIOS E PROLIFERATIVOS DE BACTÉRIAS PROBIÓTICAS: UMA REVISÃO

CARLOS EDUARDO ASSIS DA SILVA; JOELLINGTON MARINHO DE ALMEIDA

Introdução: O consumo de leite asinino tem aumentado na Europa e demonstrado significativo interesse em países da América, como o Brasil, devido às características benéficas da matriz pouco exploradas e sua composição semelhante ao leite humano. O seu uso sempre esteve voltado para a nutrição infantil e propriedades terapêuticas no tratamento de infecções e asma. **Objetivos:** Realizar um levantamento das macromoléculas presentes no leite asinino com potencial bioativo. **Metodologia:** Realizou-se o levantamento na literatura dentro de um período de dez anos em revistas, teses, dissertações e periódicos CAPES, a respeito da sua composição e propriedades potencialmente biotecnológicas a serem importantes na modulação de infecções e bactérias benéficas e/ou patogênicas. **Resultados:** Devido a sua composição é conferido ao leite asinino muitos usos potenciais como moduladores de processos biológicos, sendo considerado como um alimento funcional no combate a doenças, como de algumas alergias e na dermatite atópica. O seu perfil nutricional é caracterizado por ser rico em vitaminas A, C, D e E, minerais (Ca, Fe, Na e Zn), altos níveis de ácidos graxos essenciais e baixo teor de proteínas (1,5 – 1,8%) e lactose (5,8 - 7,4%). No leite asinino também podem ser encontrados outros compostos com propriedades bioativas e que auxiliam em funções biológicas e imunológicas, como a β e α -lactoglobulina e lisozima resistente às enzimas gastrointestinais, ácido siálico que se encontra associado a ligação de patógenos responsáveis por infecções na mucosa intestinal e no desenvolvimento neurocognitivo, ácidos graxos polinsaturados, citocinas e interleucinas com ações anti-inflamatórias, antitumorais e antibacterianas. **Conclusão:** Os compostos bioativos do leite asinino podem auxiliar nas infecções ocasionadas por bactérias patogênicas advindas de Doenças Veiculadas por Alimentos. Além do mais, os compostos presentes no leite asinino podem se ligar e promover a inibição de bactérias patogênicas, como a Salmonela e toxinas estafilocócicas, ocasionando na liberação das paredes gastrointestinais e contribuindo para a proliferação de microrganismos probióticos.

Palavras-chave: Alimentos funcionais, Biotecnologia de alimentos, Doenças veiculadas por alimentos.



EXENDINA-4 PROTEGE A MEMÓRIA ESPACIAL NA TAREFA DO Y-MAZE EM RATOS SUBMETIDOS A UM MODELO DE DEMÊNCIA ESPORÁDICA DO TIPO-ALZHEIMER

RENAN FRANKE MONTENEGRO TORRES; FERNANDA SILVA; ADRIANA MARIA ZAGO;
JESSIE GUTIERRES; MARILDA DA CRUZ FERNANDES

RESUMO

A doença de Alzheimer é caracterizada pelo seu perfil neurodegenerativo progressivo e desenvolvimento de demência. Dentre as diversas manifestações clínicas observadas em pacientes com a doença de Alzheimer encontram-se os déficits cognitivos e confusões na memória visuo-espacial. Atualmente, a doença afeta aproximadamente 2% da população dos países industrializados e estima-se que a incidência da doença de Alzheimer irá triplicar nos próximos 50 anos, levando em conta o aumento progressivo do risco da doença após os 70 anos de idade. Nenhum dos modelos animais disponíveis é capaz de contemplar e mimetizar a ampla gama de alterações cognitivas, comportamentais, bioquímicas e histopatológicas envolvidas no desenvolvimento da doença. Entretanto, algumas dessas alterações podem ser induzidas através de manipulações farmacológicas. O modelo animal em ratos Wistar induzido pelo composto diabetogênico estreptozotocina tem mostrado ser muito eficiente ao mimetizar essa condição. Este estudo buscou avaliar as alterações comportamentais no hipocampo de ratos submetidos à injeção intracerebroventricular de estreptozotocina; bem como um possível efeito protetor do tratamento com exendina-4, um peptídeo análogo ao glucagon e agonista dos receptores de glucagon tipo peptídeo-1 (GLP-1), comumente utilizado para estimular a secreção de insulina das células β -pancreáticas dependentes de glicose e administrado para o tratamento de diabetes melitus tipo 2. Exendina-4 foi administrada intraperitonealmente uma vez ao dia após a injeção intracerebroventricular de estreptozotocina (3 mg/kg, i.c.v.), e o tratamento estendeu-se até o dia 21. Os tratamentos com estreptozotocina, exendina-4, e seu agregado (estreptozotocina + exendina-4) causaram alterações significativas no peso corporal dos indivíduos quando comparados ao grupo controle. Não foram observados efeitos da exendina-4 e também nenhuma interação significativa entre os tratamentos para os níveis de glicose sanguínea. As alterações comportamentais em tarefas voltadas ao aprendizado e memória foram avaliadas, sendo possível identificar interação protetiva do exendina-4 na memória espacial contra demência esporádica do tipo Alzheimer induzida pela estreptozotocina.

Palavras-chave: Doença de Alzheimer, Estreptozotocina, Exendina-4, Neuroinflamação, Morte celular.

INTRODUÇÃO

A doença de Alzheimer (DA) é caracterizada pelo seu perfil neurodegenerativo progressivo e desenvolvimento de demência. Atualmente afeta aproximadamente 2% da população dos países industrializados e após os 70 anos de idade o risco aumenta progressivamente. De todas as doenças neurodegenerativas a DA é a forma mais comum das demências, sendo um processo resultante da morte de neurônios específicos em regiões particulares com formação de agregados proteicos na sua caracterização histopatológica. Esses agregados proteicos podem ocorrer no ambiente extracelular, nas placas senis (PS); ou no interior dos neurônios, os emaranhados neurofibrilares (ENF). Essas alterações histopatológicas estão associadas com o processo neurodegenerativo e estão relacionadas com o fenômeno de perda da memória e em alguns casos mais severos até mesmo alterações da personalidade. Algumas drogas podem temporariamente melhorar a memória, porém é muito difícil conter a perda desses neurônios envolvidos com o processamento e armazenamento das informações (MATTSON, 2004 e KIMURA, 2016).

As PS são formadas por depósitos extracelulares de agregados amorfos e insolúveis do peptídeo β -amiloide ($A\beta$), no entanto alguns depósitos difusos de $A\beta$ também podem estar presentes em grandes quantidades. Já os ENF são caracterizados pela proteína intracelular TAU, essa é uma proteína associada aos microtúbulos que após hiperfosforilação e/ou modificações oxidativas, formam agregados insolúveis. Tanto as PS quanto os ENF estão presentes principalmente nas regiões envolvidas com aprendizado, memória e comportamentos emocionais. Assim, essas regiões apresentam reduzidos números de sinapses e neuritos danificados pela presença dos agregados proteicos caracterizando a toxicidade (MATTSON, 2004; KIMURA, 2016).

Diversos modelos animais da DA têm sido desenvolvidos para estudar as características patológicas dessa doença, tanto modelos genéticos quanto não genéticos. Embora nenhum modelo animal disponível seja capaz de mimetizar todas as características cognitivas, comportamentais, bioquímicas e histopatológicas observadas na DA, algumas dessas alterações podem ser induzidas através de manipulações farmacológicas (YAMADA; NABESHIMA, 2000).

Um composto diabotogênico amplamente utilizado, a estreptozotocina (STZ), tem sido utilizado para induzir o modelo da DA quando administrado no ventrículo cerebral (i.c.v.) de ratos. Esse composto apresenta caráter hidrofílico devido à presença do grupamento hexose de sua estrutura que é de grande importância para ser internalizado pelas células (Chen et al, 2013). Embora o exato mecanismo de ação da STZ no sistema nervoso central (SNC) ainda não esteja completamente elucidado, já é sabido que é capaz de induzir a hiperfosforilação da TAU (LENZEN, 2007; KNEZOVIC et al., 2015). Além disso, alguns dos efeitos associados à sinalização down-stream do receptor de insulina (IR) também parecem estar envolvidos com a DA. Esses mecanismos estão diretamente relacionados com a perda da memória característica da doença (KNEZOVIC et al., 2015; KAMAT, 2015).

Mais especificamente, já foi demonstrado que o déficit de memória observado no modelo induzido por STZ está relacionado com uma redução na via de sinalização down-stream do IR na região CA3 do hipocampo de ratos (AGRAWAL et al., 2011). No entanto, estudos com pacientes portadores da DA mostraram que alteração na expressão do gene da GSK-3 β , down-stream da proteína cinase Akt, está envolvida com a presença de ENF

(SCHAFFER et al., 2008). De fato, uma sinalização aberrante da via da insulina, como ocorre no diabetes mellitus, parece estar relacionado com a formação tanto de PS quanto de ENF (KIMURA, 2016).

O período de avaliação após infusão do STZ varia de acordo com os objetivos do estudo. A literatura científica mostra dados com obtenção de déficits cognitivos já duas semanas (RODRIGUES et al., 2009), um mês (MURTISHAW et al., 2016; BIASIBETTI et al., 2017) ou ainda nove meses (KNEZOVIC et al., 2015) após a administração de STZ. Além disso, os estudos que buscam desenvolver o modelo da DA esporádica geralmente utilizam animais jovens para evitar os fatores relacionados ao envelhecimento (presente em ratos idosos), focando assim nos possíveis mecanismos envolvidos na sinalização disparada pela STZ.

Sabe-se que o hipocampo possui papel chave no processo de consolidação da memória. Os processamentos de neuroplasticidade ocorrem principalmente na região CA1, no entanto podem ser vistos na amígdala basolateral e nos córtices entorrinal, parietal e do cíngulo (IZQUIERDO; MEDINA, 1997). Em humanos, a lesão hipocampal produz amnésia retrógrada comprometendo ambas as memórias remotas e recentes.

Além do hipocampo, a DA também compromete outras estruturas encefálicas, com o processo degenerativo associado a disfunção insulínica e hiperfosforilação da TAU. São elas: o bulbo olfatório, o hipotálamo, diferentes regiões corticais e o cerebelo (EL KHOURY et al., 2014).

O Teste do Labirinto em Y é uma tarefa que permite avaliar a memória espacial de roedores. Resumidamente, este teste verifica se o roedor mantém na memória o espaço que acabou de explorar. Os experimentos são conduzidos em um ambiente com atenuação de sons e luz de baixa intensidade, onde o roedor é posicionado no centro de um labirinto em forma de Y. Num primeiro momento, o animal tem um intervalo de tempo para explorar dois braços (período este chamado de treino). No momento do teste (hora em que a memória é avaliada), o terceiro braço é liberado e o número de entradas e tempo gasto no braço novo é utilizado como parâmetro para avaliar a memória destes animais (GÖTZ; ITTNER, 2008).

Sabe-se que a DA não possui cura, e a busca por ferramentas que possam contribuir na prevenção ou proteção contra os efeitos deletérios nesta patologia assumem grande importância. Neste contexto, destacamos a exendina-4 (EXE-4). Esta molécula é um análogo do peptídeo-1 tipo glucagon (GLP-1) capaz de passar a barreira hemato-encefálica (CAI et al., 2014). Evidências apontam que a administração periférica deste peptídeo apresenta efeitos benéficos sobre a função cognitiva em um modelo animal de neuroinflamação associado à hiperglicemia (HUANG et al., 2012). Além disso, a ação neuroprotetora de agonistas GLP-1 já mostraram a capacidade de aumentar a neurogênese, sinaptogênese e reparação celular, bem como, suprimir a inflamação crônica reduzindo os níveis de placas amiloides (CAI et al., 2014). Mais recentemente, demonstramos que a EXE-4 foi capaz de reverter os déficits de memória na tarefa de Morris Water Maze e as alterações teciduais na barreira hemato-encefálica induzidas pela diabetes mellitus em ratos (ZANOTTO et al., 2017). Tais resultados sugerem que agonistas GLP-1, em especial EXE-4, apesar de pouco explorados, tem efeitos biológicos relevantes no SNC que vão além da homeostase da insulina e podem exercer um papel terapêutico para o tratamento de distúrbios cognitivos associados a diabetes mellitus. Com a execução deste projeto, espera-se encontrar um efeito protetor em potencial

da EXE-4 num modelo para a DA bem como descobrir possíveis mecanismos pelos quais esta molécula pode proteger as células do hipocampo contra a toxicidade induzida pelo STZ.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 40 (quarenta) ratos Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), machos de 90 dias, mantidos sob controle de luminosidade e temperatura (ciclo de 12 horas claro/12 horas escuro em constantes $22 \pm 1^\circ\text{C}$) e comida e água *ad libitum* em grupos de 5 (cinco) animais em caixas limpas de polipropileno recobertas com maravalha. Os animais receberam ração padrão (50% carboidrato, 22% proteína e 4% lipídio) e para os procedimentos que demandam anestesia (cirurgia estereotáxica e punções) foi utilizado cetamina/xilazina ([60-90] e [5-10] mg/Kg respectivamente i.p.). Os animais foram aclimatizados no biotério durante 10 dias até o início do experimento. Os procedimentos foram realizados de acordo com a Lei de Procedimentos para o Uso Científico de Animais - Lei nº 11.794/2008 que regulamenta o uso de animais para prática didático-científica.

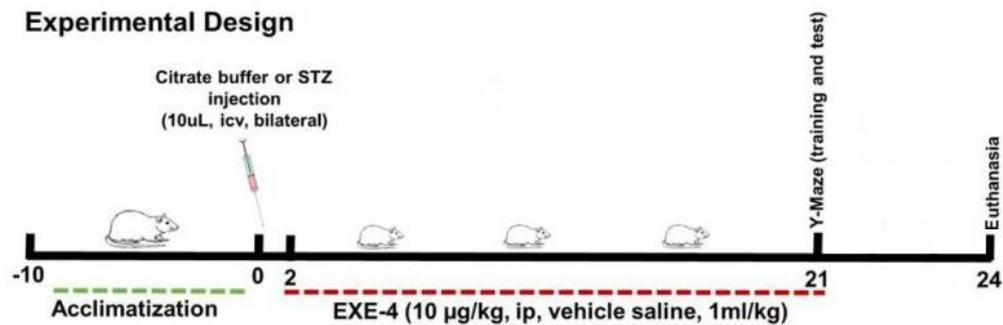


Figura 1. Desenho experimental

As administrações de estreptozotocina foram realizadas intracerebroventricular, bilateralmente num volume total de 10 uL (STZ, 3mg/kg, dissolvido em tampão citrato pH 7.4,) no dia 0.

As administrações de EXE-4 (dia 2 ao 21; dose 10 µg/kg) foram realizadas intraperitoneal (i.p). As drogas foram diluídas em solução PBS e este procedimento configura invasividade leve a moderada (ZANOTTO et al., 2017; TORTORELLI et al., 2015).

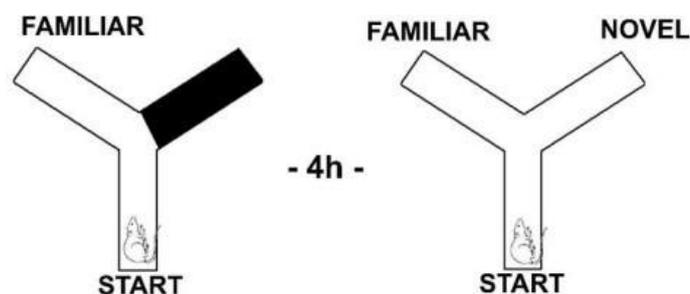


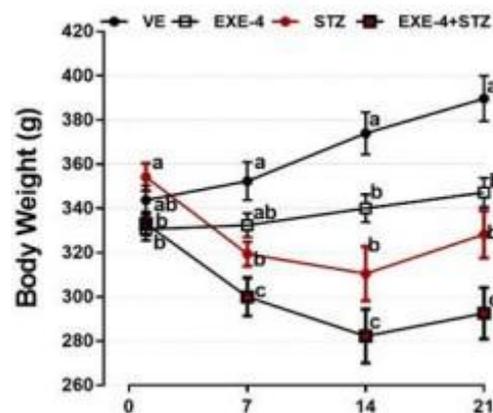
Figura 2. Desenho esquemático da execução na tarefa do Y-maze

Em ambiente de baixa luminosidade e silencioso, o roedor foi posicionado no fim do braço em Y (posição central do aparato) com acesso a apenas um dos braços. Durante os 5

primeiros minutos os animais puderam explorar dois braços. Ao término da habituação, o animal teve acesso ao braço novo. O teste foi realizado 4 horas após o treino para verificar a memória de curta duração. O número de entradas e o tempo gasto no braço novo foram utilizados como parâmetro para avaliação cognitiva (GÖTZ; ITTNER, 2008).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O gráfico 1 mostra que não houve diferença significativa entre os tratamentos quando comparados ao grupo veículo ($F(3,33)=3.484$; $P=0,0266$) no dia 1. No sétimo dia, ocorreu uma redução significativa do peso corporal ($F(3,33)=9.224$; $P=0,0001$) induzida por STZ em relação ao grupo veículo (vehicle vs STZ, $P=0,0024$; vehicle vs EXE-4+STZ, $P<0,0001$; EXE-4 vs STZ, $P=0,0034$). Os grupos EXE-4, STZ e EXE-4+STZ apresentaram uma redução significativa do peso corporal no décimo quarto dia comparado ao grupo veículo ($F(3,33)=13,73$; $P<0,0001$) (vehicle vs EXE-4, $P=0,0309$; vehicle vs STZ, $P=0,0001$; EXE-4 vs STZ, $P=0,0005$). O mesmo efeito também foi observado no 21 dia, onde todos os tratamentos reduziram o peso corporal ($F(3,33)=15,85$; $P<0,0001$) (vehicle vs EXE-4 $P=0,0058$; vehicle vs STZ, $P<0,0001$; vehicle vs EXE-4+STZ, $P<0,0001$; EXE-4 vs EXE-4+STZ, $P=0,0006$; STZ vs EXE-4+STZ, $P=0,0159$). Ao longo dos 21 dias, tanto a indução de demência esporádica tipo Alzheimer quanto o tratamento com EXE-4 reduziram o peso corporal. Além disso, STZ mostrou um efeito mais robusto na redução do peso corporal quando comparado com a EXE-4. A interação dos tratamentos EXE-4 + STZ mostrou um efeito somatório reduzindo ainda mais o peso corporal. $P<0.05$ foi considerado significativo. Dados expressos como média \pm erro padrão da média para $n=9-10$.

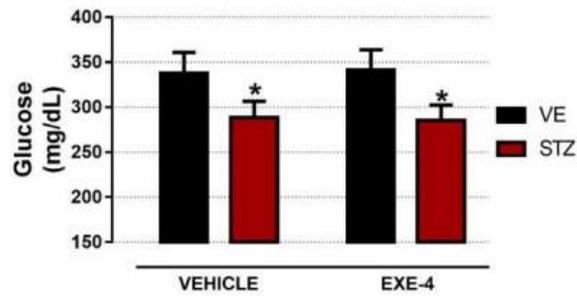


* $P<0.05$ foi considerado significativo.

**Dados expressos como média \pm erro padrão da média para $n=9-10$.

Gráfico 1. Efeito do tratamento com exendina-4 em ratos submetidos a um modelo de demência esporádica do tipo Alzheimer sobre o peso corporal

O gráfico 2 mostra que STZ reduziu os níveis de glicose no sangue dos grupos STZ e EXE-4+STZ ($F(1,32)=6.668$; $P=0,0148$), descartando um quadro hiperglicêmico de diabetes. Não foram observados efeitos da EXE-4 ($F(1,32)=0,005$; $P=0,9812$) e também nenhuma interação significativa entre os tratamentos ($F(1,32)=0.024$, $P=0,877$) para os níveis de glicose sanguínea. $P<0.05$ foi considerado significativo. Dados expressos como média \pm erro padrão da média para $n=9-10$.



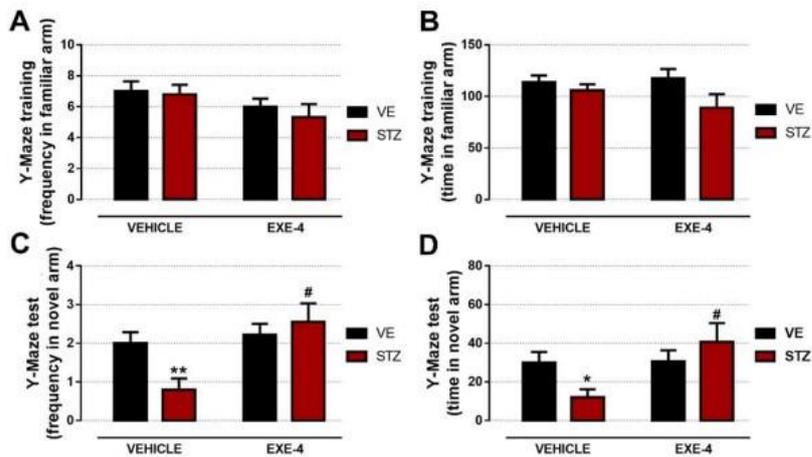
* P<0.05 foi considerado significativo.

