



XI Oficina de Inverno de Bioquímica Toxicológica

De 26 de Set. a 01 de Out. de 2022
Universidade Federal de Santa Maria



MATERIAL DIDÁTICO

XI OFICINA DE INVERNO DE BIOQUÍMICA TOXICOLÓGICA

REALIZAÇÃO:

Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica
(PPGBTox) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)

COMISSÃO ORGANIZADORA:

Profa. Nilda Berenice de Vargas Barbosa

Profa. Daniela Bitencourt Rosa Leal

Thayanara Cruz da Silva (Presidenta)

Cássia Pereira Delgado

Cassiano Ricardo Schavinski

Evelyne da Silva Brum

Jaíne Ames

João Vitor de Borba

Julia Canzian Marion

Maria Fernanda Pessano Fialho



APRESENTAÇÃO:

A I Edição da Oficina de Inverno de Bioquímica Toxicológica ocorreu no ano de 2011. Desde então, anualmente, ocorrem edições desta oficina ofertada nas férias de inverno (julho/agosto) da UFSM, com exceção do ano de 2020, no qual a oficina não pôde ser executada em decorrência da pandemia de COVID-19. Em 2021, realizamos uma Oficina inédita de maneira online, a qual possibilitou um grande número de inscritos de universidades de todo o Brasil.

Em 2022 optamos por manter o formato online, por acreditar em um maior alcance e visibilidade do evento. Embora tradicionalmente a oficina ocorra nos meses mais frios, este ano teremos uma edição em plena primavera, e assim começou nossa jornada de criação. Para quem ainda não conhece nosso campus da cidade de Santa Maria, esta época do ano costuma ser estonteante. Acompanhar a floração dos ipês (*Handroanthus sp.*), que se encontram por todo o campus, além de lindo é inspirador, e por se tratar de uma planta nativa, que simboliza muito esta época do ano, escolhemos essa árvore e essas flores para nos simbolizar na XI Oficina de Inverno de Bioquímica Toxicológica.

Para colocar essas ideias na ilustração, nossa aluna de doutorado Cássia Delgado(@cassiapdelgado), realizou e executou o projeto. Outras situações também nos inspiraram. São elas: o pôr do sol nestes meses, que costuma ter muitas cores vibrantes, e não poderia passar despercebido; há também a floração das Três Marias (*Bougainvillea glabra*), perto da ponte seca em frente ao RU1 (Restaurante universitário um), onde recomendamos um momento de contemplação.



OBJETIVO:

Este evento busca estimular a integração de alunos de graduação de diferentes instituições de ensino superior, e visa desenvolver o espírito científico dos alunos, despertando o interesse pela carreira acadêmica e científica, assim como permitir a familiarização com métodos experimentais empregados no PPGBTox. Além disso, a Oficina proporciona ao pós-graduando do PPGBTox a possibilidade de vivenciar a experiência de ser docente e organizador de eventos como um preparatório para sua carreira profissional.



PROGRAMAÇÃO:

DIA 1: Segunda-feira, 26 de setembro de 2022

No dia de abertura da XI Oficina de Inverno de Bioquímica Toxicológica, teremos convidados ilustres. Os convidados irão abordar diferentes tópicos, que objetivam esclarecer dúvidas e trazer novas informações sobre as oportunidades que a Universidade Federal de Santa Maria poderá proporcionar a você.

18:30 – 18:50 Abertura

Instruções Gerais sobre a XI Oficina de Inverno de Bioquímica Toxicológica

18:50 – 19:10 PPGBTox: da Criação à Excelência

Palestra ministrada pelas professoras Dra. Daniela Bitencourt Rosa Leal e Nilda Berenice de Vargas Barbosa, atuais coordenadoras do PPGBTox.

19:10 - 19:30 O que o PPGBTox Dispõe para os Alunos de Graduação e da Pós-Graduação?

Palestra ministrada pelo professor Dr. Félix Alexandre Antunes Soares, Pró-Reitor Adjunto da Graduação.

19:30 – 19:50 O Desafio da Permanência: Ações de Assistência Estudantil da UFSM

Palestra ministrada pela professora Dra. Gisele Martins Guimarães, representante da Pró-reitora de Assuntos Estudantis (PRAE).

19:50 – 20:00 Intervalo

20:00 – 20:20 Inovação e Empreendedorismo na UFSM

Palestra ministrada pela professor Dr. Daniel Pinheiro Bernardon, diretor da AGITTEC (Agência de Inovação e Transferência de Tecnologia).

20:20 – 20:40 As Possibilidades de Mobilidade Acadêmica e Internacional

Palestra ministrada pelo professor Dr. Paulo Bayard Dias Gonçalves, representante da Secretaria de Apoio Internacional (SAI).

20:40 – 20:50 Pesquisa e pós graduação na UFSM

Palestra ministrada pela professora Dra. Cristina Wayne Nogueira, Pró-Reitora da Pós-Graduação e Pesquisa.

20:50 – 21:20 Espaço Aberto para Perguntas e Discussões

21:20 – 21:30 Avisos Gerais e Encerramento



PROGRAMAÇÃO:

DIA 2: Terça-feira, 27 de setembro de 2022

O segundo dia da XI Oficina de Inverno de Bioquímica Toxicológica será comandado pelos novos professores do PPGBTox. Assim, a Dra. Ana Lúcia Anversa Segatto e o Dr. Dennis Maletich Junqueira irão nos contar sobre como foi a sua trajetória até ingressar no nosso programa, divulgar os seus trabalhos atuais e as abordagens que serão utilizadas nos seus futuros grupos de pesquisas e colaborações.

18:30 Abertura e Avisos Gerais

18:40 – 19:30 Mecanismos Evolutivos e Funcionais em Genética e Biologia Molecular de Plantas

Palestra ministrada pela professora Dra. Ana Lúcia Anversa Segatto.

19:30 – 19:45 Espaço Aberto para Perguntas e Discussões (Bloco 1)

19:45 – 20:00 Intervalo

20:00 – 20:50 Bioinformática Aplicada à Evolução e Disseminação de Vírus

Palestra ministrada pelo professor Dr. Dennis Maletich Junqueira.

20:50 – 21:05 Espaço Aberto para Perguntas e Discussões (Bloco 2)

21:30 Avisos Gerais e Encerramento



PROGRAMAÇÃO:

DIA 3: Quarta-feira, 28 de setembro de 2022

A programação do terceiro dia da XI Oficina de Inverno de Bioquímica Toxicológica será sob o comando da professora Dra. Daiana Silva de Ávila e seu grupo de pesquisa. Atualmente, Daiana é professora associada da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA, campus Uruguaiiana), professora colaboradora do nosso programa e líder do Grupo de Pesquisa em Bioquímica e Toxicologia em *Caenorhabditis elegans* (GBToxCe). Nessa noite, saberemos um pouco mais sobre o trabalho que a professora Daiana e seu grupo de pesquisa vem desenvolvendo.

18:30 Abertura e Avisos Gerais

18:40 – 19:30 Módulo Teórico: *Caenorhabditis elegans* como Modelo para Estudos de Toxicologia Ambiental

Palestra ministrada pela professora Dra. Daiana Silva de Ávila.

19:30 – 19:45 Espaço Aberto para Perguntas e Discussões (Bloco 1)

19:45 – 20:00 Intervalo

20:00 – 21:15 Módulo Prático: Toxicologia do Tolueno em Exposição Aérea em *Caenorhabditis elegans*

Palestra ministrada pelos alunos de Pós-Graduação do PPG Bioquímica da Universidade Federal do Pampa, sob orientação da professora Dra. Daiana Silva de Ávila.

Alunos: Marcell Vallandro Soares, Daniela Teixeira Rodrigues e Gabriel Pedroso Viçozzi.

21:15 – 21:30 Espaço Aberto para Perguntas e Discussões (Bloco 2)

21:30 Avisos Gerais e Encerramento



PROGRAMAÇÃO:

DIA 4: Quinta-feira, 29 de setembro de 2022

O quarto dia da XI Oficina de Inverno de Bioquímica Toxicológica terá como palestrante o professor Dr. Jeferson Luis Franco e seu grupo de pesquisa. Atualmente, Jeferson é professor associado da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA, campus São Gabriel) e professor colaborador do nosso programa, o PPGBTox. O palestrante apresenta grande interesse nas áreas de Neurociências, Neuroquímica, Bioquímica e Toxicologia, atuando também na área de Ecotoxicologia e Ciências Ambientais. Nessa noite, conheceremos um pouco mais sobre o trabalho que o professor Jeferson e seu grupo de pesquisa vem desenvolvendo.

18:30 Abertura e Avisos Gerais

18:40 – 19:30 Módulo Teórico: *Peixe-zebra Embrio-larval como Organismo Modelo*

Palestra ministrada professor Dr. Jeferson Luis Franco

19:30 – 19:45 Espaço Aberto para Perguntas e Discussões (Bloco 1)

19:45 – 20:00 Intervalo

20:00 – 21:15 Módulo Prático: *Peixe-zebra Embrio-larval como Organismo Modelo*

Palestra ministrada pelas alunas de Pós-Graduação do PPG Bioquímica da Universidade Federal do Pampa (Campus São Gabriel), sob orientação do professor Dr. Jeferson Luis Franco.

Alunas: Luana Pagonotto Leandro e Maria Vitória Takemura Mariano

21:15 – 21:30 Espaço Aberto para Perguntas e Discussões (Bloco 2)

21:30 Avisos Gerais e Encerramento



PROGRAMAÇÃO:

DIA 5: Sexta-feira, 30 de setembro de 2022

No quinto dia da XI Oficina de Inverno de Bioquímica Toxicológica, teremos a palestra da Dra. Gabriela Trevisan, professora do Departamento de Farmacologia da Universidade Federal de Santa Maria, e uma das mais novas colaboradoras do nosso programa, o PPGBTox. A palestrante é líder do Laboratório de Farmacologia da Dor (FarmacoDor), o qual tem ênfase em farmacologia da inflamação e dor. Nessa noite, saberemos um pouco mais sobre o trabalho que a professora Gabriela e seu grupo de pesquisa vem desenvolvendo.

18:30 Abertura e Avisos Gerais

18:40 – 19:30 Módulo Teórico: Testes Experimentais Utilizados para Avaliar a Nocicepção e Comportamentos Tipo-Ansioso e Depressivo em Modelos de Esclerose Múltipla em Camundongos

Palestra ministrada pela professora Dra. Gabriela Trevisan.

19:30 – 19:45 Espaço Aberto para Perguntas e Discussões (Bloco 1)

19:45 – 20:00 Intervalo

20:00 – 21:15 Módulo Prático: Testes Experimentais Utilizados para Avaliar a Nocicepção e Comportamentos Tipo-Ansioso e Depressivo em Modelos de Esclerose Múltipla em Camundongos

Palestra ministrada pelos alunos de Pós-Graduação do PPG Farmacologia da Universidade Federal de Santa Maria, sob orientação da professora Dra. Gabriela Trevisan.

Alunos: Brenda da Silva, Diulle Spat Peres, Fernanda Tibolla Viero, Leonardo Pereira, Nathály Andriguetto, Sabrina Qder Kudsi e Patrícia Rodrigues.

21:15 – 21:30 Espaço Aberto para Perguntas e Discussões (Bloco 2)

21:30 Avisos Gerais e Encerramento



PROGRAMAÇÃO:

DIA 6: Sábado, 1º de outubro de 2022

No último dia a XI Oficina de Inverno de Bioquímica Toxicológica terá convidados que representam os alunos do PPGBTox de diferentes níveis de formação acadêmica. Esse dia tem como objetivo exemplificar as oportunidades que o nosso programa dispõe, assim como oferecer um espaço para trocas de experiências.

14:00 Abertura e Avisos Gerais

14:10 – 14:40 Vivência na Iniciação Científica
Palestra ministrada pelas alunas de Graduação Amanda Favarin e Lara Marquezin.

14:40 – 15:10 Mobilidade na Graduação
Palestra ministrada pela aluna de Doutorado Me. Cássia Pereira Delgado.

15:10 – 15:40 Vivência no Mestrado
Palestra ministrada pela aluna de Doutorado Me. Bruna Cogo Borin.

15:40 – 16:10 Mobilidade no Doutorado
Palestra ministrada pela aluna de Doutorado Me. Evelyne da Silva Brum.

16:10 – 16:40 Vivência de um Doutorado no Exterior
Palestra ministrada pela aluna de Pós-Doutorado Dra. Bárbara Dotto Fontana.

16:40 – 17:10 Vivência de um Pós-Doutorado no Exterior
Palestra ministrada pela aluna de Pós-Doutorado Dra. Débora Farina Gonçalves.

