



Abner Gallilei Moreira Borges

Iniciação Científica

abner.gallilei.borges@usp.br

Interação central entre apelina e os gases neurotransmissores monóxido de carbono e óxido nítrico sobre a ingestão de água e ativação neuronal vasopressinérgica

A. G. M. Borges; W. L. Reis; L. L. K. Elias; J. Antunes-Rodrigues

A apelina (APL) é um ligante endógeno específico de receptores órfãos acoplados a proteína G. Recentes estudos demonstraram a presença de neurônios apelinérgicos, e seus receptores, em estruturas hipotalâmicas relacionados com a homeostase hidroeletrólítica. Objetivo: Este estudo visa compreender os efeitos centrais da APL no comportamento da sede, bem como na ativação de neurônios produtores de vasopressina (AVP). Além disso, o trabalho avalia se os gases neurotransmissores óxido nítrico (NO) e monóxido de carbono (CO), medeiam as ações centrais da APL. Métodos e Procedimentos: Ratos ♂ Wistar (270g), portadores de uma cânula intracerebroventricular (ICV) foram submetidos à privação hídrica de 48h (PH). Foram avaliadas: a) a ingestão de água de ratos injetados icv com APL (0,1µg) previamente tratados, ou não, com doadores de NO (SNAP, 5µg) ou CO (CORM, 30µM), e ou inibidores de NO (LNAME, 250µg) ou CO (SnPP, 20µM); b) a ativação de neurônios produtores de AVP e APL por meio da expressão imunofluorescente da proteína FOS dos núcleos hipotalâmicos paraventricular (PVN) e supraóptico (SON). Resultados: Os dados demonstraram que a administração icv de APL causou um aumento maior na ingestão de água quando comparado aos animais submetidos a PH. Ainda, o tratamento prévio com os inibidores da produção endógena de NO e CO produziram uma redução na ingestão de água induzida pela APL. Por outro lado, não foram observadas alterações significativas nos grupos previamente tratados com doadores de CO ou NO. Os resultados da imunofluorescência revelaram que a PH aumenta a ativação neuronal de AVP e APL em ambos PVN e SON. Além disso, a PH elevou a porcentagem de colocalização AVP-APL que foram ativados. Efeitos que não foram modificados pela injeção icv de APL. Conclusões: Os resultados deste trabalho demonstram que a APL estimula a sede, ação possivelmente mediada pelos neurotransmissores do CO e do NO. Portanto, a PH ativa neurônios hipotalâmicos que sintetizam AVP e APL, sendo fundamentais para a manutenção da homeostase hidroeletrólítica. Apoio Financeiro: CNPq



Aline Alves de Jesus

Mestrado

aline.jesus@usp.br

Efeito do Hidrogênio Molecular sobre a síntese de mediadores inflamatórios e comportamento em ratos submetidos ao choque séptico

Aline Alves; Evelin Capellari

Introdução: O sistema nervoso central é uma das primeiras regiões a ser acometida durante a sepse grave e choque séptico, o que contribui para o aumento da taxa de morbidade e mortalidade. O hipocampo parece ser uma das regiões cerebrais mais vulnerável a ação de espécies reativas de oxigênio (ERO) e a mediadores inflamatórios que são produzidos de forma excessiva durante a sepse, podendo ocasionar a apoptose de células hipocampais. Neste contexto, estudos recentes vêm sendo realizados com o hidrogênio molecular demonstrando que este gás pode prevenir o dano celular ocasionado por uma resposta hiperinflamatória, por possuir efeitos antioxidante, anti-inflamatório e anti-apoptótico, reduzindo as ERO, citocinas pró-inflamatórias e bem como aumentando os níveis de citocinas anti-inflamatórias. Entretanto, pouco se sabe se o mesmo pode exercer ação protetora sobre o sistema nervoso central visto que, por ser uma pequena molécula química possui a capacidade de atravessar biomembranas e até mesmo alcançar o núcleo. Dessa forma, o objetivo deste projeto consiste em avaliar se o tratamento a partir da inalação do hidrogênio molecular promove neuroproteção durante sepse induzido pelo modelo CLP. Objetivo Geral: Avaliar se a inalação de hidrogênio molecular pode prevenir o dano cognitivo, diminuindo a síntese de mediadores inflamatórios e espécies reativas de oxigênio (ERO), sintetizados centralmente em ratos sépticos. Método: Para a realização deste trabalho estão sendo utilizados ratos wistar que são divididos aleatoriamente em 4 grupos experimentais: grupo CLP ar; grupo Sham ar; grupo CLP H2 e grupo Sham H2r. O projeto foi dividido em 3 protocolos experimentais onde após 24h da cirurgia de CLP/Sham os animais são tratados durante 10 dias com inalação de H2 a 2% e após o tratamento são submetidos a 3 testes comportamentais ou são decapitados para coleta de tecido e plasma. O projeto foi aprovado pelo comitê de ética local sob n° 2016.5.96.22.3.

Apoio Financeiro: CNPq



Aline Barbosa Ribeiro

Doutorado

ribeiro.aline@usp.br

Papel do estradiol na disfunção da barreira epitelial intestinal induzida pela inflamação sistêmica

Aline Barbosa Ribeiro; Celso Rodrigues Franci; Humberto Giusti; Rafael Simone Saia.

A resposta inflamatória sistêmica exacerbada é uma importante injúria primária à mucosa intestinal. O estradiol atua como um hormônio anti-inflamatório responsável pela manutenção do epitélio intestinal, sendo os seus receptores expressos ao longo de todo o trato gastrointestinal. Assim, este trabalho teve por objetivo avaliar o papel do estradiol na disfunção da barreira epitelial intestinal induzida pelo lipopolissacarídeo (LPS). As ratas foram ovariectomizadas e mantidas para recuperação por 10 dias antes do experimento. Por três dias consecutivos, as ratas foram tratadas com cipionato de estradiol (50 ou 100 µg/kg) ou óleo de milho. A permeabilidade intestinal e a translocação bacteriana foram avaliadas 6 h após a administração do LPS (1,5 mg/kg, intravenoso). Adicionalmente, as concentrações das citocinas pró e anti-inflamatórias foram dosadas no plasma, nas mucosas ileal e colônica. Também foram avaliadas as expressões das proteínas constituintes das tight junctions (TJ; claudina-1, ocludina, e JAM-A) e da junção aderente (JA; E-caderina). Nossos resultados demonstraram que o estradiol reduziu a permeabilidade intestinal, bem como preveniu a translocação bacteriana induzida pela administração do LPS. O estradiol aumentou a concentração da citocina anti-inflamatória IL-10 e reduziu a citocina pró-inflamatória IL-1β no plasma. Já na mucosa ileal e colônica o estradiol reduziu as concentrações das citocinas pró-inflamatórias TNFα, IL-6, IL-1β e IFN-γ. Em conformidade com estes resultados, o estradiol reduziu a expressão do fator transcricional NF-κB (factor nuclear kappa B) e aumentou a expressão da proteína IκB (proteína inibitória kappa B). Além disso, o tratamento com estradiol parece atuar na disfunção da barreira epitelial intestinal revertendo a redução da expressão das proteínas integrantes das TJ e JA provocada pela endotoxemia. Os resultados sugerem o papel protetor do estradiol na disfunção da barreira intestinal induzida pela inflamação sistêmica.

Apoio Financeiro: CNPq e FAPESP



Amanda Rosanna Alves Barboza

Iniciação Científica

amanda.rosanna.barboza@usp.br

Efeitos hemodinâmicos da anestesia com cetamina-xilazina em ratos

Amanda Rosanna Alves Barboza; Carlos Alberto A. Silva; Rubens Fazan Jr.

Introdução: A mistura de cetamina e xilazina é muito comumente utilizada para a anestesia de pequenos animais, tanto em nível clínico-veterinário como em laboratórios de experimentação. Esse estudo investigou os efeitos da anestesia por cetamina e xilazina sobre a pressão arterial (PA) e frequência cardíaca (FC) em ratos. **Métodos e Resultados:** Ratos Wistar (270-320g, N=10) tiveram a artéria femoral canulada e, após 2 dias, foram conectados a um sistema de registro direto da PA. Sob monitorização contínua PA, os ratos receberam a mistura de cetamina e xilazina (50/250 mg/kg, ip) e foram acompanhados durante 40 min. CETEA#132/2017. A PA média e a FC basal dos ratos acordados foi de 106 ± 3 mmHg e 394 ± 9 bpm, respectivamente. Após a administração da mistura anestésica, observamos um pronto e rápido aumento da PA, que atingiu 153 ± 5 mmHg em 4-5 min, permanecendo nesses níveis por aproximadamente 20 min. Então, concomitantemente com o início da recuperação do efeito da anestesia, a PA começou a reduzir, gradativamente, até 115 ± 6 mmHg ($p < 0,05$ comparado à PA antes da anestesia) 40 min após a administração do anestésico. Por outro lado, a cetamina-xilazina levou a uma progressiva bradicardia ($\Delta 95 \pm 10$ bpm) que se estabilizou em 10-12 min e permaneceu nesses níveis até o final da monitorização feita nesse estudo. **Conclusão:** A anestesia com cetamina e xilazina produz marcantes alterações hemodinâmicas em ratos, caracterizadas por hipertensão e bradicardia. Importante destacar que o aumento da PA tende a desaparecer com o final do efeito anestésico, entretanto a bradicardia permanece mesmo com o animal já praticamente acordado.