**Dados expressos como média ± erro padrão da média para n=9-10.

Gráfico 2. Níveis de glicose plasmática após a eutanásia.

O gráfico 3A e 3B mostram que EXE-4 e STZ não alteram a frequência dos animais no braço familiar ($F(1,33)=1.255$; $P=0,2707$, graph 3A) nem o tempo gasto no braço familiar ($F(1,33)=0.123$; $P=0,7288$, graph 3B).

O gráfico 3C mostra que houve uma interação significativa entre os tratamentos onde EXE-4 protege contra a redução na frequência dos animais no braço novo induzida pelo STZ ($F(1,33)=5,061$; $P=0,0313$, graph 3C). Além disso, o mesmo efeito protetor foi visto quando avaliado o tempo gasto no braço novo ($F(1,31)=4,909$; $P=0,0342$, graph 3D).



* P<0.05 foi considerado significativo.

**Dados expressos como média ± erro padrão da média para n=9-10.

Gráfico 3. Efeito do tratamento com exendina-4 (EXE-4, 10µg/kg, ip) em ratos submetidos a um modelo de demência esporádica do tipo Alzheimer (STZ, 3mg/kg, icv) sobre a performance na tarefa do Y-Maze.

CONCLUSÃO

O projeto obteve resultados interessantes e impactantes para a área e demonstraram um efeito protetivo do tratamento com exendina-4 em ratos submetidos a um modelo de demência esporádica do tipo Alzheimer (DETA) sobre a memória espacial, na tarefa do Y-Maze, que está prejudicada em ratos submetidos a um modelo de DETA e foram revertidos pelo tratamento com EXE-4.

REFERÊNCIAS

- AGRAWAL, R. et al. Insulin receptor signaling in rat hippocampus: A study in STZ (ICV) induced memory deficit model. *European Neuropsychopharmacology*, v. 21, n. 3, p. 261–273, mar. 2011.
- BIASIBETTI, R. et al. Hippocampal changes in STZ-model of Alzheimer's disease are dependent on sex. *Behavioural Brain Research*, v. 316, p. 205–214, 1 jan. 2017.
- CHEN, Y. et al. A non-transgenic mouse model (icv-STZ mouse) of Alzheimer's disease: similarities to and differences from the transgenic model (3xTg-AD mouse). *Molecular neurobiology*, v. 47, n. 2, p. 711–25, 2013.
- GÖTZ, J.; ITTNER, L. M. Animal models of Alzheimer's disease and frontotemporal dementia. *Nature Reviews Neuroscience*, v. 9, n. 7, p. 532–544, jul. 2008.
- CAI, H.-Y. . et al. Lixisenatide rescues spatial memory and synaptic plasticity from amyloid β protein-induced impairments in rats. *Neuroscience*, v. 277, p. 6–13, set. 2014.
- HUANG, H.-J. et al. Exendin-4 protected against cognitive dysfunction in hyperglycemic mice receiving an intrahippocampal lipopolysaccharide injection. *PloS One*, v. 7, n. 7, p. e39656, 2012.
- IZQUIERDO, I.; MEDINA, J. H. Memory Formation: The Sequence of Biochemical Events in the Hippocampus and Its Connection to Activity in Other Brain Structures. *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 68, n. 3, p. 285–316, nov. 1997.
- EL KHOURY, N. B. et al. Insulin dysfunction and Tau pathology. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, v. 8, 2014.
- KIMURA, N. Diabetes Mellitus Induces Alzheimer's Disease Pathology: Histopathological Evidence from Animal Models. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 17, n. 4, p. 503, 5 abr. 2016.
- KNEZOVIC, A. et al. Staging of cognitive deficits and neuropathological and ultrastructural changes in streptozotocin-induced rat model of Alzheimer's disease. *Journal of Neural Transmission*, v. 122, n. 4, p. 577–592, 26 mar. 2015.
- LENZEN, S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, v. 51, n. 2, p. 216–226, 18 dez. 2007.
- KAMAT, P. Streptozotocin induced Alzheimer's disease like changes and the underlying neural degeneration and regeneration mechanism. *Neural Regeneration Research*, v. 10, n. 7, p. 1050, 2015.
- MATTSON, M. P. Pathways towards and away from Alzheimer's disease. *Nature*, v. 430, n. 7000, p. 631–639, ago. 2004.
- MURTISHAW, A. S. et al. Effect of acute lipopolysaccharide-induced inflammation in intracerebroventricular-streptozotocin injected rats. *Neuropharmacology*, v. 101, p. 110–122, fev. 2016.

PIAZZA, F. V. et al. Enriched environment prevents memory deficits in type 1 diabetic rats. *Behavioural Brain Research*, v. 217, n. 1, p. 16–20, fev. 2011. RAHMEIER, F. L. et al. The effect of taurine and enriched environment on behaviour, memory and hippocampus of diabetic rats. *Neuroscience Letters*, v. 630, p. 84–92, set. 2016.

RODRIGUES, L. et al. Hippocampal alterations in rats submitted to streptozotocin-induced dementia model are prevented by aminoguanidine. *Journal of Alzheimer's disease: JAD*, v. 17, n. 1, p. 193–202, 2009.

SCHAFFER, B. A. J. et al. Association of GSK3B With Alzheimer Disease and Frontotemporal Dementia. *Archives of Neurology*, v. 65, n. 10, p. 1368–1374, 13 out. 2008.

TORTORELLI, L. S. et al. Cocaine counteracts LPS-induced hypolocomotion and triggers locomotor sensitization expression. *Behavioural Brain Research*, v. 287, p. 226–229, 2015.

VERRET, L. et al. Transient enriched housing before amyloidosis onset sustains cognitive improvement in Tg2576 mice. *Neurobiology of Aging*, v. 34, n. 1, p. 211–225, jan. 2013.

YAMADA, K.; NABESHIMA, T. Animal models of Alzheimer's disease and evaluation of anti-dementia drugs. *Pharmacology & Therapeutics*, v. 88, n. 2, p. 93–113, nov. 2000.

ZANOTTO, C. et al. Exendin-4 Reverses Biochemical and Functional Alterations in the Blood-Brain and Blood-CSF Barriers in Diabetic Rats. *Molecular Neurobiology*, v. 54, n. 3, p. 2154–2166, 1 abr. 2017.



AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DE GENES ENVOLVIDOS COM A INFECÇÃO POR SARS-COV-2 EM BIÓPSIAS PULMONARES

GABRIELA CASANI CARDOSO; FERNANDO AUGUSTO DE OLIVEIRA GANZELLA; MARIA EDUARDA BRAGA VILACIO PINTO; GISELI KLASSEN; EDNEIA AMANCIO DE SOUZA RAMOS CAVALIERI

Introdução: A COVID-19 é causada pelo vírus SARS-CoV-2 e causa desde sintomas de um resfriado comum até doenças entéricas, neurológicas e respiratórias. Apesar dos vários esforços mundiais na compreensão da doença, há inúmeros pontos obscuros sobre a imunopatologia e o processo inflamatório. **Objetivos:** Avaliar a expressão de genes envolvidos na internalização do vírus SARS-CoV-2, na inflamação, fibrose e na hiperresponsividade pulmonar em biópsias pulmonares de pacientes acometidos por COVID-19. **Metodologia:** Foram obtidas 30 amostras de tecido pulmonar de pacientes que foram a óbito por COVID-19. O RNA total foi extraído através da ruptura dos tecidos, e a partir dele foi realizada a síntese da fita complementar (cDNA). Os cDNAs foram submetidos à técnica de RT-qPCR, servindo como molde para avaliar quantitativamente a expressão gênica de *ACE2*, *ADAM17*, *TMPRSS2*, *ADAM33*, *MMP2*, *MMP9* e *MMP14*, *TGFBR1* e *2*, *COX2*, *CXCL12*, *ICAM* e *TNF α* , além de genes envolvidos na metilação do DNA (*DNMT1*, *DNMT3a* e *DNMT3b*). **Resultados:** No que diz respeito aos genes sabidamente envolvidos no processo de internalização de SARS-CoV-2, foi observado aumento na expressão de *ACE2* e diminuição na expressão de *TMPRSS2* e *ADAM17*. Os genes envolvidos em vias inflamatórias, *CXCL12*, *TNF α* e *COX2* se mostraram superexpressos, enquanto *ICAM-1*, *TGFBR1* e *TGFBR2* tiveram expressão consideravelmente reduzida. Em relação aos genes envolvidos com a fibrose e hiperresponsividade pulmonar, o gene *MMP2* apresentou diminuição de expressão enquanto os genes *MMP9*, *MMP14* e *ADAM33* se mostraram aumentados. Além disso, genes relacionados com a metilação de DNA também foram analisados, tais como das enzimas DNMT1 e DNMT3a que apresentaram diminuição de expressão, enquanto o gene da enzima DNMT3b está superexpresso nas amostras pulmonares. Todas as análises foram estatisticamente significantes ($p < 0,05$). **Conclusão:** A alteração da expressão de genes envolvidos com a internalização do vírus, hiperresponsividade pulmonar e fibrose em pacientes que foram a óbito por COVID-19 indicam provável regulação por mecanismos epigenéticos, uma vez que genes relacionados com a metilação *de novo* do DNA. Outras análises em diferentes materiais biológicos serão necessárias para compreender se as alterações evidenciadas neste trabalho são um evento causado pelo vírus SARS-CoV-2 ou são características individuais do paciente.

Palavras-chave: Covid-19, Expressão gênica, Epigenética.



DETECÇÃO DE GENES DE VIRULÊNCIA POR REACÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE EM KLEBSIELLA SPP ISOLADAS DE DÍPTEROS MUSCOIDES

MAYARA OLIVEIRA COSTA; VIVIANE ZAHNER; ISABEL NOGUEIRA CARRAMASCHI

Introdução: *Klebsiella pneumoniae* consta na lista, descrita pela Organização Mundial da Saúde, de espécies bacterianas para as quais antibióticos são urgentemente necessários. Esta importância se dá pela multirresistência e virulência apresentada ao nível global por cepas desta espécie. Desta forma parece ser um importante reservatório de genes de resistência e virulência, ressaltando-se que a maior parte da informação neste tema é obtida a partir de estudos que utilizam cepas de origem clínica.

Objetivos: De acordo com a perspectiva do conceito de Saúde Única, o presente projeto tem como objetivo verificar se bactérias clínicas e ambientais dividem os mesmos determinantes genéticos de virulência. **Metodologia:** Foram utilizadas 15 cepas de *K. pneumoniae*, 10 isoladas a partir de moscas sinantrópicas, com diferentes perfis de sensibilidade aos antimicrobianos, pertencentes ao acervo do LEMEF/IOC/Fiocruz, e 5 de origem clínica para efeito comparativo. A PCR foi utilizada para amplificação de genes que codificam adesinas das fimbrias tipo 1 e 3 (*fimA*, *mrkA*), genes de cápsula (*matB*, *pilQ*, *K2-wzy*, *K2-wzx*, *K1-magA*, *K1-wzx*), codificador de toxina (*npsB*), reguladores transcricionais envolvidos em virulência (*rmpA*, *rmpA_2*, *Cr_rmpA*), codificador de proteínas (*RpoD*), sideróforos (*Irp*, *Iuc*, *Kfu*), *oxyRrt1/ oxyRrt2*, metabolismo da alantoína (*allS*), proteína transportadora de heme 1 (*Hcp1*), proteína efetora do sistema de secreção tipo VI (*VgrG1*), codifica fosfolipase (*Pld1*). **Resultados:** Dentre os genes pesquisados *k2 wzy*, *rmpA2*, *irp*, *oxy Rrt1* e 2, *K2-wzx* só amplificaram na cepa Kp52.145 que é hipervirulenta, o gene *Kfu* só amplificou nas cepas ambientais, o gene *matB* esteve presente em 100% das cepas analisadas, enquanto os genes *fim1* e *pilQ* não foram amplificados em nenhuma cepa analisada. Já os demais genes apresentaram presença variável dentro das amostragens entre as cepas ambientais e clínicas. **Conclusão:** Nossos resultados demonstram a variabilidade genética de *K. pneumoniae* e seu polimorfismo. Sugere-se que existe genes específicos para a cepa hipervirulenta e o gene *Kfu* que codifica para transporte de ferro e função da fosfotransferase parece estar presente somente nas cepas isoladas a partir de moscas. Espera-se que os resultados desse projeto contribuam para a compreensão da epidemiologia da dispersão da resistência e virulência neste importante patógeno bacteriano.

Palavras-chave: Dípteros muscoides, *Klebsiella pneumoniae*, Reservatório, Saúde única, Virulência.



UTILIZAÇÃO DE SISTEMA MALDI-TOF MS PARA IDENTIFICAÇÃO DE LINHAGENS BACTERIANAS ISOLADAS DE INDÚSTRIA PRODUTORA DE IMUNOBIOLOGICOS

NATHALIA GONCALVES SANTOS CALDEIRA; REBECA VITÓRIA DA SILVA LAGE;
LUCIANA VELOSO DA COSTA; MARCELO LUIZ LIMA BRANDÃO; VIVIANE ZAHNER

Introdução: A contaminação microbiana é um dos principais riscos associados à produção de medicamentos. A identificação precisa da microbiota detectada no ambiente de produção farmacêutico é fundamental para que sejam investigadas as fontes de contaminação, possibilitando assim a realização de ações preventivas e corretivas. Estudos utilizando a metodologia *Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization – Time of Flight / Mass Spectrometry* (MALDI-TOF MS), que fornece informações sobre o proteoma bacteriano, têm demonstrado melhor taxa de identificação de linhagens de origem farmacêutica, além da rapidez na obtenção dos resultados. **Objetivo:** Identificar por MALDI-TOF MS linhagens bacterianas isoladas de indústria farmacêutica não identificadas ao nível de espécie pelo sistema semi-automatizado VITEK[®]2. **Metodologias:** Foram analisadas 48 linhagens bacterianas isoladas de uma indústria farmacêutica no período de 2010 a 2021, criopreservadas em *skim milk* com glicerol a 30% a -70°C, com uso do sistema semi-automatizado VITEK[®] MS conforme instruções do fabricante. Os resultados foram analisados pelo programa Saramis Premium (versão 4.0.0.14) e avaliados de acordo com o nível de confiança a ele atribuído. **Resultados:** Das 48 linhagens analisadas, 26 (54,0 %) não foram identificadas, 18 (37,5 %) tiveram identificação ao nível de espécie, e quatro (8,3 %) tiveram identificação ao nível de gênero. O gênero que incluiu maior número de linhagens foi *Bacillus* (n=10; 20,8 %), seguido de *Micrococcus* e *Brachybacterium*, ambos com três linhagens (6,2 %). Outros seis gêneros foram identificados, cada um com uma linhagem (2,1 %) identificada ao nível de espécie. **Conclusão:** O sistema MALDI-TOF MS não foi capaz de identificar a maioria das linhagens bacterianas estudadas. Desta forma, a utilização de outras metodologias, como por exemplo o sequenciamento do gene 16S rRNA, são necessárias para identificação destas linhagens aos níveis de gênero/espécie. Após a identificação por sequenciamento, superespectros podem ser criados e inseridos no banco de dados do MALDI-TOF MS, de forma que este consiga identificar estas linhagens de origem farmacêutica.

Palavras-chave: Controle microbiológico, Identificação bacteriana, Indústria farmacêutica, Maldi-tof ms, Taxonomia bacteriana.



ATIVIDADE ANTICANCERÍGENA DE ÓLEO ESSENCIAL DE MELALEUCA ALTERNIFOLIA: UMA REVISÃO

JULIANA PEREZ MARQUES TEIXEIRA; DOUMIT CAMILIOS NETO

Introdução: O câncer é uma das principais causas de morte em diversos países. Caracterizado pelo crescimento celular desordenado, com a habilidade de invadir tecidos locais ou espalhar para outras áreas do corpo. Os agentes sintéticos utilizados para o tratamento de câncer não são seletivos, podendo atacar células normais. Há estudos interessados na atividade anticancerígena de produtos naturais, especialmente dos óleos essenciais (OEs), que podem ser produzidos em altas quantidades à baixo custo. Os OEs são metabólitos secundários voláteis produzidos e extraídos de diversas partes de plantas aromáticas. O óleo de *Melaleuca alternifolia* é um dos principais OEs com atividade anticancerígena. Conhecida popularmente como árvore do chá, a *Melaleuca alternifolia* é um arbusto nativo da Austrália, pertencente à família *Myrtaceae*. **Objetivo:** Realizar uma breve revisão de literatura sobre a atividade anticancerígena do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*. **Metodologia:** Foi realizada uma revisão de literatura a partir de artigos disponíveis nas plataformas Google Acadêmico e *ScienceDirect* publicados no período entre 2018 e 2022, utilizando os descritores “*antitumor activity*”, “*anticancer activity*” e “*Melaleuca alternifolia*”. Foram selecionados 8 artigos. **Resultados:** Os OEs apresentam diferentes composições químicas que conferem uma grande variedade de propriedades bioativas de interesse médico e farmacêutico. O óleo de *Melaleuca* apresenta mais de 100 compostos, com predominância do 4-terpineol, principal responsável pelas propriedades bioativas dessa planta. Estudos relatam efeitos citotóxicos do OE de *Melaleuca alternifolia* em diferentes linhagens celulares cancerígenas. O efeito citotóxico do óleo foi avaliado através de valores de IC_{50} (concentração que causa 50% de inibição celular). Foram relatados valores variam de 0,781 a 762 $\mu\text{g/mL}$. Em relação aos mecanismos de ação do OE, potencialmente estão associados a inibição do ciclo celular, danos ao DNA e indução de apoptose. Também foi relatado que células cancerígenas são mais sensíveis ao efeito do óleo essencial quando comparadas as células normais. **Conclusão:** Há um grande potencial na utilização do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* como agente terapêutico anticancerígeno. No entanto, ainda são necessários mais estudos para melhor compreender os mecanismos de ação do OE sobre as células.

Palavras-chave: Anticancerígenos, *Melaleuca alternifolia*, óleos essenciais.



ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE UMA RIZOBACTÉRIA RESISTENTE AO CROMO DE HYMENACHNE GRUMOSA

RAQUEL LUIZE DE CARVALHO; AMANDA DE OLIVEIRA GARCIA; ROBSON ANDREAZZA; ANA PAULA PINTO

Introdução: O Cromo ocorre de forma natural, principalmente nos estados de oxidação Cr(III) e Cr(VI). Pequenas concentrações de Cr(III) são essenciais à nutrição humana, porém o Cr(VI), geralmente proveniente de efluentes industriais, é altamente tóxico, teratogênico e mutagênico. A Biorremediação, alternativa sustentável de descontaminação, é realizada através de organismos capazes de sobreviver em ambientes contaminados, que desenvolvem mecanismos de resistência e adaptação aos elementos aos quais estão expostos. **Objetivos:** Selecionar uma estirpe bacteriana resistente ao Cromo encontrada nas raízes da macrófita aquática *Hymenachne grumosa* para identificação molecular. **Metodologia:** Foi realizado o isolamento de rizobactérias resistentes ao Cromo encontradas na macrófita aquática *H. grumosa*, retirada do Arroio Santa Bárbara (Pelotas, RS, Brasil). Após testes de crescimento e biorremoção em meio contendo Cromo, uma das estirpes foi selecionada e encaminhada para identificação através de sequenciamento genético. **Resultados:** A análise de identificação da estirpe selecionada foi realizada por PCR do DNA extraído da amostra, utilizando oligonucleotídeos específicos para o domínio bactéria (16S rDNA). O microrganismo selecionado apresentou 98,84% de similaridade com *Exiguobacterium acetylicum*, sob o número de acesso NR_043479.1 no NCBI. A sequência do gene 16S rRNA foi depositada no banco de dados Genbank sob o número de acesso SUB8476289. **Conclusão:** Bactérias do gênero *Exiguobacterium* são capazes de biodegradar uma série de compostos xenobióticos e podem ainda ser usadas para mitigar a poluição ambiental, apresentando mecanismos de resistência frente a metais e semimetais. Assim, *E. acetylicum* caracteriza-se como potencial biorremediadora, podendo ser aplicada com sucesso em técnicas de Biorremediação para remoção de Cr de ambientes contaminados.

Palavras-chave: Biorremediação, Contaminação por cromo, *Exiguobacterium acetylicum*, *Hymenachne grumosa*, Rizobactérias resistentes ao cromo.