17:10 – 17:50 Espaço Aberto para Perguntas e Discussões

17:50 - 18:30 Sorteios dos Brindes dos Patrocinadores

18:30 Encerramento



COORDENAÇÃO PPGBTOX GESTÃO 2021/2022:

Coordenadora: Profa. Dra. Daniela Bitencourt Rosa Leal

Contato: daniela.leal@ufsm.br

Vice-Coordenadora: Profa. Dra. Profa. Dra. Nilda Berenice Vargas Barbosa

Contato: nvbarbosa@yahoo.com.br

Secretária: Elvadir Guimarães

Contato: ppgbioqtox@ufsm.br

Os cursos de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica estão localizados em Campus Camobi – UFSM na modalidade Mestrado e Doutorado (presenciais e reconhecidos pelo Ministério da Educação – Portaria n. 609/2019), sendo diurno os seus turnos de funcionamento. A área de conhecimento dos cursos é classificada como Bioquímica Toxicológica.

Os cursos são ofertados em período **Semestral**.

No ano de 2022 o PPGBTox conta com 26 Docentes, 19 alunos de Mestrado, 53 alunos de Doutorado, e 12 alunos de Pós-Doutorado.

Mais informações no site:

<https://www.ufsm.br/cursos/pos-graduacao/santa-maria/ppgbtox/>



LINHAS DE PESQUISA PPGBTOX:

1. Bioquímica Toxicológica e Comparativa

Esta linha investiga aspectos moleculares relacionados à toxicologia de metais, agentes químicos (pesticidas, medicamentos, etc.) em vertebrados e não-vertebrados.

2. Enzimologia

Esta linha utiliza a atividade de enzimas chaves no metabolismo como ferramenta de indicação da exposição e/ou intoxicação a agentes tóxicos tais como metais, solventes orgânicos e outros agentes químicos.

3. Mecanismos Bioquímicos e Moleculares Associados às Patologias

Estuda os mecanismos envolvidos na gênese e progressão de doenças crônico-degenerativas em humanos e em modelos animais com o objetivo de apontar o uso de novas moléculas/compostos como agentes terapêuticos.

4. Síntese, Isolamento, Quantificação e Efeitos Bioquímicos, Farmacológicos e Toxicológicos de Organocalcogênios

Esta linha objetiva a síntese e caracterização de compostos orgânicos contendo calcogênios com potencial terapêutico através de ensaios bioquímicos e toxicológicos.

5. Isolamento, Quantificação e Efeitos Bioquímicos, Farmacológicos e Toxicológicos de Produtos Naturais

Estuda os efeitos de compostos fitoterápicos sobre parâmetros enzimáticos, bioquímicos, comportamentais e toxicológicos. Os efeitos destes compostos servirão como base para possíveis usos terapêuticos.

6. Educação em Ciências: Processos de Ensino e Aprendizagem na Escola e na Universidade

Esta linha visa inserir os alunos de pós-graduação na realidade da educação básica brasileira e prepará-los para o futuro como professores usando a experimentação e seus benefícios em termos cognitivos como argumentos para melhorar o ensino de ciências na educação básica e a elaboração de materiais didáticos diversos (biologia molecular, bioquímica e biologia celular).



PALESTRANTES CONVIDADOS:

DIA 1: Segunda-feira, 26 de setembro de 2022



Nilda Berenice de Vargas Barbosa

Professora da Universidade Federal de Santa Maria

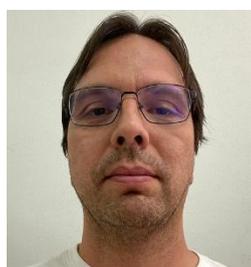
Graduada em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Santa Maria, com mestrado em Ciências Biológicas-Bioquímica pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul e doutorado em Bioquímica Toxicológica pela Universidade Federal de Santa Maria. Atualmente é professora Associada 4 da Universidade Federal de Santa Maria. Suas linhas de pesquisas englobam especialmente: a) antioxidantes como potenciais terapêuticos; b) mecanismos celulares e moleculares envolvidos na patofisiologia do Diabetes mellitus e Doenças neurodegenerativas, c) modelos alternativos. Membro da Rede Nacional Leopoldo de Meis de Educação e Ciência: Novos Talentos da Rede Pública (RNEC), onde participa de atividades voltadas a popularização e melhorias no Ensino de Ciências na Rede Pública, trabalhando com estudantes e professores do ensino fundamental e médio.



Daniela Bitencourt Rosa Leal

Professora da Universidade Federal de Santa Maria

Possui graduação em Curso de Farmácia e Bioquímica pela Universidade Federal de Santa Maria (1994), mestrado em Ciência e Tecnologia Farmacêuticas pela Universidade Federal de Santa Maria (2002) e doutorado em Ciências Biológicas (Bioquímica) pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (2005). Atua como professora associada do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da Universidade Federal de Santa Maria. Tem experiência na área de Farmácia, com ênfase em Imunologia e Bioquímica, atuando principalmente nos seguintes temas: enzimologia, CD39, linfócitos e NTPDase. Orientadora nos Programas de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas e Bioquímica Toxicológica da UFSM.



Félix Alexandre Antunes Soares

Professor da Universidade Federal de Santa Maria

Graduado em Farmácia e Bioquímica - Tecnologia dos Alimentos pela Universidade Federal de Santa Maria (2001), mestrado (2003) e doutorado (2005) em Ciências Biológicas (Bioquímica)

pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Realizou pós-doutorado na Universidade Federal de Santa Maria (2005) em Bioquímica Toxicológica e na Universidade de León na Espanha na área de Biologia Molecular (2009). É membro ordinário da SBBq, membro da International Neurotoxicology Association, e foi Membro Afiliado da Academia Brasileira de Ciências no período (2016-2020). Foi bolsista PVE/CAPES no ano 2018/2019 junto ao Albert Einstein College of Medicine (NYC) atuando como cientista visitante. Atualmente é professor associado da Universidade Federal de Santa Maria. Trabalha na área de Ciências Biológicas (Bioquímica) atuando principalmente nos seguintes temas: neuroproteção e antioxidantes. Também temos projetos de pesquisa na área de educação em ciências em temas relativos à melhoria do ensino de ciências no ensino básico.



Gisele Martins Guimarães

Professora da Universidade Federal de Santa Maria

De formação multidisciplinar, é graduada em Zootecnia pela Universidade Federal de Santa Maria- UFSM, Mestre em Extensão Rural pela mesma instituição e Doutora em Desenvolvimento Rural (PGDR), pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS. É Professora Adjunta na Universidade Federal de Santa Maria no Departamento de Educação Agrícola e Extensão Rural e no Programa de Pós Graduação em Extensão Rural (PPGExR- UFSM). Atua como pesquisadora e consultora técnica nos seguintes eixos temáticos: Desenvolvimento Rural, Extensão e Comunicação Rural, Agroecologia, Agricultura Familiar, Agroindústrias Familiares, Educação e Soberania Alimentar e Economia Solidária. É integrante do Grupo de Pesquisa em Extensão Rural Aplicada - UFSM. É também cantora, intérprete e compositora. Possui disco autoral gravado e é atuante como intérprete nos Festivais do Rio Grande do Sul com participação em vários registros fonográficos. É produtora e apresentadora do quadro "Com a Palavra: o Artista" do Podcast PONTO DE CULTURA, realização do segmento da Cultura Viva do Rio Grande do Sul.



Daniel Pinheiro Bernardon

Diretor da Agência de Inovação e Transferência de Tecnologia (AGITTEC) da Universidade Federal de Santa Maria

Professor Associado 3 da UFSM. Bolsista de Produtividade em Pesquisa PQ-2 do CNPq. Coordenador de Projetos Institucionais de Internacionalização e de PD&I. Coordenador do Comitê de Assessoramento de Inovação, Tecnologia e Empreendedorismo da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS). Editor Convidado da Energies. Editor Associado do Journal of Control, Automation and Electrical Systems (JCAE

SBA/Springer). Vice Coordenador do Comitê Técnico de Sistemas de Potência da SBA. IEEE Senior Member, Vice Chair do Joint Chapter IAS/IES/PES/PELS - IEEE South Brazil Section e Advisor do IEEE PES Student Branch Chapter da UFSM. Doutor em Engenharia Elétrica pela Universidade Federal de Santa Maria (2007). Possui mestrado em Engenharia Elétrica pela Universidade Federal de Santa Maria (2004), especialização em Planejamento de Sistemas de Distribuição pela Universidade Presbiteriana Mackenzie (2001) e graduação em Engenharia Elétrica pela Universidade Federal de Santa Maria (2000). Coordenou o Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica (PPGEE) da UFSM (Conceito CAPES 6) de 2017 a 2021. Tem experiência na área de Engenharia Elétrica, com ênfase em Energia e Sistemas Elétricos de Potência, atuando principalmente nos seguintes temas: operação e planejamento de sistemas de distribuição, redes elétricas inteligentes, recursos energéticos distribuídos, modelagem de sistemas e otimização. Também atuou dez anos no setor elétrico, trabalhando nas concessionárias de energia elétrica RGE e AES Sul.



Paulo Bayard Dias Gonçalves

Professor da Universidade Federal de Santa Maria

Possui graduação em Medicina Veterinária pela Universidade da Região da Campanha (1980), mestrado em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (1983), doutorado em Fisiologia da Reprodução pela Universidade de Illinois (1992) e pós-doutorado no National Institutes of Health (NIH, 2009). Exerceu a função de Professor Adjunto no período de 1993 a 1997 e de Professor Titular de 1997 a 2018 na UFSM. Foi membro da Comissão Editorial da Revista Ciência Rural durante 12 anos e Membro do CA-VT do CNPq durante 3 anos. Foi diretor científico da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões (SBTE) durante 5 anos e vice-presidente da SBTE. Participou como consultor da FAPESP, CAPES, CNPq, FAPEMIG e FINEP, consultor de periódicos internacionais (Reproduction, Theriogenology, Animal Reproduction Science, Reproduction in Domestic Animals, Livestock Science e Reproduction Fertility and Development) e nacionais (Ciência Rural, Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, PAB e outros). Consultor científico da IETS durante três eventos realizados no Brasil. Representante da Society for the Study of Reproduction (SSR) na América do Sul durante quatro anos. Desempenhou a função de Coordenador do PPG em Medicina Veterinária, Coordenador de Pós-graduação na Pró-reitoria de Pós-graduação e Pesquisa, Pró-reitor Adjunto de Pós-graduação e Pesquisa, Pró-reitor de Pós-graduação e Pesquisa e Vice-Reitor da Universidade Federal de Santa Maria. É bolsista de produtividade do CNPq desde 1984. Atualmente, exerce como Professor Titular-Livre na Universidade Federal do Pampa (Unipampa).



Cristina Wayne Nogueira

Professora da Universidade Federal de Santa Maria

Possui graduação em Farmácia pela Universidade Federal de Santa Maria (1988) e doutorado em Ciências Biológicas (Bioquímica) pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (2000). Atualmente é professora titular da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). É membro do Comitê Gestor do Programa de Internacionalização CAPES-PrInt da UFSM desde 2018. Atualmente, é Pró-reitora de Pós-graduação e Pesquisa na UFSM. Foi membro do Comitê Assessor de Ciências Biológicas da FAPERGS de 2006 a 2011, tendo sido coordenadora deste Comitê Assessor de setembro de 2007 até julho de 2011. Tem experiência na área de Bioquímica, com ênfase em Bioquímica Toxicológica, atuando principalmente nos seguintes temas: toxicidade e farmacologia de organocalcogênios, estresse oxidativo, inibição de enzimas sulfidrílicas e antioxidantes. Foi agraciada com o Prêmio Scopus Brasil/ 2010, Medalha do Cinquentenário da UFSM/2010, Prêmio Pesquisador Destaque UFSM 2017, Prêmio Pesquisador Gaúcho Destaque em Ciências Biológicas/ 2017. É membro da diretoria da ASTOXLATIN biênio 2019-2021. Em 2020, foi apontada pela plataforma Open Box da Ciência (<http://www.openciencia.com.br/>) entre as 50 pesquisadoras protagonistas da Ciência no Brasil. Componho o ranking dos 600 pesquisadores brasileiros mais influentes no mundo (Journal Plos Biology, <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000918>). Atual pró-reitora de pós-graduação e Pesquisa da UFSM.



PALESTRANTES CONVIDADOS:

DIA 2: Terça-feira, 27 de setembro de 2022



Ana Lúcia Anversa Segatto

Professora da Universidade Federal de Santa Maria

Possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Santa Maria (2008), Mestrado (2010) e Doutorado (2014) pelo Programa de Pós-graduação em Genética e Biologia Molecular da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Atuou como Assistente de Laboratório de Biologia na UFSM de 2015 a 2019. De janeiro de 2020 a julho de 2022 atuou como professora no IFRS - Campus Caxias do Sul. Atualmente é professora vinculada ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da UFSM e atua como orientadora no Programa de Pós-graduação em Bioquímica Toxicológica. Desenvolve pesquisas sobre evolução e adaptação de plantas através de análises de filogeografia, filogenia, evolução molecular e expressão gênica. Tem experiência em técnicas de biologia molecular como PCR em tempo real e sequenciamento de DNA e RNA, bem como na utilização de ferramentas de bioinformática.



