



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



Dados do Projeto

Número de Registro:	2025.PE.SG.4679	Código:	4679
Coordenador:	Lucia Helena do Canto Vinade	Controle:	78079
Área:	Pesquisa	Unidade Origem:	CAMPUS SÃO GABRIEL
Modalidade:	Projeto de Pesquisa	Telefone:	(55)99164-9439
Título:	Sistemas de Neurotransmissão e Neuromodulação - Mecanismos de Neurodegeneração e Neuroproteção		
Execução:	De 02/06/2025 a 31/05/2029		
Autoriza Publicação Resumo:	Sim	Área de Conhecimento:	Ciências Biológicas
Formação Continuada:	Não		
Grupo de Pesquisa:	Neurobiologia e Toxinologia de Compostos Naturais	Possui interação com o setor produtivo:	Não
Cooperação interinstitucional dentro do país:	Sim	Cooperação interinstitucional fora do país:	Não
Situação do Projeto:	Modificado após Registro		
Palavras-chave:	Sistema Nervoso Central / Sistema Nervoso Periferico / Neurobiologia / Vertebrados / Invertebrados / Insetos		

Resumo do Projeto

As neuropatologias têm uma incidência e custo que as colocam como a principal causa de doença no mundo ocidental, representando um terço das causas de doença com um elevado custo anual em todo o mundo (Andlin- Sobocki et al., 2005). Esse custo terá tendência a aumentar visto que a incidência das neuropatologias aumenta com a idade e o envelhecimento é a principal matriz demográfica na população ocidental. O investimento no estudo de neuropatologias no Brasil é ressaltado na Portaria 1.161 do Ministério da Saúde (MS), de 07 de julho de 2005, que institui a Política Nacional de Atenção ao Portador de Doença Neurológica. Nesse documento o MS enfatiza a importância epidemiológica das doenças neurológicas no Brasil, visto que a magnitude social na população afetada aumenta os custos para o Estado brasileiro. Segundo levantamento estatístico as doenças neurológicas que apresentam incidência e prevalência altas envolvem algum tipo de comprometimento nos sistemas de neurotransmissão. Doenças como o Mal de Alzheimer, Parkinson, epilepsia, assim como as que afetam os neurônios motores e sensoriais e ainda, as provocadas por intoxicações ambientais e envenenamentos acarretam um enorme custo econômico e social. Portanto, o estudo dos mecanismos moleculares envolvidos nessas neuropatologias como intuito de buscar estratégias de prevenção e de neuroproteção devem ser investigados. Esse projeto apresenta uma característica multidisciplinar e interinstitucional que reunindo as experiências de diferentes pesquisadores, objetiva do ponto de vista científico a contribuição para o avanço no conhecimento dos mecanismos envolvidos na neurodegeneração e nos sintomas de algumas das neuropatologias com maior incidência e prevalência no Brasil e no mundo. Esse conhecimento proporcionará uma busca de estratégias de neuroproteção, quer seja por prevenção e/ou por abordagens farmacológicas para novos tratamentos que auxiliem na melhora dos sintomas. Além disso, o projeto também dá continuidade a questões científicas novas e potencialmente relevantes que se enquadram dentro dos interesses e experiências prévias dos pesquisadores. Assim, esse projeto não só se reveste de grande importância científica para fomentar o posicionamento dos grupos na sua área de intervenção a nível regional, nacional e internacional, como terá ainda benefícios no âmbito da formação de futuros cientistas nas áreas das Ciências Biológicas, da Saúde, Bioquímica, Farmacologia e Neurociências

Introdução e Justificativa

A população mundial vem enfrentando o envelhecimento progressivo, pois em 1950 havia cerca de