Apoio Financeiro: FAPESP



Ana Luiza Romero Terra dos Santos

Iniciação Científica

ana.romero.santos@usp.br

Relação central entre estradiol e Giot1 na regulação osmótica de ratas ovariectomizadas

Ana Luíza Romero Terra dos Santos, Susana Quirós Cognuck, Wagner Luis Reis, Mingkwan Greenwood, Michael Greenwood, David Murphy, Lucila Leico K. Elias e José Antunes-Rodrigues

É consolidado pela literatura a existência de um dimorfismo sexual no apetite a água e sódio governado pelo estradiol (E2), entretanto os mecanismos desse comportamento não estão bem esclarecidos. Gonadotropin inducible ovary factor 1 (Giot1) é uma proteína kruppel-type zinc finger induzida por gonadotropinas nas células tecais do ovário que foi identificada em áreas do sistema nervoso central relacionadas com o equilíbrio hidromineral. Ademais, desafios osmóticos como privação a água (PH) em ratos revelaram uma alta expressão de Giot1 nas populações magnocelulares do núcleo paraventricular (PVN). Portanto, o objetivo central desse trabalho é investigar as interações centrais entre Giot1 e as vias de sinalização do E2 na homeostase hidroeletrólítica depois de estimulação osmótica. Utilizou-se ratas Wistar (300g) com microinjeção bilateral no PVN do vetor lentiviral (shGiot1) para Giot1 knockdown. Já as ratas controle foram microinjetadas com um GFP-Scramble. Depois de 21 dias da microinjeção, as ratas foram ovariectomizadas (OVX) e metade recebeu reposição de E2 por pellet (0,25mg/ pellet). Todos animais foram submetidos à PH de 48h. Água e sódio foram mensurados usando gaiolas metabólicas. Foi observado no grupo controle que a OVX seguida do tratamento de E2 induziu um decréscimo em ambos apetites à água e ao sódio depois da PH. Em adição, em ratas OVX + E2, o knockdown de Giot1 não alterou o efeito anti-dipsogênico promovido por E2. Por outro lado, interessantemente, também no grupo OVX+E2, o knockdown de Giot1 aumentou a ingestão de 0,3M NaCl depois da PH, comparado ao respectivo controle (OVX+E2 com o vetor Scramble injetado). Em suma, nosso trabalho mostra que o Giot1 no PVN contribui para o aumento do apetite, não à água, mas ao sódio em ratas fêmeas depois da PH. Assim, esse estudo demonstrou que o estradiol afetou a ingestão de sódio, ao menos em parte, mediado por Giot1, enfatizando as diferentes vias de E2 na apetite hidrossalino.

Apoio Financeiro: FAPESP #2013/09799-1; #2016/19051-2; CNPq.



Bruna Maitan Santos

Doutorado

brunamaitan@gmail.com

Central leukotrienes modulate LPS tolerance

Santos, BM; Costa LHA; Rocha, MJA; Branco, LGS

Leukotrienes mediate a number of inflammatory events such as neutrophil chemoattraction, leukocyte adhesion, central-releasing of cytokines and fever (the so called a hallmark of inflammation). This study aimed to find out the importance of central leukotrienes in the development of lipopolysaccharide (LPS) tolerance. Thus, we inhibited central leukotriene synthesis in tolerant rats using a pharmacological tool, i.e., a selective inhibitor of leukotriene synthesis MK-886 injected into the third ventricle (3V) of male Wistar rats (270-300 g). Surgical procedures included the placement not only of an intracerebroventricular cannula but also a datalogger into the abdominal cavity, for core body temperature (T_b) measurements. Analgesic (Flunixin; 2.5 mg kg⁻¹, subcutaneously) and antibiotic (160,000 U kg⁻¹ benzylpenicillin, intramuscular) drugs were administered before the surgical procedures. After 4 days of recovery, LPS tolerance was induced with a low-dose of LPS (100 µg/kg ip) given for 4 consecutive days. A control group was treated with the vehicle (saline i.p.). During all the experimental period, the animals had free access to water and food and they were kept in a controlled ambient temperature (28-29°C), which is within the thermoneutral zone. At day 4, rats were microinjected into the 3V with MK-886 immediately before LPS whereas control groups were treated with vehicle (saline). We observed that LPS failed to induce fever after the 3-4 day of treatment, aptly characterizing the tolerance. When MK-886 was given together with saline no change in T_b was observed, but when combined with the forth LPS injection a clear LPS-induced fever was observed. These data are consistent with the notion that central leukotriene is a key molecule to induce LPS tolerance. Ethical Committee (CEUA): 2016.1.393.58.1

Apoio Financeiro: FAPESP #2016/09364-3; CNPq



Cahuê de Bernardis Murat

Doutorado

murat@usp.br

A despolarização dos neurônios do NTS induzida por hipoglicemia é mediada pelo fechamento dos canais KATP pelo ATP oriundo da oxidação do lactato proveniente dos astrócitos?

Cahuê De Bernardis Murat; Ricardo Mauricio Leão

Neurônios presentes no núcleo do trato solitário (NTS) do tronco encefálico são sensíveis a alterações da concentração de glicose extracelular (neurônios excitados ou inibidos por glicose) e participam do controle de respostas contrarregulatórias à hipo- ou hiperglicemia via modulação da secreção de hormônios, motilidade gástrica e comportamento alimentar. Apesar do alto consumo energético neuronal, os neurônios não são capazes de armazenar energia na forma de glicogênio. Postula-se que os neurônios utilizem preferencialmente o lactato liberado pelos astrócitos, produzido via glicólise e glicogenólise. Interessantemente, há aumento da concentração neural de lactato extracelular induzido por hipoglicemia, e pacientes/animais com quadros de hipoglicemia recorrentes apresentam menor sensibilidade à glicose neural. Estamos investigando eletrofisiologicamente a resposta dos neurônios do NTS à glicemia e observamos que a maioria dos neurônios despolariza quando expostos à uma solução contendo baixa glicose (0,5 mM) a partir de uma solução normoglicêmica (5 mM). Curiosamente, quando partimos de uma solução hiperglicêmica (10 mM) não observamos esse efeito. Surpreendentemente, vimos que o efeito da solução hipoglicêmica é ocluído pela tolbutamida, bloqueador dos canais de potássio sensíveis ao ATP (KATP). Além disso, neurônios que não respondem à baixa glicose não respondem também à aplicação de tolbutamida. Nossa hipótese corrente é que o efeito da baixa glicose nos neurônios do NTS se dá pelo fechamento dos canais KATP pelo ATP produzido via oxidação do lactato proveniente dos astrócitos. Protocolo CEUA aprovado: 149/2015.

Apoio Financeiro: CAPES, CNPq e FAPESP.



César Augusto Celis Ceballos

Doutorado

cesarcelis@usp.br

Efeito das condutâncias negativas nos sinais sinápticos

Ceballos, C.C, Roque, A.C., Leão, R.M

De acordo com a teoria do cabo neuronal, um aumento da condutância de membrana em neurônios produz uma diminuição da constante de tempo e da resistência da membrana. Porém, diferente das correntes de vazamento clássicas, as correntes dependentes da voltagem apresentam um comportamento não-linear que pode criar regiões de condutância negativa, apesar do aumento da condutância de membrana (ou permeabilidade). Essa condutância negativa se opõe as condutâncias passivas de membrana nos efeitos na resistência e da constante de tempo de membrana, aumentando os seus valores. Isso afeta substancialmente a amplitude e a evolução temporal dos potenciais pós-sinápticos na faixa de voltagem em que a condutância negativa está presente. Esse efeito paradoxal tem sido descrito para três tipos de correntes de entrada dependentes de voltagem: a corrente de sódio persistente, as correntes de cálcio tipo L e tipo T e a corrente glutamatérgica de NMDA. Nós estudamos o impacto das regiões de condutância negativa nas propriedades de membrana e na integração sináptica.