Dennis Maletich Junqueira

Professor da Universidade Federal de Santa Maria

Possui Pós-doutorado em Bioinformática pela University of Kwazulu-Natal, Mestrado e Doutorado em Genética e Biologia Molecular pelo Programa de Pós Graduação em Genética e Biologia Molecular (PPGBM) da UFRGS, é graduado em Ciências Biológicas (UFRGS) e Técnico em Biotecnologia (UFRGS). Além da atuação como docente, desenvolve projetos de pesquisa nas áreas de virologia, filogenética e bioinformática. Atualmente, suas pesquisas são relacionadas ao Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), Vírus Rábico e Influenza.



MÓDULOS TEÓRICO-PRÁTICOS:

DIA 3: Quarta-feira, 28 de setembro de 2022

**Grupo de Pesquisa em Bioquímica e Toxicologia em *Caenorhabditis elegans*
(GBToxCe)**

Universidade Federal do Pampa/Campus Uruguaiana



Professora Responsável:

Profa. Dra. Daiana Silva de Ávila

Possui graduação em Farmácia pela Universidade Federal de Santa Maria (2005), mestrado em Ciências Biológicas (Bioquímica Toxicológica) pela Universidade Federal de Santa Maria (2007) e doutorado Ciências Biológicas (Bioquímica Toxicológica) pela Universidade Federal de Santa Maria (2009). Realizou pós-doutorado na Vanderbilt University (EUA) entre 2009 e 2011. Tem experiência na área de Bioquímica Toxicológica, com ênfase toxicologia e farmacologia de organocalcogênios e toxicologia de metais, pesticidas e nanomateriais, além de possuir experiência com o uso de *Caenorhabditis elegans* como modelo experimental na área. É professora associada na UNIPAMPA- Campus Uruguaiana, orientando no PPG Bioquímica (UNIPAMPA) e Bioquímica Toxicológica (UFSM) a nível de mestrado e doutorado e líder do Grupo de Pesquisa em Bioquímica e Toxicologia em *C. elegans* (GBToxCe). Em 2015, recebeu o Prêmio Para Mulheres da Ciência- L’Oreal/ UNESCO/Academia Brasileira de Ciências. Bolsista de Produtividade Nível 2 do CNPq e Membro Afiliado da Academia Brasileira de Ciências (2019-2023).

Monitores: Daniela Teixeira Rodrigues, Gabriel Pedroso Viçozzi, Marcell Valandro Soares- Doutorandos do PPGBTox



Daniela

Gabriel

Marcell

Eixo de Pesquisa: Bioquímica Toxicológica e Comparativa

Módulo abordado na XI Oficina de Inverno de Bioquímica Toxicológica:

Toxicologia do grupo BTEX em exposição aérea em *Caenorhabditis elegans*

Modelo animal:

Invertebrado – *Caenorhabditis elegans*.

Vantagens do uso deste modelo:

A utilização de modelos alternativos como uma ferramenta de trabalho científico é uma opção inovadora, econômica e fácil, podendo ser uma solução viável para estudos pré-clínicos. Uma grande vantagem é que dependendo do tipo de modelo a ser usado podemos encontrar homologia genética com humanos, o que permite que os resultados encontrados podem ser transacionados para modelos mais complexos. Dentre tantas outras vantagens, podemos destacar a facilidade na obtenção de animais para os estudos, por exemplo, utilizando modelos como *Drosophila melanogaster*, *Danio rerio* ou *Caenorhabditis elegans*, os quais permitem a obtenção de resultados mais rápidos, com menor custo e maior disponibilidade de cepas que possibilitam elucidaciones mecanísticas (WOLF, 2013).

Dentre os modelos atuais e consolidados, destacamos o nematóide *Caenorhabditis elegans*, que tem sido utilizado como organismo modelo devido à elevada homologia genética com os mamíferos, praticidade em sua manipulação e complexidade celular com conservação de sistemas e de vias metabólicas presentes também em organismos superiores (KALETTA; HENGARTNER, 2006). Com relação a estudos com foco em investigar efeitos neurotóxicos, cabe ressaltar que estes nematóides possuem sinalização neuronal bem conservada em múltiplos sistemas, incluindo Colinérgico, Gabaérgico, Glutamatérgico e Dopaminérgico, e ainda, com a possibilidade da observação *in vivo* de alterações estruturais e morfológicas (LEUNG et al., 2008; TUCCI et al., 2011).

Considerando o contexto de nossas pesquisas, uma desvantagem do modelo é que os vermes não apresentam um sistema respiratório, mas as trocas gasosas ocorrem, e os animais apresentam neurônios específicos que sinalizam esse processo, o qual ocorre via difusão por poros presentes em sua cutícula (ATKINSON, 1980). Outra característica dos vermes é o reconhecimento de diversas classes de compostos voláteis via neurônios específicos, os quais podem modular comportamentos distintos nestes animais (BARGMANN; HARTWIEG; HORVITZ, 1993). Neste sentido, pesquisas com exposição de *C. elegans* a voláteis foram publicadas, demonstrando que estes causam prejuízos locomotores e atraso no desenvolvimento larval, e inclusive pelo nosso grupo em trabalhos anteriores (DAVIES et al., 2012; SOARES et al., 2020; XIONG; PEARS; WOOLLARD, 2017). Entretanto, nenhum outro estudo para investigar o mecanismo de tais achados foi realizado até o momento.

Além disso, o *C. elegans* possui um ciclo de vida curto, de aproximadamente 21 dias, o que facilita a obtenção de resultados mais rápidos. Uma grande vantagem

é sua fácil manipulação genética, o que permite a produção de animais transgênicos expressando proteína verde fluorescente (GFP), o que possibilita a marcação de alvos específicos, tais como: neurônios, receptores, mitocôndrias ou enzimas. Além disso, técnicas de biologia molecular como PCR, análise metabolômica e transcriptômica podem ser realizadas neste pequeno invertebrado (BOECK et al., 2016; WAN et al., 2017).

1. MÓDULO TEÓRICO

A denominação de solventes orgânicos se refere a um grupo de substâncias químicas que se apresentam líquidas à temperatura ambiente e se distinguem de acordo com seus perfis de volatilidade e lipossolubilidade. São muito utilizados em processos industriais, podendo ser empregados na sua forma pura ou em misturas (OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2008). A característica de maior importância dos solventes orgânicos é a pressão de vapor, que está relacionada à sua volatilidade, ou seja, o quão rápido este solvente irá se dispersar no ambiente. Devido a estas características, a principal via de absorção é a pulmonar, mas os solventes também podem ser absorvidos pela via cutânea (KANG et al., 2005).

A produção e uso generalizado de solventes em âmbito industrial se iniciaram principalmente para utilização em dissolução, dispersão e diluição de vários materiais como, por exemplo, diluentes para tintas. Alguns anos após, com o surgimento dos primeiros casos de morte, foi evidenciado que os solventes seriam responsáveis por gerar problemas de saúde (CARLINI; CARLINI-COTRIM; MONTEIRO, 1988). No Brasil, há algum tempo diversos trabalhadores estão expostos de maneira perigosa a solventes orgânicos em seus locais de trabalho, uma vez em que não há utilização de equipamentos de proteção adequados para uso, fato bastante negligenciado pelos donos das empresas (PIVETTA et al., 2001).

Além disso, atualmente, o processo de industrialização é o principal contribuinte para a poluição atmosférica, ocasionando também em um grande problema de saúde pública (HELMIG et al., 2014). Tal mudança tem nos mostrado que esta mistura de componentes no ar tem um forte impacto à saúde humana, como exemplo disso, destacam-se os compostos orgânicos voláteis (VOCs), que são indicados como contribuintes para poluição do ar, dentre os quais muitos são considerados poluentes com potencial neurotóxico (CARLSEN; BRUGGEMANN; KENESSOV, 2018).

Sabe-se que estes VOCs estão envolvidos também em poluição do ar em ambientes fechados (indoor pollution) em empresas que trabalham manipulando e produzindo produtos com solventes orgânicos, como por exemplo, indústria de sapato, borracha, cola e combustíveis (ORECCHIO et al., 2017). Tais locais apresentam um elevado risco ocupacional aos trabalhadores, particularmente quando não há ventilação adequada em conformidade com a legislação ou o não uso de equipamentos de proteção (CINCINELLI; MARTELLINI, 2017).

Outro aspecto relevante a se constatar é que não apenas trabalhadores estão expostos a estes solventes. Nos dias atuais, cada vez mais nos encontramos em um ambiente repleto de diferentes tipos de poluentes ambientais (HELMIG et al., 2014). Sabe-se inclusive que o grupo BTEX (benzeno, tolueno, etilbenzeno e

xilenos), é estabelecido como poluente ambiental (CARLSEN; BRUGGEMANN; KENESSOV, 2018; CASELLI et al., 2010). Segundo a Organização mundial de saúde (OMS), 90% da população mundial respira um ar poluído e aproximadamente 7 milhões de pessoas morrem a cada ano em decorrência de doenças associadas com a poluição ambiental (WHO, 2019).

Dentre os solventes do grupo BTEX, majoritariamente tanto em ambientes internos quanto externos, o tolueno é encontrado em maiores níveis (CARLSEN; BRUGGEMANN; KENESSOV, 2018). No entanto, as exposições ao tolueno não ocorrem apenas de maneira não intencional (ocupacionalmente ou no ambiente), este solvente é comumente utilizado como droga de abuso (uso intencional). Dados epidemiológicos apontam o abuso de inalantes sendo o terceiro maior consumo de drogas por adultos (KOLECKI; SHIH, 2012), sendo assim, os indivíduos estão expostos a níveis elevados, uma vez que, os produtos utilizados no abuso (gasolina, thinner e cola) possuem níveis que varia desde 10 a 10.000 ppm de tolueno (BECKLEY; WOODWARD, 2013; CHIN; BATTERMAN, 2012; LIM et al., 2014).

Diferente do uso intencional, existem limites de exposição estabelecidos por órgãos reguladores para as exposições não intencionais, sendo que no Brasil os níveis aceitáveis de concentração ambiental estão dispostos na Norma Regulamentadora nº 15, anexo 11 da Secretaria de Segurança e Medicina do Trabalho do Ministério do Trabalho. Nesta normativa é considerada aceitável a presença de até 78 ppm de tolueno, etilbenzeno e xilenos e 1 ppm para o benzeno. No entanto, muitos estudos demonstraram que usuários dependentes ou trabalhadores expostos respiram tolueno ou a mistura BTEX acima dos níveis seguros. Por exemplo, foi verificado que trabalhadores estão expostos a níveis três vezes maiores do que são permitidos (PHANPRASIT et al., 2019) e a níveis máximos de até 850 ppm (EISAEI et al., 2015).

Recentemente, alguns estudos têm reportado que a poluição do ar em ambos cenários de exposição (intencional/não intencional) poderia estar envolvida com a grande incidência de doenças neurodegenerativas como Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA) (SEELLEN et al., 2017; SELTENRICH, 2018); Alzheimer (KILIAN; KITAZAWA, 2018); Parkinson (CHEN et al., 2017; LEE et al., 2017), assim como outros distúrbios que afetam a cognição e comportamentos controlados pelo sistema nervoso central (SNC) (CALDERÓN-GARCIDUEÑAS et al., 2016; OUDIN et al., 2016). A maioria dos estudos tem grande foco no material particulado (PM), mas se considerarmos que estas partículas são uma mistura de outras moléculas, incluindo compostos orgânicos (CHERNYSHEV et al., 2019; KELLY; FUSSELL, 2012), os BTEX também podem ter um papel nestes efeitos tóxicos ao SNC e em outras patologias associadas à poluição do ar (GOLBABAIEI et al., 2018; YAMADA et al., 2015).

Embora os efeitos causados por estes solventes estejam estabelecidos, são escassos os estudos que elucidem os mecanismos envolvidos nestas ações. No entanto, algumas teorias foram propostas e envolveriam estresse oxidativo (LI et al., 2020), neuroinflamação (JAYARAJ et al., 2017) e disfunção mitocondrial (WU; CHEN; JIANG, 2019). Tais relatos são sustentados com efeitos em curto prazo, porém os mecanismos pelos quais estes solventes (BTEX) atuam, seus efeitos em longo prazo e o possível envolvimento em doenças neurodegenerativas foram pouco investigados em modelos *in vivo*, bem como são ausentes os estudos

simulando cenários de exposição pelo ar que mimetizam concentrações variáveis e mais próximas das reais. A maioria dos estudos em humanos é baseada na aplicação de questionários e ensaios *ex vivo*, com resultados controversos pelas limitações metodológicas. Uma limitação é que as condições fisiológicas nas quais as células estão expostas no corpo (*in vivo*) são diferentes quando comparadas fora do corpo (*ex vivo*).

Como já relatado, no ambiente em que respiramos existem diferentes compostos, e apesar de alguns trabalhos na literatura apontarem baixas concentrações de VOCs no ambiente (DA SILVA; CORRÊA; ARBILLA, 2020; MIRI et al., 2016), o inverso também foi observado, ou seja, níveis acima do permitido (BARROS et al., 2019; EL-HASHEMY; ALI, 2018; FONTES et al., 2019). Muitas vezes acredita-se que os componentes em maiores níveis são os principais responsáveis pela toxicidade, sendo que, as misturas, mesmo que em baixas concentrações, podem causar efeitos tóxicos severos ao organismo, inclusive o grupo BTEX (BOLDEN; KWIATKOWSKI; COLBORN, 2015). Devido a tal possibilidade, se faz importante investigar os efeitos das exposições por estes solventes isolados e em associação. Para tais estudos, o *C. elegans* pode ser utilizado, como será demonstrado na aula expositiva e no módulo prático.