214 milhões de pessoas com 60 anos ou mais. As estimativas são de que em 2025 haverá 1 bilhão de pessoas nessa faixa etária. O Brasil está seguindo o exemplo dos países desenvolvidos, cuja pirâmide etária está se assemelhando a um barril, indicando que a população brasileira também está envelhecendo. De acordo com dados do IBGE a região sul concentra o maior número de estados com alta expectativa de vida. Enquanto esse fenômeno é explicado pela melhora nos serviços de assistência à saúde, diminuição na taxa de mortalidade pelo aumento de exames pré-natais, em contrapartida, as doenças decorrentes da idade começam a surgir de forma significativa no nosso país. A Doença de Alzheimer (DA) é a causa mais comum de demência, sendo a doença neurodegenerativa cuja prevalência e incidência aumentam com a idade. Além da DA, outras patologias neurodegenerativas mais encontradas na prática clínica, são a Doença de Parkinson (DP) e as doenças do neurônio motor (DNM). Segundo a Organização Mundial da Saúde, cerca de 4 milhões de pessoas em todo mundo sofrem da DP e no Brasil, estimativas da Associação Brasileira de Parkinson, mostram que cerca de 200 mil pessoas tem a doença e que, vinte novos casos são diagnosticados por ano para cada 100.000 pessoas. As doenças do neurônio motor (DNM) compreendem um grupo de doenças clínicas e geneticamente heterogêneas que envolvem os neurônios motores (NM). O termo doença do neurônio motor é o mais utilizado para descrever uma família de doenças na qual há um extensivo diagnóstico diferencial. No passado, esse termo era sinônimo de esclerose lateral amiotrófica (ELA). Portanto, o estudo dos mecanismos moleculares envolvidos nessas neuropatologias e outras com intuito de buscar estratégias de prevenção e de neuroproteção ainda estão sendo investigados. Os sistemas glutamatérgico, dopaminérgico, purinérgico e colinérgico dentre os sistemas de neurotransmissão mais afetados em doenças neurodegenerativas, e, portanto, os mais frequentemente estudados e manipulados farmacologicamente. Além dos sistemas de neurotransmissão existem os neuromoduladores, que participam da transmissão sináptica regulando-a por meio da inibição ou facilitação da liberação dos neurotransmissores. Dentre os neuromoduladores mais conhecidos a adenosina destaca-se por ser um nucleosídeo pertencente ao sistema purinérgico presente em todas as células eucarióticas. O glutamato é o principal neurotransmissor excitatório do sistema nervoso central (SNC) de mamíferos e do sistema nervoso periférico (SNP) de insetos. Em mamíferos, o glutamato participa de inúmeros eventos fisiológicos e plásticos, tais como: memória e aprendizado (Izquierdo et al., 2006), desenvolvimento e envelhecimento (Segovia et al., 2001), adaptação ambiental (Ozawa et al., 1998), proliferação e migração celular (McDonald and Johnston, 1990). As diversas ações do glutamato, tanto fisiológicas quanto patológicas, resultam da ativação de seus receptores de membrana (GluRs), tanto neuronais quanto gliais (Ozawa et al., 1998). Os GluRs são divididos em duas classes: ionotrópicos (iGluRs) e metabotrópicos (mGluRs) (Ozawa et al., 1998). Os iGluRs são acoplados a um canal iônico cátion-específico e são subdivididos em três subtipos: amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropionato (AMPA), cainato e N-metil-D-aspartato (NMDA). Os mGluRs são acoplados a proteínas G e estão subdivididos em 8 subtipos (mGluR1-8). Os receptores glutamatérgicos estão distribuídos por todo o encéfalo. Após ser liberado por vesículas secretórias presentes nos terminais nervosos, o glutamato exerce sua ação excitatória em neurônios pré e pós-sinápticos. Ao final da sua sinalização, esse neurotransmissor é captado por proteínas transportadoras presentes nos astrócitos (GLAST e GLT-1 em roedores) e também nos neurônios (EAC1). A dopamina é um neurotransmissor que exerce ações sobre os circuitos neuronais pela modulação relativamente lenta da neurotransmissão rápida mediada pelo glutamato e pelo GABA. Os neurônios dopaminérgicos são vitais para diferentes funções do SNC tais como movimentos voluntários, regulação do sono, processos de aprendizado e memória, atenção e recompensa (Beaulieu e Gainetdinov, 2011; Carlsson, 1997; Missale et al., 1998; Snyder et al., 1970). Os receptores dopaminérgicos são todos metabotrópicos e classificados em D1 e D2. Os receptores D1 incluem o D1 e D5 e são acoplados a estimulação da adenilado ciclase via proteína G estimulatória (Gs). Os receptores D2 compreendem D2, D3 e D4 e são acoplados a proteínas G inibitória (Gi) e, portanto inibem a adenilato ciclase. A adenosina é um nucleosídeo pertencente ao sistema purinérgico que não atua como um neurotransmissor, mas como um neuromodulador cuja função é controlar a excitabilidade neuronal e a liberação de neurotransmissores (Fredholm et al., 2011). Os receptores para adenosina foram classificados em A1 e A3 que são acoplados a proteína G inibitória e os receptores A2A e A2B que são acoplados a proteína G estimulatória. Os receptores A1 e A2A são os mais expressos no SNC, sendo o receptor A1 distribuído em todo o encéfalo e o receptor A2A sendo mais restrito aos gânglios da base (Cunha et al., 2005). A liberação de adenosina para o meio extracelular envolve dois principais mecanismos: por meio do catabolismo do ATP liberado por exocitose que sofre ação das enzimas extracelulares denominadas ectonucleotidases e pela ação de