Darlan da Silva Bazilio

Mestrado

darlan.bazilio@usp.br

Padrão cardiovascular durante o ciclo sono-vigília de ratos submetidos à hipóxia crônica intermitente

Darlan S. Bazilio; Leni G. H. Bonagamba; Davi J. A. Moraes; Benedito H. Machado

A hipóxia crônica intermitente (HCI) é um modelo experimental no qual ocorre ativação quimiorreflexa intermitente. A HCI promove aumento da atividade simpática, hipertensão e alterações no acoplamento simpático-respiratório. No entanto, as alterações no ciclo sono-vigília de ratos HCI e as correspondentes alterações cardiovasculares ainda não foram estudadas. Nesse estudo avaliamos se ratos HCI apresentam alterações no sono natural e nos parâmetros cardiovasculares durante cada estágio do ciclo sono-vigília. Ratos Wistar (~250 g) foram divididos nos grupos HCI (n = 11) e controle (CTL) (n = 11). Os animais foram submetidos a implantação de dois eletrodos no crânio e dois eletrodos no músculo trapézio para registros eletrocorticográficos (EKG) e eletromiográficos (EMG), respectivamente, para determinar os estágios do sono. Após 48 h, o grupo HCI foi exposto a um protocolo de hipóxia intermitente por 3 dias (6% de O₂ por 40 s, a cada 9 min, 8 h / dia), enquanto o grupo CTL foi mantido em normóxia (20,8% de O₂). No último dia do protocolo, os ratos tiveram uma artéria femoral canulada para registros de pressão arterial (PA). No dia seguinte, EKG, EMG e os registros da PA foram realizados durante 4 h. A HCI não produziu alterações significativas no número de episódios REM ($5,45 \pm 0,77$ vs. $5,70 \pm 1,10$) em um período de 2 h. Os animais HCI apresentaram aumento significativo da PA sistólica (137 ± 2 vs 131 ± 1 mmHg, PAS) e média (PAM) (114 ± 2 vs. 108 ± 1 mmHg), bem como da frequência cardíaca (FC) (391 ± 8 vs 364 ± 7 bpm) em comparação com CTL. Nenhuma alteração significativa foi observada em PAS, PAM, FC ou pressão diastólica durante o sono REM ou NREM. Entretanto, os animais HCI apresentaram valores mais elevados de PAS, PAM e FC durante a vigília em relação aos CTL. Esses achados indicam que a HCI por 3 dias não produz alterações significativas no padrão de sono e tampouco nos parâmetros cardiovasculares durante os estágios do sono.

Apoio Financeiro: FAPESP, CNPq e CAPES



Eduardo Alves Saramago

Mestrado

eduardosaramago@usp.br

Análise dos parâmetros autonômicos cardiovasculares e metabólicos em mulheres com a síndrome dos ovários policísticos – Efeito comparativo do exercício físico aeróbio contínuo e intermitente

Eduardo Alves Saramago; Stella Vieira Philbois; Tábata de Paula Facioli; Hugo Celso Dutra de Souza

Mulheres com a Síndrome dos Ovários Policísticos (SOP) apresentam alta prevalência de aumento da gordura corporal, o que predispõe essas mulheres ao risco elevado de desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Além disso, apresentam um conjunto de alterações hormonais, metabólicas e neurovegetativas que aumentam ainda mais esses riscos. Nesse contexto, é comum observar o aumento da tolerância à glicose, resistência à insulina e disfunção autonômica cardiovascular. O tratamento usual envolve um conjunto de fatores que englobam a prescrição farmacológica, controle alimentar e prática de exercícios físicos. De fato, embora o tratamento farmacológico e o controle alimentar sejam componentes importantes, a prática de exercícios físicos como tratamento tem despertado grande interesse. Nesse contexto, ultimamente tem sido preconizado à utilização de um modelo de treinamento intermitente, ou seja, com variações na intensidade do exercício aeróbio, e conseqüentemente, influenciando a demanda e a regulação energética do indivíduo. Entretanto, apesar dos avanços, ainda desconhecemos os efeitos dos diferentes modelos de treinamento físico sobre o controle autonômico cardiovascular, bem como a correlação desses efeitos com os níveis de androgênios e marcadores metabólicos. Portanto, nosso objetivo é investigar em mulheres com a SOP, os efeitos do treinamento físico aeróbio contínuo e intermitente sobre a hemodinâmica cardíaca, controle autonômico cardiovascular, fatores endócrinos e metabólicos, com ênfase nos androgênios, insulina e glicemia. Para tanto, mulheres controle (N=60) e com a SOP (N=60), entre 18 e 39 anos, serão submetidas ao treinamento físico aeróbio contínuo e intermitente de alta intensidade e terão avaliados os seguintes parâmetros antes e após os treinamentos: composição corporal, hemograma completo, valores hemodinâmicos, capacidade cardiorrespiratória, controle autonômico cardiovascular, glicemia, resistência à insulina e níveis androgênicos. Apoio Financeiro: CNPq



Fernanda Brognara

Doutorado Direto

fernanda.brognara@usp.br

Regulação autonômica da inflamação sistêmica em ratos não anestesiados

Fernanda Brognara; Jaci A. Castania; Alexandre H. Lopes; Daniel P. M. Dias; Rubens Fazan Jr.; Luis Ulloa; Alexandre Kanashiro; Helio C. Salgado

Introdução: A interação entre os sistemas nervoso e imune no controle da inflamação tem sido demonstrada há algum tempo. Entretanto, a influência da ativação parassimpática através estimulação do nervo depressor aórtico (NDA) e da ativação simpática por meio da oclusão bilateral das carótidas (OBC) na inflamação sistêmica, em ratos não anestesiados, ainda não foi estudada. Objetivo: investigar, individualmente, os papéis dos sistemas parassimpático e simpático na modulação da resposta imune sistêmica, em ratos não anestesiados. Métodos: os procedimentos foram aprovados pela Comissão de Ética em Pesquisa da FMRP–USP (nº161/2016). Protocolo 1: ratos Wistar foram anestesiados e instrumentados com cateteres de polietileno na artéria femoral e na cavidade abdominal. Na mesma cirurgia, o NDA foi isolado e posicionado sobre um par de eletrodos. No dia seguinte, o NDA foi estimulado (15Hz; 0,25ms; 0,5mA) 10 min antes, e 10 min depois da administração de LPS (5mg/kg, ip). Protocolo 2: sob anestesia, os animais receberam cateteres de polietileno na artéria femoral e na cavidade abdominal, além do implante de oclusores, bilateralmente, ao redor das carótidas comuns. No dia seguinte, foi realizada a OBC por 20s seguida pela administração de LPS (5mg/kg, ip). Após 90 min foram coletadas amostras de sangue e de tecidos. Resultados: a estimulação do NDA preveniu o aumento dos níveis hipotalâmicos de TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-10 causados pelo LPS. Entretanto, não alterou os níveis dessas citocinas no plasma, coração ou baço. Já a OBC atenuou os níveis de TNF- α e IL-1 β tanto no plasma quanto no baço, sem alterar os níveis de IL-6 e IL-10. Conclusões: em um modelo de endotoxemia induzido por LPS a ativação parassimpática por meio da estimulação do NDA só foi capaz de modular a resposta inflamatória central. Por outro lado, a ativação simpática promovida pela OBC atenuou a inflamação sistêmica. Esses dados sugerem novas vias do sistema nervoso autônomo atuando no controle da inflamação.

Apoio Financeiro: FAPESP e CNPq



Frederico Fazan

Iniciação Científica

frederico.fazan@usp.br

Efeito do treinamento físico prévio na lesão renal provocada pela isquemia e reperfusão renal em ratos

Frederico Sassoli Fazan¹; Heloisa DC Franscescato; Lucas Ferreira De Almeida; Natany Garcia Reis; Cleonice Giovanini Da Silva; Fernando Silva Ramalho; Terezila Machado Coimbra.

Introdução: Lesão renal aguda (LRA) é uma das manifestações de doença renal mais comumente encontradas na clínica. Diversos fatores podem provocar LRA incluindo agentes nefrotóxicos, sepse e isquemia e reperfusão (IR). Diversos estudos têm mostrado que IR pode levar à falência renal através de fatores inflamatórios, superprodução de espécies reativas de oxigênio (EROs) e comprometimento da função vascular endotelial. Diversos estudos evidenciam uma relação entre exercício físico com função vascular saudável associada ao balanço adequado de síntese e degradação das EROs. O objetivo do estudo é avaliar como os rins dos animais fisicamente condicionados respondem à lesão de isquemia e reperfusão. **Materiais e Métodos:** Ratos Wistar machos (n° 045/2016 - Comitê de Ética) foram divididos em quatro grupos: 1-Sedentário Sham; 2- Sedentário IR; 3-Treinado Sham; 4-Treinado IR. Os animais treinados foram submetidos a um protocolo de treinamento de intensidade moderada durante 9 semanas, 5 dias por semana. Após o período de treinamento os animais foram submetidos ao procedimento cirúrgico de oclusão bilateral das artérias renais durante 45 minutos. Após isso, os oclusores foram removidos e os animais se recuperaram por 48 horas. Posteriormente, amostras de urina e sangue foram coletadas para avaliação da função renal e os rins foram removidos para avaliação morfológica e imunohistoquímica. **Resultados:** Os animais treinados revelaram, após a lesão de IR, uma redução menor de função renal quando comparado ao grupo sedentário. Nos animais treinados, os níveis de creatinina plasmática foi de 2.03 ± 1.24 mg%, fração de excreção de sódio de $2.97 \pm 4.66\%$ e osmolalidade plasmática de 317.9 ± 15.5 mOsm/Kg H₂O, enquanto nos sedentários a creatinina plasmática foi de 6.89 ± 2.02 mg%; fração de excreção de sódio $29.3 \pm 19.6\%$ e osmolalidade plasmática de 367.8 ± 13.0 mOsm/Kg H₂O, $p < 0,05\%$. **Conclusão:** O treinamento físico prévio atenuou a diminuição de função renal induzida pela IR renal.