PRODUÇÃO, EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE AERUGINALDEIDO PRODUZIDO POR PSEUDOMONAS AERUGINOSA PAO1

FLAVIA CRISTINA CAPELLO NEVES; KAMILA BYANCA BALDIN WESSEL; JOSIANE ALESSANDRA VIGNOLI; GERSON NAKAZATO; DOUMIT CAMILIOS-NETO

Introdução: O aeruginaldeido, o qual possui fórmula química 2-(2-hidroxifenil) tiazol-4-carbaldeído, é uma substância, cujos recentes estudos indicam propriedades antimicrobianas. É produzido pela bactéria *Pseudomonas aeruginosa* e faz parte do *quorum sensing*, um sistema de defesa utilizado por algumas comunidades bacterianas. **Objetivo:** Este trabalho teve como objetivo produzir, extrair e purificar o aeruginaldeido, produzido por *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. **Metodologia:** Foram realizados cultivos em frascos de 100 mL de meio de sais, acrescentado de glicerol (3 % v/v). Os meios inoculados foram incubados por 3 dias e interrompidos por centrifugação durante 20 minutos. Submeteu-se então o sobrenadante livre de células a uma extração ácido-base. Para tanto, ajustou-se o pH para 11 com uma solução de NaOH. Obtiveram-se duas fases: uma orgânica e outra aquosa, sendo a fase aquosa a utilizada para ter o pH alterado. Ajustando-se para pH 2 com uma solução de HCl, obteve-se, por fim, um extrato orgânico que continha o aeruginaldeido. A purificação foi realizada por cromatografia em camada delgada (CCD) preparativa. Foram utilizadas placas de vidro recobertas com sílica gel ativada em estufa a 100 °C por duas horas. O extrato ácido foi aplicado e eluído com a fase móvel clorofórmio:metanol 5 %. Depois da corrida cromatográfica, as regiões separadas foram raspadas e extraídas com clorofórmio e metanol. O composto purificado teve sua massa determinada por gravimetria e foi também analisado por cromatografia em camada delgada (CCD) analítica. **Resultados:** A produção de aeruginaldeido foi possível por meio de fermentação submersa. A extração realizada se deu em duas etapas (ácido-base) e a molécula de interesse se encontrava no extrato ácido, na segunda extração. Pela análise das CCDs analíticas, a purificação por meio de CCDs preparativas concentrou a molécula, tornando-a mais pura. Sua cor alaranjada característica pôde ser detectada nas placas de cromatografia preparativa. **Conclusão:** O aeruginaldeido produzido pôde ser extraído e purificado por meio de metodologia descrita. Para futuras análises de propriedades antimicrobianas, a substância ainda passará por mais testes de pureza, para ser devidamente utilizada em análises antibióticas.

Palavras-chave: Aeruginaldeido, Extração, *Pseudomonas aeruginosa*, Purificação.



O USO DA SALIVA COMO AMOSTRA BIOLÓGICA PARA DETECÇÃO DE SARS-COV-2 ATRAVÉS DA TÉCNICA DE PCR EM TEMPO REAL (RT-PCR)

ERIKA MACEDO DA SILVA; MAURICIO TERUO TADA; NATALIA CRUZ E MELO;
ANDREA SANTOS LIMA; RENATA DE ALMEIDA COUDRY

Introdução: O diagnóstico recomendado pela Organização Mundial da Saúde para infecção por SARS-CoV-2 é baseado na detecção de RNA viral em espécimes respiratórios, como swab de nasofaringe/orofaringe por meio da técnica de PCR em tempo real (RT-PCR). No entanto, a necessidade de aumentar a capacidade de testes de SARS-CoV-2 em distintas realidades associadas à disponibilidade de suprimentos de coleta, motivou a busca por tipos alternativos de amostras. **Objetivos:** Comparar a detecção de SARS-CoV-2 em amostras de saliva em relação a detecção em amostras de swab nasofaringe/orofaringe (NP/OP) através da RT-PCR. **Metodologia:** Foram coletadas 253 amostras de saliva e swab NP/OP de pacientes oriundos de três hospitais de médio porte de São Paulo, entre abril a maio de 2021. Todos os pacientes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). Foram utilizados o kit *MagMAXTM Viral/Pathogen Nucleic Acid Isolation* (ThermoFisher) e o protocolo lise de saliva para obtenção de RNA, em amostras de swab e saliva, respectivamente. O kit de detecção multiplex para swab (*TaqPathTM COVID-19 CE?IVD RT?PCR*, ThermoFisher) tem como alvo regiões dos genes ORF1ab, N e S e como controle exógeno o MS2. Enquanto, o kit para saliva *RT-PCR TaqManTM SARS-CoV-2 – CDC* possui como alvo duas regiões do gene N (N1/N2) e como controle endógeno a RNaseP. Ambos os kits de detecção de SARS-CoV-2 foram realizados de acordo com as recomendações das fabricantes. A análise estatística foi feita utilizando o software SPSS. **Resultados:** A positividade para SARS-CoV-2 foi de 27,66% (70/253). Todas as amostras testadas apresentaram amplificação da RNaseP, mostrando que a etapa de lise da saliva foi eficiente. Em comparação ao método padrão-ouro a detecção de SARS-CoV-2 utilizando a saliva como amostra biológica apresentou alta sensibilidade de 95,7% e a especificidade de 98,4%. Foi obtida elevada taxa de concordância entre os testes (97,6%), com alta taxa de confiabilidade ($\kappa=0,941$; $p<0,001$). **Conclusões:** O teste de RT-PCR em amostra de saliva apresentou alta sensibilidade e especificidade para o diagnóstico da COVID-19. Dessa forma, a amostra direta de saliva se mostrou com boa aplicabilidade na rotina laboratorial por reduzir os custos com métodos de extração e praticidade na coleta.

Palavras-chave: Sars-cov-2, Pcr em tempo real, Multiplex, Saliva, Swab nasofaringe/orofaringe.



VALIDAÇÃO DO TESTE MOLECULAR DE PCR EM TEMPO REAL (RT-PCR) PARA DETECÇÃO DE SARS-COV-2 EM AMOSTRAS DE SALIVA ATRAVÉS DO KIT CDC

ERIKA MACEDO DA SILVA; MAURICIO TERUO TADA; SIBELE INACIO MEIRELES;
KATHARYNA CARDOSO DE GOIS; JAINE SOARES LIMA DA SILVA

Introdução: No início do ano de 2020, a Organização Mundial de Saúde declarou surto do novo coronavírus (SARS-CoV-2), desde então a COVID-19 é responsável por elevada mortalidade e morbidade no mundo. Atualmente, a coleta de swab nasofaringe/orofaringe (NP/OP) para detecção de SARS-CoV-2 através da técnica de PCR em tempo real (RT-PCR) representa o padrão ouro para identificação viral. No entanto a coleta de swab NP/OP é considerada invasiva e causa desconforto ao paciente. Neste cenário, a amostra de saliva, oferece vantagens claras, práticas e logísticas. **Objetivos:** Validar a detecção direta do SARS-CoV-2 na amostra de saliva por meio da técnica de RT-PCR. **Metodologias:** Em 2021, foram coletadas amostras de saliva e swab NP/OP de 147 pacientes oriundos de três hospitais, em São Paulo. Todos os pacientes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). A extração do RNA das amostras de swab de NP/OP foi realizada utilizando o kit *MagMAX™ Viral/Pathogen Nucleic Acid Isolation* (ThermoFisher). A lise de saliva, foi realizada utilizando o protocolo descrito por Ranoa *et al* (2020), com modificações. A detecção do SARS-CoV-2 foi realizada através do kit CDC (*Real-Time RT-PCR Panel for Detection 2019-Novel Coronavirus*) seguindo as recomendações da fabricante. Este kit tem como alvo duas regiões do gene N (N1/N2) e o controle endógeno (RNaseP). A análise estatística foi feita através do software SPSS. **Resultados:** Foram processadas 147 amostras de saliva e swab NP/OP, sendo observada positividade de 50,34%. Todas as amostras testadas apresentaram amplificação da RNaseP, mostrando que as etapas de extração e lise da saliva foram eficientes. A identificação do SARS-CoV-2 realizada em amostras de saliva em relação às amostras de swab NP/OP mostrou sensibilidade de 97,0% e especificidade de 99,0%. A concordância do teste foi de 97,96% ($\kappa = 0,959$; $p < 0,001$), com valor preditivo positivo de 97,3% e o valor preditivo negativo de 98,6%. **Conclusões:** Os ensaios de RT-PCR utilizando amostras de saliva alcançaram sensibilidade e especificidade semelhantes àqueles realizados em amostras de swab NP/OP, demonstrando que a amostra de saliva pode ser utilizada na detecção de SARS-CoV-2 de forma eficaz, sem causar desconforto ao paciente e de forma custo-efetiva.

Palavras-chave: Sars-cov-2, Pcr em tempo real, Saliva, Covid-19, Swab nasofaringe/orofaringe.



A IMPORTÂNCIA DO SEQUENCIAMENTO GENÉTICO E SEU ARMAZENAMENTO POR BIG DATA NA IDENTIFICAÇÃO DE GENES PARA TRATAMENTO DE DOENÇAS HEREDITÁRIAS

FRANCIELE VITÓRIA DA SILVA

Introdução: O Projeto Genoma humano começou em 1990 liderado pelos Estados Unidos, sendo um dos grandes marcos da ciência, que representou uma Revolução Terapêutica na Medicina, possibilitando análises genéticas moleculares para a identificação de genes específicos para busca mais profunda das causas de doenças. A bioinformática surgiu como suporte a genômica, resultando em bancos de dados biológicos (amostras de DNA) em grande volume, conhecidos como Big Data. **Objetivo:** Relacionar a importância do sequenciamento genético e armazenamento por Big Data na análise de genes responsáveis pela manifestação de doenças genéticas, a fim de realizar o diagnóstico e tratamento de forma precisa. **Metologia:** O presente estudo trata-se de uma revisão de literatura, utilizando-se da plataforma Google Acadêmico e PubMed, como meio de busca de artigos. Foi utilizado filtro de busca no idioma português e inglês e nos respectivos termos: Sequenciamento, Big Data e Doenças Genéticas. **Resultados:** O armazenamento de genomas de pacientes pelos serviços de saúde possibilitaria novas análises e diagnósticos com elevado nível de acurácia, avaliando a eficácia de drogas em condições específicas de cada organismo. É importante ressaltar que indivíduos com a mesma mutação para determinado gene podem apresentar casos clínicos diferentes, o que também é um entrave, como doenças multifatoriais como hipertensão arterial, diabetes que são constantemente influenciadas pelo meio. Entretanto, doenças como anemia falciforme, fibrose cística, miopatia de Duchenne, doença de Huntington e formas hereditárias do câncer de mama, podem proporcionar informações relevantes. Assim tratamentos evasivos poderiam ser evitados, por meio de análise de genes específicos e tratamentos por terapia gênica, sendo possível o melhor acompanhamento dos resultados e melhor qualidade de vida para o paciente. **Conclusão:** O sequenciamento genético foi o grande marco da genética moderna, e com o auxílio da bioinformática mostrou-se de grande importância na Biologia Molecular. Apesar de ser uma área recente e que ainda demanda estudo aprofundado, é visível que a utilização de informações para tratamentos genéticos seria o tratamento mais acurado possível.

Palavras-chave: Big data, Doenças genéticas, Sequenciamento, Genoma, Biologia molecular.



ESTUDO RETROSPECTIVO SOBRE A CIRCULAÇÃO DAS VARIANTES DE CPV-2 NO BRASIL E AS PRINCIPAIS SUBSTITUIÇÕES DE AMINOÁCIDOS ENCONTRADAS

LUIZA DOS SANTOS MIRANDA; JOANA DETOFANO; BRENDA PICOLI GHENO; TAMIRIS SILVA LOPES; ANDRÉ FELIPE STRECK

INTRODUÇÃO: A parvovirose canina é uma doença infecto-contagiosa causada pelo parvovírus canino tipo 2 (CPV-2), que possui alta capacidade mutagênica. Suas cepas circulantes, CPV-2a, 2b e 2c, são originárias da CPV-2, a qual foi totalmente substituída pelas três citadas. A VP2, sua principal proteína estrutural, constitui cerca de 90% do capsídeo viral e desempenha um papel importante nas interações entre vírus e hospedeiro. A doença atinge majoritariamente cães jovens e é caracterizada principalmente pela presença de enterite hemorrágica. A alta evolução do vírus pode levar a escapes imunológicos e, conseqüentemente, a falhas vacinais. **OBJETIVO:** O objetivo do estudo foi avaliar a prevalência das variantes antigênicas do CPV-2 em cães no território brasileiro, além de analisar as principais substituições de aminoácidos presentes em cada grupo. **METODOLOGIA:** Todas as seqüências completas brasileiras do gene VP2 foram coletadas da plataforma *GenBank*. Em seguida, o *dataset* foi alinhado pelo método *Muscle* no *software* *MEGA-X*. Posteriormente, os nucleotídeos foram traduzidos em aminoácidos e as seqüências foram classificadas em CPV-2a, 2b ou 2c com base no aminoácido 426. As variantes foram separadas por grupos e as substituições de aminoácidos foram contadas manualmente utilizando a cepa clássica como referência (CPV-N: M19296.1). As substituições foram consideradas significativas quando superiores a 40%. **RESULTADOS:** Ao todo, foram analisadas 107 seqüências, coletadas no período de 1980 a 2020. Dessas, 56% foram classificadas como CPV-2a, 15% como CPV-2b e 29% como CPV-2c. Algumas substituições foram ubíquas, independentemente da classificação antigênica, como nas posições M87L, I101T, A300G e Y367D. A substituição no sítio 297 também esteve presente em todas as variantes, porém em diferentes proporções. As variantes CPV-2a e 2b tiveram em comum as substituições nos resíduos F267Y, D305Y e Y324I em proporções semelhantes. A única substituição presente em apenas uma variante foi no sítio T440A, encontrada apenas na CPV-2a. **CONCLUSÃO** Conclui-se que a variante CPV-2a é prevalente no Brasil, seguida pela CPV-2c. As substituições encontradas a partir do estudo podem justificar as falhas vacinais que ocorrem mesmo em cães com o protocolo vacinal completo, visto que as vacinas são baseadas na cepa clássica e não nas cepas circulantes.

Palavras-chave: Bioinformática, Brasil, Variantes, Parvovirose, Vacina.



PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS A INFECÇÃO PELO PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) EM MULHERES SUBMETIDAS AO PCCU NA CIDADE DE BELÉM-PA

MAYARA NERINA FORTES ARTHUR; JOSIELLEM DAMASCENO DE SOUZA; ALDIR DOS SANTOS PEREIRA; JACQUELINE CORTINHAS MONTEIRO

INTRODUÇÃO: O câncer de colo de útero apresenta altos índices de morbimortalidade no Brasil. Fatores de risco auxiliam no desenvolvimento de lesões pré-malignas do colo uterino, dentre os quais destacam-se as condições socioeconômicas e sociocomportamentais, e a infecção pelo Papilomavírus humano (HPV). O HPV infecta diferentes regiões do corpo incluindo a mucosa e está presente em mais de 90% de todos os cânceres de colo do útero invasivo. **OBJETIVO:** Analisar e descrever a prevalência de HPV, o perfil socioeconômico e comportamental, e os comportamentos e fatores de risco associados à infecção em grupo de mulheres adolescentes e adultas jovens que realizaram coleta para preventivo do câncer de colo de útero (PCCU). **METODOLOGIA:** Foram coletadas amostras cévico-uterinas de mulheres submetidas ao PCCU na Unidade Básica de Saúde, na cidade de Belém, Pará. Os resultados citológicos foram cedidos pela unidade de saúde. Os dados socioeconômicos e comportamentais foram obtidos a partir de um questionário epidemiológico aplicado no momento da coleta de material. A pesquisa de HPV foi realizada através da técnica de *nested-PCR* usando-se primers MY09/MY11 e GP06/GP05. Para a correlação dos dados epidemiológicos e a infecção pelo HPV aplicou-se o Teste Exato de *Fisher*. De um total de 76 amostras, nenhuma apresentou citologia atípica. **RESULTADOS:** A prevalência global da infecção pelo HPV foi de 19,74% (15/72). A maioria das mulheres infectadas tinham idade igual ou inferior a 23 anos (66,7%), eram casadas (60%), e possuíam baixa escolaridade (66,7%). Dentre as variáveis epidemiológicas, a renda mensal ($p=0.0015$) e o tabagismo ($p=0.0525$) estiveram relacionados à infecção por HPV. **CONCLUSÃO:** A prevalência da infecção pelo HPV esteve de acordo com os dados regionais. Os dados obtidos nesse estudo Sugerem um investimento em iniciativas de educação em saúde da população, de forma que criem estratégias adequadas, com o intuito de promover à promoção da saúde da mulher, educação sexual de jovens e adolescentes, bem como a prevenção de infecções sexualmente transmissíveis, tendo em vista que o HPV é transmitido, por via sexual e apresenta potencial oncogênico.

Palavras-chave: Câncer de colo de útero, Fatores de risco, Papilomavírus humano, Pccu, Saúde da mulher.



MODELAGEM DAS PROTEÍNAS DO ENVELOPE POR HOMOLOGIA ESTRUTURAL DOS VÍRUS ZIKA

JOSUÉ LEITE DOS PASSOS

Introdução: A modelagem de proteína homóloga é uma técnica de extrema importância no desenvolvimento do estudo de patógenos em potencial, são capazes de transmitir inúmeras informações sobre o comportamento dos vírus, auxiliando no combate aos agentes, os avanços na bioinformática nos possibilitaram acesso a bancos de dados, e através da modelagem foi possível estudar e monitorar surtos e mutações desses agentes. O vírus Zika dentre os demais vírus de sua família é o que vem demonstrando um maior número de mutações, se tornando o alvo principal de inúmeras pesquisas voltadas ao seu monitoramento e a seu combate. O Zika vírus (VZIK) foi identificado na África e foi isolado em macacos da espécie Rhesus, depois da proliferação do vírus para vários continentes, o Zika vírus pertence à família flaviviridae que apresenta aproximadamente 40 patógenos aos seres humanos. **Objetivo:** Realizar a modelagem de uma proteína estrutural do envelope do Zika. Buscando viabilizar a identificação de possíveis mutações nas proteínas estruturais do VZIK e possíveis mutações. **Métodos:** Foram utilizados o banco de dados Protein Data Bank (PDB), a proteína modelo foi 5OMZ, os programas Modeller v 3.2 para a modelagem para a proteína alvo e o programa Pymol para a visualização da proteína modelada. Além, do programa Protein Structure Validation Suite que foi utilizado para a criação dos gráficos. **Resultados:** Foi identificado a proteína alvo, gráfico de resíduos e gráfico de Ramachandran. **Conclusão:** Foi originada uma proteína tridimensional baseada na 5OMZ e por ser isolada, é mais conveniente na produção de um possível fármaco e estes terão eficácia em sua adesão a ela. Ainda, verificou-se um positivo grau de estabilidade e qualidade da proteína formada.

Palavras-chave: Modelagem, Homologas, Zika virus, Biologia molecular, Bioinformática.



O PAPEL DOS lncRNAs NA INSUFICIÊNCIA CARDÍACA

GILSON AQUINO CAVALVANTE

RESUMO

A Insuficiência Cardíaca (IC) é uma das principais causas de internação hospitalar no Brasil e no mundo e tem um elevado grau de morbidade e mortalidade, sendo um dos mais graves problemas de saúde pública que gera muitos gastos públicos. Os RNA longos não codificantes (lncRNAs) são RNAs que possuem mais de 200 nucleotídeos em sua estrutura e apresentam funções regulatórias transcricionais ou pós transcricionais bem complexas e que ainda não são totalmente claras. Estudos demonstraram que esse grupo de RNAs exerce influência sobre as doenças cardiovasculares, dentre elas a IC. O objetivo deste estudo foi verificar na literatura o papel dos lncRNA na IC. Revisão integrativa com busca sistemática de estudos observacionais realizada nas bases PubMed, Cochrane Library e Embase. Nesta pesquisa foi adotada a escala de Newcastle-Ottawa (NOS) para estudos observacionais para avaliar o risco de viés e a qualidade dos estudos. Três artigos foram considerados elegíveis para a leitura na íntegra e composição do estudo. Os principais papéis desse tipo de RNA na IC foram relatados como marcadores biológicos para diagnóstico e prognóstico na IC devido à expressividade aumentada na corrente sanguínea, outra possível função que os estudos mostraram é que os lncRNA podem estar relacionados à capacidade funcional dos pacientes com IC. Após aplicação da escala NOS foi demonstrado má qualidade metodológica entre os artigos, portanto, um alto risco de viés. Pacientes com IC apresentam níveis elevados de expressão de lncRNA possuindo função de marcador biológico para diagnóstico e prognóstico dos pacientes, bem como modulador da capacidade funcional.

Palavras-chave: Insuficiência Cardíaca, RNA, RNA longo não codificante, Expressão Gênica, Doenças Cardíacas.

1 INTRODUÇÃO

Aproximadamente 23 milhões de pessoas no mundo são portadoras de Insuficiência Cardíaca (IC) no mundo e estima-se que 2 milhões de novos casos são registrados por ano (POFFO et al, 2019). No Brasil, 2 milhões de pessoas possuem IC sendo 240 casos diagnosticados a cada ano e a primeira causa de internação hospitalar em pacientes acima de 60 anos (DOURADO et al., 2019). A IC é uma das principais causas de internação hospitalar no mundo e tem um elevado grau de morbidade e mortalidade, sendo um dos mais graves problemas de saúde pública que gera muitos gastos aos públicos (PAZ et al., 2019; OLIVEIRA et al., 2020).