transportadores bidirecionais (Cunha et al., 2001). Quando ocorre um desbalanço energético entre uso e a liberação de energia os níveis de adenosina aumentam intra e extracelularmente. Assim, o aumento da atividade neuronal, situações em que ocorre hipóxia ou isquemia, resultam em elevados níveis de adenosina (Newby et al., 1991). Como a adenosina tende a restabelecer o balanço energético, ela é considerada um metabólito retaliatório bem como um agente neuroprotetor endógeno contra insultos isquêmicos e convulsões (Dinwiddie e Masino, 2001; Fredholm et al., 1996). A acetilcolina (ACh) é um neurotransmissor do sistema colinérgico amplamente distribuído no sistema nervoso periférico, bem como em certas regiões cerebrais. Os receptores neuronais de ACh encontram-se espalhados no sistema nervoso central e periférico. Os receptores de ACh são divididos em duas classes: a) receptores nicotínicos: são canais iônicos controlados por ligantes pelo mecanismo de portões e sua ativação leva a um rápido aumento na permeabilidade celular ao Na⁺ e K⁺, despolarização e excitação (abertura rápida do canal iônico). Estes receptores são encontrados na periferia e na junção neuromuscular, na sinapse ganglionar, e também no cérebro; b) receptores muscarínicos: são metabotrópicos e encontram-se associados a uma proteína G. Cinco subtipos de receptores muscarínicos foram detectados por clonagem molecular. Todavia, os receptores definidos farmacologicamente através da ação de antagonistas são três apenas (M1, M2 e M3). Os receptores M1 são encontrados nos gânglios autônomos, em neurônios do sistema nervoso central e nas células parietais gástricas e aparentemente medeiam os efeitos excitatórios da ACh. Os receptores M2 e M3 localizam-se nas glândulas secretoras, músculo liso e no sistema nervoso central e relacionam-se com os efeitos excitatórios da ACh.

Objetivos

Esse projeto interdisciplinar e interinstitucional procurou buscar pesquisadores que já tenham experiência nos temas a serem desenvolvidos dentro das linhas de pesquisa propostas. Dentro desse contexto o projeto tem os seguintes objetivos: Caracterizar temporalmente em diversos modelos experimentais processos de morte celular (apoptose e necrose) e níveis extracelulares de glutamato; Identificar alterações na expressão de receptores ionotrópicos e transportadores de glutamato em córtex, tálamo, hipocampo e amígdala, bem como alterações em subfrações isoladas nos diversos modelos estudados; Investigar o efeito neuroprotetor de antagonistas de receptores glutamatérgicos ionotrópicos, antagonistas adenosinérgicos e drogas como a metilprednisolona, sobre as alterações de memória, ansiedade, atividade exploratória e neuroquímicas apresentadas; Avaliar o efeito neuroprotetor da cafeína em modelo experimental de demência esporádica e a participação do fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF) e seu receptor TrkB nesses efeitos.

Materiais e Métodos

1 - Modelo de Doença de Parkinson 1.1 - Culturas de células da linhagem SH-SY5Y- protocolo de neurodegeneração induzido pela 6-OHDA. As células proliferativas da linhagem de neuroblastoma humana SH SY5Y serão diferenciadas em neurônios dopaminérgicos pela incubação com 10 μ M ácido retinóico durante 7 dias. De acordo com nossos resultados publicados previamente, a partir desse protocolo as células aumentam sua vulnerabilidade à morte celular pela 6- OHDA (Lopes et al., 2010). 1.2 Modelo experimental in vivo Por meio de cirurgia estereotáxica sob anestesia, será feita infusão unilateral de uma curva de 6-OHDA (0.75; 1.5; 3.3 μ g/ μ L) para obter a concentração mínima para indução dano às células TH-positivas na substância nigra de ratos. Será realizado o teste de assimetria rotacional com metilfenidato (40 mg/kg, intraperitonal) como liberador de dopamina para verificar o dano causado pela 6-OHDA. Pela contagem de rotações no lado ipsilateral é possível detectar a presença de sinais de hemiparkinsonismo, pois a droga liberadora de dopamina induz rotações no lado da lesão (ipsilateral). O teste de motricidade em grade (footfault) também será realizado para confirmar os sinais de hemiparkinsonismo (Shimohama et al., 2003). 2 Modelo experimental de Epilepsia 2.1 Modelos de crises epiléticas prolongadas induzidas por LiCl-pilocarpina Aos 15 dias pós-natal (P15), os animais receberão uma injeção intraperitonal de cloreto de lítio (3 mEq/kg Nuclear, Brasil) 12-18 h antes da administração subcutânea de pilocarpina (60 mg/kg RBI, USA) (Hirsch et al., 1992). Os animais controles receberão injeção subcutânea de salina (0,9 g%). Serão utilizados somente os animais que apresentarem o padrão de status epilepticus (SE) descrito por Hirsch et al. (1992). Os animais serão divididos em três grupos: o primeiro grupo será destinado as avaliações neuroquímicas, o segundo as avaliações morfológicas e o terceiro as avaliações comportamentais. Cada grupo experimental será misturado de modo a conter animais de diferentes mães. 3 Modelos experimentais da Doença de Alzheimer 3.1 - Culturas de neurônios de hipocampo de ratos: neurodegeneração pelo peptídeo beta amilóide (A β 1-42) Neurônios cultivados de hipocampo de ratos serão obtidos a partir de embriões com 18-19 dias de idade mortos sob