Apoio Financeiro: CNPq



Gabriel de Andrade Ishioka

Iniciação Científica

gabriel.ishioka@hotmail.com

Controle neuroendócrino da homeostase hidroeletrólítica em animais obesos

Gabriel de Andrade Ishioka; Susana Quirós Cognuck; Ricardo Coletti; Lucila LeicoKagora Elias; José Antunes Rodrigues

A obesidade, apesar de muito estudada no que diz respeito a doenças cardiovasculares e distúrbios metabólicos, pouco se sabe sobre como ela participaria no controle do equilíbrio hidromineral. Alguns estudos sugerem que existe uma modulação do excesso de adiposidade sobre o balanço hidrossalino. Este estudo tem como objetivo esclarecer os mecanismos neuroendócrinos envolvidos no controle do equilíbrio hidromineral em animais obesos. Foram usados ratos Wistar, machos de 100 g que estiveram sob dieta hiperlipídica ou normal com água ad libitum por 9 semanas para desenvolverem obesidade, segundo a dieta. Após isso, foram mantidos em gaiola metabólica por três dias, onde se determinou a ingestão alimentar e hídrica, apetite ao sódio e volume urinário. Após privação de fluidos de 48 horas, foram reapresentados água na primeira hora e solução salina (1,8%) na segunda, determinando-se a ingestão de ambos fluidos. Uma semana após, esses animais foram privados por 48 horas e logo eutanasiados para coleta de sangue e órgãos. Durante o período basal os animais obesos beberam menos água e ingeriram menos alimento do que os animais não obesos. Os animais obesos que foram submetidos a desidratação beberam menos água do que os ratos privados não obesos. Os ratos obesos apresentaram maior taxa de filtração glomerular do que os controles em ambas situações (desidratado e hidratado). Além disso, os ratos obesos desidratados possuem menor hematócrito, menor osmolalidade, menor potássio plasmático, uma tendência a maior natremia e apresentam redução da massa do tecido adiposo retroperitoneal em relação aos animais obesos hidratados. A obesidade altera a homeostase hidromineral e existe a possibilidade de que os animais obesos usem a gordura como reserva de água, assunto que deveremos estudar. Número do Protocolo do Comitê de Ética: Protocolo 168/2016

Apoio Financeiro: FAPESP # 2013/09799-1; Bolsa IC FAPESP # 2016/20132-7.



Gabriela Silva Borges

Mestrado

gabrielaborges@usp.br

Efeito do Citral no choque endotoxêmico

Borges, G. S.; Emílio-Silva, M.T.; Branco, L.G.S.

A sepse é caracterizada por uma produção excessiva de mediadores inflamatórios, acompanhada de redução da resistência vascular periférica, taquicardia e hipotensão. Ela é responsável por 25% da ocupação de leitos em UTIs no Brasil e a principal causa de morte nessas unidades. Portanto, há a necessidade de se desenvolver estratégias de tratamento mais eficazes para reduzir o número de óbitos. Experimentalmente, a administração de Lipopolissacarídeo (LPS) em doses relativamente elevadas induz choque endotoxêmico, sendo um modelo de estudo da sepse. O Citral é um composto flavorizante e aromatizante cuja adição direta a alimentos é permitida para o consumo humano de acordo com a U.S Food and Drug Administration, amplamente utilizado pela indústria alimentícia e de cosméticos e tem demonstrado efeitos benéficos durante a inflamação. Nossa hipótese é que o citral inibe a hipotermia e a febre, além de atenuar hipotensão provocada pelo LPS. Para estudar os possíveis mecanismos envolvidos no provável efeito anti-inflamatório do citral, serão feitas dosagens de mediadores plasmáticos (IL-1 β , IL-6, TNF- α , PGE2 e PGD2), além de dosagens (PGE2 e PGD2) na região anteroventral da área pré-óptica do hipotálamo (AVPO). Ratos Wistar de 290-350g serão anestesiados e submetidos à cirurgia de implante de um datalogger na cavidade peritoneal para registro da temperatura corporal e à cirurgia de canulação da artéria e veia femoral para registro da pressão arterial e administração de LPS (1,5 mg/kg) ou salina apirogênica 0,9% para os grupos endotoxemia e controle, respectivamente. Durante o registro, realizado 24h após os procedimentos cirúrgicos, será administrado Citral (100 mg/kg) ou Tween 80 a 1% (veículo) por via oral aos animais de ambos os grupos. Após a caracterização das respostas cardiovasculares e da temperatura corporal interna frente à administração de LPS, serão coletados o plasma e a AVPO para as dosagens correspondentes, realizadas com kit de ELISA. CEUA #2015.1 1214 58-2.

Apoio Financeiro: FAPESP; CAPES



Gabrielle Almeida Alves

Mestrado

gabrielle.aa@usp.br

Ação do barorreflexo sobre as respostas inflamatórias induzidas pelo lipopolissacarídeo (LPS) bacteriano em ratos não anestesiados

Gabrielle Almeida Alves; Helio Cesar Salgado

O sistema nervoso autônomo modula diversas funções do organismo; dentre estas, o sistema imune. Estudos sugerem que a estimulação vagal reduz a resposta inflamatória no choque séptico induzido, por exemplo, pelo lipopolissacarídeo (LPS) bacteriano. O modelo inflamatório induzido pelo LPS apresenta aumento das concentrações plasmáticas de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1 β e IL-6). Dessa forma, o objetivo desse projeto é estudar os efeitos da modulação barorreflexa frente a uma resposta inflamatória induzida pelo LPS. O protocolo experimental consistirá na realização da coarctação da aorta abdominal em animais acordados, acima das artérias renais, a fim de promover elevação súbita da pressão arterial sistêmica, com consequente ativação do reflexo barorreceptor. A ativação do barorreflexo promoverá ativação parassimpática combinada com a inibição simpática. Os animais serão cateterizados na artéria e veia femorais para registro da pressão arterial e coleta de sangue, respectivamente. O sangue coletado será utilizado para determinação das concentrações de citocinas pró e anti-inflamatórias, com a utilização do método ELISA. Em síntese, pretende-se examinar, em ratos acordados, o papel da ativação vagal e da inibição simpática sob as respostas inflamatórias induzidas pelo LPS.

Apoio Financeiro: CNPq



Heitor Bernardes Pereira Delfino

Mestrado

heitorbernardes@usp.br

A inervação simpática ativa a via da gliconeogênese por meio da sinalização de CREB no fígado de roedores expostos a baixas temperaturas

Delfino, Heitor Bernardes Pereira; Garófalo, Maria Antonieta Rissato; Zanon, Neusa Maria; Kettelhut, Isis Carmo; Navegantes, Luiz Carlos Carvalho

Embora esteja bem estabelecido que em mamíferos expostos a condições de estresse ocorra aumento da glicogenólise hepática e da gliconeogênese para fornecer combustível para os tecidos dependentes da glicose, os mecanismos moleculares e vias de sinalização envolvidos na regulação neural da gliconeogênese hepática continuam mal compreendidos. Para analisar o papel da inervação simpática na produção hepática de glicose, investigamos o efeito da desnervação simpática farmacológica (6-OH-Dopamina, 100 mg.kg-1dia-1) em camundongos na expressão gênica e atividade de enzimas-chave da gliconeogênese e na sinalização de CREB durante a exposição aguda ao frio (4°C). A atividade transcricional de CREB in vivo foi avaliada por um sistema de imagem (IVIS) em animais transgênicos que expressam o repórter da CRE-luciferase. A Norepinefrina foi determinada por HPLC. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética Animal-FMRP/USP (Protocolo nº 183/2015). A exposição ao frio, durante 3 e 6h, em camundongos sham induziu hiperglicemia, depleção do conteúdo de glicogênio hepático, e ativação da gliconeogênese, estimada pela alta expressão gênica e atividade das enzimas glicose-6-fosfatase (G6Pase) e a PEPCK. A simpatectomia não afetou a glicogenólise induzida pelo frio, mas aboliu o aumento do conteúdo hepático de norepinefrina, a atividade transcricional de CREB, bem como induziu hipoglicemia associada à diminuição da expressão gênica e atividade da G6Pase e da PEPCK. Resultados semelhantes foram observados em ratos submetidos à lesão dos nervos hepáticos com fenol e expostos ao frio durante 24h. Tanto a adrenalectomia como a adrenodemedulação (remoção da medula da adrenal) não alteraram o efeito estimulatório do frio sobre a atividade e a expressão gênica das enzimas gliconeogênicas nos camundongos. Estes resultados sugerem que durante o estresse induzido pelo frio, a ativação da inervação simpática do fígado estimula o programa gliconeogênico através das vias de sinalização de CREB. Apoio Financeiro: FAPESP e CNPq



Isabelle Rodrigues dos Santos

Mestrado

isabellerdsantos@usp.br

Efeito da terapia hormonal na atividade dos neurônios noradrenérgicos do Locus Coeruleus em modelo animal de perimenopausa

Rodrigues-Santos I; Anselmo-Franci J.