2. MÓDULO PRÁTICO

2.1. Objetivo geral

Divulgar aos alunos da oficina os projetos em desenvolvimento no laboratório, e especificamente o projeto que avalia o impacto de exposições pelo ar a solventes orgânicos utilizando o modelo *Caenorhabditis elegans*.

2.2. Objetivos específicos

- Apresentar o laboratório;
- Demonstrar o protocolo de exposição pelo ar;
- Demonstrar alguns processos básicos de trabalho com o modelo;
- Apresentar o protocolo para avaliar letalidade no modelo;
- Demonstrar a padronização da avaliação de danos neuronais nos vermes;
- Realizar a interpretação dos resultados obtidos.

2.3. Protocolo experimental

2.3.1. Processo de Manutenção e Sincronização

Materiais necessários para manutenção de cepas e processos gerais:

- Placas de Petri
- Meio de crescimentos de nematóides - NGM (Ágar bacteriológico, Cloreto de sódio, peptona, sulfato de magnésio, Cloreto de cálcio, colesterol, nistatina e estreptomicina)
- Tampão TFK pH 6

Materiais necessários para sincronização:

- Tampão M9 (3 g KH_2PO_4 , 6 g Na_2HPO_4 , 5 g NaCl, 1 ml 1 M MgSO_4 , H_2O para 1 litro)
- Pipetas de Pasteur
- Tubos Falcon de 15mL
- Água destilada
- Solução de Bleaching (hipoclorito de sódio e hidróxido de sódio)

Manutenção das Cepas - procedimento para preparo de 200mL de meio NGM:

1. Primeiramente separe placas o número de placas de Petri necessárias para a manutenção, crescimento ou para o experimento;

2. Em uma balança analítica pese:

0,6g NaCl

3,4g bactoágar

0,5g bactopectona

Adicionar água para 200ml

- Autoclave e após esfriar ligeiramente adicione os sais na seguinte ordem:

Tampão TFK 1M, pH 6,0- 5mL

MgSO_4 1M- 200 μL

CaCl_2 1M- 200 μL

Colesterol 5mg/ml- 200 μL

Estreptomicina- 200 μL

Nistatina -1mL

- Misturar bem e dispor o meio nas placas limpas, deixar solidificar e guardar na geladeira;

3. Com as placas já secas, separe o número de placas necessárias para os tratamentos. Logo leve os mesmos a uma capela de fluxo laminar ou a um bico de bunsen;
4. Com o auxílio de uma pipeta de 200µL, coloque o volume total da pipeta a bactéria *E.coli* OP50 nas placas (Este volume depende da concentração de bactéria, previamente determinada pela OD600);
5. Espalhe álcool 70% na alça bacteriana e flambe a alça por 10 segundos, espere esfriar e espalhe a bactéria nas placas. Deixe a bactéria secar e guarde as placas na geladeira;

Procedimento para crescimento para sincronização

1. Utilizando placas maiores, prepare o meio NGM conforme acima descrito e repique bactéria para crescimento;
2. Com a bactéria seca, transfira vermes de outra placa por lavagem, transferência manual ou por recorte de outra placa já com vermes com o auxílio de uma ponteira;
3. Coloque a placa em uma incubadora e deixe os vermes se desenvolverem por 3 dias aproximadamente, assim esta nova placa estará apta para o processo de sincronização.

Sincronização

1. Separe todo o material necessário para a sincronização
2. Com o auxílio de um Becker com água destilada, espalhe a mesma sob a placa com os vermes;
3. Com a pipeta de Pasteur recolha esta água com os vermes e transfira a mesma para o tubo Falcon de 50mL e deixe os vermes decantarem;
4. Retire o sobrenadante e preencha o volume do Falcon novamente com água destilada **repita este processo 3 vezes** até o sobrenadante estar livre de bactérias e translúcido;
5. Prepare a solução de *bleaching* (ou solução de lise) da seguinte maneira:
 - 4mL de Hipoclorito (Aqui usamos apenas Qboa)
 - 1mL de NaOH (10M)
 - 5mL de Água destilada

OBS. Estes volumes são para **UMA** sincronização. Para mais de um tubo, dobrar estes valores

6. Com os vermes já lavados, reduza o volume do tubo Falcon até 5mL e misture todos os 10mL da solução de *bleaching*, e agite o tubo por **6 minutos** sem interrupção para que ocorra o rompimento total da cutícula do nematóide e liberação dos ovos.

7. Após os 6 minutos, complete o volume do Falcon, desta vez com o tampão M9 para neutralizar o pH da solução de lise.
8. Leve o Falcon para uma centrífuga refrigerada e programe a mesma a 4000 rpm com rotação de 3 minutos a 20°C;
9. Retire o tubo da centrífuga e retire o sobrenadante até a marca de 5 mL. Complete o volume com o tampão M9 e leve o tubo novamente à centrífuga. Repita este processo de 3 a 4 vezes para total remoção da solução de bleaching;
10. Por fim, identifique placas de Petri **VAZIAS** sem o NGM, reduza o volume do Falcon até 15 mL, agite e coloque os ovos dos nematoides na placa. Observe em uma lupa se os ovos dos nematoides estão intactos e se não há presença de corpos de vermes. Leve a placa para uma incubadora por 14h.

2.3.2. Modelo de exposição pelo ar

O protocolo de exposição foi desenvolvido e reportado em (Soares et al., 2020), com algumas modificações, conforme **Figura 1**. Cem nematóides sincronizados no primeiro ou quarto estágio larval (L1-L4) são expostos à mistura BTEX por 7 dias; a exposição simula um cenário de concentração que está descrito na **Tabela 1**. Para obter tal ambiente: 20µL da mistura BTEX é pipetada em um papel filtro dentro da câmara de exposição, o sistema é então condicionado dentro de uma incubadora para manter um ambiente com controle de temperatura. Buscamos simular os seguintes níveis: tolueno, etilbenzeno e xilenos a 78 ppm e benzeno 1 ppm, respeitando assim os níveis regulatórios permissivos. Todos os experimentos são realizados em um ambiente com temperatura controlada de 20-21 °C.

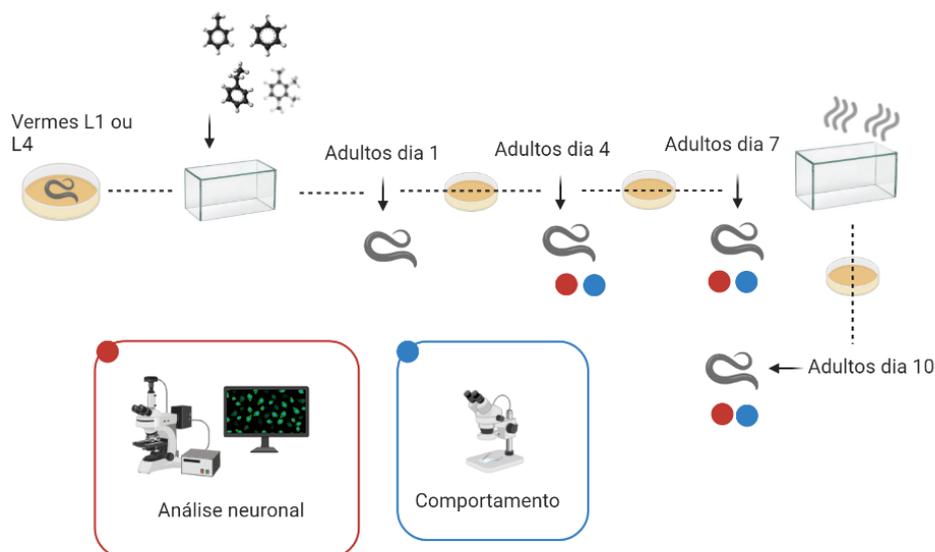


Figura 1. Desenho experimental. Esquema representando os protocolos de exposição a mistura BTEX e os ensaios conduzidos, sendo representados pelos círculos azul/vermelho e seus respectivos períodos.

Tabela 1. Descrição da concentração BTEX dentro da câmara

Exposure	Minimum	Maximum	Mean
<i>Benzeno</i>	0.03	1.97	0.9
<i>Tolueno</i>	5	71	40
<i>Etilbenzeno</i>	1.5	53	25
<i>Xilenos</i>	1.45	38	17

2.3.3. Perfil de letalidade

Para estimar o perfil de letalidade, a placa contendo os vermes expostos será retirada da câmara e será colocada em cima de uma grade de plástico transparente delimitada em quadrantes no estereomicroscópio, conforme figura 2.

A população de vermes será avaliada através da contagem dos vermes vivos presentes nas áreas delimitadas.

A taxa de sobrevivência dos vermes tratados será estimada através de uma porcentagem, no qual o grupo controle será considerado 100% em relação ao grupo tratado.

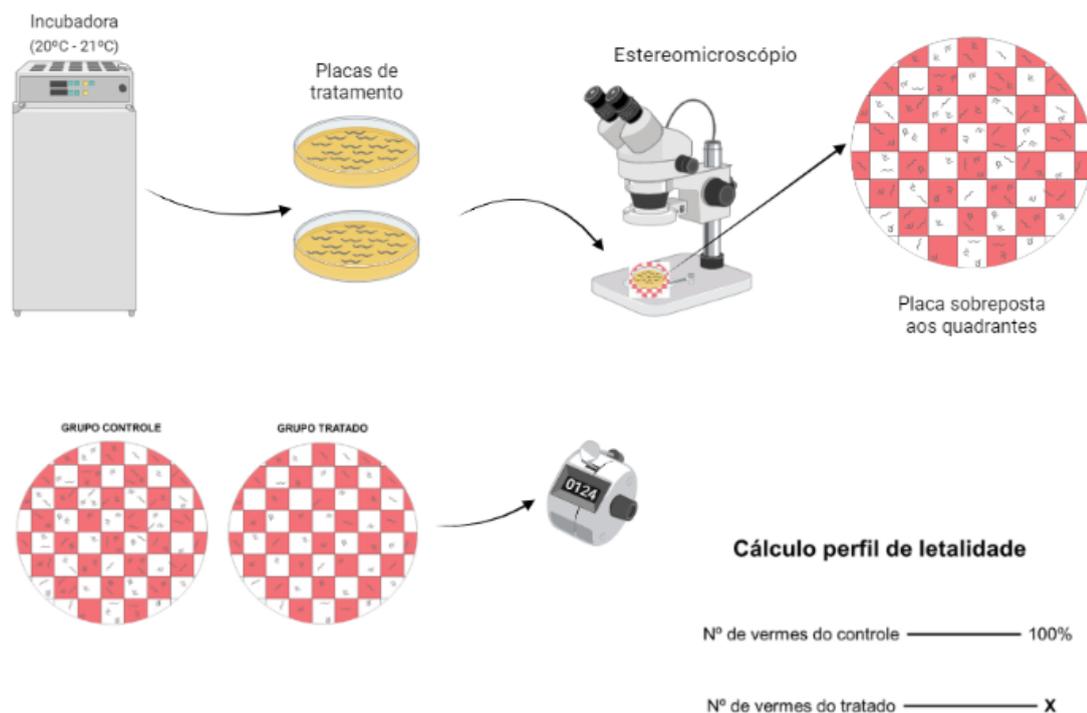


Figura 2. Protocolo de perfil de letalidade. Esquema representativo do processo da estimativa do perfil de letalidade.

2.3.4. Atividade da Enzima Glutationa-S-Transferase (GST)

Materiais necessários:

- Microplacas de 96 poços
- Glutationa 10mM
- Indutor CDNB 10mM

- Tampão TFK 100mM
- Pipetas volumétricas de 5-200 μ L e de 100-1000 μ L
- Pipeta multicanal de 5-50 μ L
- Gelo para colocar as amostras
- Microtubos de 1,5mL
- Água destilada
- Pipetas de Pasteur
- Ultrasonicador de amostras

Preparação das amostras:

1. Separe todo o material necessário
2. Com os vermes já tratados nas placas com meio NGM, recolha os vermes das placas utilizando tampão M9 e espalhando a mesma pela placa com a pipeta de Pasteur.
3. Com o auxílio de uma ponteira e uma pipeta de 1000 μ L, recolha os vermes das placas e transfira os mesmos para um microtubo de 1,5mL.
4. Deixe os vermes decantarem, retire o sobrenadante e complete o volume do microtubo novamente com água. **Repita este processo 3 vezes ou até o sobrenadante estar límpido.**
5. Reduza o volume do microtubo até 100 μ L aproximadamente e leve os mesmos até um freezer ou congelador.
6. Espere de 10 a 15 minutos dependendo da potência do refrigerador, retire os vermes do congelador e deixe o gelo derreter, logo coloque os vermes no congelador novamente. **Repita o processo 3 vezes.**
7. Com os vermes descongelados pela última vez, pegue um tubo Falcon e encha o mesmo com gelo, depois coloque o microtubo contendo a amostra dentro do tubo com gelo e leve a mesma até o ultrasonicador.
8. Com a amostra **SEMPRE NO GELO** coloque o microtubo no ultrasonicador e ligue o equipamento, levante e abaixe o microtubo com cuidado para não perfurar o fundo do microtubo e perder a amostra. Faça este movimento por 10 segundos, lave o equipamento e siga para a amostra seguinte. **Repita este processo 3 vezes, sempre cuidando para que as amostras estejam sempre no gelo.**
9. Finalizado o processo acima, refrigere uma centrífuga de microtubos a 4°C e programe a mesma para 10000 rpm por 7 minutos e centrifugue as amostras. O sobrenadante será utilizado logo a seguir.

