



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA - UNIPAMPA
CADASTRO DE PROJETO INSTITUCIONAL



Dados do Projeto

Número de Registro:	2023.PE.IT.2178	Código:	2178
Coordenador:	Marina Prigol	Controle:	64012
Área:	Pesquisa	Unidade Origem:	CAMPUS ITAQUI
Modalidade:	Projeto de Pesquisa	Telefone:	55996447424
Título:	Avaliação dos efeitos de partículas de microplásticos em diferentes estágios de vida: Implicações toxicológicas, neurodesenvolvimentais e reprodutivas em Drosophila melanogaster		
Execução:	De 01/05/2023 a 20/03/2027	Nº de Registro no SIPPEE:	Não consta
Autoriza Publicação Resumo:	Sim	Área de Conhecimento:	Ciências Biológicas
Formação Continuada:	Não informado		
Grupo de Pesquisa:	Laboratório de avaliações farmacológicas e toxicológicas aplicadas às moléculas bioativas - UNIPAMPA - LaftamBio Pampa	Possui interação com o setor produtivo:	Não
Cooperação interinstitucional dentro do país:	Sim	Cooperação interinstitucional fora do país:	Sim
Palavras-chave:	Microplásticos / Drosophila melanogaster / Disfunção mitocondrial / Neurotoxicidade / Desenvolvimento		

Resumo do Projeto

A poluição por plásticos tem gerado grande preocupação devido a contaminação de ecossistemas aquáticos, principalmente em razão do descarte inadequado desses materiais. A composição dos plásticos contém substâncias como as partículas de microplásticos (MP), que são altamente voláteis quando expostos à radiação UV, hidrólise, degradação por agentes microbianos e deterioração gradual por desgaste. Ao ser consumido através principalmente de água e peixes contaminados, esses compostos possuem alto potencial toxicológico a nível sistêmico, especialmente pela sua facilidade em atravessar a barreira hematoencefálica, e placentária, causando danos neurocognitivos graves em diferentes estágios da vida. Para compreender os principais efeitos no consumo desses materiais, é fundamental elucidar seus mecanismos toxicológicos. Nisso, a utilização de modelos animais como a Drosophila melanogaster pode ser útil para compreender as vias metabólicas envolvidas absorção e incorporação destes compostos em sistemas biológicos. Neste estudo, serão definidos 4 diferentes delineamentos experimentais, a fim de elucidar mecanismos de metabolização destas substâncias. Na primeira etapa, serão utilizadas larvas de primeiro estágio, inseridas nos seguintes grupos em meio de cultura padrão: Controle (meio de cultura padrão), MP 0.01 ppm (1,0 µm; partícula), MP 0.1 ppm (1,0 µm; partícula) MP 1 ppm (1,0 µm; partícula), MP 10 ppm (1,0 µm; partícula), MP 100 ppm (1,0 µm; partícula). Após o início do terceiro estágio larval (4 horas), será avaliado parâmetros comportamentais de neurodesenvolvimento, e avaliação de biomarcadores de estresse oxidativo e imunorreatividade de proteínas mitocondriais. Na segunda etapa, após eclosão das larvas, será realizado testes comportamentais, sendo avaliado parâmetros de estresse oxidativo, sistema colinérgico e monoaminérgico, além da imunorreação de proteínas mitocondriais no sistema nervoso central e periférico das moscas. Na terceira etapa, as moscas permanecerão durante 3 dias em tratamento, sendo avaliado parâmetros de reprodutibilidade, fecundidade e fertilidade, além de determinação do perfil físico-químico e bioquímico de MP no sistema nervoso central e periférico das moscas. Na quarta etapa será avaliado a longevidade das moscas expostas ao tratamento, análise de concentração letal (LC50) e análises in silico de poliestireno modificado com amina com proteína caspase DrICE (DrICE) e inibidor da proteína apoptose em Drosophila (Diap1). Na quinta etapa será avaliado efeitos da exposição de MP durante o período gestacional, com os mesmos grupos experimentais da etapa 1, porém, ao fim será coletado a prole das moscas e transferidas em meio padrão de cultura sem MP, sendo avaliado parâmetros comportamentais de neurodesenvolvimento, e avaliação de biomarcadores de estresse oxidativo e imunorreatividade de proteínas mitocondriais. Na sexta etapa, a prole após 4 horas mantidas em meio de cultura padrão provenientes da quinta etapa, serão mantidas durante 3 dias até atingir a fase adulta, em meio de cultura padrão sem MP. Após isso, as moscas serão avaliadas quanto a testes comportamentais, sendo analisado no sistema nervoso central e periférico parâmetros de estresse oxidativo, análise do sistema colinérgico e monoaminérgico, e imunorreação de proteínas mitocondriais. Ao fim do delineamento experimental, espera-se a compreensão da integralização dos

principais efeitos dos MP em diferentes estágios de vida, elucidando seus principais mecanismos em *Drosophila melanogaster*.