Introdução: A perimenopausa é caracterizada por alterações neuroendócrinas, metabólicas e comportamentais, resultado da diminuição da atividade ovariana. Neste período as mulheres são mais propensas a manifestar transtornos de humor, como respostas exacerbadas a estímulos estressantes. O composto químico VCD (diepóxido de 4-vinilciclohexeno) induz a depleção progressiva dos folículos ovarianos e permite estudar em ratas o que ocorre nas mulheres na perimenopausa. **Objetivo:** Investigar neste modelo animal o efeito de terapias hormonais com estradiol ou progesterona associada ou não ao estradiol sobre a intensidade de resposta neuronal ao estresse no Locus Coeruleus (LC). **Métodos:** Ratas com 28 dias de idade receberam diariamente uma injeção subcutânea de veículo (óleo) ou VCD por 15 dias consecutivos. Entre 56º ao 66º dia após o início do tratamento com VCD, foram implantados, por via subcutânea, pellets contendo placebo ou estradiol ou progesterona ou uma combinação de estradiol e progesterona, por 20 dias. Aos 75-85 dias, na fase do diestro, as ratas foram expostas por 30 minutos ao estresse agudo por contenção. Após 01h30min do início do estresse foram anestesiadas e perfundidas para obtenção do tecido cerebral e posterior imunistoquímica para c-FOS/TH no LC. **Resultados:** Não observamos diferença no número de neurônios noradrenérgicos ativados no LC entre ratas em periropausa e controles estressadas. Interessantemente ratas que receberam hormônio (s) tiveram resposta reduzida nesta área em relação aos grupos anteriores e iguais às ratas VCD e óleo que não passaram pelo estresse de contenção (controles do estresse). **Conclusão:** A terapia hormonal é efetiva em atenuar a resposta ao estresse no modelo animal de perimenopausa. (CEUA 2016.1.725.58.4)

Apoio Financeiro: CNPq



Júnia Lara de Deus

Doutorado

junia_lara@usp.br

Um único episódio de alta intensidade sonora inibe a potenciação de longo prazo no hipocampo de ratos

Júnia Lara de Deus; Alexandra Olimpio Siqueira Cunha; José Antunes Rodrigues; Lucila Leico Elias; Sebastião Almeida; Ricardo Xavier Leão

A exposição a sons de alta intensidade tem se tornado cada vez mais comum, tendo como consequências a surdez e zumbido, além de problemas emocionais e cognitivos. Altas intensidades sonoras ativam o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, resultando na secreção de corticosterona, que compromete a plasticidade sináptica do hipocampo. Resultados anteriores do nosso laboratório mostraram que a exposição de longo prazo a episódios curtos de som de alta intensidade inibe a potenciação de longo prazo do hipocampo (LTP) sem afetar a aprendizagem espacial e a memória. Nosso objetivo foi estudar o impacto da exposição sonora de curto prazo sobre a plasticidade e função sináptica do hipocampo. Ratos Wistar machos de 60 a 70 dias foram submetidos a um único estímulo sonoro de 110 ou 80 dB durante 1 minuto. Após 2, 24 e 48 horas do estímulo, os ratos foram anestesiados, sacrificados, seus cérebros removidos e fatias de 400 μm do hipocampo dorsal foram preparadas usando um vibrátomo. Para indução da LTP, 3 trens de alta frequência a 100 Hz (1 segundo de duração cada) foram dados na Schaffer-CA1 e na via perforante e em seguida, os potenciais excitatórios pós-sinápticos de campo foram registrados no estrato radiado da região CA1 e no giro dentado. A dosagem da corticosterona bem como o labirinto aquático de Morris foram realizados nos grupos controle, sham, 80 dB e 110 dB. Os resultados mostram que um único minuto de som de 110 dB inibe a LTP na Schaffer-CA1 por 24 horas. Este efeito não ocorre com uma exposição de som a 80 dB, não está relacionado com a secreção de corticosterona e também foi observado no giro dentado. Apesar do déficit na LTP, esses animais apresentaram aprendizagem e memória espaciais normais. Concluímos que um único episódio de som de alta intensidade prejudica a LTP do hipocampo, sem afetar a memória e o aprendizado. Nossos resultados mostram que o hipocampo é responsivo a sons altos que podem ter um impacto em sua função ainda não identificado.

Apoio Financeiro: CNPQ, FAPESP E CAPES



Karla Cristina Pereira Mendonça

Mestrado

karlamendonca@usp.br

Avaliação dos efeitos de um composto Y na hipertrofia cardíaca induzida pelo isoproterenol

Karla Cristina Pereira Mendonça; Silvia Quintão Savergnini; Steyner de França Côrtes; Virginia Soares Lemos

Introdução: A hipertrofia cardíaca é um importante marcador da morbi/mortalidade em doenças cardiovasculares. O composto Y é um polifenol de baixo peso molecular, que despertou interesse por seu potencial como agente vasodilatador e hipotensor. Entretanto, os efeitos do tratamento com composto Y em patologias cardíacas ainda não haviam sido investigados. Objetivos: Avaliar o efeito do tratamento do composto Y na hipertrofia cardíaca induzida pelo isoproterenol em camundongos. Metodologia: Camundongos C57BL/6J (15-18 semanas de idade) receberam injeção subcutânea de isoproterenol (20mg/Kg) ou salina durante 5 dias. O composto Y foi administrado via intraperitoneal, nas doses de 1mg/Kg/dia ou 5mg/Kg/dia durante o mesmo período. Após o tratamento, a função cardíaca foi avaliada através da técnica de Langendorff e o peso do coração foi corrigido pelo comprimento da tíbia para avaliação da hipertrofia cardíaca. Resultados: O isoproterenol induziu um aumento da massa muscular cardíaca quando comparado ao grupo controle. O tratamento com composto Y a 5mg/kg/dia reduziu significativamente a hipertrofia cardíaca induzida pelo isoproterenol. Além disso, o composto nas duas doses avaliadas reduziu a tensão sistólica e as derivadas da tensão (+dT/dt e -dT/dt) aumentadas pela estimulação adrenérgica. Nenhuma alteração significativa foi observada na tensão diastólica, pressão coronariana e frequência cardíaca. Conclusão: O tratamento com composto Y melhorou a função cardíaca e reduziu a hipertrofia cardíaca induzida pelo isoproterenol em camundongos. Desta forma, o composto apresenta um potencial terapêutico em patologias cardiovasculares, como na hipertrofia cardíaca. Além disso, neste estudo foram padronizadas tanto a administração in vivo deste composto quanto sua dose cardioprotetora. Novos estudos devem ser realizados para elucidar os mecanismos envolvidos nas propriedades cardioprotetoras do xantidrol. O número do projeto: 0076/12 aprovado junto ao Comitê de Ética da UFMG.

Apoio Financeiro: CNPQ



Leonardo Domingues de Araujo

Doutorado

laraujobio@gmail.com

Inversão do padrão diário de alimentação resulta em adaptações metabólicas em ratos Wistar

De Araujo, Leonardo Domingues; Bueno, Ana Carolina; Martins, Clarissa; Moreira, Ayrton; Castro, Margaret.

O consumo inapropriado de calorias durante a fase de sono está associado ao desenvolvimento de alterações metabólicas. OBJETIVO: avaliar o efeito da alimentação diurna sobre a secreção de hormônios sensíveis a nutrientes e a expressão de neuropeptídeos. MÉTODOS: Ratos machos Wistar foram divididos em dois grupos: Controle (GC, ad libitum) e Inversão do padrão alimentar (GI, 12h de acesso alimentar no período de claro). Após 21 dias, os ratos foram decapitados em ZT3 (9h), ZT11 (17h) ou ZT17 (23h). O peso corporal e a ingestão alimentar foram avaliados e a leptina, insulina e adiponectina séricas foram dosadas (imunoensaios). As expressões de mRNA de *Cart*, *Pomc*, *Npy* e *Agrp* foram avaliadas no ARC (RT-qPCR). $P < 0.05$ Não houve diferença no peso corporal ou na ingestão alimentar entre GC e GI no fim do experimento. Não houve diferença nos níveis de insulina ao longo do dia em ambos os grupos, mas o GI apresentou níveis menores em ZT11 e ZT17. A adiponectina também não apresentou padrão diurno em ambos os grupos, mas seus níveis foram maiores no GI em ZT17. Não foi observado padrão diurno e diferença entre os grupos quanto aos níveis de leptina. No ARC, maior expressão de *Pomc* foi observada em ZT3 no GC, enquanto no GI ocorreu em ZT17. O pico de expressão de *Cart* foi observado em ZT3 no GC, mas o GI perdeu o padrão diurno. O padrão de expressão de *Agrp* também foi invertido, com maior expressão em ZT3 no GC, enquanto no GI a expressão de *Agrp* foi maior em ZT17. A expressão de *Npy* não oscilou no GC, mas o GI apresentou nadir em ZT3. Ratos alimentados no período de claro mostraram inversão do padrão de expressão de genes orexigênicos (*Agrp* e *Npy*). Nesses ratos também foi observado inversão (*Pomc*) ou perda (*Cart*) do padrão de expressão de genes anorexigênicos. No entanto, mesmo na ausência do aumento de peso e ingestão alimentar, maiores níveis de adiponectina e níveis mais baixos de insulina, sugerem uma adaptação metabólica nesses ratos.