Análise das amostras:

1. Utilizando o sobrenadante das amostras, pipete os valores da tabela abaixo em uma microplaca de 96 poços

Reagente	Volumes(μ L)
Água	80
Tampão TFK	60
Amostra	20
GSH	20 (antes da leitura)
CDNB	20 (ante da leitura)

Tabela 2: Esquema de pipetagem para o ensaio de atividade da GST.

2. Observe que os volumes de **glutathiona e de CDNB devem ser pipetados somente na hora da leitura** para iniciar a reação, para tal use a pipeta multicanal para facilitar o processo.

3. Com a placa pronta, leve a mesma até um leitor de microplaca e configure-o:

- λ :340nm
- Leitura deve ser cinética (2 minutos)
- Temperatura de leitura de 25°C

4. Para realização do cálculo da análise utilize o delta da leitura, ou seja, a leitura final (tempo 2 minutos) menos a leitura inicial (tempo 0)

5. Por fim corrija o resultado utilizando o método de Bradford ou outro método de análise de proteínas que desejar.

2.3.5. Análise de Neurônios Dopaminérgicos

O protocolo consiste em observar danos neuronais nos vermes, especificamente nos dias 4 e 7 durante o período de exposição ou 3 dias fora do ambiente de exposição (10º dia), para detectar se o dano persistia, caracterizando assim um processo neurodegenerativo. Para isso, é utilizada uma cepa mutante (BY200), que permite a observação dos neurônios dopaminérgicos com auxílio da

fluorescência. Para a avaliação, foi estabelecido um escore da morfologia neuronal anormal (MNA) conforme descrito em (Soares et al., 2021), considerando alterações como perda de dendritos, presença de bolhas (blebs) e encolhimento do corpo celular (soma) semelhante ao descrito por Guha et al., 2018. Para este ensaio, pelo menos 10 vermes por grupo são analisados em cada experimento individual. Os animais são transferidos com auxílio de um pincel ou por pipetagem para lâminas contendo um anestésico (levamisol, por exemplo). Após paralisarem, os animais são visualizados e fotografados em um microscópio de fluorescência. Experimentos independentes são feitos e repetidos pelo menos cinco vezes (n=50 vermes por grupo).

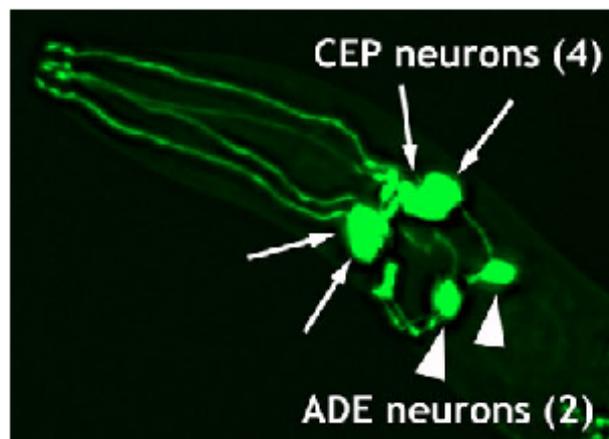


Figura 3: Neurônios Dopaminérgicos na cabeça de *C. elegans*.

2.3.6. Comportamento Locomotor

Preparo da amostra e filmagem:

1. Após a exposição, os vermes tratados serão coletados da placa;
2. Serão feitas três lavagens com a solução Salina (NaCl) para remover a bactéria. Essa etapa é fundamental para a análise, pois quanto mais limpa a amostra, menos interferência haverá nos vídeos, facilitando a análise no software;
3. O volume final da lavagem será reduzido a 500 μ L, e posteriormente será pipetado 100 μ L em uma placa de petri. É interessante que seja pipetado uma quantidade razoável de nematoides, para garantir o foco e a identificação dos mesmos pelo software de análise.
4. Os vermes serão ambientados durante 1 minuto para posterior filmagem com o celular no estereomicroscópio, utilizando o suporte de câmera;
5. Os vermes serão filmados durante 1 minuto. Lembre sempre de ajustar o foco da filmagem, evitando focar em sulcos, sujeiras ou a própria borda da placa.

Análise dos vídeos utilizando o software ImageJ:

1. Os vídeos serão convertidos para o formato AVI descompactado utilizando o software ADOBE Pro Premiere;
2. Após isso, o software ImageJ será configurado para facilitar a detecção dos vermes presentes no vídeo;

3. O programa irá gerar um arquivo contendo os resultados, onde cada verme será identificado com um número que irá servir para coletar os dados para a análise;
4. Os dados utilizados são o tempo e a distância, no entanto existem vários outros dados que podem ser usados para análise;
5. Esses dados serão adicionados ao software Graphpad Prisma para análise estatística, o grupo tratado será comparado ao grupo controle para identificar significância estatística.

3. REFERÊNCIAS:

WOLF, J. C. Alternative Animal Models. In: **Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic Pathology**. [s.l.] Academic Press, 2013. p. 477–518.

KALETTA, T.; HENGARTNER, M. O. **Finding function in novel targets: *C. elegans* as a model organism**. **Nature Reviews Drug Discovery**. Nat Rev Drug Discov, abr. 2006. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16672925/>>.

LEUNG, M. C. K. et al. ***Caenorhabditis elegans*: An emerging model in biomedical and environmental toxicology**. **Toxicological Sciences**. Toxicol Sci, nov. 2008. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18566021/>>.

TUCCI, M. L. et al. Modeling dopamine neuron degeneration in *Caenorhabditis elegans*. **Methods in Molecular Biology**, v. 793, p. 129–148, 2011.

Atkinson, H. J. (1980). Respiration in nematodes. In **Nematodes as Biological Models**, vol. 2 (ed. B. M. Zuckerman), pp. 101–142. New York, London: Academic Press.

BARGMANN, C.I et al. "Odorant-selective genes and neurons mediate olfaction in *C. elegans*." **Cell Press** vol. 74,3 (1993): 515-27. Disponível em: <[doi:10.1016/0092-8674\(93\)80053-h](https://doi.org/10.1016/0092-8674(93)80053-h)>.

DAVIES, A. G.; FRIEDBERG, R. I.; GUPTA, H.; CHAN, C. L. et al. Different genes influence toluene- and ethanol-induced locomotor impairment in *C. elegans*. **Drug Alcohol Depend**, 122, n. 1-2, p. 47-54, Apr 1 2012.

SOARES, M. V. et al. Airborne toluene exposure causes germline apoptosis and neuronal damage that promotes neurobehavioural changes in *Caenorhabditis elegans*. **Environmental Pollution**, v. 256, p. 113406, 2020.

XIONG, H.; PEARS, C.; WOOLLARD, A. An enhanced *C. elegans* based platform for toxicity assessment. **Sci Rep**, 7, n. 1, p. 9839, Aug 29 2017.

BOECK, M. E. et al. The time-resolved transcriptome of *C. elegans*. **Genome Research**, v. 26, n. 10, p. 1441–1450, 1 out. 2016.

WAN, Q. L. et al. Metabolomic signature associated with reproduction-regulated

aging in *Caenorhabditis elegans*. **Aging**, v. 9, n. 2, p. 447–474, 2017.

OGA, S.; CAMARGO, M. M. DE A.; BATISTUZZO, J. A. DE O. **Fundamentos de toxicologia**. p. 677–677, 2008.

KANG, S. K. et al. **Neurobehavioral performance in workers exposed to toluene**. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2005. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21783537/>>.

CARLINI, E. A.; CARLINI-COTRIM, B.; MONTEIRO, M. G. **Abuso de solventes voláteis: aspectos epidemiológicos, médico-psicológicos e experimentais**. **AMB; Revista da Associação Médica Brasileira**, 1988.

PIVETTA, F. et al. Biological monitoring: concepts and applications in public health. **Cadernos de saúde pública / Ministério da Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública**, v. 17, n. 3, p. 545–554, 2001.

HELMIG, D. et al. Highly elevated atmospheric levels of volatile organic compounds in the Uintah basin, Utah. **Environmental Science and Technology**, v. 48, n. 9, p. 4707–4715, 6 maio 2014.

CARLSEN, L.; BRUGGEMANN, R.; KENESSOV, B. Use of partial order in environmental pollution studies demonstrated by urban BTEX air pollution in 20 major cities worldwide. **Science of the Total Environment**, v. 610–611, p. 234–243, 1 jan. 2018.

ORECCHIO, S. et al. Volatile profiles of emissions from different activities analyzed using canister samplers and gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS) analysis: A case study. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 14, n. 2, 15 fev. 2017.

CINCINELLI, A.; MARTELLINI, T. **Indoor air quality and health**. **International Journal of Environmental Research and Public Health**. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), 1 nov. 2017. Disponível em: <</pmc/articles/PMC5707925/>>.

CASELLI, M. et al. Assessment of the impact of the vehicular traffic on BTEX concentration in ring roads in urban areas of Bari (Italy). **Chemosphere**, v. 81, n. 3, p. 306–311, 2010.

WHO. 9 out of 10 people worldwide breathe polluted air, but more countries are taking action. **Saudi Medical Journal**, v. 39, n. 6, p. 641–643, 2019.

KOLECKI, P.; SHIH, R. Inhalant abuse. In: **Handbook of the Medical Consequences of Alcohol and Drug Abuse, Second Edition**. [s.l.] Paediatr Child Health, 2012. v. 15p. 367–383.

BECKLEY, J. T.; WOODWARD, J. J. **Volatile solvents as drugs of abuse: Focus on the cortico-mesolimbic circuitry**. **Neuropsychopharmacology**. Nature Publishing Group, dez. 2013. Disponível em: <</pmc/articles/PMC3828545/>>.

CHIN, J. Y.; BATTERMAN, S. A. VOC composition of current motor vehicle fuels and vapors, and collinearity analyses for receptor modeling. **Chemosphere**, v. 86, n. 9, p. 951–958, 2012.

LIM, S. K. et al. Risk assessment of volatile organic compounds benzene, toluene, ethylbenzene, and xylene (BTEX) in consumer products. **Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A: Current Issues**, v. 77, n. 22–24, p. 1502–1521, 27 dez. 2014.

PHANPRASIT, W. et al. Inhalation and dermal exposure to toluene among printing workers in a plastic bag factory. **Journal of Health Research**, v. 33, n. 1, p. 68–79, 1 jan. 2019.

EISAEI, H. R. et al. **Assessment and control of VOCs emitted from gas stations in Tehran, Iran** *Pollution*. [s.l.] University of Tehran, 1 out. 2015. Disponível em: <https://jpoll.ut.ac.ir/article_54663.html>.

SEELEN, M. et al. Long-term air pollution exposure and amyotrophic lateral sclerosis in Netherlands: A population-based case–control study. **Environmental Health Perspectives**, v. 125, n. 9, 1 set. 2017.

SELTENRICH, N. **Another potential risk factor for ALS: Exposure to traffic-related air pollutants**. **Environmental Health Perspectives**. *Environ Health Perspect*, 1 fev. 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29483062/>>.

KILIAN, J.; KITAZAWA, M. **The emerging risk of exposure to air pollution on cognitive decline and Alzheimer's disease – Evidence from epidemiological and animal studies**. **Biomedical Journal**. *Biomed J*, 1 jun. 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30080655/>>.

CHEN, H. et al. Exposure to ambient air pollution and the incidence of dementia: A population-based cohort study. **Environment International**, v. 108, p. 271–277, 2017.

LEE, H. et al. Short-term air pollution exposure aggravates Parkinson's disease in a population-based cohort. **Scientific Reports**, v. 7, 16 mar. 2017.

CALDERÓN-GARCIDUEÑAS, L. et al. Air pollution, a rising environmental risk factor for cognition, neuroinflammation and neurodegeneration: The clinical impact on children and beyond. **Revue Neurologique**, v. 172, n. 1, p. 69–80, 2016.

LOUDIN, A. et al. Traffic-related air pollution and dementia incidence in Northern Sweden: A longitudinal study. **Environmental Health Perspectives**, v. 124, n. 3, p. 306–312, 1 mar. 2016.

CHERNYSHEV, V. V. et al. Morphological and chemical composition of particulate matter in buses exhaust. **Toxicology Reports**, v. 6, p. 120–125, 1 jan. 2019.