Introdução e Justificativa

A poluição causada por plásticos tornou-se um fator determinante na contaminação de diversos ambientes devido ao descarte inadequado desses materiais, o que resulta no seu acúmulo em diferentes ecossistemas, ocorrendo principalmente devido à capacidade dos materiais plásticos de liberarem substâncias tóxicas quando expostos a diferentes agentes catalisadores na natureza (XU et al., 2020). Os plásticos são compostos por diferentes polímeros que reforçam sua durabilidade, estabilidade e resistência em ambientes com acondicionamento adequado, no entanto, quando descartados no meio ambiente, apresentam alta volatilidade e tendem a liberar diferentes substâncias, principalmente em exposição à radiação UV, degradação microbiana, processos de hidrólise e desgaste do material (XU et al., 2020; BAJT, 2021).

Estes compostos liberados dos materiais plásticos, concentram-se principalmente nos polímeros microplásticos (MP), caracterizados por possuir diâmetro menor que 5,5 mm (XU et al., 2020), que vêm se tornando uma grande preocupação devido a sua grande presença nos mares e oceanos, disseminando-se e contaminando duas principais fontes de consumo humano, os peixes e a própria água (RHODES, 2018; BAJT, 2021). Quando consumidos, os MP entram rapidamente na corrente sanguínea, gerando danos em diferentes tecidos, principalmente no cérebro, devido à sua capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica, causando deficiências neurocognitivas, inflamação e apoptose neuronal a longo prazo (YONG et al., 2020; YEE et al., 2021). A capacidade de MP em atravessar a barreira placentária também é evidenciada, como em RAGUSA et al. (2021), onde na placentas de 4 mulheres foram encontradas 12 diferentes fragmentos de MP, espalhados entre as regiões do lado fetal (saco coriônico), materno (derivada do endométrio), e nas membranas carioamnióticas, com variações de 5-10 µm de tamanho das partículas, consistindo em sua maioria por polipropileno (RAGUSA et al., 2021), condicionando um risco potencial a intoxicação de MP nos fetos.

Embora o potencial tóxico dos MP seja evidente, os mecanismos de sua toxicidade ainda não são totalmente compreendidos. Em *Drosophila melanogaster*, foi verificado que os MP (0,001–1 µm de tamanho e >20 µm; 0,1-100 ppm) têm o potencial de alterar o comportamento desse animal, levando a mudanças em sua capacidade de locomoção e em seu ciclo circadiano, associado ao aumento da expressão da proteína de choque térmico 70 (Hsp-70), um marcador de proteotoxicidade na célula (MATTHEWS, et al., 2021). No entanto, os mecanismos envolvidos nessa toxicidade ainda não foram substancialmente elucidados, trazendo a necessidade da investigação de vias metabólicas envolvidas nestas alterações a nível de sistema nervoso central e periférico, em diferentes estágios da vida.

Com base nisso, nosso objetivo é elucidar os mecanismos toxicidade induzida por MP em etapas de desenvolvimento embrionário até mosca adulta, e suas principais implicações reprodutivas e fisiológicas durante esta fase da vida em *Drosophila melanogaster*.

Objetivos

Objetivo geral

Investigar vias primárias de toxicidade induzida por MP, através da avaliação de parâmetros neurodesenvolvimentais, fecundidade, e fertilidade, além de análise de biomarcadores de estresse oxidativo, funcionalidade e dano mitocondrial em *Drosophila melanogaster*.

Objetivos específicos

- Verificar o potencial toxicológico de MP em parâmetros neurodesenvolvimentais em larvas;
- Avaliar o potencial toxicológico de MP em parâmetros comportamentais em moscas;
- Verificar o efeito de partículas de MP em proteínas reguladoras do funcionamento mitocondrial em larvas e moscas;
- Analisar parâmetros de embriogênese na prole de moscas expostas a MP;
- Avaliar parâmetros de reprodutibilidade, fertilidade e fecundidade em moscas expostas a MP;
- Investigar a ação de MP na modulação de parâmetros de estresse oxidativo no sistema periférico e central em moscas;
- Analisar o perfil físico-químico e bioquímico de MP;
- Dosar marcadores do sistema colinérgico e monoaminérgico em moscas expostas a MP;
- Definir a concentração letal (LC50) de MP em moscas;
- Simular dinâmicas moleculares computacionais de moléculas drICE e Diap1 com MP.