Apoio Financeiro: Capes e FAPESP



Lívea Dornela Godoy

Doutorado

godoylivea@gmail.com

Caracterização dos comportamentos do tipo depressivo e aspectos morfológicos associados ao Kindling audiogênico em Ratos WAR

Lívea Dornela Godoy, Eduardo Henrique de Lima Umeoka, Deidiane Elisa Ribeiro, Victor Rodrigues Santos, José Antunes Rodrigues, Samia Regiane Lourenço Joca, Norberto Garcia-Cairasco

Cada vez mais dados sugerem que a epilepsia, depressão e outros possíveis distúrbios psiquiátricos como a ansiedade compartilham mecanismos patogênicos. Nesse sentido, foram encontradas anormalidades na cepa WAR que a tornam um modelo interessante para o estudo do estresse, a Epilepsia e as comorbidades neuropsiquiátricas envolvidas. Wistar Audiogenic Rat (WAR) é uma cepa selecionada a partir do acasalamento de ratos Wistar que apresentam crises convulsivas quando expostos a um estímulo acústico. Com base nisso, o presente estudo tem como objetivo avaliar na cepa WAR os comportamentos de tipo depressivo, os ratos foram submetidos a 20 estímulos acústicos duas vezes ao dia (KAu) (Wistar-KAu, WAR-KAu), enquanto os respectivos grupos controle permaneceram sem estímulo (Wistar, WAR). Posteriormente, os grupos foram submetidos aos TCS e de TNF. Não houve diferença entre o grupo WAR e Wistar no TCS, porém o grupo WAR-KAu grupo apresentou um aumento no consumo de sacarose em relação aos grupos controles. No TNF ambos os grupos WAR e WAR-KAu apresentaram redução significativa de escalada na sessão teste quando comparado a Wistar.

Os dados preliminares indicam que, embora a cepa WAR não apresente diferenças comportamentais maternas em condições basais, pode apresentar alterações sob eventos estressantes. Também, com base nos achados, a seleção endogâmica para susceptibilidade de crises convulsivas pode estar relacionada à alterações no sistema de recompensa e nas estratégias comportamentais em situações estressantes como o Teste de Nado Forçado.

Apoio Financeiro: FAPESP/ CAPES-PROEX



Lucas Ferreira de Almeida

Doutorado

lucas_fedameda@hotmail.com

Efeito do calcitriol nas alterações renais provocadas em ratos pela exposição ao Losartan durante o período de lactação

Lucas Ferreira de Almeida, Heloísa Della Coletta Franscscato, Cleonice Giovanini Alves da Silva, Roberto Costa Silva, Terezila Machado Coimbra

Ratos expostos a antagonistas da angiotensina II (AngII) durante a lactação apresentam distúrbios no desenvolvimento renal. O calcitriol tem efeitos importantes na diferenciação celular, na inflamação e na regulação do gene renina. A falta de diferenciação tubular em ratos tratados com losartan pode afetar a captação e ativação da vitamina D. Este estudo avaliou os distúrbios do desenvolvimento renal em ratos expostos ao losartan (antagonista do receptor AngII tipo 1) durante a lactação, bem como o efeito da administração de calcitriol após este período, em que foram estabelecidas perturbações renais. Os animais expostos ao losartan apresentaram albuminúria, aumento da pressão arterial sistólica, da fração de excreção de sódio e potássio e diminuição da taxa de filtração glomerular em relação aos controles. Estes animais também apresentaram redução da área glomerular e aumento da área intersticial relativa do córtex renal, com aumento da expressão de fibronectina, alfa actina, vimentina e p-JNK; E um aumento do número de macrófagos, p-p38, PCNA e diminuição da expressão de cubilina. Também se observou aumento da excreção urinária de MCP-1 e TGF- β . Todas essas alterações foram menos intensas no grupo losartan + calcitriol. Os animais tratados com calcitriol apresentaram melhora na diferenciação celular na função e estrutura renal. Este efeito foi associado com a redução da diferenciação celular, proliferação e inflamação.

Apoio Financeiro: CNPq



Ludmila Lima Silveira

Doutorado Direto

ludmilalsilveira@hotmail.com

Envolvimento da inflamação sobre a plasticidade sináptica no Núcleo do Trato Solitário em resposta a hipóxia mantida

Ludmila Lima-Silveira, Daniela Accorsi-Mendonça, Leni G. H. Bonagamba e Benedito H. Machado

A hipóxia mantida (HM) facilita a transmissão sináptica excitatória no Núcleo do Trato Solitário (NTS) e também induz processo inflamatório central e periférico. Nesse estudo investigamos os efeitos do tratamento com o anti-inflamatório Minociclina sobre as correntes sinápticas excitatórias evocadas pelo estímulo do trato solitário (TS-eEPSCs) em neurônios do NTS. Para isso, foram utilizados Ratos Wistar (100-130g) divididos em 4 grupos: 1) controle ($FiO_2 = 20,8\%$) tratados com veículo (solução salina + água destilada, ip), 2) controle tratado com Minociclina (30 mg / kg, ip), 3) HM ($FiO_2 10\%$) tratados com veículo, 4) HM tratados com Minociclina, os protocolos experimentais foram aprovados pelo comitê de ética institucional (094/2013 e 070/2007). Os ratos foram tratados com a Minociclina ou veículo por 3 dias e então submetidos ao protocolo de HM ou controle por 24h. Ao final desse período os animais foram decapitados e fatias do tronco cerebral foram obtidas para os registros eletrofisiológicos do NTS utilizando a técnica de “WholeCell Patch-Clamp”. Os resultados mostraram alterações significativas na frequência das TS-eEPSCs nos neurônios de ratos tratados com veículo submetidos a HM (-396 ± 64 pA, n=9) quando comparados com seu grupo controle (-199 ± 26 pA, n=9; $p < 0,05$). Esse aumento não foi observado em neurônios de ratos HM tratados com Minociclina (-204 ± 53 pA, n=10) comparado com seu grupo controle [-129 ± 29 pA, n=7), ANOVA two-way seguida pelo teste de Bonferroni]. Os resultados indicam que o processo inflamatório induzido pela HM participa dos mecanismos que facilitam a transmissão sináptica excitatória nos neurônios NTS.

Apoio Financeiro: CAPES, CNPQ, FAPESP



Mateus Ramos Amorim

Doutorado

amorimmr@hotmail.com

A modulação da atividade simpática em ratos submetidos à desnervação sino-aórtica está associada com alterações no padrão respiratório

Mateus R. Amorim; George M. P. R. Souza e Benedito H. Machado

Alguns dias após a desnervação sino-aórtica (DSA) seriam esperados aumentos significativos da atividade simpática e da pressão arterial (PA). No entanto, os ratos DSA apresentam níveis normais de atividade simpática e PA. Considerando que os neurônios respiratórios modulam a atividade dos neurônios pré-simpáticos, a nossa hipótese é que ocorrem alterações na rede respiratória neural após a DSA as quais contribuem para a manutenção da atividade simpática em níveis normais. Ratos Wistar jovens foram submetidos à cirurgia DSA ou Sham e 3 dias após realizamos o registro das atividades dos nervos autonômicos e respiratórios, bem como dos neurônios inspiratórios e pós-inspiratórios presentes na superfície ventral e lateral do bulbo, utilizando a preparação coração-tronco cerebral isolados (CEUA nº 093/2013). O tempo de inspiração foi significativamente maior após a DSA, o qual não foi dependente dos corpúsculos carotídeos ou dos aferentes vagais. Observamos um aumento significativo da atividade do nervo vago cervical durante a inspiração e uma redução no seu componente expiratório após a DSA. Nossos resultados mostraram um aumento do tempo de dilatação das vias aéreas superiores durante a inspiração e um comprometimento do fechamento da glote durante a pós-inspiração nos ratos DSA. Nenhuma alteração significativa foi observada na atividade simpática nas diferentes fases da respiração nos ratos DSA. No entanto, os ratos DSA apresentaram uma redução significativa na amplitude das ondas de Traube-Hering. A frequência média de disparo dos neurônios Ramp-I, Pre-I/I, Early-I, Late-I e Post-I não foi diferente entre os grupos DSA e Sham. Os resultados indicam que ratos DSA apresentam alterações no padrão respiratório, as quais não foram associadas com aumentos significativos da atividade simpática ou com alterações na frequência de disparo basal dos neurônios inspiratórios e pós-inspiratórios.