anestesia. No 7º dia em cultura os neurônios serão expostos ao peptídeo beta-amilóide fragmento Aβ1-42. Previamente nós publicamos que esse peptídeo é capaz de promover a perda de proteínas sinápticas e de microtúbulos após 12 horas de incubação sem causar ainda morte neuronal. A morte neuronal é observada após 48 horas de incubação (Canas et al., 2009).

3.2 Modelo de demência esporádica induzido pela estreptozotocina (STZ). Ratos machos então receberão uma infusão bilateral intracerebroventricular de 5 µL de streptozotocina (STZ, 3 mg/kg) ou veículo (solução salina) sob anestesia. Após a cirurgia, os animais serão colocados em uma placa aquecida para manutenção da temperatura corporal a $37.5 \pm 0.5^\circ \text{C}$ enquanto se recuperam da anestesia.

4 - Identificação de novos alvos moleculares envolvidos na neurodegeneração.

4.1 Medidas de viabilidade celular

Nas culturas celulares serão utilizados marcadores de viabilidade colorimétricos como MTT (Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide) e lactato desidrogenase nos diferentes protocolos de neurotoxicidade em culturas de células.

4.2 Imunocitoquímica

As culturas celulares serão fixadas e diferentes anticorpos e corantes fluorescentes serão utilizados para análise de viabilidade celular tais como: DAPI (corante nuclear); Iodeto de propídeo; Syto-13; anticorpo fluoro PAN (marcador múltiplo para axônios, dendritos e corpo celular de neurônios). As células também serão marcadas com NeuN (núcleo neuronal), MAP-2, sinaptofisina e SNAP-25. A análise será feita por microscopia de fluorescência e quando múltiplas marcações forem realizadas será feita por microscopia confocal.

4.3 Imunohistoquímica

Os cérebros dos animais submetidos aos modelos experimentais de neuropatologias serão fixados com paraformaldeído e processados para análise com os seguintes marcadores ou anticorpos: Fluoro Jade C (degeneração neuronal), DAPI (marcador nuclear), GFAP e aquaporina-4 (marcadores astrocitários), CD11b (marcador de microglia), NeuN (marcador de núcleos de neurônios). Nos modelos de epilepsia ainda serão analisadas as proteínas dos receptores e transportadores glutamatérgicos. A degeneração da substância nigra no modelo experimental da Doença de Parkinson será feita por marcação com anticorpos para tirosina hidroxilase (TH) e transportador vesicular de dopamina (DAT). A análise será realizada por microscopia de fluorescência e confocal.

4.4 Espectrometria de massas

A identificação de novos alvos protéicos de neurodegeneração será feita pela análise dos extratos celulares tratados com 6-OHDA e Aβ1-42. Nos modelos in vivo (Epilepsia, Doença de Parkinson e Alzheimer) serão preparadas frações subcelulares (densidades pós-sinápticas, sinaptossomas e frações extrasinápticas) de diferentes regiões cerebrais para a análise. Nosso grupo de pesquisa já tem ampla experiência em preparações de frações subcelulares do sistema nervoso central (Vinadé et al., 2003; Porciúncula et al., 2002).

4.5 - Immunoblotting

A detecção de alterações no imunoconteúdo de diferentes proteínas será feita nos extratos das células cultivadas e nas frações subcelulares de diferentes regiões cerebrais (densidades pós-sinápticas, sinaptossomas e frações mitocondriais) ou extratos celulares (fração citosólica e mitocondrial) oriundas dos modelos experimentais. As preparações para extração/separação de proteínas serão tratadas com DTT (DL-Dithiothreitol). A dosagem de proteínas da amostra será feita pelo método do Ácido Bicinconínico (BCA), na faixa de 20-2000 µg/mL, utilizando-se filtro de absorbância de 562nm em Leitora de placas de Elisa compatível com Biotek modelo ELX800, sendo que este método é compatível com detergentes e agentes desnaturantes e possui baixa variabilidade. A separação das proteínas será feita por eletroforese seguida de imunodetecção com a utilização de anticorpos de acordo com o modelo de neuropatologia a ser estudado.