KELLY, F. J.; FUSSELL, J. C. Size, source and chemical composition as determinants of toxicity attributable to ambient particulate matter. **Atmospheric**

environment, v. 60, n. 0, p. 504–526, dez. 2012.

GOLBABAIEI, F. et al. Evaluation of occupational exposure to different levels of mixed organic solvents and cognitive function in the painting unit of an automotive industry. **Health Promotion Perspectives**, v. 8, n. 4, p. 296–302, 27 out. 2018.

YAMADA, Y. et al. Comparison of the neurotoxicities between volatile organic compounds and fragrant organic compounds on human neuroblastoma SK-N-SH cells and primary cultured rat neurons. **Toxicology Reports**, v. 2, p. 729–736, 1 jan. 2015.

LI, Z. et al. Association between short-term exposure to ambient particulate air pollution and biomarkers of oxidative stress: A meta-analysis. **Environmental Research**, v. 191, 1 dez. 2020.

JAYARAJ, R. L. et al. **Outdoor Ambient Air Pollution and Neurodegenerative Diseases: The Neuroinflammation Hypothesis**. **Current environmental health reports**. Curr. Environ Health Rep, 1 jun. 2017. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28444645/>>.

WU, Y.; CHEN, M.; JIANG, J. **Mitochondrial dysfunction in neurodegenerative diseases and drug targets via apoptotic signaling**. **Mitochondrion**. Mitochondrion, 1 nov. 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31288090/>>.

DA SILVA, C. M.; CORRÊA, S. M.; ARBILLA, G. Preliminary Study of Ambiente Levels and Exposure to BTEX in the Rio de Janeiro Olympic Metropolitan Region, Brazil. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 104, n. 6, p. 786–791, 1 jun. 2020.

MIRI, M. et al. Investigation of outdoor BTEX: Concentration, variations, sources, spatial distribution, and risk assessment. **Chemosphere**, v. 163, p. 601–609, 1 nov. 2016.

BARROS, N. et al. Environmental and biological monitoring of benzene, toluene, ethylbenzene and xylene (BTEX) exposure in residents living near gas stations. **Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A: Current Issues**, v. 82, n. 9, p. 550–563, 3 maio 2019.

EL-HASHEMY, M. A.; ALI, H. M. Characterization of BTEX group of VOCs and inhalation risks in indoor microenvironments at small enterprises. **Science of the Total Environment**, v. 645, p. 974–983, 15 dez. 2018.

FONTES, T. et al. Exposure to BTEX in buses: The influence of vehicle fuel type. **Environmental Pollution**, v. 255, n. Pt 1, 1 dez. 2019.

BOLDEN, A. L.; KWIATKOWSKI, C. F.; COLBORN, T. New look at BTEX: Are ambient levels a problem. **Environmental Science and Technology**, v. 49, n. 9, p. 5261–5276, 5 maio 2015.

GUHA, S., CALDWELL, G., KAPAHI, P. Morphological Analysis of Dopaminergic Neurons with Age Using *Caenorhabditis elegans* GFP Reporter Strains. **Bio-protocol** 8, e2843, 2018.



MÓDULOS TEÓRICO-PRÁTICOS:

DIA 4: Quinta-feira, 29 de setembro de 2022

Grupo de Pesquisa em Estresse Oxidativo e Sinalização Celular

Universidade Federal do Pampa



Professor Responsável:

Prof. Dr. Jeferson Luis Franco

Professor Associado na Universidade Federal do Pampa, Campus São Gabriel desde 2009 e orientador no Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica da Universidade Federal de Santa Maria. Licenciado em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Santa Maria. Doutor em Neurociências pela Universidade Federal de Santa Catarina com Doutorado Sanduíche na University of Newcastle, Austrália. Bolsista de produtividade em pesquisa do CNPq. Membro do Corpo Editorial dos periódicos *Neurochemical Research*, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* e *Journal of Toxicology and Environmental Health Part A*. Interesse nas áreas de Neurociências, Neuroquímica, Bioquímica e Toxicologia, atuando também na área de Ecotoxicologia e Ciências Ambientais.

Eixo de Pesquisa: Modelos alternativos para estudos toxicológicos, prospecção de compostos de origem botânica.

Título da palestra na XI Oficina de Inverno de Bioquímica Toxicológica:

Peixe-zebra embrio-larval como organismo modelo.

Modelo animal: Peixe-zebra (*Danio rerio*)

Vantagens do uso deste modelo:

O modelo peixe-zebra em seu estágio adulto apresenta vantagens como: alta homologia com os mamíferos, vasto repertório comportamental, sistema nervoso conservado, atingem a idade reprodutiva em até 3 meses, prole

numerosa, fácil manipulação e manutenção. O estágio embrio-larval possui características de interesse científico devido a sua transparência, sendo possível

observar o seu desenvolvimento desde as primeiras horas pós-fertilização, desenvolvimento rápido e externo, sua aplicabilidade em diversos ramos de pesquisa, entre outros.

1. MÓDULO TÉORICO

Neste módulo será apresentado um relato sobre a trajetória acadêmica do Prof. Dr. Jeferson Luis Franco, desde sua graduação em Ciências Biológicas na UFSM e sua relação com o PPGBTOX, a pós-graduação na UFSC e o doutorado sanduíche na Austrália, seu ingresso como docente na Unipampa São Gabriel e o surgimento do Grupo de Pesquisa Estresse Oxidativo e Sinalização Celular, bem como aspectos sobre o modelo de pesquisa Peixe-zebra.

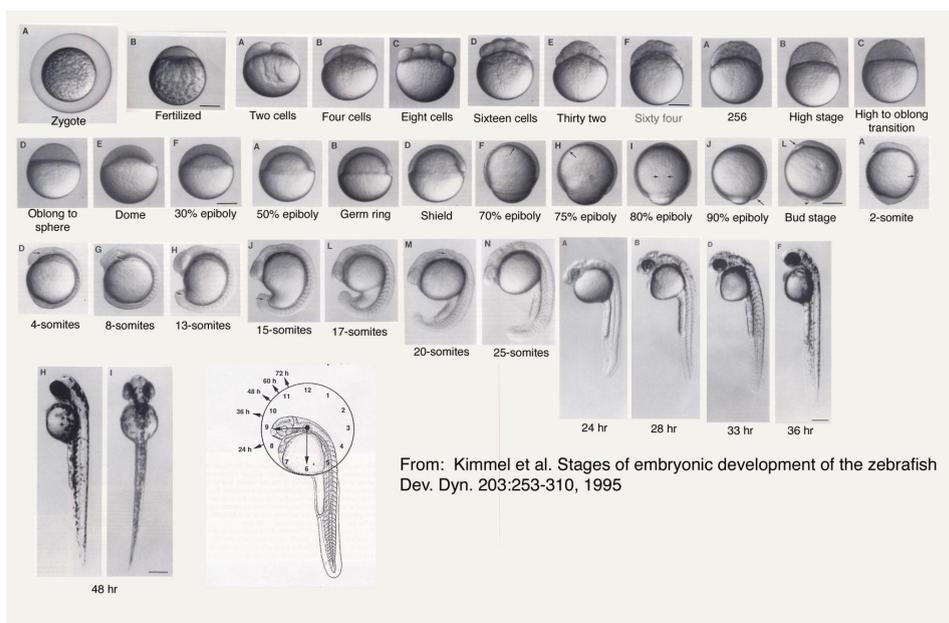
O peixe-zebra (*Danio rerio*), foi introduzido em pesquisas científicas como organismo modelo por George Streisinger em 1981 (DAMMSKI et al., 2011; GRUNWALD; EISEN, 2002) e atualmente vem sendo vastamente utilizado em todos os seus estágios de desenvolvimento, nos mais variados campos de pesquisa, como metabolismo de xenobióticos, triagem de medicamentos, ecotoxicologia, comportamento e outros (DE SOUZA ANSELMO et al., 2018; HORZMANN; FREEMAN, 2018; ORGER; DE POLAVIEJA, 2017; PARNG et al., 2002; SEVERO et al., 2020).

Também conhecido como Paulistinha (fig. 1) é um pequeno teleósteo de água doce, pertencente à família Cyprinidae, originário do sudeste Asiático, apresenta características distintas que fazem dele um bom modelo de pesquisa, como tamanho pequeno (3 a 4 cm em fase adulta), prole numerosa (até 250 ovos por fêmea a cada reprodução), rápida maturação sexual (2 a 3 meses), desenvolvimento rápido e externo e transparência dos embriões, o que possibilita a observação do seu desenvolvimento, entre outras características (HAENDEL et al., 2004; PARNG et al., 2002; ROPER; TANGUAY, 2018).



Fig 1: Peixe-zebra adulto. Fonte: shorturl.at/fiqzW

Além da semelhança genética com os mamíferos (LIESCHKE; CURRIE, 2007), o sistema nervoso e o cérebro se desenvolvem no estágio embrio-larval (fig. 2), mais especificamente em 96 horas pós-fertilização, após esse período ocorre apenas o desenvolvimento do órgão em tamanho (ORGER; DE POLAVIEJA, 2017). Além disso, o cérebro do peixe-zebra adulto possui uma estrutura semelhante aos humanos, incluindo neurotransmissores como dopamina, noradrenalina, serotonina, sendo possível a sua utilização como modelo de pesquisa em doenças neurodegenerativas (LUCINI et al., 2018; PANULA et al., 2010).



Organismos em desenvolvimento são mais vulneráveis à mudanças no meio externo, o que pode resultar em alterações no seu desenvolvimento embrionário diante da exposição a substâncias tóxicas por exemplo, um fator que torna o peixe-zebra em estágio embrio-larval muito atraente para pesquisas toxicológicas

(RICHENDRFER; CRETON; COLWILL, 2014). Outra característica que torna esse modelo atraente é o seu característico repertório comportamental durante todos os estágios de vida. Estudar o comportamento do peixe-zebra tem ganhado grande destaque como ferramenta em estudos ecotoxicológicos (BRIDI et al., 2017; MITCHELL; MOON, 2016). Na imagem abaixo (fig. 3), podemos visualizar uma comparação do peixe-zebra com outros organismos modelo em pesquisa.

Os modelos e suas vantagens

Taxa de reprodução elevada, baixo custo de manutenção e desenvolvimento do embrião fora do corpo materno são alguns dos atrativos do *zebrafish*

	 DROSÓFILA	 ZEBRAFISH	 CAMUNDONGO
FECUNDAÇÃO	Interna	Externa	Interna
DESENVOLVIMENTO DO EMBRIÃO	Externo	Externo	Interno
EMBRIÃO	Não transparente	transparente	Não transparente
PRODUÇÃO DE FILHOTES	100 ovos/dia	100 ovos/dia	10 filhotes/2 meses
TEMPO ATÉ A IDADE REPRODUTIVA	20 dias	60 a 90 dias	85 dias
MANUTENÇÃO DIÁRIA	-	R\$ 0,60	R\$ 8,00
PLANO CORPORAL	Invertebrado, 6 patas e asas	Vertebrado, sem patas	Vertebrado, 4 patas

FONTE: JOSÉ XAVIER NETO / LNBIO, MONICA RYFF VIANNA / PUC-RS E DENIS ROSEMBERG / UNCHAPECO

Comparação com o ser humano

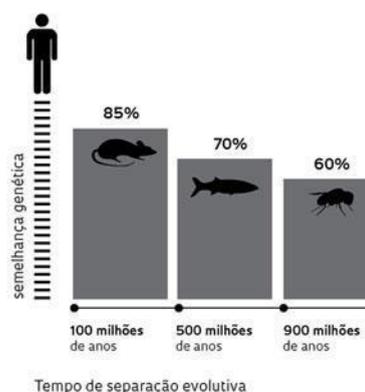


Fig 3: Comparação entre diferentes modelos de pesquisa. Fonte: shorturl.at/esu28

2. MÓDULO PRÁTICO

No presente módulo serão apresentados 3 vídeos de curta duração. No primeiro vídeo, com duração de 13 minutos, será abordada a manutenção de espécimes adultos de peixe-zebra, bem como a preparação dos aparatos de reprodução, manutenção e higienização de embriões, exposição ao composto de interesse e avaliação de diferentes “endpoints” como mortalidade, movimento espontâneo, morfologia, batimento cardíaco, eclosão e teste de fuga frente a estímulo adverso. No 2º e 3º vídeos que possuem entre 3 e 5 minutos, serão expostos resultados de um artigo já publicado pelo grupo avaliando a toxicidade do agroquímico Mancozeb em concentrações de relevância ambiental e sobre modelo de inflamação causado por Sulfato de Cobre.

A criação e manutenção de peixe-zebra em biotério foi aprovada e regulamentada pelo CEUA - Unipampa (protocolo 003-2016). Espécimes adultas de peixe-zebra (*Danio rerio*), linhagem selvagem, adquiridos de fornecedor local, são mantidos sob condições adequadas em sistema de recirculação Zebtec®, seguindo

alguns parâmetros considerados essenciais para uma boa qualidade de vida da espécie em biotério, como água de osmose reversa, pH 7,2, condutividade 400 μ S, temperatura 28° C, fotoperíodo de 14 horas de claro e 10 horas de escuro e sua dieta constituída de ração comercial flocada e alimento vivo (*Artemia salina*) suplementados 4x ao dia nos respectivos horários: 8:30, 11:30 e 13:30 com ração comercial e 16:30 com *artemia salina*, de acordo com protocolos previamente estabelecidos (WESTERFIELD, 2000).