Apoio Financeiro: FAPESP, CNPq e CAPES



Natalia Lautherbach Ennes da Silva

Doutorado

nutriennes@yahoo.com.br

Urocortina 2 reduz a proteólise total, promove hipertrofia e melhora a função muscular através de vias de sinalização intracelulares envolvendo AMPc e proteínas quinases PKA, Akt e ERK1/2

Natalia Lautherbach Ennes Da Silva¹; Dawit Albieiro Pinheiro Gonçalves¹; Sílvia De Paula-Gomes²; Wilian De Assis Silveira¹; Neusa Maria Zanon¹; Marcelo Gomes Pereira³; Elen Haruka Miyabara³; Luiz Carlos Carvalho Navegantes¹; Isis Do Carmo Kettelhut⁴.

Introdução: O tratamento sistêmico com urocortina 2 (Ucn2) promove efeitos anti-atróficos e hipertróficos na musculatura esquelética de roedores por mecanismos intracelulares desconhecidos. **Objetivo:** Investigar o papel da Ucn2 nas vias de sinalização envolvidas no controle do metabolismo de proteínas em músculo esquelético. **Métodos:** Ratos Wistar (80g) e camundongos C57Bl6 (8 sem) foram sacrificados (deslocamento cervical) e os músculos EDL e soleus removidos e incubados com Ucn2 para mensurar a degradação proteica através da medida de tirosina liberada no meio. Músculos tibialis anterior de camundongos foram eletroporados in vivo com Ucn2 (14 dias) e, após, processados para análise da fosforilação de componentes das cascatas de sinalização do AMPc e da insulina por Western blot. Camundongos foram anestesiados e tiveram o nervo isquiático e o tendão do tibialis conectados a um eletrodo e a um transdutor de força, respectivamente, para análise da função muscular. **Resultados:** A Ucn2 in vitro reduziu a liberação de tirosina em músculos EDL de ratos normais. A hipertrofia induzida pela superexpressão da Ucn2 in vivo foi atenuada após o bloqueio de Akt e ERK1/2, bem como acompanhada por um aumento nos níveis de fosforilação de S6 sugerindo incremento da síntese proteica. Além disso, a redução na perda de força muscular tetânica e o aumento na resistência à fadiga promovidos pela superexpressão da Ucn2 in vivo foram abolidos após inibição de ERK1/2. Além do aumento na fosforilação de substratos da PKA, Akt e Foxo1,3, a Ucn2 in vivo também aumentou o conteúdo proteico de Epac. **Conclusão:** Os resultados sugerem que o efeito antiproteolítico da Ucn2 in vitro parece ser mediado pelo AMPc e que a hipertrofia induzida pela Ucn2 in vivo parece ser mediada pela via de sinalização da insulina. No entanto, a melhora da função muscular parece envolver apenas ERK1/2. Os resultados também sugerem um possível cross-talk entre as vias PKA/CREB e PI3K/Akt, possivelmente mediado pela Epac.

Apoio Financeiro: CAPES, FAPESP, CNPq



Natany Garcia Reis

Mestrado

natany_garcia@hotmail.com

Efeito da vitamina D na lesão renal provocada por rabdomiólise em ratos

Reis, N.G; Almeida, L.F; Francescato H.D.C; Silva, C.G.A; Costa, R.S; Coimbra, T.M

A rabdomiólise é uma causa importante de lesão renal aguda e decorre da lise das células musculares esqueléticas, com liberação do conteúdo intracelular. Estudos mostram a participação da Vit. D no controle da inflamação. Este estudo avaliou o efeito do tratamento com calcitriol (1,25-dihidroxitamina D3) na evolução das alterações de estrutura, função e inflamação renal provocadas pelo glicerol. Ratos Wistar Hannover machos foram tratados com calcitriol (24 ng/dia,s.c.) ou veículo (veíc.) (salina 0,9%) por 7 dias, sendo que no 3º dia foram injetados com glicerol (glic.) (50%; 8ml/kg,i.m.) ou salina (sal.) (8ml/kg,i.m). Os animais foram divididos em: CTRL: receberam o veíc. e injeção (inj.) de sal.; CTRL+VTD: receberam calcitriol e inj. de sal.; GLI: receberam o veíc. e inj. de glic. e GLI+VTD: receberam calcitriol e inj. de glic.. O grupo GLI apresentou redução da TFG (0,11±0,02 ml/min/100g) e aumento da FENa+ (3,71±0,5%) maiores comparado aos animais GLI+VTD (0,24±0,04ml/min/100g e 1,9±0,6%,respectivamente (resp.)). A análise histológica mostrou aumento da área intersticial relativa (19,9±0,7%) e número (nº) de túbulos em necrose (10,8±1,3) nos animais GLI comparado aos GLI+VTD (12,6±0,7 e 4,9±1,6,resp.). O grupo GLI apresentou maior expressão de vimentina (16,8±2,1%), e do nº de células PCNA+ (143,8±13,6) comparado ao GLI+VTD (6,6±1,0% e 48,7±6,8,resp.). O processo inflamatório foi também menos intenso no grupo GLI+VTD avaliado pelo nº de macrófagos (20,8±1,9) e pelos níveis de IL1-β (3,5±1,1 pg/mgProt) comparado ao GLI (31,4±4,4 e 10,8±1,1 pg/mgProt,resp.). O grupo GLI apresentou ainda maior excreção urinária de VDBP (11021,7±112,18 ng/mgCreat) e menor nº de túbulos marcados com cubulina (3,88±0,3) comparado ao grupo GLI+VTD (2642,3±563,0 ng/mgCreat e 8,71±0,6,resp.). Os resultados mostram que a Vit. D reduziu as alterações de função e estrutura renal provocadas pelo glicerol, o que estava associado com a redução do processo inflamatório renal. (CEUA 186/2016)

Apoio Financeiro: CNPq



Priscila Matter Borges

Mestrado

priscila.borges@usp.br

Influência da inibição da degradação dos endocanabinóides na potenciação a longo prazo hipocampal

Borges, P.M.; Cunha, A.O.S.; Deus, J.L.; Leão, R.M.

Os endocanabinóides (ECs) são neuromoduladores lipídicos que tem ação retrógrada. Os principais ECs são: anandamida (AEA) e 2-araquidonoilglicerol (2-AG). 2-AG é hidrolisado pela monoacilglicerol lipase (MAGL). Já a AEA é degradada pela a hidrolase da amida do ácido graxo (FAAH). O hipocampo é uma região que expressa modulação da neurotransmissão por ECs pelo receptor CB1. Curiosamente a AEA é um agonista tanto de receptores CB1 quanto de receptores TRPV1. A potenciação a longo prazo (LTP) é um modo de plasticidade sináptica relacionada a processos de memória e aprendizado. Sabemos que a ativação dos receptores CB1 potencia a LTP, e que a deleção genética da MAGL potencia a LTP hipocampal. Já a anandamida inibe a LTP e o inibidor da sua degradação tem também esse efeito. Já a ativação dos receptores TRPV1 potencia a LTP. Qual seria o mecanismo de ação da AEA em inibir a LTP? Existem evidências que a AEA inibe a produção de 2-AG via ativação dos receptores TRPV1. Para testar essa hipótese estamos testando inibidores farmacológicos da degradação hidrolítica do 2-AG e da AEA e antagonistas dos receptores TRPV1. O objetivo é entender como esses dois ECs interagem na modulação da LTP. Camundongos machos BlackC57 (35 a 49 dias) são utilizados para obtenção de fatias do hipocampo para registro extracelular. LTP é induzida pelo protocolo de theta-burst. Estamos estudando os grupos: controle, com o inibidor da MAGL, JZL184, com o inibidor da FAAH, URB957 e com as respectivas drogas na presença do antagonista dos receptores TRPV1 capsazepina. Os resultados encontrados até o momento nos mostram que não há diferença entre LTP entre os grupos controle e JZL184. O antagonista URB957 ao contrário do previamente reportado, não inibiu a LTP. Até agora nossos resultados não estão de acordo com os efeitos reportados da inibição da degradação 2-AG ou AEA na LTP hipocampal. Aprovação do CEUA-FMRP-nº008/2017.