A IC é o estágio final de diversas cardiopatias, e por isso afeta a saúde da população em relação à qualidade de vida (PONIKOWSKI et al., 2016). Diversos processos

fisiopatológicos estão relacionados a esta patologia, tais como: hipertrofia de cardiomiócitos; fibrose miocárdica; metabolismo energético; distúrbio do canal iônico, e a sobrecarga da pressão cardíaca podendo levar a hipertrofia cardíaca, dentre outras vias (NOMURA et al., 2018). Esses mecanismos podem estar relacionados à superexpressão ou baixa expressão de genes funcionais e agrupamentos de genes (NOORDALI et al., 2018).

No entanto, a precisão da patogênese e a regulação específica da expressão gênica ainda não estão bem elucidadas (NOMURA et al., 2018; NOORDALI et al., 2018). RNAs longo não codificantes (lncRNA) são um grupo heterogêneo de transcritos não codificadores com mais de 200 nucleotídeos (MERCER et al., 2009). Os lncRNAs combinam outros RNAs ou DNAs e têm funções regulatórias transcricionais ou pós transcricionais bem complexas e que ainda não são totalmente claras (UCHIDA; DIMMELER, 2015). Estudos demonstraram que esse grupo de RNAs exerce influência sobre as doenças cardiovasculares, dentre elas a IC, principalmente em relação aos processos fisiopatológicos (GEISLER; COLLER, 2013).

Embora muitos lncRNAs tenham sido descobertos recentemente, bem como sua relação com o desenvolvimento dos distúrbios cardíacos e sua fisiopatologia, os achados encontrados são bastante limitados e requer mais exploração, principalmente em relação a sua influência na IC (BAR et al., 2016). Além disso, os papéis e a regulação dos lncRNAs na IC ainda não estão claros. Alguns estudos atuais investigaram os perfis de expressão de lncRNA em IC com diferentes etiologias, incluindo insuficiência cardíaca isquêmica (YANG et al., 2014; GAO et al., 2015) e cardiomiopatia dilatada (LI et al., 2018). Diante do exposto, o presente estudo objetivou identificar na literatura o papel dos lncRNA na IC.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Trata-se de uma revisão integrativa com busca sistemática, na qual foram incluídos estudos observacionais que abordassem alguma influência dos lncRNAs na IC. A pesquisa dos artigos ocorreu nas bases de dados: PubMed, Cochrane Library e Embase utilizando os seguintes descritores: Insuficiência Cardíaca, RNA, RNA longo não codificante, Expressão Gênica, Doenças Cardíacas. A escolha dos descritores foi realizada conforme disponibilidade no DeCS (Descritores em Ciências da Saúde) e MESH (Medical Subject Headings) e Emtree.

Os artigos encontrados nas bases foram arquivados e transferidos para o aplicativo Rayyan, onde foi iniciada a seleção dos artigos pela leitura dos títulos e resumo e em seguida aplicados os critérios de inclusão e exclusão bem como foi solucionado as duplicatas. Essa seleção foi realizada por dois revisores independentes que incluíram e excluíram os estudos às cegas e as discordâncias e conflitos que apareceram durante o processo foram solucionados por consenso.

Os critérios de inclusão utilizados foram: Artigos originais classificados como estudos observacionais, publicados nos idiomas português, inglês ou espanhol e que estivessem disponíveis para download. Foram excluídos artigos duplicados, aqueles com delineamento de estudo do tipo revisões narrativas, integrativas e sistemáticas e os que não abordassem o papel dos lncRNA na IC.

Nesta pesquisa foi adotada a escala de Newcastle-Ottawa (NOS) para estudos observacionais para avaliar o risco de viés e a qualidade dos estudos. A escala tem três dimensões: seleção, comparação e exposição para os estudos caso-controle e seleção, comparação e resultados para os demais estudos observacionais. Em cada dimensão existem respostas que destacam a melhor qualidade, que é pontuada por uma estrela, quando o item não é descrito recebe pontuação 0 (nula) e quando uma estrela é marcada num item ele recebe um ponto.

Uma pontuação igual ou menor que 6 indica má qualidade metodológica. As pontuações de 6 e 7 indicam boa qualidade metodológica. As pontuações de 8 e 9 indicam muito boa

qualidade metodológica (WELLS et al., 2011). A avaliação da qualidade metodológica foi realizada por dois avaliadores e as discordâncias foram resolvidas por meio de reuniões de consenso.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A busca inicial selecionou 961 artigos, sendo 306 artigos na PubMed, 7 artigos na Cochrane Library e 648 na Embase. Foram excluídos inicialmente 280 estudos que estavam duplicados nas bases restando 681 artigos. Desses, 559 foram excluídos a partir da leitura dos títulos e 114 excluídos a partir da leitura dos resumos. Assim, 08 artigos foram considerados elegíveis para a leitura na íntegra e quatro foram excluídos por não atenderem aos critérios de inclusão integralmente. Ao final, três artigos foram considerados para esta revisão (Figura 1).

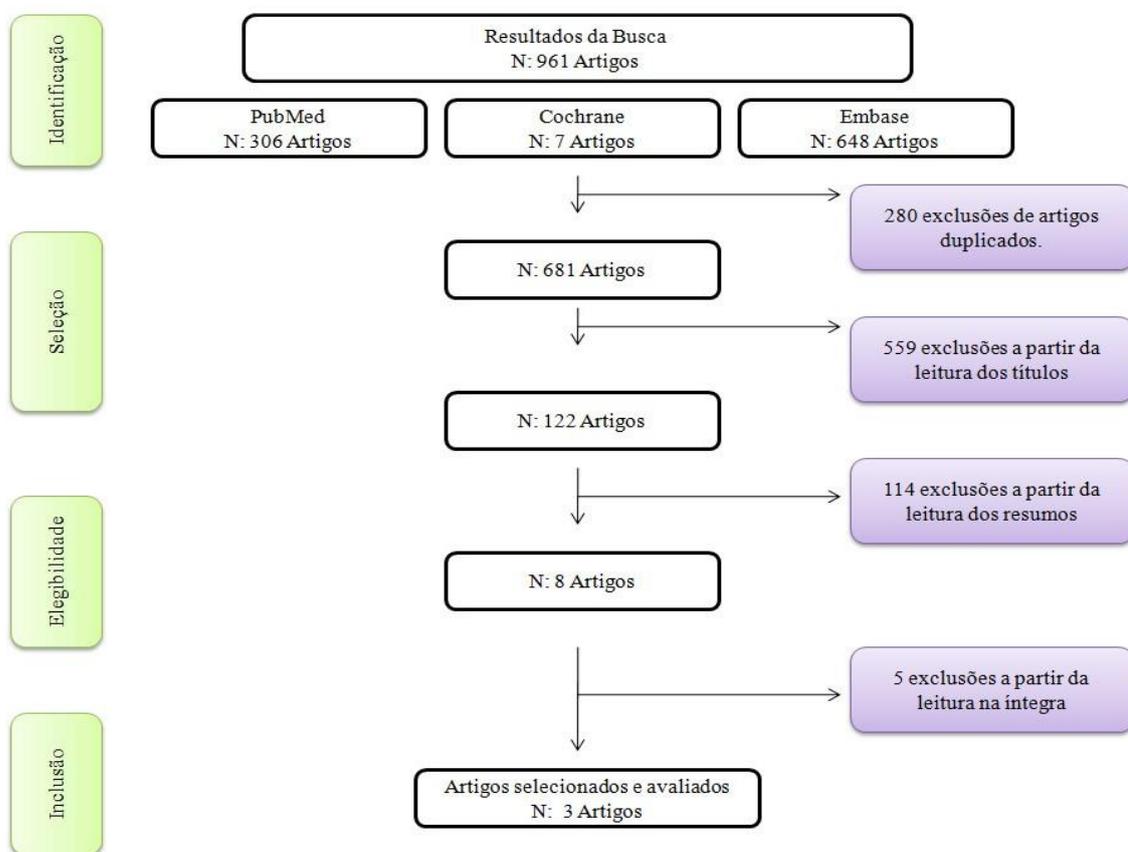


Figura 1. Fluxograma da busca e seleção dos artigos.

As principais informações e desfechos apresentados nos artigos selecionados para a presente revisão estão descritos na tabela 1. De modo geral, os artigos verificaram algum efeito ou influência da expressão de lncRNAs na IC.

Tabela 1. Características dos Estudos Incluídos.

Autor, Ano	Objetivo	Delineamento do estudo	Amostra	Resultados	Conclusão
YAN et al, 2020	Investigar o papel do lncRNA-NRF na insuficiência cardíaca (IC) após o infarto agudo do miocárdio (IAM).	Estudo Transversal	76 pacientes com IC e 58 pacientes sem IC	Foi demonstrado que o lncRNA-NRF estava aumentado em pacientes com IAM com IC em comparação com pacientes com IAM sem IC e tinha valor preditivo para o diagnóstico de IC.	Os achados sugerem que o lncRNA-NRF pode representar um marcador de risco para o desenvolvimento de IC pós-IAM.
KONTARAKI et al, 2018	Avaliar os níveis de expressão gênica dos lncRNAs com insuficiência cardíaca.	Caso-Controlle	55 pacientes com IC e 23 pacientes sem IC	Pacientes hipertensos com IC apresentaram níveis de expressão de lncRNA significativamente maiores em comparação com os controles.	Os dados revelam que os níveis de expressão de lncRNA estão aumentados em pacientes hipertensos com IC e podem estar relacionados à sua capacidade funcional.
MARKETOU et al, 2018	Avaliar os níveis de expressão gênica dos lncRNAs com insuficiência cardíaca.	Caso-Controlle	45 pacientes com IC e 21 pacientes sem IC	Pacientes com IC apresentaram níveis de expressão de lncRNA significativamente maiores em comparação com o grupo controle.	Nossos dados revelam que os níveis de expressão de lncRNAs em pacientes com IC podem estar relacionados à sua capacidade funcional.

Fonte: Autor

Foram analisados dados de 172 pacientes com quadro de IC e 102 participantes do grupo controle. A análise dos três artigos mostrou que ambos os artigos verificaram aumento da expressão de lncRNAs nos casos quando comparados aos grupos controle. Todos os artigos foram estudos observacionais sendo que dois artigos com delineamento caso-controlle e um transversal. Além disso, os principais papéis desse tipo de RNA na IC foram relatados como marcadores biológicos para diagnóstico e prognóstico na IC devido à expressividade aumentada na corrente sanguínea (YAN et al., 2020; KONTARAKI et al., 2018; MARKETOU et al., 2018).

Além do mais, outra possível função que os estudos mostraram é que os lncRNA podem estar relacionados à capacidade funcional dos pacientes com IC. Os pacientes que fizeram parte do grupo caso todos apresentavam alguma comorbidade cardiovascular como hipertensão nos estudos de Kontaraki et al, 2018 e Marketou et al, 2018 e histórico prévio de infarto agudo do miocárdio, fato mostrado no artigo de Yan et al, 2020.

De acordo com a Escala de Newcastle-Ottawa que avaliou a qualidade metodológica e o risco de viés descrita na tabela 2, o estudo transversal de Yan et al, 2020 ganhou 6 estrelas

na escala. Os estudos de Kontaraki et al, 2018 e Marketou et al, 2018, ambos com delineamento de estudo do tipo caso-controle ganharam 4 estrelas cada. Logo, após aplicação da escala foi demonstrado má qualidade metodológica entre os artigos, portanto, um alto risco de viés.

Tabela 2. Avaliação da qualidade metodológica usando a Escala de Newcastle-Ottawa.

Autor, Ano	Seleção	Comparação	Exposição	Total
YAN et al, 2020	****	*	*	6
KONTARAKI et al, 2018	**	*	*	4
MARKETOU, 2018	**	*	*	4

Fonte: Autor

Os lncRNAs estão emergindo como componentes importantes de redes regulatórias subjacentes ao desenvolvimento cardiovascular e fisiopatologia (MARKETOU et al., 2018). Eles exibem papéis distintos na modulação epigenômica específica de tecido afirma que são críticos para a reprogramação transcricional e epigenética que está na base da patogênese da insuficiência cardíaca (IC) (YAN et al, 2020).

O acúmulo de evidências tem mostrado que lncRNA regulado de forma anormal está correlacionado com a progressão de várias doenças, como doenças cardiovasculares (TAO et al, 2016). Embora pouco se saiba sobre a origem e função dos lncRNAs em circulação, suas sensíveis e estáveis expressão diferencial no sangue de pacientes com doenças cardiovasculares e pessoas saudáveis os tornam um potencial biomarcador (LEUNG, NATARAJAN, 2014). O mecanismo de ação é provável que o dano ao tecido cardíaco leva a uma liberação adicional de lncRNAs, semelhantes à liberação de proteínas (BUSCH, EKEN, MAEGDEFESSEL, 2016).

A progressão da IC após eventos cardiovasculares como infarto agudo do miocárdio está principalmente relacionada à remodelação ventricular esquerda, que é um processo heterogêneo influenciado por múltiplos fatores, incluindo disfunção microvascular, tamanho do infarto, localização anterior do infarto, extensão transmural da necrose e a estado perfusional da artéria relacionada ao infarto (ARASZKIEWICZ et al., 2014). Estudos anteriores relataram que muitos lncRNAs virtuais foram associados com o desenvolvimento de IC após IAM. Por exemplo, o lncRNA NRF foi intimamente relacionado à morte necrótica de cardiomiócitos (KONTARAKI et al., 2018).

Esses resultados mostram que lncRNAs desempenham papéis importantes no desenvolvimento e progressão da IC (TAO et al., 2016). No estudo de KONTARAKI et al, 2018 confirmou-se que pacientes com e sem IC tinha diferentes padrões de expressão de lncRNA no sangue periférico: níveis circulantes de lncRNA em pacientes com IC foram significativamente elevados em comparação com indivíduos sem IC. O presente estudo também confirmou que os níveis circulantes de lncRNA foram associados positivamente com a gravidade da IC bem como que a expressão anormal está relacionada com o diagnóstico da patologia cardíaca (KONTARAKI et al., 2018, MARKETOU et al., 2018).

Os lncRNAs mostram perfis de expressão em pacientes com IC que podem estar relacionados a capacidade funcional podendo ajudar na intolerância ao exercício durante o esforço, pois este é o sintoma cardinal em insuficiência cardíaca e difícil de tratar (DIMITRIADIS, TSIUFIS, TOUSOULIS, 2018; DHAKAL et al., 2015). Demonstrou-se que

esses transcritos não codificantes estão envolvidos na regulação de remodelação cardíaca, o que sugere que eles representam um potencial alvo terapêutico para o tratamento da insuficiência cardíaca (ZHOU et al., 2019; ALEXANIAN et al., 2019). Assim, representam uma ferramenta poderosa em potencial para medicina personalizada devido aos seus padrões de expressão específicos associados a distintas patologias (GOMES et al., 2020).

4 CONCLUSÃO

Pacientes com IC apresentam níveis elevados de expressão de lncRNA possuindo função de marcador biológico para diagnóstico e prognóstico dos pacientes. Além disso, indicam que esses transcritos funcionais podem ser marcadores ou moduladores da capacidade funcional em pacientes com IC e podem ter potencial para serem usados no futuro como ferramentas de prognóstico ou alvos terapêuticos. No entanto, os dados são apenas indicativos e mais estudos de pesquisa permanecem necessários nessa direção para se ter um conhecimento mais amplo e completo dos mecanismos fisiopatológicos.

REFERÊNCIAS

ALEXANIAN M. et al. Epigenetic therapies in heart failure. **J Mol Cell Cardiol.** May. v.130,p. 197-204. 2019.

ARASZKIEWICZ, A. et al. Relations of diabetes mellitus, microvascular reperfusion and left ventricular remodelling in patients with acute myocardial infarction treated with primary coronary intervention. **Kardiologia Polska**, v.72, n.1, p.20–26. 2014.

BAR, C., CHATTERJEE, S., THUM, T. Long noncoding RNAs in cardiovascular pathology, diagnosis, and therapy. **Circulation.** v.134, n19, p.1484–1499. 2016.

BUSCH, A., EKEN, S. M., MAEGDEFESSEL, L. Prospective and therapeutic screening value of non-coding RNA as biomarkers in cardiovascular disease. **Annals of Translational Medicine.** v.4, n.12, p.236–236. 2016.

DHAKAL, B. P. et al. Mechanisms of exercise intolerance in heart failure with preserved ejection fraction: the role of abnormal peripheral oxygen extraction. **Circ Heart Fail.** v.8, n.2, p. 286-294. 2015.

DIMITRIADIS, K, TSIOUFIS, C, TOUSOULIS, D. Do we need biomarkers for diabetics progressing to heart failure? **Hellenic J Cardiol.** v.59, n.2, p.98-99. 2018.

DOURADO, M. B. et al. Perfis clínicos e epidemiológico de idosos com insuficiência cardíaca. **Revista de Enfermagem UFPE Online.** v.13, p.408-15. 2019.

GEISLER, S., COLLIER, J. RNA in unexpected places: long non-coding RNA functions in diverse cellular contexts. **Nat. Rev. Mol. Cell Biol.** v.14, n.11, p.699–712. 2013.

GOMES, C. et al. Regulatory RNAs in Heart Failure. **Circulation.** v.141, n.4, p.313-328. 2020.

KONTARAKI, J E. et al. Long noncoding RNA is peripheral blood mononuclear cells of hypertensivs whit heart failure with preserved ejection fraction in relation to their

functional capacity. **Eur. Heart J.** v.39, p. 785. 2018

LEUNG, A., NATARAJAN, R. Noncoding RNAs in vascular disease. **Current Opinion in Cardiology.** v.29, n.3, p.199–206. 2014.

MARKETOU, M. et al. Long noncoding RNA is peripheral blood mononuclear cells in hypertensives with heart failure with preserved ejection fraction in relation to their functional capacity. **J. Hypertens.** v.36, p. e95. 2018

MERCER, T. R., DINGER, M. E., MATTICK, J. S. Long non-coding RNAs: insights into functions. **Nat. Rev. Genet.** v.10, n.3, p.155–159. 2009.

NOMURA, S. et al. Cardiomyocyte gene programs encoding morphological and functional signatures in cardiac hypertrophy and failure. **Nat. Commun.** v. 9, n.1, p.4435. 2018.

NOORDALI, H. et al. Cardiac metabolism - a promising therapeutic target for heart failure. **Pharmacol. Ther.** v.182, p.95–114. 2018.

OLIVEIRA, A.P D. et al. Educação em saúde: efetividade das intervenções em pacientes com insuficiência cardíaca. **Revista Brasileira de Enfermagem.** v.73, n. 2, 2020.

PAZ, L. F. A. et al. Qualidade de vida relacionada à saúde em pacientes com insuficiência cardíaca. **Revista Brasileira de Enfermagem.** v.72, supl. 2p. 148-54, 2019.

POFFO, M. R. et al. Perfil dos Pacientes Internados por Insuficiência Cardíaca em Hospital Terciário. **International Journal of Cardiovascular Sciences** v.30, n.3, p.189-198, 2017.

PONIKOWSKI, P. et al. guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: the task force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. **Eur. Heart J.** v.37, n.27, p. 2129–2200. 2016.

TAO H. et al. Noncoding RNA as regulators of cardiac fibrosis: current insight and the road ahead. **Pflügers Archiv / European Journal of Physiology**, v.468, n.6, p.1103–1111. 2016.

UCHIDA, S., DIMMELER, S. Long noncoding RNAs in cardiovascular diseases. **Circ. Res.** v.116, n.4, p.737–750. 2015

WELLS, G. A. et al. The Newcastle-Ottawa Scale (NOS) for assessing the quality of non-randomised studies in meta-analyses. 2011.

YAN, L. et al. LncRNA-NRF is a potential biomarker of heart failure after acute myocardial infarction. **J. of Cardiovasc. Trans. Res.** v.13, p.1008-1015. 2020.

ZHOU, H. et al. Long Noncoding RNAs in Pathological Cardiac Remodeling: A Review of the Update Literature. **BioMed Res Int.** 2019.



A INFLUÊNCIA DOS MICRORNAS NA DOENÇA DE CHAGAS

GILSON AQUINO CAVALCANTE

Introdução: A Doença de Chagas (DC) é uma endemia relevante na América latina bastante acometida em populações rurais que vivem em condições precárias de habitação. Essa patologia é causada pelo protozoário flagelado *Trypanossoma Cruzi* transmitida principalmente pela via vetorial por meio de um inseto triatomíneo conhecido como barbeiro e apresenta manifestações clínicas variáveis possuindo duas fases, aguda e crônica. A fase crônica está relacionada com a forma cardíaca, digestiva ou cardiodigestiva e sua evolução estão relacionada a fatores genéticos. Nesse contexto, os microRNAs (miRNAs) podem exercer uma importante função reguladora na progressão da DC. **Objetivo:** Verificar na literatura a influência dos miRNAs na evolução da DC. **Metodologia:** Revisão de literatura nas bases de dados pubmed, cochrane Library e Embase a partir dos descritores Doença de Chagas, RNA, microRNA, Evolução Clínica e Fisiopatologia. A pesquisa foi realizada no período de julho a agosto de 2022 e teve os seguintes critérios de inclusão: artigos originais, disponíveis para download e escritos em português, inglês ou espanhol. Artigos de revisão, editoriais, cartas ao leitor, anais de congresso dentre outros, foram excluídos. Após a seleção apenas 5 artigos atenderam aos objetivos do estudo e foram lidos na íntegra, extraído os dados para então compor os resultados da pesquisa. **Resultados:** A partir da síntese dos estudos foi possível verificar a função de regulação dos miRNAs nos diversos mecanismos fisiopatológicos da DC principalmente no que se refere a imunopatologia da doença. Além disso, a literatura pesquisada relatou o aumento da expressão dos miRNAs conforme o tempo de infecção e progressão da doença, sendo relatado ainda como possíveis biomarcadores de diagnóstico e prognóstico da DC. **Conclusão:** Os miRNAs além de regular mecanismos de evolução clínica da DC, são potenciais biomarcadores de prognóstico da DC, sendo necessários mais estudos de ensaios clínicos no intuito de elucidar de forma clara esses mecanismos.