5. Estratégias de neuroproteção

5.1 Antagonistas seletivos para os receptores de adenosina A2A

Os antagonistas SCH 58261 e KW 6002 serão administrados no modelo experimental de Epilepsia e nas culturas de células de neuroblastoma diferenciadas (SH- SY5Y) incubadas com 6-OHDA.

5.2 Cafeína

A cafeína será administrada na água de beber (0,3 e 1 mg/mL) quinze dias antes dos animais serem submetidos ao modelo experimental de demência esporádica pela administração intracerebro ventricular de estreptozotocina. A administração de cafeína será baseada em trabalhos publicados pelo nosso grupo de pesquisa onde a dose e o esquema de administração já apresentaram efeitos benéficos (Botton et al., 2010; Costa et al., 2008b).

6. Análise comportamental

6.1 - Exploração em um campo aberto

6.2 - Tarefa de Reconhecimento de Objeto Novo

6.3 - Tarefa da Esquiva Inibitória

7. Estudos de Doenças do Neurônio Motor

Esclerose Lateral Amiotrófica

7.1 - Medidas eletromiográficas: Preparação nervo frênico-diafragma de camundongo

Camundongos serão anestesiados por via intraperitoneal com ketamina/Xilasina (100 mg/kg) e posteriormente exsanguinados. Após a dissecação para a retirada do hemidiafragma esquerdo e direito e isolamento dos nervos frênicos correspondentes, as preparações serão montadas essencialmente como descrito por Dal Belo et al. (2005). As contrações musculares resultantes de estímulos elétricos maximais serão registradas em polígrafo de quatro canais, por meio de transdutores isométricos (AVS Equipamentos LTDA, São Carlos-SP, Brasil). Preparação músculo

biventer cervicis de pintainho A preparação será isolada e montada de acordo com o método descrito por Dal Belo et al (2005). Os pintainhos serão anestesiados com hidrato de cloral (3 mg/kg) e, após o isolamento, o músculo será suspenso em uma cuba de 5 ml, contendo solução nutritiva de Krebs. A solução permanecerá areada de modo constante com carbogênio e mantida a 37 °C. As contrações musculares resultantes de estímulos elétricos maximais e as contraturas em resposta à adição de ACh (120 µM), CCh (8 µM) e KCl (13,4 mM) serão registradas em polígrafo de quatro canais, por meio de transdutores isométricos (AVS Equipamentos LTDA, São Carlos-SP, Brasil).

Preparação músculo diafragma de camundongo cronicamente desnervado A desnervação será realizada essencialmente como descrito por Goularte et al. (1995). Após anestesia com ketamina/xilasina (100mg/kg), os animais serão colocados em decúbito lateral direito, e será feita uma incisão de aproximadamente 0,5 cm, perpendicular à linha mediana, no terço inferior da região lateral do tórax esquerdo, previamente depilada. A incisão compreendida a pele e a camada muscular delgada que recobre esta região. Ao longo do espaço intercostal cortar-se-á então, com tesoura, os músculos intercostais. Com um bastão de vidro de extremidade recurvada, prender-se-á o nervo que, tracionado para as bordas da incisão, será seccionado com tesoura. Em seguida, suturar-se-á apenas a pele por meio de um ou dois pontos, conforme a extensão da incisão.

Decorridos 15 dias, montar se-á a preparação com o hemidiafragma, segundo a técnica adotada para o nervo frênico-diafragma de camundongo.

7.2 - Medidas eletrofisiológicas Medida do tamanho e do conteúdo quântico em placa motora Para a medida do tamanho quântico e do conteúdo quântico será usada a preparação nervo frênico diafragma de camundongo que será montada de acordo com Dal Belo et al. (2005). Após a retirada dos hemidiafragmas como descrito para a preparação nervo-frênico, o mesmo será afixado em uma placa recoberta com Sylgard, por meio de alfinetes entomológicos. O músculo será seccionado com a ajuda de uma lamina de bisturi para prevenir às contrações musculares, na região adjacente a placa motora (preparação músculo cortado). A preparação banhada em solução de Krebs será constantemente aerada com carbogênio e afixada em uma cuba de dois ml dentro da mesa antivibratória (TMC, TMC Inc., MA, USA). O coto distal do nervo frênico será estimulado por meio de um eletrodo de sucção (0,2Hz, 0,1ms) para ageração dos potenciais de placa terminal. A análise dos registros e o cálculo do conteúdo quântico será feita pelo método direto usando-se o software WinWCP (University of Strathclyde, Glasgow, UK) de acordo como descrito por Dal Belo et al., (2005).