Os embriões de peixe-zebra são obtidos a partir da reprodução de espécimes adultos. Resumidamente, machos e fêmeas de 6 a 12 meses de idade (proporção 2:1, respectivamente) são colocados em aquários de reprodução durante a noite. Na manhã seguinte, a desova é estimulada com a luz. Os ovos são lavados com azul de metileno 0,01% e colocados em uma incubadora B.O.D. (Biochemical Oxygen Demand) a 28 °C em meio de embrião (WESTERFIELD, 2000).

Embriões com 4 horas pós-fertilização (hpf) são expostos em placas de petri em um número de 50 por placa, contendo 30 ml de solução do químico a ser estudado. A cada 24h é avaliada a mortalidade dos embriões (LEANDRO et al., 2021). Com 28 hpf é avaliado o primeiro movimento que os embriões realizam dentro do córion, é responsivo a luz e auxilia na eclosão dos embriões em 72 hpf. É contabilizado o número de movimentos totais do eixo do corpo realizados pelos embriões dentro do córion (LEANDRO et al., 2021).

Após 48 hpf são avaliados mortalidade, alterações morfológicas, eclosão e frequência cardíaca (COSTA-SILVA et al., 2018). Com 72 hpf avaliamos novamente mortalidade, eclosão e teste de fuga a estímulo adverso, onde as larvas são submetidas ao teste comportamental de resposta ao toque. Nesta fase de desenvolvimento, as larvas permanecem inertes no ambiente, respondendo apenas a estímulos, como o toque. Resumidamente, uma larva de cada vez foi colocada suavemente no centro de uma placa de Petri e aclimatada durante 2 minutos, depois foi realizado o toque com auxílio de uma seringa (estímulo) e, em seguida, o número de estímulos necessários para o primeiro deslocamento foi calculado, assim como a capacidade do indivíduo de realizar um escape padrão (resposta de natação) (COSTA-SILVA et al., 2018).

REFERÊNCIAS

BRIDI, D. et al. Glyphosate and Roundup® alter morphology and behavior in zebrafish. *Toxicology*, v. 392, p. 32–39, 1 dez. 2017.

COSTA-SILVA, D. G. DA et al. N-acetylcysteine inhibits Mancozeb-induced impairments to the normal development of zebrafish embryos. *Neurotoxicology and Teratology*, v. 68, p. 1– 12, 1 jul. 2018.

DAMMSKI, A. P. et al. *Zebrafish Manual de Criação em Biotério*. 2011

DE SOUZA ANSELMO, C. et al. Zebrafish (*Danio rerio*): A valuable tool for predicting the metabolism of xenobiotics in humans? *Comparative Biochemistry and Physiology Part - C: Toxicology and Pharmacology* Elsevier Inc., 1 out. 2018.

HAENDEL, M. A. et al. Developmental Toxicity of the Dithiocarbamate Pesticide Sodium Metam in Zebrafish. *Toxicological Sciences*, v. 81, n. 2, p. 390–400, 14 jul. 2004.

HORZMANN, K. A.; FREEMAN, J. L. *Making waves: New developments in toxicology with the zebrafish* Toxicological Sciences Oxford University Press, 1 maio 2018.

GRUNWALD, D. J.; EISEN, J. S. Headwaters of the zebrafish - emergence of a new model vertebrate. *Nature Reviews Genetics*, 2002.

LEANDRO, L.P. et al. Behavioral changes occur earlier than redox alterations in developing zebrafish exposed to Mancozeb. *Environ Pollut.* v. 268, n.1, p. 1-12, 2021.

LIESCHKE, G. J.; CURRIE, P. D. Animal models of human disease: zebrafish swim into view. *Nature reviews. Genetics*, v. 8, n. 5, p. 353–67, maio 2007.

LUCINI, C. et al. BDNF, brain, and regeneration: Insights from zebrafish. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 19, n. 10, 13 out. 2018.

MITCHELL, K. M.; MOON, T. W. Behavioral and biochemical adjustments of the zebrafish *Danio rerio* exposed to the β -blocker propranolol. *Comparative Biochemistry and Physiology Part - B: Biochemistry and Molecular Biology*, v. 199, p. 105–114, 1 set. 2016.

OECD. Test no. 236: fish embryo acute toxicity (FET) test. OECD, 2013.

ORGER, M. B.; DE POLAVIEJA, G. G. Zebrafish Behavior: Opportunities and Challenges. *Annual Review of Neuroscience*, v. 40, n. 1, p. 125–147, 25 jul. 2017.

PANULA, P. et al. The comparative neuroanatomy and neurochemistry of zebrafish CNS systems of relevance to human neuropsychiatric diseases *Neurobiology of Disease*, out. 2010.

PARNG, C. et al. Zebrafish: a preclinical model for drug screening. *Assay and drug development technologies*, v. 1, n. 1 Pt 1, p. 41–48, 2002.

RICHENDRER, H.; CRETON, R.; COLWILL, R. M. The embryonic zebrafish as a model system to study the effects of environmental toxicants on behaviour. p. 245–264, 2014.

ROPER, C.; TANGUAY, R. L. *Zebrafish as a Model for Developmental Biology and*

Toxicology. In: Handbook of Developmental Neurotoxicology. Elsevier, 2018. p. 143–151.

SEVERO, E. S. et al. Ecological risk of pesticide contamination in a Brazilian river located near a rural area: A study of biomarkers using zebrafish embryos. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 190, p. 110071, 1 mar. 2020.

WESTERFIELD, M., 2000. *The Zebrafish Book. A Guide for The Laboratory Use of Zebrafish (Danio rerio)*.



MÓDULOS TEÓRICO-PRÁTICOS:

DIA 5: Sexta-feira, 30 de setembro de 2022

LABORATÓRIO DE FARMACOLOGIA DA DOR (FarmacoDor)



Professora Responsável:

Profa. Dra. Gabriela Trevisan dos Santos

Professora orientadora do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia e do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Desenvolve e orienta projetos que tem como objetivo observar a participação dos canais TRP (TRPA1, TRPV1 e TRPV4) na dor de cabeça, dor muscular, enxaqueca, a dor observada no câncer, na esclerose múltipla e na síndrome de dor complexa regional. Tem experiência na área de Farmacologia e Bioquímica, com ênfase em farmacologia da inflamação e dor, atuando principalmente nos seguintes temas: TRPA1, TRPV1, TRPV4 dor neuropática, dor de cabeça na enxaqueca, dor do câncer, dor na esclerose múltipla, dor muscular e síndrome de dor complexa regional. Atualmente, orienta 6 alunos de doutorado, 2 alunos de mestrado e 5 alunos de iniciação científica.

Eixo de Pesquisa: Dor, nocicepção e envolvimento do canal TRPA1, TRPV1 e TRPV4 em modelos pré-clínicos.

Título da palestra na XI Oficina de Inverno de Bioquímica Toxicológica:

Testes experimentais utilizados para avaliar a nocicepção e comportamentos tipo-ansioso e depressivo em modelos de esclerose múltipla em camundongos.

Modelo animal: Camundongos (*Mus musculus*) da linhagem C57BL/6

Vantagens do uso deste modelo:

Atualmente, os roedores, especialmente ratos e camundongos, são os animais mais utilizados em pesquisas que envolvem o uso de animais, servindo de ferramentas para responder a perguntas específicas sobre as mais diversas doenças humanas. A utilização destes animais na pesquisa experimental justifica-se pela validade translacional que o modelo apresenta, uma vez que é possível discernir mecanismos sistêmicos, celulares e genômicos de doenças humanas. Embora o modelo animal tenha suas limitações quanto à aplicabilidade de seus resultados, ele é ainda o melhor análogo para se estudar as condições encontradas nos seres humanos (ROBINSON, et al., 2019).

Existem inúmeras razões para o amplo uso de roedores: a facilidade de cuidado e de manejo, o tamanho e o custo reduzidos, a alta capacidade reprodutiva, gerações de curta duração, fácil adaptação a ambientes variados e sociabilidade. Como também, muitas informações disponíveis em relação ao uso de animais na experimentação, a existência de linhagens geneticamente bem definidas, sem a diversidade de características que resultam em muitos modelos animais (ROBINSON, et al., 2019). O número de animais utilizados para cada grupo experimental é definido com base em trabalhos científicos desenvolvidos pelo nosso grupo de pesquisa em neuropsicofarmacologia considerando a taxa de mortalidade, número de repetições e análise estatística satisfatória, visando o menor número possível de animais para a realização dos procedimentos experimentais.

Entre os modelos experimentais para o estudo da EM, existem relatos da utilização de desmielinização induzida por toxinas como a cuprizona e a encefalomielite autoimune experimental (EAE). O modelo de desmielinização induzido por cuprizona é utilizado especialmente para investigar respostas inflamatórias intrínsecas do cérebro, associados aos processos de desmielinização e remielinização axonal, não havendo envolvimento do sistema imune como acontece na EM (LIÑARES et al., 2006; MCCARTHY, RICHARDS, MILLER, 2012).

Ao passo que a EAE é um dos modelos animais de EM mais estudados uma vez que acarreta diversas características histopatológicas e imunológicas da doença, assim como ocorre em humanos, desta forma é um modelo mais fidedigno para o estudo da esclerose múltipla (EM) (TANABE et al., 2019). A linhagem mais comumente utilizada para este modelo são os camundongos C57BL/6, visto a possibilidade do uso de animais com deleção gênica. Para a indução do modelo EAE utiliza-se fêmeas, uma vez que a prevalência de EM é superior no sexo feminino (RITTER et al., 2020; PERES et al., 2021; DALENOGARE et al., 2022).

Neste método, utiliza-se o fragmento 35-55 do peptídeo da glicoproteína do oligodendrócito da mielina (MOG₃₅₋₅₅), uma vez que esta proteína é o antígeno-alvo primário no desenvolvimento da EM. Portanto, a MOG deve ser associada ao adjuvante de saponina (Quil-A, 45µg) que deve ser diluído em 100µl de solução tampão fosfato. Em seguida, 50µl desta solução são administrados por injeção subcutânea (s.c.) em ambos os flancos (DALENOGARE et al., 2020). Além disso, a fim de colaborar para o processo de imunização desempenhado pela MOG₃₅₋₅₅, é administrado toxina pertussis (250 ng) diluído em PBS na concentração de 1ng/µl. A toxina pertussis induz a expressão de moléculas de adesão, aumentando a interação dos leucócitos com as células endoteliais facilitando a infiltração de linfócitos T no SNC (KERFOOT et al., 2004; RACKE, HU e LOVETT-RACKE, 2005).

Assim, uma dose deve de 100µl ser administrada no momento da indução e outras 48 horas após. Os animais do grupo controle, recebem a mesma dose de QuilA e toxina pertussis, sem a MOG (DALENOGARE et al., 2020).

1. MÓDULO TEÓRICO

1.1 DOR E NOCICEPÇÃO

De acordo com a Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP, 2020), a dor é definida como “uma experiência sensitiva e emocional desagradável, associada, ou semelhante àquela associada, a uma lesão tecidual real ou potencial”. A dor e a nocicepção são conceitos diferentes, a nocicepção é definida como os processos neurais de codificação e processamento de estímulos nocivos, a qual é mensurada em modelos animais, enquanto a dor envolve não somente aspectos sensoriais, mas também emocionais, dificultando, dessa forma, sua mensuração em modelos animais (LOESER; TREEDE, 2008; RAJA et al., 2020).

1.2 TIPOS DE DOR

A dor pode ser classificada em três classes como a dor nociceptiva, neuropática e nociplástica. Neste sentido, a dor que é associada à proteção do organismo em circunstâncias que podem causar dano potencial aos tecidos é definida como dor nociceptiva. Esta é gerada pela ativação de terminações sensoriais livres (nociceptores), as quais transmitem os sinais nociceptivos até estruturas supra-espinhais, envolvidas na percepção da dor, como o tálamo e o córtex somatossensorial. Portanto, um determinado estímulo nociceptivo (mecânico, térmico ou químico) deve ser capaz de ativar os nociceptores, causando uma resposta dolorosa ao organismo (BASBAUM et al., 2009; WOOLF, 2010). A pele é inervada por várias terminações nervosas livres de neurônios aferentes primários. Existem três tipos de neurônios aferentes primários: as fibras C, fibras A δ e fibras A β . Apenas as fibras C e fibras A δ são consideradas nociceptivas, uma vez que detectam e conduzem estímulos nocivos ao sistema somatossensorial. Por outro lado, as fibras A β não conduzem estímulos nocivos, estando mais relacionada à detecção do toque e da propriocepção (BASBAUM et al., 2009; WOOLF, 2010). A dor nociceptiva pode ser desencadeada na presença de estímulos de alto limiar (mecânicos, químicos e térmicos), os nociceptores são ativados, por intermédio de diferentes receptores ali expressos. Esses receptores detectam a categoria do estímulo, levando a ativação de canais de sódio dependentes de voltagem, com consequente geração de um potencial de ação. Este potencial é transmitido até a medula espinhal, culminando na liberação de neurotransmissores excitatórios, como o glutamato e a substância P (SP). Como consequência, ocorre a ativação de neurônios de segunda ordem (situados na medula espinhal), os quais transmitem os sinais nociceptivos para estruturas supra-espinhais, através de duas vias ascendentes da dor: espinotalâmica e parabraquial amigdalóide (BASBAUM et al., 2009).