Palavras-chave: Doença de chagas, Rna, Microrna, Evolução clínica, Fisiopatologia.



SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE MAGNÉSIO PARA INSERÇÃO EM AMBIENTE CELULAR E AVALIAÇÃO DO PODER DE PENETRAÇÃO E CITOTOXICIDADE EM CULTURA DE CÉLULAS

PAOLA FERREIRA DA SILVA; MARCELA DE OLIVEIRA; PAULO NORONHA LISBOA-FILHO; MARINA PIACENTI-SILVA

INTRODUÇÃO: A exposição da população às nanopartículas metálicas (NPs) ocorre de formas variadas, o que permite que sejam assimiladas pelo organismo via ingestão, penetração epitelial, injeção e inalação. Mediante tais contatos, as NPs interagem com o corpo humano, podendo apresentar toxicidade e provocar alterações fisiológicas e/ou desencadear problemas à saúde, inclusive de caráter genotóxico. Dessa forma, o presente estudo consistiu em realizar a síntese e a caracterização de NPs de óxido de magnésio (NPs-MgO), as quais futuramente serão inseridas em cultura celular, a fim de avaliar seus efeitos no que se refere ao poder de penetração celular das NPs-MgO e sua citotoxicidade. **OBJETIVO:** Síntese de nanopartículas de óxido de magnésio por diferentes rotas, e sua caracterização morfológica e estrutural. **METODOLOGIA:** Foram realizadas duas sínteses utilizando-se diferentes rotas e precursores: a) sol-gel com ácido cítrico, ácido nítrico e óxido de magnésio; e b) precipitação com amido, nitrato de magnésio e hidróxido de sódio. Assim, ao final do tratamento térmico desses dois processos foram obtidas NPs-MgO. Em seguida, as amostras foram caracterizadas pelas técnicas de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), difração de Raio-X (DRX) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). **RESULTADOS:** Os resultados foram obtidos a partir das técnicas de caracterização, nos espectros do FTIR foram observados picos aproximados correspondentes a vibrações de MgO em ambas as amostras; no padrão do DRX foram verificados picos relacionados a estrutura dos planos com presença de MgO; através do MEV foram apresentadas as morfologias das NPs-MgO. **CONCLUSÃO:** As duas rotas sintéticas deste trabalho foram eficazes na produção de NPs-MgO. Porém, observamos que a síntese por co-precipitação apresentou estrutura e morfologia mais definidas quando comparada à síntese sol-gel. Em trabalhos futuros, cultura celular será exposta à estas NPs-MgO para análise do poder de penetração, citotoxicidade e viabilidade celular.

Palavras-chave: Nanopartículas, Magnésio, Síntese, Citotoxicidade, Penetração.



COMPARAÇÃO ESTRUTURAL DAS CADEIAS BETA DAS HEMOGLOBINAS NORMAL E FALCIFORME HUMANAS POR MÉTODO DE ALINHAMENTO DE SEQUÊNCIA

RENATO MASSAHARU HASSUNUMA; FÁBIO APARECIDO DA SILVA; PATRÍCIA CARVALHO GARCIA; MICHELE JANEGITZ ACORCI-VALÉRIO; SANDRA HELOISA NUNES MESSIAS

Introdução: A hemoglobina S ou falciforme (HbS) é caracterizada por uma mutação puntiforme, em que ocorre a substituição da timina pela adenina na sequência de DNA que codifica o sexto aminoácido da cadeia β da hemoglobina normal (Hb). Esta mutação resulta na substituição do ácido glutâmico pela valina, criando uma região hidrofóbica responsável pela polimerização da HbS. O acúmulo dos polímeros de HbS resulta na mudança na conformação das hemácias, que assumem um formato de foice, caracterizando a anemia falciforme. **Objetivo:** O objetivo principal do presente estudo foi comparar a estrutura tridimensional das cadeias beta da Hb e da HbS, por meio de alinhamento de sequência de aminoácidos. **Metodologia:** Foi realizado um levantamento de arquivos PDB no *site Protein Data Bank*, os quais foram analisados no programa computacional *TM-Align*, no intuito de comparar a estrutura tridimensional das cadeias beta da Hb e da HbS e verificar as alterações estruturais provocadas pela mutação. **Resultados:** A partir dos arquivos 2HHB.pdb (referente à Hb humana) e 2HBS.pdb (referente à HbS humana), foi realizado o alinhamento de sequência pelo *software TM-Align*, onde foi confirmada a mutação no sexto resíduo da cadeia beta da HbS e uma identidade de sequência de 99%, com 146 resíduos equivalentes. A comparação estrutural das proteínas mostrou que não existem alterações na estrutura secundária da HbS, a qual permanece com o mesmo número de alfa-hélices e fitas beta que a Hb, havendo mudanças apenas em sua estrutura terciária. **Conclusão:** Os resultados obtidos no presente estudo mostraram que a mutação no sexto aminoácido promove mudanças em na conformação tridimensional da HbS humana, mas que não comprometem a formação das alfa-hélices ou fitas beta de sua estrutura secundária.

Palavras-chave: Alinhamento de sequência, Anemia falciforme, Biologia computacional, Hemoglobina, Hemoglobina falciforme.



A IMPORTÂNCIA DA PCR PARA A MEDICINA NO TRATAMENTO DE DOENÇAS

LUCAS DOS SANTOS SA; LUANA SOUZA SANTOS; KEVIN DE JESUS FERREIRA

Introdução: A PCR (reação da cadeia em polimerase) é um método utilizado com a finalidade de amplificar uma região específica da molécula de DNA. Por ser uma técnica extremamente versátil, a PCR possui diversas vertentes, que apresentam uma ampla gama de aplicações. **Metodologia:** O presente trabalho trata-se de uma revisão literária de caráter exploratório qualitativo. **Objetivos:** Descrever a aplicação da PCR na identificação de doenças, esclarecer a relevância da PCR para Medicina clínica. **Resultados:** A RT-PCR é empregada em situações em que é necessário sintetizar uma fita de DNA complementar (cDNA) a partir de uma molécula de RNA mensageiro, posteriormente, é feita a PCR em tempo real com o cDNA, com o uso de uma sonda Taqman que se hibridiza com os amplicons, e apresenta em sua estrutura um fluoróforo e o grupo (Q) que inibe a fluorescência, sempre que a Taq DNA polimerase finalizar a amplificação do segmento de DNA, ela cliva a sonda Taqman, com isso ocorre a emissão de picos de fluorescência que são captados por software encarregados de montar um gráfico que permite identificar em qual ciclo da PCR teve início a replicação do DNA alvo, essa técnica é utilizada com frequência para analisar a taxa de expressão gênica, sendo uma ferramenta de grande relevância quando se pretende verificar a frequência com que genes tumorais são expressos em células neoplasias. Além de auxiliar no diagnóstico de doenças infecciosas, por indicar a presença de patógenos como vírus, bactérias, fungos, também é utilizada para monitorar a taxa de expressão de genes relacionadas a determinadas doenças, como é o caso de doenças inflamatórias crônicas, em que se observa a expressão de genes codificantes de citocinas pró-inflamatórias, permitindo assim avaliar a eficácia do tratamento, sendo usada ainda na área de farmacogenética, e no estudo de polimorfismo e translocações cromossômicas. **Conclusão:** Diante dos dados expostos, torna-se evidente a importância da PCR para o diagnóstico e monitoramento de doenças, devido sua eficácia e por ser altamente seletivo na identificação e tratamento de doenças.

Palavras-chave: Expressão gênica, Fluorescência, Fluoróforo, Patógenos, Reação da cadeia em polimerase.



AÇÃO DA ANGIOTENSINA-(1-7) NA EXPRESSÃO DE RECEPTORES NUCLEARES DE HORMÔNIOS ESTEROIDES EM CÉLULAS T47D

SAMUEL MARCOS RIBEIRO DE NORONHA; ISIDORO BINDA NETO; ANNA LIVIA FRANCO FERREIRA GARCIA; SILVANA APARECIDA ALVES CORREA; ANA LÚCIA MOTA BINDA

INTRODUÇÃO: Existe associação dos componentes do Sistema Renina Angiotensina (SRAA) com câncer de mama e com outros cânceres. Dentre os componentes, a angiotensina-(1-7) [Ang-(1-7)] é um hormônio peptídico endógeno de 7 aminoácidos do sistema renina-angiotensina com propriedades antiproliferativas. Mais de 1 bilhão de pessoas apresentam hipertensão no mundo e, em pacientes hipertensas que recebem inibidores da enzima conversora de angiotensina, a prevalência de câncer de mama é reduzida, fazendo destas substâncias possíveis alvos de interesse no manejo da doença e nas perspectivas de tratamento. **OBJETIVO:** O objetivo deste trabalho foi avaliar a expressão de receptores de hormônios esteroides (receptores de progesterona [PR]), de receptores de estrogênio (ER), de receptores de andrógenos (AR) e de aromatase, além da apoptose e da proliferação em células mamárias T47D tratadas com Ang-(1-7). **MÉTODOS:** Células T47D foram tratadas com Ang-(1-7) por 2 e 15 dias, passaram por extração de RNA total com TRIzol seguida da análise da expressão de receptores de hormônios esteroides por meio de qPCR. **RESULTADOS:** Houve modulação da Ang-(1-7) na expressão de receptores nucleares de hormônios esteroides implicados na carcinogênese mamária, como receptores nucleares de progesterona (PR(A+B) e PRB), de estrogênio (ERa e ERb), receptor de andrógeno (AR) e aromatase (CYP19) nas células T47D. Após 2 dias, houve hiperexpressão generalizada destes genes: PRA+B (1,0 vezes), PRB (2,3 vezes), ERa (7,8 vezes), ERb (8,1 vezes) e AR (1,9 vezes) ($p < 0,01$). Entretanto, uma marcante hipo-expressão dos receptores foi observada após 15 dias: PRA+B (-3,5 vezes), PRB (-3,1 vezes), ERa (-4,3 vezes), ERb (-4,6 vezes) e AR (-6,05 vezes) ($p < 0,001$). A aromatase não foi expressa. **CONCLUSÕES:** A Ang-(1-7) claramente modula a expressão destes receptores nucleares nas células T47D. Especificamente, como é comum na expressão de receptores hormonais, houve uma expressão antagônica nos períodos analisados, talvez tentando compensar estas alterações ao longo do tempo. É possível que as ações pró-apoptóticas e antiproliferativas da Ang-(1-7) estejam associadas com a expressão desregulada dos receptores de hormônios esteroides estudados. Sendo assim, o uso do peptídeo como um novo composto terapêutico para câncer de mama merece ser melhor estudado.

Palavras-chave: Neoplasia mamária, Qpqr, T47d, Angiotensina-(1-7), Receptores nucleares.



VIABILIDADE DA EXTRAÇÃO DE DNA A PARTIR DE AMOSTRAS DE CERUME DE CÃES PARA POSTERIOR UTILIZAÇÃO EM REAÇÕES DE PCR EM TEMPO REAL

KATHLEEN HELENA KOLODZIEJSKI PAITER; LEONARDO FERREIRA; ROBSON MICHAEL DELAI

RESUMO

Estudos mostram que é possível identificar por PCR em Tempo Real (qPCR) a presença de fragmentos de DNA do cinetoplasto (kDNA) de *Leishmania sp.* a partir de amostras de cerume com boa sensibilidade. Dessa maneira, com o intuito de avaliar a viabilidade dessa metodologia para posterior utilização no diagnóstico de Leishmaniose Visceral Canina (LVC), objetivou-se comparar a quantidade e a qualidade de DNA extraído a partir de amostras de sangue e de cerume de cães. Foram coletadas 32 amostras de sangue e de cerume de cães levados espontaneamente pelos seus tutores ao Centro de Controle de Zoonoses Dr. Dorival Jorge Júnior – Foz do Iguaçu (PR). A quantificação e a pureza do DNA extraído foram determinadas por densidade óptica em espectrofotômetro NanoDrop™ (Thermo Fisher®) e a viabilidade das amostras foi avaliada através amplificação do gene NADH:ubiquinone oxidoreductase core subunit 5 (*MT-ND5*) por qPCR. As amostras de cerume apresentaram concentração média de DNA extraído de 6,60 ng/μL com a média da razão A260/A280 de 1,42; e da razão A260/A230 de 0,45. As amostras de sangue tiveram concentração média de DNA de 35,90 ng/μ L, média da razão A260/A280 de 1,74; e da razão A260/A230 de 2,02. Todas as amostras analisadas apresentaram amplificação do gene alvo. A média dos valores de Cycle Threshold (Ct) obtidos a partir das amostras de cerume foi de 19,98 e a partir das amostras de sangue foi de 14,35. Dessa maneira, pode-se observar que é possível realizar a extração de material genético a partir de amostras de cerume e que este material pode ser utilizado para análises de qPCR posteriores.

Palavras-chave: SYBR Green; Zoonose; *Leishmania spp.*; Leishmaniose Visceral Canina.

1 INTRODUÇÃO

A Leishmaniose Visceral Canina (LVC) é uma doença infecto parasitária zoonótica e seu agente etiológico é a *Leishmania infantum*, parasita intracelular obrigatório das células do sistema fagocítico mononuclear (Brasil, 2014). No território brasileiro, a principal espécie transmissora é a *Lutzomyia longipalpis*, flebotomíneo popularmente conhecido por “mosquito palha.

O diagnóstico de Leishmaniose pode ser feito por diferentes metodologias, pelo método parasitológico, ensaio imunoenzimático (ELISA) e a PCR em tempo real (qPCR) (Faria & De Andrade, 2012; Brasil, 2014; Solano-Gallego et al, 2009). A qPCR é a técnica que identifica a presença do material genético do parasita nas amostras e que além de oferecer o resultado qualitativo também é capaz de quantificar a carga parasitaria nas amostras analisadas. A técnica pode ser realizada em DNA extraído de tecidos, sangue, fluidos biológicos ou espécimes

histopatológicas. Como depende da carga parasitária do tecido analisado, a sensibilidade da qPCR pode variar de acordo com o tipo de amostra analisado sendo maior em amostras de medula óssea, linfonodo, baço e pele do que de sangue total, capa leucocitária e urina (Solano Gallego et al, 2009). Portanto, um dos maiores desafios encontrados quando se utiliza a qPCR é a obtenção de uma amostra adequada, de coleta fácil e não invasiva e que apresente boa sensibilidade.

Um estudo feito por Belinchón-Lorenzo et al. (2016) mostrou que é possível identificar por qPCR a presença de fragmentos de DNA do cinetoplasto (kDNA) de *Leishmania* a partir de amostras de cerume e que essa técnica apresenta sensibilidade de 90,9%. Visto que o cerume é fácil de ser coletado e não é invasivo, com o intuito de avaliar a viabilidade de extração de DNA deste tipo de amostra para posterior utilização no diagnóstico de leishmaniose, com o presente trabalho objetivou-se comparar a quantidade e a qualidade de DNA extraído a partir de amostras de sangue e de cerume.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 32 cães levados espontaneamente pelos seus tutores ao Centro de Controle de Zoonoses Dr. Dorival Jorge Júnior – Foz do Iguaçu (PR) para realização de teste de leishmaniose conforme rotina estabelecida por este órgão municipal. Todos os procedimentos envolvendo esses animais foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais sob o protocolo nº 2022.1.02.05 e os tutores concordaram com a realização do procedimento mediante assinatura de termo de autorização.

Com uso de tubos vacuotainer contendo EDTA foram coletados ao menos 200 µ L de sangue total a partir da veia jugular dos animais. Posteriormente, para a coleta de cerume, um swab de Rayon estéril (Neolab) foi passado na parede do ouvido externo direito e esquerdo delicadamente com movimentos circulares, retirando-se o máximo possível de cerume. Uma vez coletado, o swab foi armazenado em um microtubo de 1,5 ml. Após a coleta, as amostras foram transportadas em caixa térmica com gelo até o Centro de Medicina Tropical da Tríplice Fronteira de Foz do Iguaçu (CMT), onde foram armazenadas em um ultra freezer a -80°C até o momento das análises.

Para a extração de DNA das amostras de sangue foi utilizado o kit QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Hilden – Alemanha) de acordo com as recomendações do fabricante para a extração de DNA a partir de amostras de sangue ou fluidos corporais. Para a extração das amostras de cerume também foi utilizado o kit QIAamp DNA Mini Kit seguindo as recomendações do fabricante para a extração de DNA a partir de amostras de tecido, com algumas modificações. As amostras foram previamente descongeladas em temperatura ambiente e em seguida foi adicionado 180 µ L do tampão ATL e 20 µ L de Proteinase K. Em seguida o material foi homogeneizado em vortex por 15 segundos e depois incubado a 56°C por 4 horas, eventualmente as amostras foram homogeneizadas em vortex durante este período. Posteriormente as amostras foram incubadas à temperatura ambiente por 2 minutos para resfriar e adicionou-se 200 µ L do tampão AL, homogeneizou-se as amostras em vortex por 15 segundos e em seguida elas foram incubadas a 70°C por 10 minutos. Após a incubação adicionou-se 200 µ L de Etanol 100% e homogeneizou-se em vortex por 15 segundos. O conteúdo total aquoso das amostras foi transferido para uma coluna e, a partir deste ponto, seguiu-se o procedimento normal de purificação recomendado pelo fabricante para amostras de tecido. Após a extração o DNA foi armazenado no ultra freezer a -80°C.

A quantificação e a pureza do DNA extraído foram determinadas por densidade óptica em espectrofotômetro NanoDrop™ (Thermo Fisher®). Para testar a viabilidade do DNA extraído, as amostras foram submetidas a uma reação de qPCR que utilizou como alvo um fragmento do gene NADH:ubiquinone oxidoreductase core subunit 5 (*MT-ND5*), gene utilizado

como controle interno em cães. As reações foram realizadas utilizando o kit iTaq™ Universal SYBR® Green Supermix (Bio-Rad, USA), com volume final de 20 µL e foram conduzidas de acordo com as recomendações do fabricante em aparelho QuantStudio™ 7 (Thermo Fisher®). Para amplificação do fragmento de interesse foram utilizados os primers descritos por Modarelli et al. (2018): EIPC.K9mt.12942F 5'-GGATTCTACTCCAAAGACCTGATCA-3' e EIPC.K9mt.13018R 5'-GGTTAGGGATGTGGCAACGA-3'. A eficiência da reação da qPCR foi mensurada a partir dos valores de Cycle Threshold (Ct) obtidos da amplificação de 5 pontos de uma de uma curva de diluição seriada de 3:1 de uma das amostras. Foram realizadas triplicatas de cada ponto da curva e a eficiência foi calculada pelo próprio software do aparelho QuantStudio™ 7. Para avaliar se a amplificação do fragmento de interesse foi específica foi realizada uma curva de melting que consistiu no aumento gradual da temperatura de 60°C até 95°C.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A concentração média do DNA extraído das amostras de cerume foi de 6,60 ng/µ L com razão A260/A280 de 1,42 e A260/A230 de 0,45. A média da concentração do DNA obtido das amostras de sangue foi de 35,90 ng/µ L com razão A260/A280 de 1,74 e A260/A230 de 2,02 (Tabela 1).

A eficiência da reação foi de 95,89% e o R2 de 0.998, valores adequados para reações de qPCR. A curva de Ct mostrou um pico único, o que demonstra amplificação de um único fragmento. Todas as amostras analisadas apresentaram amplificação do gene alvo. A média dos valores de Ct obtidos a partir das amostras de cerume foi de 19,98 e a partir das amostras de sangue foi de 14,35 (Tabela 1).

O espectrofotômetro NanoDrop™ calcula automaticamente a concentração de ácido nucleico e as taxas de pureza da amostra. Na prática comum de laboratório, as amostras de DNA e RNA com A260/A280 e A260/A230 >1,8 são consideradas “puras” e adequadas para uso na maioria das aplicações. A contaminação de soluções diluídas de ácido nucleico por proteínas influencia fortemente as determinações de concentração e pureza (Desjardins & Conklin, 2010; Koetsier & Cantor, 2019). Em vista disso, a análise por espectrofotometria evidenciou que as amostras de cerume possuem taxas de pureza baixas (Tabela 1), contudo, segundo Koetsier & Cantor (2019) o efeito da contaminação por proteínas nas taxas de pureza depende da concentração de ácido nucleico, em amostras de DNA mais concentradas o impacto da contaminação proteica tende a ser minimizado, portanto a baixa taxa de pureza das amostras pode estar relacionada à quantidade baixa de DNA extraído.