Materiais e Métodos

Materiais e condições de cultura

Para experimentação, será utilizada a espécie *Drosophila melanogaster* (Harwich), obtida pelo LAFTAMBIO (Unipampa/Itaqui). As moscas foram mantidas em incubadora, com temperatura controlada (24^o-25^oC), umidade 30-50%, e mantidos em ciclo claro/escuro de 12 horas, dieta padrão composta de farinha de milho, açúcar, fermento, gérmen de trigo, leite em pó e metilparabeno. Os MP (Latex beads, amine-modified polystyrene; L1030) serão obtidos via Sigma Aldrich® (St. Louis, MO, EUA).

Protocolo experimental

O delineamento experimental será dividido em 6 etapas, consistindo da seguinte forma:

- 1ª etapa (E1): Para avaliação dos efeitos de MP durante o desenvolvimento, serão utilizados para o experimento larvas em primeiro estágio, divididas nos grupos: Controle (meio de cultura padrão), MP 0.01 ppm (1,0 µm; partícula), MP 0.1 ppm (1,0 µm; partícula), MP 1 ppm (1,0 µm; partícula), MP 10 ppm (1,0 µm; partícula), MP 100 ppm (1,0 µm; partícula). Após 4 horas de exposição, as larvas serão avaliadas quanto a parâmetros comportamentais de neurodesenvolvimento, incluindo rastejamento (NECKAMEYER e BHATT, 2016), reorientação (NGUYEN et al., 2021), sensibilidade ao calor (MISHRA e BARIK, 2018) e ao toque (KERNAN et al., 1994), preferência a luz (MISHRA et al., 2019) e capacidade de cavação/tunelamento (QIANG et al., 2018); Avaliação de biomarcadores de estresse oxidativo, envolvendo análise da atividade da superóxido dismutase (SOD) (KOSTYUK & POTAPOVICH, 1989), catalase (CAT) (AEBI, 1984), glutathione S-transferase (GST) (ELLMAN, 1959), glutathione peroxidase (GPx) (WENDELL, 1961), glutathione reductase (GR) (CARLBERG & MANNERVICK, 1985), níveis totais de glutathione (GSH) (HISSIN & HILF, 1976), análise de carbonilação de proteínas (REZNICK & PACKER, 1994), quantificação de espécies reativas (PAULA et al., 2014), e peroxidação lipídica por análise de TBARS (OHKAWA et al., 1979), e imunoreatividade de fator 2 relacionado ao fator nuclear eritróide 2 (Nrf2) e Hsp-70; Por fim, será avaliado a imunoreatividade de proteínas mitocondriais, envolvendo complexo I (NDUFB8), complexo III (CYTB) e complexo V (ATP5A1), proteína do tipo Dynamin-1 (DRP1), mitofusina-2 (MFN2), quinase 1 induzida por PTEN (PINK1) e parkina (PARKIN).

- 2ª etapa (E2): Após eclosão das larvas da 1ª etapa, as moscas serão passadas em meio padrão sem MP, sendo avaliado testes comportamentais, incluindo atividade locomotora e exploratória de *Drosophila melanogaster* por teste de campo aberto (HIRTH, 2010), análise de geotaxia negativa (ARAUJO et al., 2015), teste de comportamento agressivo (EDWARDS et al., 2006), teste de memória (ICHINOSE e TANIMOTO, 2016), além da avaliação de parâmetros de estresse oxidativo (SOD, CAT, GST, GPx, GR, GSH, RS, TBARS, Nrf2 e Hsp-70), análise do sistema colinérgico através da atividade de acetilcolinesterase (AChE), e sistema monoaminérgico por cromatografia líquida de alta precisão (HPLC) (dopamina, serotonina e octopamina), imunorreação de proteínas mitocondriais no sistema nervoso central e periférico das moscas (NDUFB8, CYTB, ATP5A1, DRP1, MFN2, PINK1, PARKIN), e análise de viabilidade celular por método de redução de resazurina (FRANCO et al., 2009) e MTT (HOSAMANI, 2013).