Apoio Financeiro: CNPq/Fapesp/Caps



Procópio Cleber Gama de Barcellos Filho

Doutorado

procopiofilho@usp.br

Efeitos do estrógeno e corticosterona na atividade do eixo HPA de fêmeas: comportamento e comprimento dos telômeros

Procópio Cleber Gama de Barcellos Filho; Celso Rodrigues Franci

Telômeros, estruturas presentes no final dos cromossomos, têm como função estabilizar as terminações dos cromossomos. O encurtamento dos telômeros é um processo que ocorre naturalmente com o envelhecimento, mas outros fatores podem acelerar esse processo, como o estresse crônico. O objetivo desse trabalho foi verificar se a exposição crônica de glicocorticoides alteram o comprimento dos telômeros de áreas cerebrais envolvidas no controle do eixo HPA e o comportamento de ratas, e se o estrógeno pode modular essas alterações. Ratas Wistar ovariectomizadas e tratadas diariamente com cipionato de estradiol, nas doses de 50 e 100 ug/kg foram subdivididas em grupos tratados com corticosterona ou veículo por 28 dias. No 27º dia, os animais foram submetidos ao teste de labirinto em cruz elevado. No dia subsequente ao término dos tratamentos, com corticosterona e estrógeno, os animais foram sacrificados por decapitação e amostras de sangue e o cérebro foi coletado. Tratamento com estrógeno aumentou a secreção de corticosterona ($326,03 \pm 32,99$ / $361,20 \pm 34,87$ ng/mL) e progesterona ($5,53 \pm 0,85$ / $5,47 \pm 1,26$ ng/mL), comparando com seu respectivo grupo controle, tratados com óleo e salina ($134,70 \pm 6,12$ ng/mL / $1,0 \pm 0,15$ ng/mL). A combinação de tratamento com estrógeno e corticosterona não alterou as concentrações plasmáticas de corticosterona e progesterona. O número de entradas ($5,25 \pm 0,80$ / $5,18 \pm 0,66$) e tempo gasto no braço aberto ($40,34 \pm 7,32$ / $48,26 \pm 7,81$ s), do labirinto em cruz elevado, foi maior nos animais tratados com estrógeno, quando comparados aos do grupo tratado com óleo ($2,1 \pm 0,31$ / $17,48 \pm 2,73$ s). O comprimento dos telômeros no núcleo paraventricular não foi alterado pelo estrógeno e corticosterona. Estrógeno modulou a atividade do eixo HPA e a corticosterona influencia nesta modulação. A concentração plasmática de glicocorticoides manteve-se próxima do grupo controle no tratamento simultâneo com estrógeno e corticosterona.

Apoio Financeiro: CAPES, CNPq e FAPESP.



Susana Quirós Cognuck

Doutorado

susana.cognuck@usp.br

Efeito do envelhecimento e sexo na resposta hormonal induzida pela privação de água

Susana Quirós Cognuck; Wagner Luis Reis; Marcia Santos da Silva; Lucas Kniess Debarba; Ricardo Coletti; Lucila Leico Kagohara Elias; José Antunes-Rodrigues

As pessoas idosas são mais susceptíveis a sofrer desordenes acontecido pelas mudanças na osmolalidade plasmática e volume corporal. Nosso objetivo foi determinar o efeito da privação hídrica (PH) na concentração do plasma de hormônios envolvidos na regulação hidromineral em ratos idosos. Ratos Wistar machos e fêmeas de 3 (adultos) e 18 meses (idosos) foram submetidos ou não a PH de 48 horas, sendo as concentrações do AVP, OT, ANP, ANGII, CORT e PRL determinadas no plasma. Nossos resultados nos ratos euhidratados apresentaram maiores níveis de CORT plasmático que ratos idosos; ainda, nas fêmeas idosas observou-se aumento nos níveis plasmáticos de PRL, quando foram comparados com os respectivos ratos adultos. Além disso, ambos ratos idosos, machos e fêmeas, apresentaram valores plasmáticos de leptina aumentados, sem mudanças nos valores plasmáticos de AVP, OT, ANP e ANGII, quando foram comparados com os adultos. Contudo, os níveis plasmáticos de CORT, AVP, OT e ANP, em resposta à PH, não foram diferentes entre machos e fêmeas idosas, comparadas com os adultos. Por outro lado, níveis de ANGII plasmáticos estavam diminuídos nos ratos machos e fêmeas idosas comparados com animais adultos na condição de PH. Ademais, ratas idosas na condição de PH apresentaram os níveis plasmáticos de PRL diminuídos comparada com ratas idosas euhidratadas. Interessantemente, a PH reduziu a concentração de leptina no rato idoso, mas não nas ratas idosas. A secreção comparativa de hormônios, entre ratos machos e fêmeas, demonstra que as ratas submetidas a PH apresentaram maior concentração de CORT e menor níveis de AVP plasmáticas que os machos na mesma condição experimental, tanto em animais adultos como idosos. Estes resultados apresentam pela primeira vez, a evidencia de que a secreção de leptina e a PRL está alterada durante a desidratação no envelhecimento.

Apoio Financeiro: CAPES-PROEX, FAPESP, CNPq



Thaís Caroline Prates Costa

Mestrado

thaispcosta@usp.br

Papel da elastase-2 em camundongos knock out para esta enzima, após o tratamento com crônico com enalapril

Thaís Caroline Prates Costa; Helio Cesar Salgado; Christiane Becari

O sistema renina-angiotensina (SRA) desempenha um papel importante no controle cardiovascular e na função renal em condições fisiológicas e patológicas, especialmente na insuficiência cardíaca. A maioria dos efeitos do SRA é mediada pela Ang II, cuja geração depende, em grande parte, da atividade da enzima conversora de angiotensina (ECA). Entretanto, estudos recentes têm apontado a presença de vias alternativas à ECA para a formação de Ang II em diferentes tecidos de ratos, camundongos, babuínos, cães, e seres humanos. Uma destas vias de formação de Ang II tecidual é a elastase 2 (ELA-2), a qual se distribui amplamente em diferentes órgãos de roedores, tais como pulmão, pâncreas, fígado, vasos, rim e coração. Para se avaliar a importância da ELA-2 foram desenvolvidos camundongos com deleção total (knockout) desta enzima. Esses animais apresentam alterações no controle da frequência (FC) basal e no balanço simpátovagal, INDICANDO que a ELA-2 contribui para o controle autonômico do sistema cardiovascular em camundongos. Além disso, a caracterização inicial dos camundongos knockout para ELA-2 mostrou que os mesmos apresentaram aumento da expressão do RNAm para ECA, sugerindo existir uma interação entre a ELA-2 e ECA. Assim se pretende realizar a caracterização do fenótipo cardiovascular (pressão arterial, FC, balanço autonômico, variabilidade cardiovascular) de camundongos C57BL/6 e com supressão total do gene da ELA-2, tratados cronicamente com inibidor da ECA.

Apoio Financeiro: CNPq



Vinicius Taboni Lisboa

Iniciação Científica

viniciuslisboa2409@gmail.com

Papel dos glicocorticoides no controle da síntese proteica e autofagia em músculos esqueléticos de camundongos expostos ao frio

Vinicius Taboni; Juliano Machado; Wilian A. Silveira; Lilian Z. C. Paula; Elza A. Filippin; Neusa M. Zanon; Isis C. Kettelhut; Luiz C. C. Navegantes

Embora esteja bem estabelecido que o metabolismo de carboidratos e lipídios são alterados pelo estresse térmico, os efeitos das baixas temperaturas no metabolismo proteico no músculo esquelético ainda são mal elucidados. No presente estudo, investigou-se o papel dos glicocorticoides na regulação da síntese de proteínas e autofagia nos músculos esqueléticos de camundongos expostos ao frio. A exposição ao frio (4°C) por 3 h diminuiu a velocidade de síntese de proteínas musculares e, paralelamente, aumentou as concentrações plasmáticas de corticosterona e a expressão gênica e conteúdo de Redd1 (Regulada em danos e desenvolvimento do DNA 1), uma proteína que suprime o complexo 1 da proteína alvo da rapamicina (mTORC1). Verificou-se que estes efeitos foram mais pronunciados nos músculos glicolíticos em relação aos músculos oxidativos, e foram completamente abolidos após a adrenalectomia (ADX) ou bloqueio farmacológico do receptor de glicocorticoide (mifepristona, 25mg/kg I.P.). Além disso, a redução do estado de fosforilação da Akt-(Ser476) e S6-(Ser235/236) e a baixa quantidade de peptídeos marcados com puomicina (um indicador in vivo da síntese proteica) induzidas pela exposição a frio foram bloqueadas em músculos de animais ADX. A formação de autofagosomas foi monitorada pela conversão de LC3-I em LC3-II. O aumento induzido pelo frio na relação LC3-II/LC3-I e a redução da fosforilação de Ulk1-(Ser757) foram parcialmente prevenidos pela ADX. Também foram observados efeitos estimuladores na expressão de Redd1 e autofagia em células C2C12 tratadas com dexametasona (1µM), após 3 h. Estes dados sugerem que os glicocorticoides liberados da glândula adrenal inibem a síntese proteica, principalmente, em músculos glicolíticos de camundongos expostos ao frio; um efeito aparentemente mediado pela ativação de Redd1, que leva à supressão da via mTORC1 e ativação da autofagia.

Apoio Financeiro: FAPESP #2016/24177-5