Como a qualidade e quantidade de DNA extraído foi baixa (Tabela 1), decidimos testar a viabilidade das amostras em reações de qPCR. Como pode-se observar, todas as amostras amplificaram, resultados que demonstram sua viabilidade para utilização em reações de qPCR.

Em reações de qPCR, a quantidade de DNA está inversamente relacionada com os valores de Ct, de forma que os valores de Ct podem ser utilizados para indicar amostras com maior ou menor quantidade de DNA. Como pode-se observar, a média de valores de Ct para amostras de cera é maior do que para amostras de sangue (Tabela 1), resultados que vão de encontro com a quantidade de DNA extraído, que foi menor em amostras de cera. De acordo com Modarelli et al. (2020) o tipo de amostra e as condições de saúde dos animais podem refletir na quantidade de células das amostras o que conseqüentemente pode levar a valores maiores ou menores de Ct. Dessa maneira, é provável que a quantidade de células nas amostras de cerume seja baixa, o que resulta em menores quantidades de DNA e maiores valores de Ct do que em amostras de sangue.

É interessante notar que diversos trabalhos têm demonstrado a presença de DNA em amostras de cerume (Shokry et al., 2017; Felipe & Guajardo, 2018; Belinchón-Lorenzo et al.,

2019; Belinchón-Lorenzo et al., 2016) e ainda que o DNA extraído do cerume apresente baixo rendimento, foi possível detectar kDNA de *Leishmania* de cães infectados (Belinchón-Lorenzo et al., 2016; Belinchón-Lorenzo et al., 2019).

De acordo com Belinchón-Lorenzo et al. (2016), o cerume é uma alternativa não invasiva para o diagnóstico molecular de LVC. Os resultados do presente trabalho corroboram parte dos resultados obtidos por esses autores. Apesar de não avaliar a presença de kDNA de *Leishmania spp.*, verifica-se que é possível realizar a extração de material genético a partir de amostras de cerume e este material está apto para análises de qPCR. Futuros trabalhos que avaliem a aplicabilidade do cerume no diagnóstico LVC ou de outras doenças em cães seriam bastante interessantes pois podem auxiliar a corroborar a utilização deste tipo de amostra na identificação de LVC.

Tabela 1: Amostras utilizadas, valor médio da concentração de DNA, razões de absorvância e valores de Ct.

Amostra	ng/ μ L	A260/A280	A260/A230	C _t
Cerume6,60		1,42	0,45	19,98
Sangue	35,90	1,74	2,02	14,35

4 CONCLUSÃO

Conclui-se que o rendimento da extração de DNA de cerume foi menor que o de DNA de sangue, mas é possível realizar a extração de material genético a partir de amostras de cerume e que este material pode ser utilizado para análises de qPCR posteriores.

REFERÊNCIAS

- BELINCHÓN-LORENZO, Silvia *et al.* First detection of *Leishmania* kDNA in canine cerumen samples by qPCR. **Veterinary Parasitology**, v. 228, p. 65-68, 2016.
- BELINCHÓN-LORENZO, Silvia *et al.* Application of qPCR method to hair and cerumen samples for the diagnosis of canine leishmaniosis in Araçatuba, Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 15, p. 100267, 2019.
- DESJARDINS, Philippe; CONKLIN, Deborah. NanoDrop microvolume quantitation of nucleic acids. **JoVE (Journal of Visualized Experiments)**, n. 45, p. e2565, 2010.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica**. –1. ed., 5. reimpr. –Brasília: Ministério da Saúde, 2014.
- FARIA, Angélica Rosa; DE ANDRADE, Héliida Monteiro. Diagnóstico da Leishmaniose

Visceral Canina: grandes avanços tecnológicos e baixa aplicação prática. **Revista Pan Amazônica de Saúde**, v. 3, n. 2, p. 11-11, 2012.

FELIPE, Lilian; GUAJARDO, Rocio Cavazos. Analysis of Mitochondrial DNA on Earwax as an Alternative Material for Present and Future Forensic Examination. **Global Journal of Otolaryngology**, v. 17, n. 5, 2018.

KOETSIER, Giron; CANTOR, Eric. A practical guide to analyzing nucleic acid concentration and purity with microvolume spectrophotometers. **New England Biolabs Inc**, p. 1-8, 2019.

MODARELLI, Joseph J.; FERRO, Pamela J.; ESTEVE-GASENT, Maria D. Development and application of a canine endogenous internal positive control for use in real-time PCR assays. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 30, n. 5, p. 789-792, 2018.

NISHIDA, Leonardo Henrique Gomes; DELMASCHIO, Isabela. Leishmaniose visceral canina–revisão de literatura. **Revista Científica de Medicina Veterinária-UNORP**, v. 1, n. 2, p. 07-15, 2017.

SOLANO-GALLEGO, L. *et al.* Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. **Veterinary parasitology**, v. 165, n. 1-2, p. 1-18, 2009.

SHOKRY, Engy; ANTONIOSI FILHO, Nelson Roberto. Insights into cerumen and application in diagnostics: past, present and future prospective. **Biochemia medica**, v. 27, n. 3, p. 030503, 201



MECANISMO DE VACINAS DE DNA: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

MARINA SESSO GRANATO; BRUNA MARCANTE; LUCIANO TEIXEIRA GOMES

Introdução: As vacinas de DNA, descobertas nos anos de 1990, são produzidas à partir da inserção do gene codificador de antígeno desejado a um plasmídeo bacteriano eucariótico, modificando esse antígeno para aumentar sua eficácia imune. Ao ser administrada, essa vacina induz resposta imune tanto humoral quanto celular, o que garante uma imunogenicidade potente e duradoura para o indivíduo. **Objetivos:** Descrever o mecanismo de imunogenicidade das vacinas de DNA e evidenciar os benefícios e malefícios da utilização dessa técnica de imunização. **Metodologia:** Foi realizada uma revisão bibliográfica cujos estudos analisados foram publicados entre os anos de 2005 e 2022. Foram utilizados artigos nas línguas inglesa e portuguesa. As bases de dados utilizadas foram PubMed e Scielo. Os critérios de inclusão foram as bibliografias que abordaram os descritores: DNA, imunogenicidade e vacina. **Resultados:** As vacinas de DNA possuem como vantagem uma maior eficácia imunológica, são mais seguras em relação a efeitos adversos e mais estáveis que as tradicionais, o que facilita seu armazenamento; além disso, os custos de fabricação são menores, tornando-as economicamente acessíveis. A associação do DNA ao plasmídeo eucarionte permite que sejam associados diferentes patógenos ou diferentes componentes de um mesmo patógeno em uma única vacina. Uma desvantagem é que vacinas de DNA necessitam de doses elevadas para produzir a imunidade adequada, necessitando fracionar essa dose em diversas administrações, geralmente intramusculares. Em relação à pandemia de Covid-19, foi aplicada a primeira vacina de DNA em humanos contra a doença, a qual expressava as proteínas S, M e N contra o SARS-CoV, apresentando fortes respostas imunes e baixos efeitos adversos iniciais. **Conclusão:** As vacinas de DNA demonstram um grande avanço no campo da pesquisa contra agentes infecciosos, possuindo grandes vantagens em relação às tradicionais. O plasmídeo de DNA é, comparativamente às outras vacinas, mais estável, o que torna oportuna a vacinação de uma grande quantidade populacional. Os avanços foram significativos mas ainda há muito o que se pesquisar e avançar no ramo da terapia gênica.

Palavras-chave: Dna, Eficácia, Imunogenicidade, Patógeno, Vacina.



ATRIBUIÇÃO DO CANAL CFTR NA FIBROSE CÍSTICA

AMANDA LORRAINE PEREIRA SILVA; CINTIA GRAZIELY MIRANDA AZEVEDO; MARIA CAROLINA BEZERRA DI MEDEIROS LEAL

Introdução: Fibrose cística é uma doença autossômica recessiva ligada a mutação no gene CFTR (regulador de condutância transmembrana da fibrose cística), que determina a expressão proteica constituidora do canal regulador de cloro (Proteína CFTR). Defeitos nesse canal de cloro transmembrana, implica na desregulação da excreção de íons cloro e desequilíbrio hidrodinâmico, impactando a fluidez do muco, tornando-o mais viscoso, o que compromete a função orgânica de vários sistemas, em razão da obstrução provocada por esse muco viscoso. **Objetivo:** Analisar a importância do canal iônico, proteína-CFTR, no desenvolvimento da fibrose cística. **Metodologia:** Realizou-se um levantamento bibliográfico na base de dados PUBMED entre os anos de 2017 e 2021 com a seleção de 3 artigos em inglês que abordavam a temática. Foram usados os descritores: fibrose cística, canal e gene, além do operador booleano “e”. **Resultados:** O canal (proteína-CFTR) possui 5 domínios distintos, sendo que duas porções atravessam a membrana, duas porções fazem ligação com adenosina monofosfato e uma porção denominada (R) sofre alteração em sua conformação e ativa o canal, promovendo o efluxo do íon cloro. Nessa perspectiva, mutações que levam a disfunção desse canal afetam o transporte do cloro e intensifica a absorção de sódio. Esses fatores prejudicam a homeostase de vários sistemas orgânicos, como o pulmão, o pâncreas e o trato gastrointestinal, em função de processo obstrutivo do muco espesso e desidratação na superfície epitelial. Existem seis classes de mutação distintas e que provocam disfunções na síntese proteica, em etapas distintas como, produção, processamento, regulação e condução, inativando ou reduzindo a funcionalidade do canal. Novos grupos de drogas CFTR-moduladoras, prometem a retificação dessas proteínas defeituosas, no entanto esse tipo de terapia é alvo específica. **Conclusão:** As mutações nos genes CFTR, possuem direta relação na fibrose cística, dado que o mal funcionamento dos canais proteicos expressos por esse genes, implicam na desregulação iônica e espessamento do muco, acarretando complicações por infecções, deficiência nutricional, diabetes, infertilidade, osteoporose entre outros. A intervenção médica efetiva passa, não só pelo cuidado paliativo, mas principalmente pela compreensão da natureza da mutação e o desdobramento estrutural do canal, afim de que a intervenção CFTR-moduladora seja eficiente.

Palavras-chave: Canal, Fibrose cística, Gene, íons cloro, Muco.



A UTILIZAÇÃO DE VESÍCULAS DE MEMBRANA EXTERNA DE BACTÉRIAS GENETICAMENTE MODIFICADAS PARA PRODUÇÃO DE VACINAS

CARLOS EDUARDO FERREIRA PACHECO; MARIA ANNDRESSA ALVES AGRELES; ZION NASCIMENTO DE SOUZA; ISABELLA MACÁRIO FERRO CAVALCANTI; MAINE VIRGÍNIA ALVES CONFESSOR

Introdução: A imunização ativa induz a proteção a longo prazo contra doenças infecciosas e contra o aparecimento de tumores. Habitualmente, vacinas contêm antígenos específicos e fornecem sinais de ativação para o sistema imune, permitindo início precoce da resposta a um eventual estímulo. Nesse contexto, vesículas de membrana externa (VMEs), que são proteolipossomas de tamanho nanométrico, produzidos e liberados por bactérias Gram-negativas, são destaque, tendo em vista a sua capacidade antigênica, que as tornam altamente apropriadas para servirem de plataforma vacinal. **Objetivo:** Este trabalho tem como objetivo avaliar a aplicação das VMEs secretadas de bactérias geneticamente modificadas como potencial agente vacinal. **Métodos:** A pesquisa de artigos foi realizada na base de dados bibliográficos Google Scholar, utilizando os descritores "outer membrane vesicles", "vaccines" e "genetically engineered bacteria". Foram selecionados estudos publicados em inglês entre os anos de 2017 e 2022. **Resultados:** VMEs são capazes de induzir respostas imunocelulares específicas pela ativação de células T CD4+ e CD8+, quando utilizadas como vacinas. As VMEs possuem alto potencial imunogênico devido à expressão de Padrões Moleculares Associados aos Patógenos (PAMPs). Também estimulam a produção de marcadores de expressão de células dendríticas e aumentam o tempo de sobrevivência dessas células, fator importante na ativação de linfócitos T *naive* e indução de atividade de linfócitos B para produção de anticorpos. Adicionalmente, as VMEs apresentam atividade supressora no crescimento tumoral de modelos de estudo *in vivo*, além de protegê-los de recidiva tumoral e promover anulação da metástase. **Conclusão:** As vacinas derivadas de VMEs têm se mostrado eficientes na estimulação de memória imunológica e apresentação específica de antígenos, destacando-se na imunoterapia do câncer. Entretanto, ainda é necessária a realização de estudos complementares que elucidem o mecanismo pelo qual ocorre a indução de respostas de células T. Torna-se necessário explorar a ação dessas partículas frente às células humanas para melhor avaliação das implicações clínicas.

Palavras-chave: Plataforma vacinal, Engenharia genética, Microbiologia, Imunização, Antígenos.



ASTRÓCITOS DE PACIENTES COM DISPLASIA CORTICAL FOCAL IIB: ALTERAÇÕES DA MORFOMETRIA NUCLEAR E DA EXPRESSÃO GÊNICA

GIULIA PINZETTA; FERNANDO ANTONIO COSTA XAVIER; FERNANDO MENDONÇA DIZ;
JEAN VARELLA DE OLIVEIRA; DANIEL RODRIGO MARINOWIC

Introdução: A displasia cortical focal (DCF) é a forma mais frequente de malformações do desenvolvimento cortical, caracterizando-se como uma patologia subjacente às epilepsias refratárias. Histologicamente, há alterações na microarquitetura do córtex cerebral (delaminação), bem como a presença de neurônios dismórficos (maiores e displásicos) e *balloon cells* (células grandes, com citoplasma eosinofílico). A DCF é classificada em dois tipos principais (i.e., tipo I e tipo II). Apesar da sua etiologia ainda não ser completamente compreendida, evidências sugerem que disfunções na homeostase do glutamato e de sua enzima conversora, presente nos astrócitos, estão relacionadas ao estado de hiperexcitabilidade suscitado nas epilepsias. Nesse sentido, os astrócitos, responsáveis por processar informações neuronais, por meio da percepção e da resposta à atividade neuronal, parecem apresentar um papel crucial nessas patologias. **Objetivo:** Este estudo visa avaliar a morfometria nuclear de astrócitos em cultura primária e sua expressão gênica em dois pacientes com displasia cortical focal Iib. **Metodologia:** As amostras teciduais de córtex cerebral de dois pacientes submetidos ao tratamento cirúrgico foram obtidas, assim como o consentimento informado. A cultura de astrócitos foi realizada a partir dessas amostras, com a realização do plaqueamento em 24 poços, subdivididos entre os grupos com e sem adição da proteína DKK1, inibidora da via mTOR. O ensaio de imunofluorescência foi realizado utilizando os marcadores PI3K e mTOR, com a finalidade de comparar a marcação entre as amostras com e sem o inibidor. As análises de morfometria nuclear foram obtidas a partir do índice de irregularidade nuclear (NII), a partir do método NMA (*nuclear morphometric analysis*), e por meio dos parâmetros de área, área da caixa, aspecto, razão do raio e *roundness*. A análise da expressão gênica será analisada para os genes 4EBP1 e PI3KCA por meio de qRT-PCR. **Resultados:** Os resultados preliminares obtidos com relação à morfometria da descrição das características nucleares permitiram a observação de uma semelhança populacional dos núcleos entre os pacientes com DCF Iib, os quais diferem das do grupo controle. **Conclusão:** Por conseguinte, as características morfológicas nucleares dos astrócitos parecem estar relacionadas às alterações histológicas subjacentes ao tecido epileptogênico.

Palavras-chave: Astrócitos, Dcf, Núcleos, Epilepsias refratárias, Dkk1.



O USO DA BIOLOGIA MOLECULAR PARA A IDENTIFICAÇÃO DE UM PERFIL IMUNOLÓGICO CAUSADO PELO VÍRUS DA COVID-19 EM PROFISSIONAIS DA SAÚDE

LAÍS MACÊDO MACIEL; GUILHERME ANTONIO DE SOUZA-SILVA;
LEONARDO CARVALHO DE OLIVEIRA CRUZ; CRISTIANE MOUTINHO
LAGOS DE MELO

RESUMO

Os profissionais de saúde que estiveram na linha de frente na pandemia de COVID-19, com o objetivo de auxiliar os pacientes doentes e internados, foram em sua grande maioria infectados e, por sua vez, prejudicados com todos os efeitos da doença. Alguns estudos demonstraram a vulnerabilidade e perfil inflamatório apresentado por profissionais de saúde expostos ao vírus e a possibilidade de transmissibilidade da infecção aos pacientes, dentro das unidades de saúde, por profissionais assintomáticos. Nesse contexto, incessantes pesquisas para uma forma de proteção desses profissionais e para mitigar os efeitos da pandemia foram desenvolvidos, como, por exemplo, os EPIs e as vacinas. Nesse contexto, o objetivo desta revisão de literatura, foi demonstrar a importância do uso de tecnologias avançadas, como a citometria de fluxo e a biologia molecular, na identificação da resposta imune protetiva desses profissionais, expostos à infecção e imunizados com as duas doses da CoronaVac. A pesquisa foi realizada utilizando a base de dados do Pubmed, Nature e Springer, em busca de dados de imunofenotipagem e expressão de genes que demonstrassem o perfil imunológico dos profissionais de saúde antes e pós-vacinação. Para isso, foi utilizado as palavras-chave "memória imunológica", "Imunofenotipagem", "CoronaVac" e "SARS-CoV-2". Os dados encontrados na literatura trazem uma análise da produção de imunoglobulinas e citocinas pós-primeira dose, e segunda dose, sendo esta última mais proeminente. Foi observado ainda um aumento significativo de monócitos (CD14+CD80+HLA-DR+) interdoses. Além disso, as citocinas IL-2, IL-6 e IL-17 apresentaram valores aumentados em relação às demais citocinas, reforçando a expressão da via JAK2/STAT3. Nesse sentido, análises de expressão gênica demonstraram a prevalência do perfil Th2/Th17 nos profissionais expostos à infecção. Embora dados demonstrem perfil inflamatório em profissionais expostos, a vacinação parece diminuir o possível agravamento desses casos. Além disso, a CoronaVac mostrou ativação de monócitos APCs, resposta de memória de linfócitos T e B, com produção de imunoglobulinas e perfil protetivo nessa população-alvo.

Palavras-chave: "SARS-CoV-2"; "imunofenotipagem"; "pandemia"; "RT-qPCR"

1 INTRODUÇÃO

No contexto mundial causado pela Covid-19 se fez ainda mais necessária a presença dos profissionais de saúde no combate de doenças, com isso houve também um impacto no bem-estar desses profissionais, tendo em vista o contato com o patógeno. Entretanto, com todos os desafios, os profissionais de saúde se mostraram determinados a exercer sua profissão (Almaghrabi et al. 2020).

A Covid-19 é uma doença infecciosa causada pelo vírus SARS-CoV-2, que levou a uma crise de saúde pública mundial. As equipes de saúde se colocaram em prontidão para atendimento hospitalar aos doentes e, quando ficaram disponíveis, para a aplicação de vacinas, com o intuito de mitigar a transmissão da doença e cessar a situação pandêmica (Mathieu et al. 2021; WHO 2020). O mecanismo de ação envolto da produção de vacinas, se resume em usarem um vírus inteiro ou uma bactéria, as partes do micróbio que acionam o sistema imunológico, ou ainda apenas o material genético que fornece as instruções para produção de proteínas específicas (NCIRD 2022).

Para a elaboração dos imunizantes, pesquisas sobre o perfil imunogênico a ser elicitado devem ser elaboradas com ferramentas de alta tecnologia, como a citometria de fluxo e a biologia molecular. Sendo assim, o uso das técnicas de biologia molecular para elucidar a eficácia da vacina, e a patogenia da doença se tornaram fundamentais. A observação da expressão de genes durante a exposição ao vírus e a liberação de citocinas, permitiu a compreensão da fisiopatologia do novo patógeno (Laing et al. 2020; Lee et al. 2020). Em vista disso, o objetivo desta revisão de literatura, foi demonstrar a importância do uso de tecnologias avançadas, como a citometria de fluxo e a biologia molecular, na identificação da resposta imune protetiva desses profissionais, expostos à infecção e imunizados com às duas doses da CoronaVac.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Foi realizada uma revisão sistemática com as palavras-chave "memória imunológica", "Imunofenotipagem", "CoronaVac" e "SARS-CoV-2.", consultando-se as plataformas Pubmed, Nature e Springer, numa ampla de países mais afetados pela pandemia. Foram encontrados 45 publicações, dos quais 18 foram selecionadas, os critérios de inclusão, foram artigos de língua inglesa, com a análise dos profissionais de saúde, epidemiologia, abordagem do perfil imunológico e imunização. Os artigos selecionados foram entre os anos de 2020-2022.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 SARS-CoV-2, surto pandêmico da COVID-19 e exposição dos profissionais de saúde

Em dezembro de 2019 houve indícios de casos de uma pneumonia na cidade Wuhan, que teve um potencial pandêmico devido a sua alta transmissibilidade, com carga viral alta no trato respiratório, mesmo em pacientes assintomáticos. Pertencente a família Coronaviridae, o SARS-CoV-2, trouxe ao mundo a pandemia da Covid-19 (Lu, Stratton, e Tang 2020; Arons et al. 2020).