- 3ª etapa (E3): As moscas da 2ª etapa, serão mantidas durante 3 dias meio padrão de tratamento, sendo avaliado parâmetros de reprodutibilidade, fecundidade e fertilidade, que incluem oviposição (FANARA et al., 2023), taxa de eclosão de ovos (MUSACHIO et al., 2021), análise morfológica do tamanho das larvas (PALOMINO-SCHÄTZLEIN et al., 2022), teste de fecundidade (MEMMI e ATLI, 2011), fertilidade (MEMMI e ATLI, 2011), morfologia da estrutura ovariana (KHATUN et al., 2017), contabilização de ovócitos (KHATUN et al., 2017). Para determinação do perfil físico-químico e bioquímico dos componentes de MP, serão procedidos técnicas para determinação de sorção de MP, através da avaliação da presença de seus componentes no sistema nervoso central e periférico de *Drosophila melanogaster*. Assim, será utilizado cromatografia líquida de alta eficiência-Espectrometria de Massas (HPLC-MS), a fim de auxiliar na compreensão dos mecanismos de contaminação por MP.

- 4ª etapa (E4): As moscas da 3ª etapa serão mantidas em meio padrão de tratamento, sendo avaliado a longevidade das moscas expostas ao tratamento. Nesta etapa, também será realizado a determinação LC50 de MP em *Drosophila melanogaster* (ANET et al., 2019); A última etapa contará também com análises *in silico* de poliestireno modificado com amina com DrICE e Diap1 (PDB: 3SIP), através de simulações de dinâmica molecular e docking molecular.

Delineamento experimental: Etapas 1-4 (figura anexo)

- 5ª etapa (E5): Para avaliação dos efeitos da exposição de MP durante o período gestacional, será realizado a avaliação da prole de moscas expostas durante 3 dias ao tratamento. Para isso, moscas adultas com 2 dias de idade serão divididas nos seguintes grupos: Controle (meio de cultura padrão), MP 0.01 ppm (1,0 µm; partícula), MP 0.1 ppm (1,0 µm; partícula), MP 1 ppm (1,0 µm; partícula), MP 10 ppm (1,0 µm; partícula), MP 100 ppm (1,0 µm; partícula). Após o fim do delineamento experimental, a prole das moscas, em primeiro estágio larval, serão avaliadas quanto a parâmetros comportamentais de neurodesenvolvimento, incluindo rastejamento, reorientação, sensibilidade ao calor e ao toque, preferência a luz e capacidade de cavação/tunelamento; Avaliação de biomarcadores de estresse oxidativo (SOD, CAT, GST, GPx, GR, GSH, RS, TBARS, Nrf2 e Hsp-70); Imunorreação de proteínas mitocondriais (NDUFB8, CYTB, ATP5A1, DRP1, MFN2, PINK1, PARKIN), e análise de viabilidade celular por método de redução de resazurina e MTT.

- 6ª etapa (E6): As moscas da 5ª etapa, serão coletadas e mantidas durante 3 dias em meio padrão de cultura. Ao fim, serão avaliados testes comportamentais que incluem teste de campo aberto, análise de geotaxia negativa, teste de comportamento agressivo, e teste de memória, além da avaliação de parâmetros de estresse oxidativo (SOD, CAT, GST, GPx, GR, GSH, RS, TBARS, Nrf2 e Hsp-70), análise do sistema colinérgico através da atividade de acetilcolinesterase (AChE), sistema monoaminérgico por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (dopamina, serotonina e octopamina), imunorreação de proteínas mitocondriais no sistema nervoso central e periférico das moscas (NDUFB8, CYTB, ATP5A1, DRP1, MFN2, PINK1, PARKIN).

Delineamento experimental: Etapas 5 e 6 (figura anexo)

3.2. Análises estatísticas

Para análise dos dados obtidos será realizado a normalidade dos dados a partir de teste de Shapiro-Wilk, e a homocedasticidade das variâncias por meio do teste de Bartlett e do teste f. Será realizado ANOVA, de uma via, seguido de teste post-hoc de Tukey, sendo considerado o valor de significância quando $p < 0,05$. O software utilizado será o GraphPad Prism 9.3.0.

Resultados Esperados

Com o seguinte delineamento experimental, esperamos obter dados que ajudem na elucidação de um mecanismo de toxicidade por partículas de MP em diferentes estágios da vida, avaliando seus impactos a nível comportamental, sua possível ação de modulação de parâmetros do estresse oxidativo, e seus principais mecanismos de toxicidade envolvendo alterações na mitocôndria, envolvendo desde o funcionamento de complexos mitocondriais, até em parâmetros envolvidos na biogênese desta organela. Em paralelo, o seguinte projeto viabilizará a compreensão de intrincados mecanismos de toxicidade a substâncias emergentes no que tange a toxicologia ligada à alimentos, possibilitando a capacitação dos alunos envolvidos tanto a nível teórico, bem como em sua capacitação a nível laboratorial, promovendo estímulo ao conhecimento científico, sendo esperado futura integração de conhecimentos por parte dos alunos envolvidos. Ao fim do trabalho, os dados obtidos serão divulgados em eventos científicos nacionais e internacionais, bem como em formato de artigo científico em periódicos com alto fator de impacto e reconhecidos pela CAPES.