7.3 - Análises bioquímicas Medida da atividade anticolinesterásica. A inibição in vitro da acetilcolinesterase será avaliada de acordo com os ensaios descritos por Elmann et al (1961). Para tanto, os reagentes **Ácido 5,5'-ditiobis(2-nitrobenzoico), Acetylthiocholine iodide e Neostigmine bromide deverão ser usados** nos músculos controle salina e nos tratados. Estes serão homogeneizados em tampão fosfato salina em temperatura ambiente (pH 7,0) e centrifugados a 500 rpm por 5 minutos, a 4° C. O sobrenadante será utilizado para determinação da atividade da acetilcolinesterase em espectrofotômetro a 412 nm. (Thermo Scientific Evolution 60S UV - Visible Spectrophotometer, Espectrofotometro NanoVue Plus). O protocolo será realizado durante 6 horas, de hora em hora, para determinar a inibição por tempo.

Medida da liberação do peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP) As preparações neuromusculares controle e tratada in vivo e in vitro serão homogeneizadas conforme descrito acima e alíquotas do sobrenadante e do precipitado serão retiradas para dosagem de proteínas pelo método de Bradford (Bradford, 1976) ou outro. Amostras do sobrenadante e precipitado serão dissolvidas em solução desaturante (SDS 4%, EDTA 2.1 mM, Tris 50 mM, β-mercaptoetanol 5% e glicerol 20%) e as proteínas separadas por eletroforese uni-dimensional (SDS-PAGE 7,5%) serão posteriormente eletrotransferidas para membrana de nitrocelulose (Moreira et al., 2010) usando o sistema de eletroforese/eletrotransferência BioRad. As membranas de nitrocelulose contendo as proteínas eletrotransferidas serão incubadas com o anticorpo policlonal anti-CGRP (Abcam Inc.) ou outro para imunodeteção por western-blotting via conjugação com fosfatase alcalina e/ou peroxidase

Resultados Esperados

Fortalecer linhas de pesquisa emergentes e integrá-las com linhas de pesquisa que estão iniciando pela a interação entre os grupos de pesquisa das três instituições envolvidas. - Identificar novos alvos moleculares e estabelecer estratégias de neuroproteção contra a neurodegeneração e alterações cognitivas nos modelos experimentais das neuropatologias estudadas; - Promover encontros semanais e/ou mensais para a discussão dos resultados do projeto e para proporcionar uma maior interação entre os estudantes de graduação e pós-graduação das instituições que participam do projeto. - Proporcionar a divulgação regional, nacional e internacional dos resultados

dos projetos por meio de participação em congressos, seminários, publicação de artigos científicos e formação de recursos humanos.

Relação Ensino, Pesquisa, Extensão

A relação Ensino, Pesquisa e Extensão neste projeto se dará por meio da inserção de alunos da graduação ao laboratório de pesquisa, onde aprenderão as metodologias e conteúdos pertinentes que poderão fazer parte dos TCCs e Estágios curriculares e extracurriculares. Os seminários de dados e da literatura referente ao projeto também serão ocasiões de interação das atividades de Ensino e Pesquisa. A Extensão Universitária proveniente poderá se evidenciar na divulgação local e regional do projetos por meio de participação em palestras nas escolas, programas de radio e nos eventos das comunidades onde os pesquisadores estão lotados.

Geração de Resíduos

Este projeto não gera resíduos tóxicos, os resíduos de laboratório serão processados de acordo com a política de tratamento de resíduos do campus Sao Gabriel