Desse modo, em curva crescente, a infecção se alastrou pelo mundo, contaminando em torno de 3.300 profissionais de Saúde na China, dos quais muitos vieram a óbito, cerca de

9.282 profissionais de saúde nos Estados Unidos (correspondendo a 19% dos infectados no país) e 4.824 profissionais na Itália (9% dos casos totais de infecção no país). Esse contágio exacerbado, demonstrou a necessidade de cuidados com os profissionais de saúde, bem como auxiliou na tomada de decisão para o uso de EPIs e EPCs na tentativa de diminuir o contágio intrahospitalar entre equipe de saúde e pacientes (Dhar Chowdhury e Oommen 2020; CDC COVID-19 Response Team 2020; Anelli et al. 2020).

No Brasil, no período inicial da pandemia, em torno de 216.367 (21,1% dos casos) foram infectados pelo novo coronavírus. Os profissionais de saúde com maior registro de infecção foram os técnicos/auxiliares de enfermagem (38%), enfermeiros (16%), médicos (12%), agentes comunitários de saúde (5,3%) e recepcionistas de unidades de saúde (4,8%) (BRASIL, 2020).

3.2 Ciclo biológico do vírus, invasão e dano ao hospedeiro e exposições recorrentes

O SARS-CoV-2 invade as células humanas por meio da enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2), através do receptor *Binding Domain* (RBD) da spike (S) viral. Com auxílio da serina protease 2 (TMPRSS2), acontece o priming da proteína S. Além disso, a entrada do vírus ainda pode depender das proteases de cisteína endossomal/lisossomal cathepsina B e L, entre outros fatores envolvidos para a infecção bem sucedida. O coronavírus ainda foi associado a infectividade pela via do sistema nervoso central, utilizando furina protease para neuroinvasão (Cantucci-Castelvetto et al. 2020).

Com a invasão celular bem sucedida, levando ao aumento das taxas de transmissão e infecção do vírus, utilizando a maquinaria celular para a ampla expressão de genes humanos relacionados à infecção disseminada do vírus pelo corpo. Supõe-se que, o curso da infecção passe pelos seguintes estágios: invasão e replicação viral, resposta imune desregulada, dano e recuperação de múltiplos órgãos. Consequente a entrada do vírus, replicação e liberação extracelular para as células-alvo, leva ao dano e a destruição das células parenquimatosas, como as células epiteliais alveolares. Associado a isso, entrando na resposta imune, um número relevante de moléculas de padrão molecular associado a patógeno (PAMP) e padrão molecular associado a dano (DAMP) são liberados para estimular a resposta imune e induzir a infiltração de células inflamatórias, liberando grandes quantidades de citocinas, quimiocinas, proteases e espécies reativas de oxigênio. Logo, a resposta induzida é gradualmente respondida, os órgãos danificados vão se recuperando e alguns podem entrar em fibrose e estágio crônico (Weiss e Leibowitz 2011; Navas-Martín e Weiss 2004). Os sintomas, caso presentes, podem variar entre febre, tosse, pneumonia leve, dispneia, fadiga, falta de ar, choque sistêmico e óbito. Principalmente, pessoas portadoras de comorbidades possuem a maior gama de sintomas, e são mais predisponentes ao óbito pela Covid-19. Portanto, a exposição constante ao vírus da Covid-19, induz um ciclo de infecção e reinfeção constante (Gousseff et al. 2020; ALIMOHAMADI et al. 2020).

3.3 Imunizante utilizado nos profissionais de saúde

O desenvolvimento das vacinas foi feito de forma rápida, para assim amenizar o impacto na saúde e no perfil de contágio das variantes do vírus. As iniciativas envolvem centenas de países, parcerias público-privadas, multinacionais farmacêuticas e empresas de biotecnologia. Das vacinas desenvolvidas, no Brasil foi reproduzida e distribuída a CoronaVac da instituição Sinovac Biotech (China) e Instituto Butantan, com o mecanismo de vírus inativado. Apesar da oferta inicialmente insuficiente, as vacinas se mostraram promissoras para o combate a pandemia e na proteção dos profissionais de saúde, os quais

foram elegidos como grupo prioritário para o início da imunização no país (Kanno et al. 2021; ANVISA 2021).

3.3 Resposta imunológica induzida pela CoronaVac nos profissionais de saúde

Estudo recente de nosso grupo demonstrou que os profissionais de saúde foram imunizados com duas doses de CoronaVac em um intervalo de 30 dias (Souza-Silva et al., 2022). Cerca de 15 dias após cada imunização, amostras sanguíneas desses profissionais foram coletadas para investigação da resposta imune desenvolvida pelos mesmos. Para a obtenção e identificação de perfil imunológico por meio da expressão de genes foi utilizada técnica de biologia molecular, reação de RT-qPCR. Sendo, uma maneira de analisar as mudanças relativas na expressão gênica de experimentos de PCR quantitativos em tempo real. Os genes de referência, ACTB e GAPDH, foram usados para quantificação relativa. Resultados de expressão gênica de vias imunológicas interdoses da CoronaVac nos profissionais de saúde no Estado de Pernambuco demonstrou um perfil imunológico Th2/Th17, devido ao aumento da expressão dos genes JAK2, STAT3 e STAT6, especialmente na segunda dose (Figura 1).

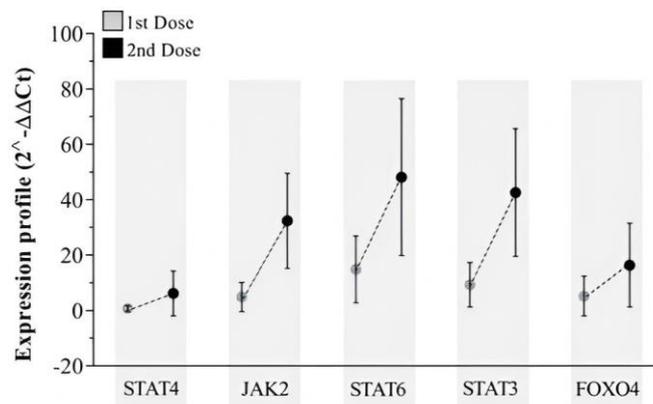


Figura 1: Expressão Gênica das vias imunológicas de profissionais de saúde imunizados com a CoronaVac. Fonte: Souza-Silva et al. (2022).

Além disso, foi possível analisar que após a vacinação, os monócitos, linfócitos CD19+, linfócitos T CD8+ e T CD4+ tiveram um aumento, especialmente de monócitos que tiveram seu fenótipo efetor M1 ativado (CD14+/CD80+/HLA-DR+), remetendo a proteção da mucosa, sítio de ação do vírus, logo, demonstra ação antiviral e favorece o mecanismo de antígenos. Então, quando feito testes imunológicos para produção de citocinas, foi possível a identificação de IL-6 e IL-17 (citocinas que ativam a via JAK2/STAT3) (Figura 2). A citocina, IL-6 promove o recrutamento de neutrófilos e células T citotóxicas e IL-17. Sendo assim, moléculas associadas à proteção do vírus influenza e SARS-CoV-2, patógenos das superfícies mucosas do trato respiratório.

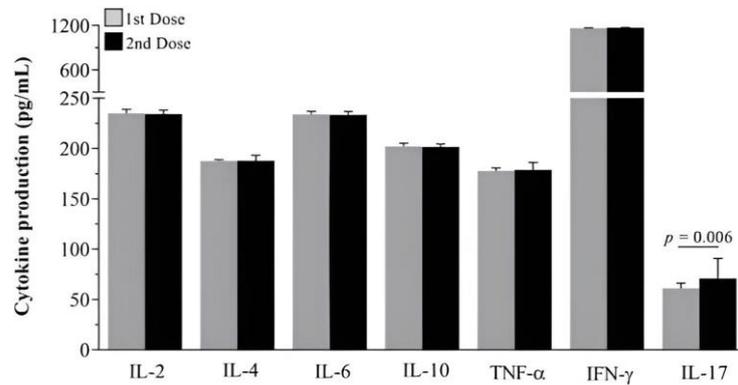


Figura 2: Resultado das interleucinas produzidas pelos profissionais de saúde pós-imunização com a CoronaVac.

3.4 Relevância dos dados obtidos através da biologia molecular para a ciência

Esses dados trazem resultados relevantes quanto a proteção dada pela CoronaVac em situação de risco de infecção contínua pelo vírus na interdose e período pós-segunda dose. Então, após a vacinação a pandemia foi reduzindo até alcançar um estágio de controle, pós-dois anos (Souza-Silva et al. 2022).

Com o advento da biologia molecular, é possível realizar diagnósticos moleculares, a detecção de variantes genômicas, para facilitar a detecção, diagnóstico, subclassificação, prognóstico e monitoramento da resposta à terapia. A PCR (reação em cadeia da polimerase) levou a um enorme avanço nos testes clínicos de DNA. As técnicas baseadas em PCR requerem instrumentação e infraestrutura relativamente simples, utilizam apenas quantidades mínimas de material biológico e são altamente compatíveis com a rotina clínica (Sokolenko e Imyanitov 2018).

Além disso, o aprimoramento constante das técnicas de biologia molecular traz métodos mais qualitativos e eficazes. Os dois métodos mais usados para analisar dados de experimentos de PCR quantitativos em tempo real são a quantificação absoluta e a quantificação relativa. É útil na análise de dados quantitativos de PCR em tempo real, na expressão do gene, por exemplo, afirmando que um determinado tratamento aumentou a expressão gênica ou diminuiu (Livak e Schmittgen 2001).

4 CONCLUSÃO

É possível perceber que através da biologia molecular, pode-se obter dados de infecções e a forma que o corpo reage a ela. Observando que, a memória imunológica da primeira dose da vacina pôde ser ativada e intensificada, demonstrando um aumento no perfil imunológico Th2/Th17. Ademais, a associação de linfócitos T, linfócitos B, monócitos e produção de imunoglobulinas. A observação clara da expressão de genes, pôde trazer esse entendimento. Portanto, em meio a crises de saúde e com a evolução da ciência, o aprimoramento de técnicas torna-se relevante para otimização e elucidação de dados. Além disso, favorece a confiabilidade dos resultados.

REFERÊNCIAS

ALIMOHAMADI, YOUSEF, MOJTABA SEPANDI, MARYAM TAGHDIR, e HADISEH HOSAMIRUDSARI. 2020. "Determine the most common clinical symptoms in COVID-19 patients: a systematic review and meta-analysis". *Journal of Preventive Medicine and*

Hygiene 61 (3): E304–12. <https://doi.org/10.15167/2421-4248/jpmh2020.61.3.1530>.

Almaghrabi, Rana H., Huda Alfaradi, Wejdan A. Al Hebshi, e Mohammed M. Albaadani. 2020. "Healthcare workers experience in dealing with Coronavirus (COVID-19) pandemic". *Saudi Medical Journal* 41 (6): 657–60. <https://doi.org/10.15537/smj.2020.6.25101>.

Anelli, Filippo, Giovanni Leoni, Roberto Monaco, Cosimo Nume, Roberto Carlo Rossi, Guido Marinoni, Gianluigi Spata, et al. 2020. "Italian Doctors Call for Protecting Healthcare Workers and Boosting Community Surveillance during Covid-19 Outbreak". *BMJ (Clinical Research Ed.)* 368 (março): m1254. <https://doi.org/10.1136/bmj.m1254>.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. 2021 Coronavac (Butantan). Link: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/paf/coronavirus/vacinas/coronavac>. Acesso em 21 de setembro de 2022.

Arons, Melissa M., Kelly M. Hatfield, Sujana C. Reddy, Anne Kimball, Allison James, Jessica R. Jacobs, Joanne Taylor, et al. 2020. "Presymptomatic SARS-CoV-2 Infections and Transmission in a Skilled Nursing Facility". *The New England Journal of Medicine* 382 (22): 2081–90. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2008457>.

Cantuti-Castelvetri, Ludovico, Ravi Ojha, Liliana D. Pedro, Minou Djannatian, Jonas Franz, Suvi Kuivanen, Katri Kallio, et al. 2020. "Neuropilin-1 Facilitates SARS-CoV-2 Cell Entry and Provides a Possible Pathway into the Central Nervous System". *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2020.06.07.137802>.

CDC COVID-19 Response Team. 2020. "Characteristics of Health Care Personnel with COVID-19 - United States, February 12-April 9, 2020". *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report* 69 (15): 477–81. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6915e6>.

Dhar Chowdhury, Sudipta, e Anu Mary Oommen. 2020. "Epidemiology of COVID-19". *Journal of Digestive Endoscopy* 11 (1): 3–7. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1712187>.

Gousseff, Marie, Pauline Penot, Laure Gallay, Dominique Batisse, Nicolas Benech, Kevin Bouiller, Rocco Collarino, et al. 2020. "Clinical Recurrences of COVID-19 Symptoms after Recovery: Viral Relapse, Reinfection or Inflammatory Rebound?" *Journal of Infection* 81 (5): 816–46. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.06.073>.

Kanno, Alex I., Mayra M. F. Barbosa, Luana Moraes, e Luciana C. C. Leite. 2021. "SARS-CoV-2 Vaccine Development and How Brazil Is Contributing". *Genetics and Molecular Biology* 44 (abril). <https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2020-0320>.

Laing, Adam G., Anna Lorenc, Irene del Molino del Barrio, Abhishek Das, Matthew Fish, Leticia Monin, Miguel Muñoz-Ruiz, et al. 2020. "A Dynamic COVID-19 Immune Signature Includes Associations with Poor Prognosis". *Nature Medicine* 26 (10): 1623–35. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-1038-6>.

Lee, Jeong Seok, Parque, Hye Won Jeong, Jin Young Ahn, Seong Jin Choi, Hoyoung Lee, Baekgyu Choi, et al. 2020. "Immunophenotyping of COVID-19 and influenza highlights the

role of type I interferons in development of severe COVID-19". *Science Immunology* 5 (49): eabd1554. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.abd1554>.

Li, Chao, Qifang He, Hebu Qian, e Jun Liu. 2021. "Overview of the pathogenesis of COVID-19 (Review)". *Experimental and Therapeutic Medicine* 22 (3): 1011. <https://doi.org/10.3892/etm.2021.10444>.

Livak, K. J., e T. D. Schmittgen. 2001. "Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method". *Methods (San Diego, Calif.)* 25 (4): 402–8. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>.

Lu, Hongzhou, Charles W. Stratton, e Yi-Wei Tang. 2020. "Outbreak of Pneumonia of Unknown Etiology in Wuhan, China: The Mystery and the Miracle". *Journal of Medical Virology* 92 (4): 401–2. <https://doi.org/10.1002/jmv.25678>.

Mathieu, Edouard, Hannah Ritchie, Esteban Ortiz-Ospina, Max Roser, Joe Hasell, Cameron Appel, Charlie Giattino, e Lucas Rodés-Guirao. 2021. "A Global Database of COVID-19 Vaccinations". *Nature Human Behaviour* 5 (7): 947–53. <https://doi.org/10.1038/s41562-021-01122-8>.

Navas-Martín, Sonia, e Susan R. Weiss. 2004. "Coronavirus Replication and Pathogenesis: Implications for the Recent Outbreak of Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS), and the Challenge for Vaccine Development". *Journal of NeuroVirology* 10 (2): 75–85. <https://doi.org/10.1080/13550280490280292>.

NCIRD - National Center for Immunization and Respiratory Diseases. Overview of COVID-19 Vaccines. 2022. Disponível em: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/vaccines/different-vaccines/overview-COVID-19-vaccines.html>. Acesso em: 20 set. 2022.

Sokolenko, Anna P., e Evgeny N. Imyanitov. 2018. "Molecular Diagnostics in Clinical Oncology". *Frontiers in Molecular Biosciences* 5 (agosto): 76. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2018.00076>.

Souza-Silva, Guilherme Antonio De, Rodrigo Cesar a. De Aquino, Georon F. De Sousa, Bárbara Rafaela S. Barros, Maríllia Raphaella C. F. De Lima, Leonardo C. O. Cruz, Bianca F. São Marcos, et al. 2022. "Memory Elicitation, T-Cell Response and Antibody Production: An Independent Study of an Inactivated Entire Virus Vaccine (Coronavac)". *Anais Da Academia Brasileira de Ciências* 94 (junho). <https://doi.org/10.1590/0001-3765202220211590>.

Weiss, Susan R., e Julian L. Leibowitz. 2011. "Coronavirus Pathogenesis". *Advances in Virus Research* 81: 85–164. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385885-6.00009-2>.

WHO - World Health Organization. **Coronavirus disease (COVID-19)**. Disponível em: https://www.who.int/health-topics/coronavirus#tab=tab_1. Acesso em: 20 set. 2022.



EFEITO DA GONADOTROFINA CORIÔNICA HUMANA (HCG) NA EXPRESSÃO GÊNICA DE REMODELADORES DA CROMATINA EM CÉLULAS DA MAMA MCF-10F

SAMUEL MARCOS RIBEIRO DE NORONHA; ISIDORO BINDA NETO; ANDRÉ AUGUSTO MASSUIA FONSECA; SILVANA APARECIDA ALVES CORREA; ANA LÚCIA MOTA-BINDA

Introdução: Há várias evidências que apontam para a associação do câncer de mama com a expressão de genes, cujo produto interfere com a remodelagem da cromatina e também com genes de fatores de transcrição. A expressão diferencial do grupo (cluster) de genes afetados por uma gravidez “precoce” induz a uma diferenciação da glândula mamária, na qual a célula-tronco se torna mais refratária aos processos carcinogênicos, e esta transformação pode ser relevante funcionalmente na proteção do epitélio mamário da mama contra o câncer. **Objetivo:** investigar os mecanismos de diferenciação da mama induzidos pelo hormônio gonadotrofina coriônica humana (hCG) por meio do estudo da expressão de genes relacionados à remodelagem da cromatina em modelo *in vitro*, tentando simular células-tronco do epitélio da glândula mamária. **Metodologia:** este trabalho foi realizado por meio do cultivo de células da mama humana MCF-10F tratadas com hCG, seguido de extração de RNA total e análise de expressão gênica por meio de qPCR. **Resultados:** Os cultivos celulares foram bem-sucedidos, a extração se deu por meio de TRIzol, o RNA total foi purificado, quantificado e qualitativamente investigado por Bioanalyzer. Foram realizadas quantificações relativas de 5 genes relacionados com a remodelagem da cromatina, ASXL1 (NM_015338.4), ASH1 (NM_018489.2), BMI1 (NM_005180.5), MLL (NM_018682.3) e SUV39H1 (NM_003173.2). Estes genes apresentaram uma expressão diferencial muito sutil em relação ao grupo controle sem tratamento, com quase nenhuma alteração sendo causada pela hCG. **Conclusão:** apesar da dupla função na promoção dos grupos de genes Polycomb e do grupo Trithorax para produzir configuração repressiva ou ativa da cromatina, a hCG parece modular suas ações epigenéticas nestas células mamárias por meio de outras vias intracelulares.

Palavras-chave: Neoplasia mamária, Remodelagem da cromatina, Mcf-10f, Gonadotrofina coriônica humana, Qpcr.



B-GLUCANO ESTIMULA A EXPRESSÃO DE RECEPTORES TOLL-LIKE (TLRS) TLR1 E MYD88 EM TILÁPIAS (*OREOCHROMIS NILOTICUS*)

SIMONE ANDRÉA DE ASSIS BENETI; BASIA SCHLICHTING MOROMIZATO; INGRID CAMARGO DOS REIS; JAQUELINE DALBELLO BILLER

Introdução: O interesse sobre o sistema imune de peixes e alternativas para potencializar as respostas contra diversas doenças cresceu na última década. Diversos estudos avaliam a expressão gênica após a administração de imunostimulantes. Alguns compostos podem modular variáveis imunes, como os receptores Toll-like (TLRs) como TLR1 e MyD88, que reconhecem antígenos e proteínas que regulam respostas imunes. Os imunostimulantes podem ser uma alternativa viável para evitar as perdas econômicas provocadas pelas enfermidades, dentre eles, o β -glucano, que é um dos compostos mais utilizados e estudados em peixes. O composto modula o sistema imune não específico e previne contra muitas doenças infecciosas. **Objetivo:** Assim, o objetivo foi avaliar o efeito da suplementação de β -glucano na dieta sobre a expressão de genes TLR1 e MyD88 no baço e em rim cranial de tilápia (*Oreochromis niloticus*). **Metodologia:** Foram utilizadas 240 tilápias com peso médio de 50,4 g. Os peixes foram alimentados com dietas com 0 e 10g kg⁻¹ β -glucano e após 15 e 30 dias, 4 animais de cada caixa (n=12) foram amostrados e eutanasiados para coleta de rim cranial e baço. Foi realizada a análise de RT-PCR para avaliar a expressão dos genes TLR1 e MyD88. **Resultados:** Os resultados mostraram que, no rim cranial a suplementação com o β -glucano na dieta durante 30 dias aumentou a expressão dos genes TLR1 e MyD88 comparados ao controle. Observou-se no baço que a adição do β -glucano demonstrou diferenças significativas e maior expressão durante 15 dias para o gene TLR1 e 30 dias para MyD88. **Conclusão:** Dessa maneira, deve-se considerar que a suplementação do β -glucano na dieta promoveu o aumento da expressão dos genes estudados, que são importantes no desencadeamento da defesa orgânica, tanto no rim cranial como no baço, uma vez que esses genes estimulam o sistema imune não específico do animal, influenciando o aumento dos fatores protetores, evitando o desenvolvimento de muitas doenças e melhorando o desempenho zootécnico.