Relação Ensino, Pesquisa, Extensão

O grupo de pesquisa do Laboratório de Avaliações Farmacológicas e Toxicológicas Aplicadas às Moléculas (LaftamBio) da Universidade Federal do Pampa (Unipampa) - Campus Itaqui desenvolve este projeto de pesquisa visando englobar atividades educativas, técnicas, científicas e sociais. Docentes e discentes de graduação e pós-graduação (mestrado) estão envolvidos neste projeto, que tem como objetivo qualificar, aproximar e integrar alunos de graduação na prática experimental, com o estímulo de novos objetos de estudo e desenvolvimento de pensamento crítico. As atividades propostas também pretendem atualizar os alunos sobre a produção científica nas áreas de bioquímica e farmacologia, através da iniciação científica e da interação entre teoria e prática. A ideia é auxiliar na construção de conhecimentos que possam ser utilizados em suas futuras carreiras profissionais, seja no meio de trabalho ou na academia.

A participação dos alunos de graduação em projetos de pesquisa é uma política institucional da UNIPAMPA, que visa ampliar e fortalecer a produtividade científica de forma ética e sustentável, com benefícios para toda a comunidade. Além de capacitar profissionais competentes, a iniciação científica ajuda no desenvolvimento do pensamento crítico e na tomada de decisões assertivas. Ao final do projeto, espera-se contribuir para a elucidação dos mecanismos de MP e seus efeitos toxicológicos, avançando na compreensão dos seus mecanismos metabólicos.

Acreditamos que este projeto pode promover o compartilhamento de saberes entre a comunidade acadêmica e a sociedade, alcançando uma maior integração entre atividades de pesquisa, ensino e extensão. A formação integral e adequada do estudante é buscada através da articulação entre estes três pilares.

Aderência às áreas de Tecnologias Prioritárias do MCTI

Tecnologias para Qualidade de Vida. Setor: Saúde.

A poluição por plásticos é reconhecida como um dos principais fatores responsáveis pela contaminação de diferentes ecossistemas, ameaçando a vida animal e expondo-a a compostos com potencial toxicológico desconhecido. Entre estes compostos, os MP destacam-se como uma grande preocupação, uma vez que fazem parte da composição de plásticos e são altamente voláteis a vários catalisadores presentes na natureza. A disseminação rápida dos MP em ecossistemas aquáticos é especialmente preocupante, pois esses compostos podem contaminar tanto peixes quanto a água, que são amplamente consumidos por humanos. Isso representa um grande problema em escala global, uma vez que os mecanismos de toxicidade dos MP ainda não são bem compreendidos, mas seu consumo e efeitos têm aumentado constantemente ao longo dos anos. É, portanto, fundamental que sejam conduzidos estudos para esclarecer as possíveis vias de metabolização dos MP, a fim de caracterizá-los em organismos biológicos.

Geração de Resíduos

Tipo de resíduo: (x) Químico (x) Biológico () Radioativo (x) Material de descarte (luvas, vidros quebrados, etc.)

Descrição detalhada dos resíduos:

Material biológico: Amostras restantes de *Drosophila melanogaster*

Ponteiras, vidros quebrados, luvas, máscaras, papel filtro e todo material utilizado em experimentos a serem descartados.

Material químico oriundo dos reagentes utilizados nas análises bioquímicas.

Quantidade que será gerada (aproximada): 2 litros

Destino dos resíduos:

- Local onde será armazenado até o recolhimento: Serão armazenados no LAFTAMBIO PAMPA (Laboratório de Avaliações Farmacológicas e Toxicológicas aplicadas à Moléculas Bioativas do Pampa) □ Itaqui. Os materiais armazenados serão coletados por empresa especializada a qual realiza o recolhimento

periódico dos resíduos químicos, biológicos e de descarte.

- Embalagem que será usada: Sacos de lixo hospitalar (laranja) com identificação adequada referente a resíduo biológico, assim como frascos âmbar com os resíduos químicos.

Referências

AEBI, Hugo. Catalase in vitro. *Methods in enzymology*, v. 105, p. 121-126, 1984.

ANET, Antony et al. Bisphenol A induced oxidative stress mediated genotoxicity in *Drosophila melanogaster*. *Journal of hazardous materials*, v. 370, p. 42-53, 2019.