Referências

Andlin-Sobocki, P., Jönsson, B., Wittchenc, H. U., Olesen, J. (2005). Cost of disorders of the brain in Europe. *Eur J Neurol* 12 (Sup pl. 1): 1-27. Bandyopadhyay, S., Baptista, M. J., Ringe, D., Petsko, G. A., Cookson, M.R. (2004). The Parkinson s Disease Protein DJ -1 is Neuroprotective Due to Cysteine-Sulfenic Acide-Driven Mitochondrial Localization. *Proceedings of the National Acedemy of Sciences of the United States of America* v. 101, 91 03 9108. Beaulieu, J. M., Gainetdinov, R. R. (2011). The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. *Pharmacol Rev.* 63, 182-217. Botton, P. H, Costa, M. S., Ardaís, A. P., Mioranza, S., Souza, D. O., da Rocha, J. B., Porciúncula, L. O. (2010). Caffeine prevents disruption of memory consolidation in the inhibitory avoidance and novel object recognition tasks by scopolamine in adult mice. *Behav Brain Res.* 214, 254-259. Bradford M.M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 24854. Canas, P. M., Porciúncula, L. O., Cunha, G. M., Silva, C. G., Machado, N. J., Oliveira, J. M., Oliveira, C. R., Cunha, R. A. (2009). Adenosine A2A receptor blockade prevents synaptotoxicity and memory dysfunction caused by beta -amyloid peptides via p38 mitogen-activated protein kinase pathway. *J Neurosci.* 29, 14741-14751. Carlsson, A. (1987). Perspectives on the discovery of central monoaminergic neurotransmission. *Annu Rev Neurosci* 10, 19 40. Costa, M. S., Botton, P. H., Mioranza, S., Souza, D. O., Porciúncula, L.O. (2008a). Caffeine prevents age-associated recognition memory decline and changes brain-derived neurotrophic factor and tirosine kinase receptor (TrkB) content in mice. *Neuroscience* 153, 1071-1078. Costa, M. S., Botton, P. H., Mioranza, S., Ardaís, A. P., Moreira, J. D., Souza, D. O., Porciúncula, L. O. (2008b). Caffeine improves adult mice performance in the object recognition task and increases BDNF and TrkB independent on phospho -CREB immunocontent in the hippocampus. *Neurochem Int.* 53, 89 -94. Cunha, R. A., Agostinho, P. M. (2010). Chronic caffeine consumption prevents memory disturbance in different animal models of memory decline. *J Alzheimers Dis.* 20 Suppl 1:S95-116. Dal Belo, C ; Leite, G ; Toyama, M ; Marangoni, S ; Corrado, A ; Fontana, M ; Southan, A ; Rowan, E ; Hyslop, S ; Rodrigues-Simioni, L . Pharmacological and structural characterization of a novel phospholipase A from venom. *Toxicon, Escócia*, v. 46, n. 7, p. 736 -750, 2005. Dunwiddie, T. V., and Masino, S. A. (2001). The role and regulation of adenosine in the central nervous system. *Annu. Rev. Neurosci.* 24, 3155. Ellmann G. L. Courtney, K. D., Andres, V. Featherston, R. M. (1961) A new and rapid colorimetric determination of acetylchol inesterase activity *Biochimical Pharmacologic.* 51:570-1. Fredholm, B.B., Ijzerman, A.P., Jacobson, K.A., Linden, J., Müller, C. E. (2011). International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXXI. Nomenclature and classification of adenosine receptors- an update. *Pharmacol Rev.* 63, 1 -34. Goularte F.C., Cruz-Höfling M.A., Cogo J.C., Gutiérrez J.M., Rodrigues-Simioni L. (1995) The ability of specific antivenom and low temperature to inhibit the myotoxicity and neuromuscular block induced by *Micrurus nigrocinctus* venom. *Toxicon* 33: 679-689. Hirsch, E., Baram, T.Z., Snead, O.C., 3rd, (1992). Ontogenic study of lithium-pilocarpine-induced status epilepticus in rats. *Brain Res.* 583, 120-126. Izquierdo, I., Bevilaqua, L.R., Rossato, J.I., Bonini, J.S., Medina, J.H., Cammarota, M. (2006). Different molecular cascades in different sites of the brain control memory consolidation. *Trends Neurosci.* 29, 496 -505. Jones, R. S., Waldman, A. D. (2004). 1H-MRS evaluation of metabolism in Alzheimer""s disease and vascular dementia. *Neurol Res* 26: 488 95. Lopes, F. M., Schröder, R., da Frota, M. L. Jr., Zanutto-Filho, A., Müller, C. B., Pires, A. S., Meurer, R. T., Colpo, G. D., Gelain, D. P., Kapczinski, F., Morei ra, J.C., Fernandes, Mda. C., Klamt, F. (2010). Comparison between proliferative and neuron-

like SH-SY5Y cells as an in vitro model for Parkinson disease studies. Brain Res. 1337, 85-94.

Maragakis, N.J., Rothstein, J.D. (2004). Glutamate transporters: animal models to neurologic disease. Neurobiol Dis. 15, 461 -473.

Missale, C., Nash, S. R., Robinson, S. W., Jaber, M., Caron, M. G. (1998). Dopamine receptors: from structure to function. Ph ysiol Rev 78, 189225.