Palavras-chave: β -glucano, Imunostimulantes, Myd88, Tilápia, Tlr1.



DELEÇÃO 22Q11.2 EM ESQUIZOFRÊNICOS: INTER-RELAÇÃO OU CONSEQUÊNCIA?

BEATRIZ PINTO HELY SILVA; THALITA APRIGIA DA SILVA LIMA; DAYANE APARECIDA GOMES; ELIFRANCES GALDINO DE OLIVEIRA

Introdução: A deleção da região cromossômica 22q11.2 é a razão molecular de maior risco para a esquizofrenia (SZ), uma vez que 25% dos indivíduos que têm a exclusão dessa microrregião desenvolve esquizofrenia, conseqüentemente 1% da população esquizofrênica é portadora desta síndrome cromossômica. Esta condição não afeta apenas o neurodesenvolvimento, mas também elementos cardíacos, faciais, orofaríngeos, deficiências de cálcio e do sistema imunológico. **Objetivos:** investigar o vínculo entre a presença da deleção 22q11.2, e sua forma sindrômica, e suas repercussões neurológicas e moleculares na esquizofrenia. **Metodologia:** o presente estudo é uma revisão integrativa da literatura publicada nas bases de dados *Pubmed*, *Scielo* e *Google Scholar*, predominando periódicos internacionais, durante o período entre 2018 e 2022, usando como descritores “22q11.2DS and mitocôndria”, “Schizophrenia and 22q11.2DS”, “22q11.2 and Deletion Syndrome”. Foram escolhidos 32 artigos para avaliação e excluídos 14 por não possuir grupo controle, não avaliar pacientes SZ 22q11.2 com psicose e pacientes SZ 22q11.2 sem psicose e não haver a presença de ambos os gêneros. No final, 18 artigos foram designados para o debate. **Resultados:** os achados apontam tanto para a presença de déficits sensoriais, funcionais e de coordenação motora, quanto de déficits no monitoramento de ações não só no domínio temporal, como também no espacial e hipersensibilidade à psicoestimulantes. Além disso, vias metabólicas envolvendo o gene alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR), o córtex cingulado anterior e, por fim, o putâmen são desajustadas e demonstraram papel importante na regulação da expressão dos fenótipos SZ com 22q11.2DS. Do mesmo modo, a mitocôndria tem suas funções desreguladas, pois seus produtos proteicos sofrem redução, bem como os complexos de fosforilação oxidativa I e IV e o ATP neural, tendo em vista que há uma microdeleção da zona MRPL40. **Conclusão:** através dos resultados observa-se que esta síndrome de deleção prevalente na comunidade esquizofrênica intensifica a sintomatologia e os distúrbios moleculares e metabólicos. Para além disso, se estabelece um estado de angústia nos portadores da deleção e da sua forma sindrômica, em virtude do medo de desenvolver quadros psicóticos.

Palavras-chave: Esquizofrenia, Deleção no cromossomo 22, Mitocôndria, Síndrome de deleção 22q11.2, Psicose.



ESTRESSE OXIDATIVO E SEU MECANISMO DE AÇÃO NA FISIOPATOLOGIA DO CÂNCER E SUA CORRELAÇÃO COM O ENVELHECIMENTO

PABLO CAVALCANTI; BRUNO BASILIO CARDOSO DE LIMA

Introdução. Radicais livres são biomoléculas ativas, com funções biológicas extremamente importantes para funcionamento fisiológico do nosso organismo. A produção excessiva dessas espécies reativas de oxigênio (ERO) e de nitrogênio (ERN) gera um desequilíbrio entre esses compostos oxidantes e antioxidantes, ou seja, quando ocorre essa perda de equilíbrio entre a produção e eliminação de EROs temos o fenômeno chamado estresse oxidativo, que em numerosos estudos e pesquisas tem sido associado a processos fisiopatológicos como envelhecimento, inflamação, câncer e muito outras patologias. O envelhecimento é um processo biológico, progressivo, universal e contingencial, caracterizado por alteração na fosforilação oxidativa mitocondrial formando essas espécies reativas, com maior acúmulo de lesões celulares que leva a perda de funções biológicas e danificam as proteínas e o DNA. Esses danos levam ao desequilíbrio da homeostase tecidual, o crescimento celular desordenado e a desregulação da apoptose. **Objetivo.** O presente estudo pretende de analisar o estresse oxidativo, os seus principais fatores e mecanismo de ação relacionado a fisiopatologia do câncer também sua correlação existente com o envelhecimento. **Método.** Para alcançar os objetivos estabelecidos foi realizada uma revisão sistemática da literatura de estudos qualitativos utilizando dos Descritores Controlados em Ciência da Saúde (DeCS) “estresse oxidativo, câncer, envelhecimento e fisiopatologia” também seus correspondentes em inglês. Com busca realizada no PubMed, Scielo, e scholar Google, abrangendo os anos de 2005 a 2016. **Resultados.** Na literatura analisada foi evidenciado que a produção dessas espécies reativas aumenta continuamente com o envelhecimento, até que sua intervenção no organismo se torna danosa ao invés de benéficas. Alguns estudos propõem que a redução de telômeros está modulada pelos níveis de radicais livres, esse fenômeno conhecido encurtamento de telomérico ocorre a cada divisão celular, até a célula entrar e senescência. Constatou-se que esse processo de encurtamento dos telômeros está associado a maior risco de desenvolvimento de câncer. **Conclusão.** Foi possível identificar que o envelhecimento está ligado ao processo de geração de (EROs), favorecendo assim alterações moleculares e bioquímicas fundamentais para desenvolvimento de doença como o câncer em idosos, havendo uma correlação entre estresse oxidativo e o envelhecimento para os processos de fases de iniciação, promoção e progressão tumoral.

Palavras-chave: Câncer, Envelhecimento, Estresse oxidativo, Fisiopatologia.



ANÁLISE FILOGENÉTICA DA FAMÍLIA MULTIGÊNICA DA S-ADENOSIL METIONINA DESCARBOXILASE EM ANGIOSPERMAS

THAIS ANDRADE GERMANO; LYNDEFÂNIA MELO DE SOUSA; JOSÉ HÉLIO COSTA; JOSÉ FRANCISCO DE CARVALHO GONÇALVES; ANDREIA VARMES FERNANDES GONÇALVES

Introdução: S-adenosil metionina descarboxilase (SAMDC) é uma enzima-chave na biossíntese de poliaminas, aminas catiônicas envolvidas em vários processos celulares. Nas plantas, as poliaminas desempenham funções essenciais durante o crescimento e desenvolvimento, atuando inclusive na proteção das células em respostas a diferentes tipos de estresses. Esses compostos são sintetizados a partir dos grupos aminopropil liberados da descarboxilação de S-adenosil metionina, reação catalisada pela SAMDC. Apesar da importância das poliaminas, poucos estudos têm discorrido sobre a filogenia da SAMDC em plantas. **Objetivo:** Portanto, o objetivo desse trabalho foi identificar, caracterizar e analisar a distribuição filogenética da família multigênica *SAMDC* em angiospermas. **Metodologia:** Para isso, os genes *SAMDC* foram identificados em espécies monocotiledôneas e dicotiledôneas através de buscas em bancos de dados disponíveis no NCBI, utilizando a ferramenta BLAST. Em seguida, a análise filogenética foi conduzida usando o programa MEGA 11.0. **Resultado:** O resultado revelou que *SAMDC* é codificada por uma pequena família multigênica variando entre 3 (*Ananas comosus* e *Fragaria vesca*) e 8 (*Musa acuminata*) genes identificados por espécie. Além disso, os genes *SAMDC* continham entre 1 e 4 éxons com destaque para *Ananas comosus* que mostrou um único éxon para cada um dos membros gênicos. Entretanto, as janelas de leitura aberta (ORFs) dos genes *SAMDC* não apresentaram íntrons com exceção de *Mangifera indica* e *Oryza sativa* nas quais foram verificados genes *SAMDC* com 1 íntron. Inclusive, a presença de íntrons na região não traduzida (UTR) 5' parece ser uma característica dessa família multigênica. A análise filogenética agrupou as proteínas em três subfamílias identificadas como *SAMDC3*, *SAMDC5* e *SAMDC4* com base em *Arabidopsis thaliana*, onde prevaleceram as espécies dicotiledôneas, monocotiledôneas e de ambas as classes, respectivamente. Contudo, dentro de cada subfamília formaram-se dois grupos: um com monocotiledôneas e outro com dicotiledôneas. Além disso, algumas subfamílias apresentaram duas ou mais sequências muito idênticas dentro da mesma espécie indicando duplicações gênicas recentes. **Conclusão:** A diversidade estrutural, bem como na composição das famílias multigênicas entre espécies potencializa o interesse de se estudar a função gênica a fim de se identificar membros gênicos específicos para aplicação biotecnológica.

Palavras-chave: Monocotiledônea, Dicotiledônea, íntron, Orf, Blast.



AValiação de Biomarcadores Sanguíneos Após a Infecção pelo COVID-19 em Pacientes Moderados e Graves

REBECCA SALOMÃO DE CARVALHO; IVO VIEIRA DE SOUSA NETO; RITA DE CÁSSIA MARQUETI

Introdução: Síndrome pós-COVID-19 refere-se aos sintomas como fadiga, que se desenvolvem durante/após a fase aguda de COVID-19, continuando por ≥ 12 semanas sem diagnóstico alternativo. **Objetivos:** Investigar o perfil de biomarcadores sanguíneos (citocinas e MMPs) em participantes após o diagnóstico de COVID-19, moderados e graves, comparados ao grupo controle. **Metodologia:** Estudo observacional transversal. Amostra: participantes diagnosticados com COVID-19. Protocolo aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Brasília. Participantes serão recrutados por discentes e pesquisadores através de redes sociais. Serão recrutados, a partir do 21º dia após início dos sintomas; sexos masculino e feminino, entre 18 e 80 anos, positivos para COVID-19. Grupos: (1) controle (n=30), (2) pós-COVID-19 moderados (n=120), (3) pós-COVID-19 graves (n=120). Total: 270 participantes. Serão realizadas 4 avaliações durante 1 ano: Avaliação 1: 21º ao 30º dia pós início dos sintomas. Avaliação 2: entre 31 a 90. Avaliação 3: entre 91 a 180. Avaliação 4: entre 181 e 360 dias. Procedimentos: Coleta de sangue e análise de: interleucina-6(IL-6), interleucina-8(IL-8) e interleucina-10 (IL-10), interleucina 1 beta(IL1 beta), fator de necrose tumoral alfa(TNF- α), óxido nítrico(NO), MMPs. Análises laboratoriais: hemograma, creatinina, lipidograma, PCR-ultra sensível e a creatina quinase. Determinação da atividade de MMPs por Zimografia no plasma. Análise dos dados: Descritiva e analítica; medidas de tendência central e dispersão; testes de inferência apropriados, tabelas e gráficos. Normalidade dos dados: Teste de Shapiro-Wilk (dados com distribuição normal). Verificar diferenças entre as medidas obtidas: ANOVA mista (Split-plot), com post-hoc de Bonferroni. Coeficientes de correlação: Teste de correlação de Pearson (paramétrico) ou de Spearman (não-paramétrico). Nível de significância estatística: $p < 0,05$. Programa estatístico: SPSS 22.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA). Cálculo amostral: O tamanho da amostra foi estimado *a priori* usando G*Power (versão 3.1.9.4, Universitat Kiel, Alemanha), nível de significância $p < 0,05$, poder $(1-\beta)$ 0,95, e tamanho de efeito $f > 0,4$. Considerando o efeito tempo (time effect do ANOVA) para medidas repetidas. **Resultados:** Esperamos que o conhecimento do perfil de biomarcadores sanguíneos, avaliados até 1 ano após a infecção, nos forneça *insights* que auxiliem a explicar a síndrome pós-COVID-19, objetivando desenvolver tratamentos mais assertivos e eficazes para essa população. **Conclusão:** Esse estudo poderá expandir a compreensão acerca da síndrome pós-COVID-19.

Palavras-chave: Síndrome pós-covid-19, Sars-cov-2, Fadiga, Covid-19 crônico, Pós-covid-19.



ESTUDO DO EFEITO ANDROGÊNICO E DA HEPARANASE EM LINHAGENS CELULARES TUMORAIS DE CÂNCER DE PRÓSTATA

RENAN DE OLIVEIRA ALVES; TAIZE MACHADO AUGUSTO

Introdução: Câncer de próstata (CAP) é a neoplasia mais comum em homens e um reconhecido problema de saúde pública. Os principais andrógenos da próstata são a testosterona e a di-hidrotestosterona (DHT), ambos os hormônios têm a capacidade de se ligar ao receptor de andrógeno (AR). A metástase na progressão tumoral está relacionada a uma série de alterações biomoleculares que podem afetar o AR e os mecanismos de regulação. Dentro destes mecanismos destacamos atenção à enzima heparanase-1 (HPSE1), relacionada com a capacidade invasiva de células tumorais que contribui para o aumento na agressividade tumoral. **Objetivo:** Neste sentido, este trabalho teve como objetivo geral investigar a participação da atividade androgênica em linhagens tumorais prostáticas (LNCaP, PC3) por meio da observação de amostras controles e amostras com tratamento de DHT 10nM e 100nM. **Método:** Através de análises de proliferação celular, expressão gênica e protéica da HPSE1 e enzimas relacionadas a metástase tumoral, migração e invasão celular. **Resultados:** Nossos resultados evidenciaram que a concentração de 10nM de DHT aumentou a taxa de proliferação celular nas células LNCaP, enquanto as células PC3 não demonstraram nenhuma diferença observada pelo ensaio de MTT. As células PC3 não apresentaram diferenças no perfil migratório quando expostas a DHT, enquanto as células LNCaP apresentaram seu perfil migratório aumentado quando expostas a DHT, observados pela área remanescente diminuída após 48h pelo Scratch Test. O potencial invasivo também foi analisado pelo teste de invasão in vitro através de insertos revestidos com matriz gelatinosa através da observação das células ancoradas na membrana do inserto. A linhagem PC3 após exposição à DHT apresentou uma diminuição no seu perfil invasivo enquanto a linhagem LNCaP teve aumento no seu perfil invasivo. A expressão dos marcadores metastáticos como: HPSE1, MMP2 e MMP9 também foram avaliadas através do ensaio de Western blotting e PCR em tempo real. As células PC3 apresentaram um aumento da expressão destes marcadores após exposição a DHT enquanto células LNCaP uma diminuição. **Conclusão:** Os resultados obtidos ajudam na melhor compreensão do papel androgênico na progressão do CaP através do entendimento da biologia e do microambiente tumoral fornecendo subsídios aos tratamentos anti-androgênicos na clínica médica.

Palavras-chave: Câncer de próstata (cap), Lncap, Pc3, Andrógenos, Hpse-1.



REVISÃO BIBLIOGRÁFICA SOBRE A DOENÇA DO ALZHEIMER: HIPERFOSFORILAÇÃO DA PROTEÍNA TAU E DEPOSIÇÃO DO PEPTÍDEO B-AMILOSE

JOSÉ BRUNO DA SILVA AZEVEDO

Introdução: A doença de Alzheimer é multifatorial ou poligênica e corresponde a cerca de 50 a 75 % de casos de demência nos seres humanos. A proteína TAU é importante na patogénia da demência frontotemporal e para o citoesqueleto neuronal. Essa proteína consegue interagir com a α - e β globulina para estabilizar os microtúbulos que são essenciais no transporte axonal, na plasticidade sináptica e na manutenção da estrutura neural. **Objetivos:** Esse trabalho teve como objetivo conhecer as proteínas e os genes promotores no desenvolvimento da doença de alzheimer. **Metodologia:** Foi realizada uma busca simples nos bancos de dados da SciELO, PubMed e Periódicos Capes, por meio de palavras-chave: “doença de Alzheimer”, “proteína TAU” e “demência frontotemporal”. Foram revisados artigos publicados nos anos de 2009 à 2021. **Resultados:** A proteína TAU é encontrada montada na doença de alzheimer e os MNFs possuem filamentos emparelhados nos FHA. Os fatores de risco são: a presença do alelo e4 do gene da apolipoproteína E APOE, do gene da proteína APP no cromossomo 21 e dos genes Presenilinas 1 e 2 nos cromossomos 14 e 1. A TAU faz sua própria polimerização e inibe a despolimerização rápida da tubulina, esse processo é regulado pelo estado de fosforilação da proteína TAU, que compreende aproximadamente 79 sítios de fosforilação em resíduos de serina e treonina. O equilíbrio entre fosforilação e desfosforilação dos epítopos promove alterações que influenciam como a proteína TAU interage com a α - e β -tubulina que estabilizam os microtúbulos nos neurônios. Várias proteínas quinases e fosfatases estão envolvidas na regulação da fosforilação da TAU, sendo a enzima glicogênio sintase quinase 3 β GSK3 β a mais importante TAU quinase nos neurônios. A redução da expressão de certas fosfatases também é identificada nos tecidos cerebrais de pacientes com alzheimer. **Conclusão:** A TAU hiperfosforilada intraneural pode ser encontrada no cérebro de indivíduos com demência muito leve, não acompanhada de patologia β -amiloide. A hiperfosforilação de TAU pode ser um evento precoce na fisiopatologia do alzheimer, enquanto outros mecanismos patológicos, incluindo superprodução da Ab e ativação de cascatas inflamatórias e estresse oxidativo, podem ser secundários à disfunção geral na homeostase neuronal.

Palavras-chave: Demência frontal, Doença de alzheimer (da), Fisiopatologia, Peptídeo beta amiloide, Proteína tau.



TESTES MOLECULARES E SEU CARÁTER ADJUVANTE À CITOPATOLOGIA TIREOIDIANA INDETERMINADA

LAIRCE CRISTINA RIBEIRO BRITO; THAYNA PERES COSTA; JOSÉ LOPES PEREIRA JÚNIOR

Introdução: Até 30% dos nódulos tireoidianos se caracterizam como indeterminados pelas punções aspirativas com agulha fina (PAAF) e é bastante variável o risco de malignidade nesses casos. De modo consequente, o manejo desses nódulos tem se tornado desafiador. Pessoas com citologia indeterminada podem ser submetidas a PAAF mais de uma vez para citologia ou cirurgia diagnóstica (tireoidectomia total ou lobectomia de tireoide). Em numerosos casos, o achado final é o de benignidade. Ademais, as cirurgias diagnósticas não representam somente um risco de complicações operatórias, como também acrescentam custos desnecessários para o paciente, bem como, para o sistema de saúde. **Objetivo:** avaliar o caráter adjuvante dos testes moleculares junto à citopatologia tireoidiana indeterminada. **Metodologia:** Trata-se de uma revisão integrativa da literatura determinada nas bases de dados “BVS”, “Pubmed” e “SciELO”, empregando os descritores: molecular testing, thyroid câncer, thyroid nodules, combinados pelo operador booleano AND. Quanto aos critérios de inclusão, foram introduzidos artigos escritos publicados entre 2018 e 2023 e com texto completo gratuito. **Resultados:** A busca dos descritores resultou em 148 artigos, dentre os quais foram selecionados os 10 que melhor atendiam ao objetivo, os critérios de inclusão e a temática central dessa pesquisa. Os testes moleculares originaram-se como uma ferramenta de complementação para estratificar nódulos citologicamente indeterminados, de forma a orientar médicos em sua decisão clínica. Eles analisam as células aspiradas dos nódulos, buscando identificar ou excluir a presença de expressão de genes, mutações ou rearranjos genéticos de DNA e RNA que seriam os responsáveis pelo aparecimento do câncer tireoidiano. Esses testes podem poupar os pacientes de cirurgias que não são necessárias, ao passo que distinguem cânceres de alto risco podendo contribuir com a tomada de decisão de por exemplo realizar uma tireoidectomia total antecipadamente. **Conclusão:** Os Testes moleculares têm obtido cada vez mais espaço no panorama clínico como adjuvantes na estratificação do risco de nódulos da tireoide com citologia indeterminada. A ciência desses testes avançou rapidamente, entretanto, deve-se ter cuidado ao incluí-los no manejo diagnóstico, pois atualmente nenhum deles é 100% preciso.

Palavras-chave: Molecular testing, Thyroid câncer, Thyroid nodules, Molecular testing, Thyroid câncer.