ARAUJO, Stéfani Machado et al. Effectiveness of γ -oryzanol in reducing neuromotor deficits, dopamine depletion and oxidative stress in a *Drosophila melanogaster* model of Parkinson's disease induced by rotenone. *Neurotoxicology*, v. 51, p. 96-105, 2015.

BAJT, Oliver. From plastics to microplastics and organisms. *FEBS Open bio*, v. 11, n. 4, p. 954-966, 2021.

CASU, Maria Antonietta et al. Effects of acute and chronic valproate treatments on p CREB levels in the rat amygdala and nucleus accumbens. *Brain research*, v. 1141, p. 15-24, 2007.

CARLBERG, Inger; MANNERVIK, Bengt. [59] Glutathione reductase. In: *Methods in enzymology*. Academic press, 1985. p. 484-490.

EDWARDS, Alexis C. et al. Quantitative genomics of aggressive behavior in *Drosophila melanogaster*. *PLoS genetics*, v. 2, n. 9, p. e154, 2006.

ELLMAN, George L. Tissue sulfhydryl groups. *Archives of biochemistry and biophysics*, v. 82, n. 1, p. 70-77, 1959.

FANARA, Juan J. et al. Oviposition behaviour in *Drosophila melanogaster*: Genetic and behavioural decoupling between oviposition acceptance and preference for natural fruits. *Journal of Evolutionary Biology*, v. 36, n. 1, p. 251-263, 2023.

FRANCO, Jeferson L. et al. Methylmercury neurotoxicity is associated with inhibition of the antioxidant enzyme glutathione peroxidase. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 47, n. 4, p. 449-457, 2009.

HABIG, William H.; PABST, Michael J.; JAKOBY, William B. Glutathione S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of biological Chemistry*, v. 249, n. 22, p. 7130-7139, 1974.

HIRTH, Frank. *Drosophila melanogaster* in the study of human neurodegeneration. *CNS & Neurological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders)*, v. 9, n. 4, p. 504-523, 2010.

HISSIN, Paul J.; HILF, Russell. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. *Analytical biochemistry*, v. 74, n. 1, p. 214-226, 1976.

HOSAMANI R., MURALIDHARA. Acute exposure of *Drosophila melanogaster* to paraquat causes oxidative stress and mitochondrial dysfunction. *Arch Insect Biochem Physiol.*, v. 83, p. 25-40, 2013.

KHATUN, Salma et al. Sodium fluoride adversely affects ovarian development and reproduction in *Drosophila melanogaster*. *Chemosphere*, v. 186, p. 51-61, 2017.

KERNAN, Maurice; COWAN, David; ZUKER, Charles. Genetic dissection of mechanosensory transduction: mechanoreception-defective mutations of *Drosophila*. *Neuron*, v. 12, n. 6, p. 1195-1206, 1994.

KOSTYUK, Vladimir A.; POTAPOVICH, Alla I. Superoxide-driven oxidation of quercetin and a simple sensitive assay for determination of superoxide dismutase. *Biochem Int*, v. 19, n. 5, p. 1117-1124, 1989.

MATTHEWS, Sara et al. Polystyrene micro-and nanoplastics affect locomotion and daily activity of *Drosophila melanogaster*. *Environmental Science: Nano*, v. 8, n. 1, p. 110-121, 2021.

MEMMI, Burcu Kocak; ATLI, Emel. Positive correlation between malathion resistance and fecundity within natural populations of *Drosophila melanogaster*. *Turkish Journal of Biology*, v. 35, n. 2, p. 153-159, 2011.

MISHRA, Monalisa; BARIK, Bedanta Kumar. Behavioral teratogenesis in *Drosophila melanogaster*. *Teratogenicity Testing: Methods and Protocols*, p. 277-298, 2018.

MISHRA, Monalisa; KNUST, Elisabeth. Analysis of the *Drosophila* compound eye with light and electron microscopy. *Retinal Degeneration: Methods and Protocols*, p. 345-364, 2019.

MUSACHIO, Elize Aparecida Santos et al. Bisphenol A exposure during the embryonic period: Insights into dopamine relationship and behavioral disorders in *Drosophila melanogaster*. *Food and Chemical Toxicology*, v. 157, p. 112526, 2021.

NECKAMEYER, Wendi S.; BHATT, Parag. Protocols to study behavior in *Drosophila*. *Drosophila: Methods and protocols*, p. 303-320, 2016.

NGUYEN, U. et al. Exposure to bisphenol A differentially impacts neurodevelopment and behavior in *Drosophila melanogaster* from distinct genetic backgrounds. *Neurotoxicology*, v. 82, p. 146-157, 2021.