Moreira JD, Knorr L, Thomazi AP, Simão F, Battú C, Osés JP, Gottfried C, Wofchuk S, Salbego C, Souza DO, Perry ML, Vinadé L. (2010) Dietary omega -3 fatty acids attenuate cellular damage after a hippocampal ischemic insult in adult rats. J. Nutr Biochem. 21(4): 351 -356.

Newby, A. C. (1991). Adenosine: Origin and clinical roles. Adv. Exp. Med. Biol. 309A, 265270.

Ozawa, S., Kamiya, H., Tsuzuki, K. (1998). Glutamate receptors in the mammalian central nervous system. Prog Neurobiol. 54, 581-618.

Porciúncula, L.O., Vinadé, L., Wofchuk, S., Souza, D. O. (2002a). Guanine based purines inhibit [(3)H]glutamate and [(3)H]AMPA binding at postsynaptic densities from cerebral cortex of rats. Brain Res. 928, 106-112.

Porciúncula, L. O., Schmidt, A.P., Coitinho, A. S., Vinadé, L., Izquierdo, I., Rocha, J. B., S ouza, D. O. (2002b). Intrahippocampal infusion of ebselen impairs retention of an inhibitory avoidance task in rats. Eur J Pharmacol. 451, 165-169.

Segovia, G., Porras, A., Del Arco, A., Mora, F. (2001). Glutamatergic neurotransmission in aging: a critical perspective. Mech Ageing Dev. 122, 1 -29

Shimohama, S., Sawada, H., Kitamura, Y., Taniguchi, T. (2003). Disease model: Parkinson s disease. Trends in Molecular Medicine 9, 360 -365.

Snyder, S. H. Taylor, K. M., Coyle, J. T., Meyerhoff, J. L. (1970). The role of brain dopamine in behavioral regulation and the actions of psychotropic drugs. Am J Psychiatry 127, 199207.

Vinade, L., Chang, M., Schlieff, M. L., Petersen, J. D., Reese, T. S., Tao -Cheng, J. H., Dosemeci, A. (2003). Affinity purification of PSD -95-containing postsynaptic complexes. J Neurochem. 87, 1255-1261

Possui Bolsistas
 Não, mas vou pleitear em alguma chamada

Unidades e Cursos

Unidade	Curso
Campus São Gabriel	Biotecnologia (SGBIO)
Campus São Gabriel	Ciências Biológicas (SGBIC)
Campus São Gabriel	Doutorado em Ciências Biológicas (SGDCB)
Campus São Gabriel	Mestrado em Ciências Biológicas (SGMCB)

Equipe Executora

Nome	E-mail	Tipo	Função	CH Semanal	Período Participação
Chariston Andre Dal Belo	chariston.belo@unifesp.br	Colaborador Externo	Colaborador	2	De 02/06/2025 a 31/05/2029
Lucia Helena do Canto Vinade	lucivinade@unipampa.edu.br	Docente	Coordenador	1	De 02/06/2025 a 31/05/2029

Parcerias

Instituição	Descrição	Acordo de Parceria'	Convênio Firmado'	Número do Convênio
Universidade Federal de Sao Paulo	Interacao cientifica	Não	Não	

Cronograma

Data Início	Data Fim	Atividade	Carga Horária	Local	Membros
02/06/2025	31/05/2029	Planejamento de experimentos	20	Lab 124 e online	Chariston Andre Dal Belo, Lucia Helena do Canto Vinade

Planejamento de Despesas

Despesas de Custeio	Opção	Valor Estimado (R\$)	Fonte de Financiamento	Especificações
Auxílio a Estudantes (Bolsas)	Necessita	100.000,00	Edital Interno e Externo	
Diárias	Não Necessita	0,00		
Passagens	Não Necessita	0,00		
Material de Consumo	Necessita	100.000,00	Edital Interno e Externo	
Serviços de Terceiros (Pessoa Física)	Necessita	15.000,00	Edital Interno e Externo	
Serviços de Terceiros (Pessoa Jurídica)	Necessita	15.000,00	Edital Interno e Externo	
Outros	Necessita	20.000,00	Edital Interno e Externo	
Total		250.000,00		

Despesas de Capital	Opção	Valor Estimado (R\$)	Fonte de Financiamento	Especificações
Equipamentos e Material Permanente	Necessita	100.000,00	Edital Interno e Externo	

Total Geral de Despesas (R\$): **350.000,00**

Alternativas caso a fonte de financiamento não se confirme: O projeto seguira com os recursos ate entao existentes e ate onde houver recursos

Documento gerado por: Lucia Helena Do Canto Vinade **Data/Hora:** 26/09/2026 às 23:11:38