PACKER, Lester; REZNICK, Abraham Z. Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay. In: *Methods in enzymology*. Academic press, 1994. p. 357-363.

PALOMINO-SCHÄTZLEIN, Martina et al. A toolbox to study metabolic status of *Drosophila melanogaster* larvae. *STAR protocols*, v. 3, n. 1, p. 101195, 2022.

POETINI, Márcia Rósula et al. Iron overload during the embryonic period develops hyperactive like behavior and dysregulation of biogenic amines in *drosophila melanogaster*. *Developmental Biology*, v. 475, p. 80-90, 2021.

QIANG, Karen M.; ZHOU, Fanli; BECKINGHAM, Kathleen M. A burrowing/tunneling assay for detection of hypoxia in *Drosophila melanogaster* larvae. *Journal of visualized experiments: JoVE*, n. 133, 2018.

RAGUSA, Antonio et al. Plasticenta: First evidence of microplastics in human placenta. Environment international, v. 146, p. 106274, 2021.

RHODES, Christopher J. Plastic pollution and potential solutions. Science progress, v. 101, n. 3, p. 207-260, 2018.

XU, Shen et al. Microplastics in aquatic environments: occurrence, accumulation, and biological effects. Science of the Total Environment, v. 703, p. 134699, 2020.

YEE, Maxine Swee-Li et al. Impact of microplastics and nanoplastics on human health. Nanomaterials, v. 11, n. 2, p. 496, 2021.

YONG, Cheryl Qian Ying; TANG, Bor Luen; VALIYAVEETIL, Suresh. Toxicity of microplastics and nanoplastics in mammalian systems. International Journal of Environmental Research and Public Health, v. 17, n. 05, p. 1509, 2020.

Possui Bolsistas
 Não, mas vou pleitear em alguma chamada

Unidades e Cursos

Unidade	Curso
Campus Itaqui	Nutrição (ITNUT)

Equipe Executora

Nome	E-mail	Tipo	Função	CH Semanal	Período Participação
Marina Prigol	marinaprigol@unipampa.edu.br	Docente	Coordenador	1	De 01/05/2023 a 30/04/2027
Mustafa Munir Mustafa Dahleh	mustafadahleh.aluno@unipampa.edu.br	Discente	Co-coordenador	20	De 01/05/2023 a 30/04/2027
Stefani da Silva Andrade	stefaniandrade.aluno@unipampa.edu.br	Discente	Discente - Voluntário	8	De 05/04/2024 a 20/03/2027

Cronograma

Data Início	Data Fim	Atividade	Carga Horária	Local	Membros
01/05/2023	01/04/2027	Revisão bibliográfica	2	On line - Pubmed, SciELO, Google acadêmico, etc.	Marina Prigol, Mustafa Munir Mustafa Dahleh
01/05/2023	30/04/2027	Seminários e reuniões para discussão do projeto e literatura referente	2	Laftambio	Marina Prigol, Mustafa Munir Mustafa Dahleh
01/05/2023	01/04/2027	Manutenção e tratamento de Drosophila melanogaster	4	Laftambio	Mustafa Munir Mustafa Dahleh
20/05/2023	01/02/2027	Aquisição de materiais, reagentes químicos; Articulação e planejamento do projeto.	1	Laftambio	Marina Prigol, Mustafa Munir Mustafa Dahleh
15/06/2023	20/10/2023	E1 - Avaliação de parâmetros neurodesenvolvimentais em larvas	5	Laftambio	Mustafa Munir Mustafa Dahleh
15/06/2023	15/11/2023	E1 - Preparação de amostras e análises de estresse oxidativo e imunorreação em larvas	5	Laftambio	Mustafa Munir Mustafa Dahleh
20/06/2023	20/10/2023	E1 - Preparação de amostras e análises de estresse oxidativo e imunorreação em larvas	5	Laftambio	Mustafa Munir Mustafa Dahleh
25/11/2023	20/01/2024	E2 - Análise comportamental de moscas adultas	10	Laftambio	Mustafa Munir Mustafa Dahleh
20/12/2023	01/06/2024	E1 - Análises estatísticas e desenvolvimento de artigo científico	2	Computador próprio	Mustafa Munir Mustafa Dahleh
20/01/2024	20/05/2024	E2 - Preparação de amostras e análises de estresse oxidativo e viabilidade celular em moscas adultas	5	Laftambio	Mustafa Munir Mustafa Dahleh
20/01/2024	20/05/2024	E2 - Preparação de amostras e realização de ensaios de imunorreação em moscas adultas	5	Laftambio	Mustafa Munir Mustafa Dahleh
20/05/2024	20/08/2024	E2 - Análises estatísticas	5	Laftambio	Mustafa Munir Mustafa Dahleh
02/06/2024	20/09/2024	E2 - Desenvolvimento de artigo científico	5	Laftambio	Mustafa Munir Mustafa Dahleh
20/08/2024	20/03/2025	E3 - Avaliação de parâmetros de reprodutibilidade, fecundidade e fertilidade em moscas adultas;	5	Laftambio	Mustafa Munir Mustafa Dahleh
20/08/2024	20/03/2025	E4 □ Análises de longevidade e LC50	3	Laftambio	Mustafa Munir Mustafa Dahleh
20/10/2024	20/05/2025	Determinação da presença de microplásticos nos diferentes tecidos das moscas por HPLC-MS	3	Laftambio e Laboratório parceiro a definir	Mustafa Munir Mustafa Dahleh
20/03/2025	20/05/2025	E4 □ Análises de docking molecular	10	Laftambio	Mustafa Munir Mustafa Dahleh
20/05/2025	20/08/2025	E3 e E4 - Análises estatísticas	5	Laftambio	Mustafa Munir Mustafa Dahleh
20/05/2025	20/08/2025	E3 e E4 -Desenvolvimento de artigo científico	5	Laftambio	Mustafa Munir Mustafa Dahleh
20/08/2025	20/12/2025	E5 - Avaliação de parâmetros neurodesenvolvimentais em larvas	5	Laftambio	Mustafa Munir Mustafa Dahleh
20/08/2025	20/12/2025	E5 - Preparação de amostras e análises de estresse oxidativo e imunorreação em larvas	5	Laftambio	Mustafa Munir Mustafa Dahleh
20/12/2025	20/02/2026	E5 - Análises estatísticas e desenvolvimento de artigo científico	5	Laftambio	Mustafa Munir Mustafa Dahleh
20/12/2025	20/02/2026	E5 - Desenvolvimento de artigo científico	5	Computador próprio	Mustafa Munir Mustafa Dahleh
20/02/2026	20/05/2026	E6 - Análise comportamental de moscas adultas	10	Laftambio	Mustafa Munir Mustafa Dahleh
20/05/2026	20/10/2026	E6 - Preparação de amostras e análises de estresse oxidativo e viabilidade celular em moscas adultas	5	Laftambio	Mustafa Munir Mustafa Dahleh
20/10/2026	20/01/2027	E6 - Análises estatísticas	3	Laftambio	Mustafa Munir Mustafa Dahleh
20/11/2026	20/02/2027	E6 - Desenvolvimento de artigo científico	5	Laftambio	Mustafa Munir Mustafa Dahleh
20/02/2027	20/03/2027	Relatório final de projeto	2	Laftambio	Marina Prigol, Mustafa Munir Mustafa Dahleh

Planejamento de Despesas

Despesas de Custeio	Opção	Valor Estimado (R\$)	Fonte de Financiamento	Especificações
Auxílio a Estudantes (Bolsas)	Necessita	8.400,00	Edital Interno	As bolsas para estudantes de graduação serão pleiteadas através dos editais da PROPII
Diárias	Não Necessita	0,00	Sem Fonte de Financiamento	Não necessita
Passagens	Não Necessita	0,00	Sem Fonte de Financiamento	Não necessita
Material de Consumo	Necessita	20.000,00	Fomento Aprovado	Chamada CNPq/MCTI/FNDCT 18/2021 - Faixa B
Serviços de Terceiros (Pessoa Física)	Não Necessita	0,00	Sem Fonte de Financiamento	Não necessita
Serviços de Terceiros (Pessoa Jurídica)	Não Necessita	0,00	Sem Fonte de Financiamento	Não necessita
Outros	Não Necessita	0,00	Sem Fonte de Financiamento	Não necessita
Total		28.400,00		

Despesas de Capital	Opção	Valor Estimado (R\$)	Fonte de Financiamento	Especificações
Equipamentos e Material Permanente	Já Possui	30.000,00	Edital Interno e Externo	Já disponíveis no Laftambio

Total Geral de Despesas (R\$): **58.400,00**

Alternativas caso a fonte de financiamento não se confirme: O Laftambio, coordenado pela professora Marina Prigol, onde os experimentos comportamentais e experimentos bioquímicos serão realizados, já possui Equipamentos e Material Permanente necessários para realização dos experimentos propostos, portanto, não haverão custos adicionais com capital. As despesas de custeio serão custeadas por projetos já aprovados pela proponente. Em relação as bolsas, caso não tenha recurso, os alunos de graduação trabalharão de forma voluntária.