A via espinotalâmica transmite o sinal nociceptivo da medula espinhal até neurônios de terceira ordem, situados no tálamo, sendo caracterizada como via discriminativa sensorial da dor, uma vez que o sinal nociceptivo ascende através do tálamo até o córtex somatossensorial, onde ocorre a discriminação da

localização, da intensidade e do tipo de estímulo. Já a via parabraquial amigdalóide permite que o sinal sensorial ascenda através da medula até o núcleo parabraquial, deste local ocorre a transmissão até a amígdala, e então até o córtex cingulado e insular, onde há a percepção emocional da dor (BASBAUM et al., 2009).

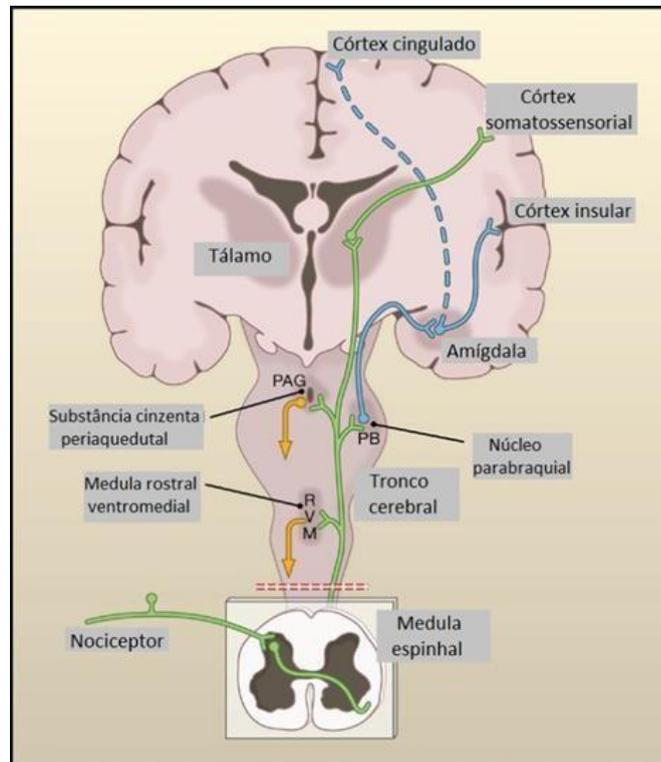


Figura adaptada de Basbaum et al., 2009 – Vias de sinalização ascendentes e descendentes relacionadas à transmissão de estímulos dolorosos.

A dor causada por uma lesão ou doença do sistema nervoso somatossensorial é chamada de dor neuropática (MEACHAM et al., 2017). A dor neuropática é uma descrição clínica (e não um diagnóstico), pois necessita de investigações diagnósticas (por exemplo, imagem, neurofisiologia, biópsias, exames laboratoriais) que demonstrem uma anormalidade ou trauma em nervos (BREIVIK, 2002). Este tipo de dor ainda pode ser dividido em duas categorias gerais: dor neuropática central ou dor neuropática periférica (FINNERUP et al., 2016; HUANG et al., 2019; MEACHAM et al., 2017). A dor neuropática periférica ocorre quando há lesões ou doenças que acometem o sistema somatossensorial periférico como o diabetes, tratamento do câncer com quimioterápicos, infecção pelo vírus Herpes zoster (MEACHAM et al., 2017). A dor neuropática central ocorre quando há algumas lesões no sistema nervoso central, como um acidente vascular cerebral, ou alguma doença neurodegenerativa, como no caso da esclerose múltipla (MEACHAM et al., 2017; RACKE; FROHMAN; FROHMAN, 2022).

A dor nociplástica pode ser definida como uma dor decorrente da função alterada de vias sensoriais relacionadas à dor tanto na periferia e quanto no SNC,

causando aumento da sensibilidade (FITZCHARLES et al., 2021; WOOLF, 2011). Os mecanismos envolvidos na dor nociplástica não são totalmente compreendidos, mas acredita-se que exista uma alteração na modulação e sinalização sensorial. Os sintomas observados na dor nociplástica incluem dor multifocal sendo uma dor disseminada e/ou intensa (FITZCHARLES et al., 2021). Existem ainda a presença de outros sintomas como fadiga, sono, perda memória e alterações de humor. Esse tipo de dor pode ocorrer isoladamente, como ocorre frequentemente em condições como fibromialgia ou cefaleia primárias (cefaleia tensional e enxaqueca), ou ainda como parte de um estado de dor mista em combinação com dor nociceptiva ou neuropática contínua, como pode ocorrer na dor crônica na região lombar (NIJS et al., 2021).

Desta forma, esses diferentes tipos de sintomas dolorosos levam a diminuição significativa da qualidade de vida de muitos pacientes com EM (URITS et al., 2019). Neste sentido, é de grande importância a investigação dos mecanismos envolvidos no desenvolvimento de dor em patologias crônicas e neurodegenerativas, como no caso da EM.

Dor na Esclerose múltipla

Na população com EM, a dor é um sintoma frequente, acometendo de 28 a 87% dos pacientes e apresentando variações no tempo de início e no tipo de dor (EHDE et al., 2003). Os sintomas dolorosos afetam o bem-estar físico e emocional do indivíduo e interferem na maioria das atividades da vida diária, como sono, trabalho e participação em atividades recreativas e sociais (EHDE et al., 2003; HADJIMICHAEL et al., 2007). Além da redução da qualidade de vida desses indivíduos a dor pode levar também ao desenvolvimento de comorbidades como, por exemplo, a depressão e ansiedade (MARRIE et al., 2015). Independentemente do tipo de dor, existe uma correlação entre a dor e o curso da doença, sua duração e a idade do indivíduo afetado (SOLARO et al., 2004). Diferentes manifestações de dor são relatadas pelos pacientes, como os espasmos dolorosos, especialmente nos membros inferiores. Esses espasmos são gerados devido a impulsos ectópicos, a partir das fibras motoras, como resultado de dano axonal e desmielinização sendo mais frequentes à noite (TRUINI et al., 2013). Dores de cabeça e lombalgia são muito comuns entre os indivíduos afetados durante todo o curso da doença (KISTER et al., 2010; NICOLETTI et al., 2008). É importante ressaltar que outras manifestações de dor ocorrem à medida que a doença progride. A espasticidade e a fraqueza progressiva comprometem a postura e a motilidade do indivíduo, levando à osteoporose e às disfunções de tendões, ligamentos e/ou articulações, que evocam dores secundárias (TRUINI et al., 2013).

De acordo com o tipo de doença, a prevalência de dor é de 70%, tanto na EMPP e EMPS, e 50% na EMRR. O tipo mais comum de dor é a enxaqueca (52%) e dor neuropática (51%), sendo que a presença das duas ocorre em 32% dos pacientes com EM (BIBLE, 2013). A dor neuropática é mais comum em mulheres com maior incapacidade e maior duração da doença (SOLARO et al., 2018). Esse tipo de dor é amplamente experimentado entre indivíduos com EM e pode assumir várias formas com uma prevalência de quase 50% dos pacientes

relatam a presença de sinais clássicos, como hiperalgesia e alodinia (BEISKE et al., 2004). A dor disestésica (em membros inferiores) é a forma mais comum de dor neuropática descrita como uma sensação de queimação, formigamento e latejamento constante nas pernas e pés (O'CONNOR et al., 2008). Ainda em outros estudos foi demonstrado que os pacientes com EM apresentavam menores limiares mecânicos de retirada e maior tempo de nocicepção ao frio em determinadas regiões do corpo quando comparados a pacientes sem dor (GRASSO et al., 2008).

Para o tratamento de dor neuropática na EM são usados principalmente os antidepressivos tricíclicos e os inibidores da recaptção da serotonina e noradrenalina, anticonvulsivantes, inibidores dos receptores de GABA, canabinoides (FERRARO et al., 2018; MIRABELLI; ELKABES, 2021; SOLARO; MESSMER UCCELLI, 2011) e opioides (MURPHY; BETHEA; FISCHER, 2017).

Esclerose múltipla

A esclerose múltipla (EM) é uma doença inflamatória crônica autoimune do sistema nervoso central (SNC) que afeta uma população jovem e é mais prevalente em mulheres (ROBLES-CEDENO; RAMIO-TORRENTA, 2018). Esta patologia danifica o SNC e periférico, gerando uma condição inflamatória mediada por células T que leva à desmielinização e perda neuronal e gliose (DOBSON e GIOVANNONI, 2019; OGURA et al. 2013; OUDEJANS et al. 2020). Ademais, cerca de 2,8 milhões de pessoas vivem com EM e a idade média do diagnóstico é de 32 anos (FEDERAÇÃO, 2020).

A EM apresenta 3 formas clínicas: EM recorrente-remitente (EMRR), EM primária progressiva (EMPP), EM secundária progressiva (EMSP) (LOMA e HEYMAN, 2011). Entre as formas clínicas da doença, a mais comum é a EMRR, caracterizada por períodos de disfunção neurológica (recidivas) intercalados com períodos de remissão (FILIPPI et al., 2018; GHASEMI; RAZAVI; NIKZAD, 2017). Nesta forma clínica, as mulheres são mais acometidas em comparação com os homens em uma proporção de 3:1 (VOSKUHL et al. 2020). Outra variante é a esclerose múltipla progressiva (EMP), que se desenvolve rapidamente e não tem tratamento para impedir o avanço da doença. Dados recentes mostram que aproximadamente 1,3 milhões de pessoas no mundo tem a EMP, e o início da progressão ocorre com mais frequência em adultos jovens, cuja faixa etária encontra-se entre 40 e 50 anos de idade (ONTANEDA et al., 2017). Já a forma clínica da EMSP a incidência da doença é de 2:3 entre homens e mulheres (KALINCIK et al. 2013). A maioria dos pacientes inicia o quadro clínico com EMRR, porém no decorrer da doença entre 50-60% dos indivíduos evoluem para o tipo EMSP e somente cerca de 15% evoluem para o tipo EMPP, sendo a menos comum e tem sua progressão desde o início de forma lenta e sem recidivas (HAWKER, 2011; ANTEL et al. 2012). Dessa forma, um diagnóstico na fase inicial proporciona o tratamento no rápido para EM que é um fator essencial para retardar a evolução da doença (SCALFARI et al. 2011).

Os sintomas mais prevalentes na EM são fadiga, distúrbios motores, perda de equilíbrio, dores musculares, enxaqueca, deficiências sensoriais e visuais e déficits cognitivos. Todos estes sintomas contribuem para a diminuição da

qualidade de vida dos pacientes, além de interferir na execução de tarefas básicas diárias (COMPSTON; COLES, 2008; FEINSTEIN et al., 2014; FOLEY et al., 2013).

Além dos sintomas já mencionados, no decorrer da evolução da EM os pacientes podem ainda desenvolver depressão e ansiedade, onde a interação social e profissional é afetada.

O diagnóstico da EM se dá através de critérios clínicos, como de neuroimagem (através da ressonância magnética-RM), e análise do líquido cefalorraquidiano (LCR) (KAMIŃSKA et al., 2017). Tais exames favorecem o diagnóstico precoce e asseguram a possibilidade de se identificar as fases da doença. Assim, os critérios bem estabelecidos e padronizados de diagnósticos da EM são chamados critérios de McDonald (ROVIRA et al., 2015; THOMPSON et al., 2018b). A RM é a principal ferramenta utilizada no diagnóstico quando os pacientes têm sintomas sugestivos de EM, como a presença de desmielinização e alterações a nível de barreira hematoencefálica (CSÉPÁNY, 2018; SOLOMON et al., 2016). Já os testes laboratoriais colaboram também para o diagnóstico, que é a busca de bandas oligoclonais específicas para a imunoglobulina IgG no LCR, resultantes da expansão clonal de células B (secretoras de imunoglobulina) e células plasmáticas no SNC (HOUSLEY; PITT; HAFNER, 2015; OH; VIDAL-JORDANA; MONTALBAN, 2018; THOMPSON et al., 2018b).

O tratamento da EM tem três principais modalidades de tratamento: a intervenção para as exacerbações da doença, as terapias modificadoras da doença (TMDs) e a abordagem sintomática (HAUSER e CREE, 2020).

A participação de TRPA1 na esclerose múltipla

Os receptores de potencial transitório são canais iônicos que possuem em sua estrutura seis domínios transmembrana (S1-S6) com regiões de comprimento variável nas porções amino-(NH₂) e carboxi (COOH) que estão localizadas intracelularmente (OWSIANIK et al., 2006; ZHAO; MCVEIGH; MOISEENKOVA-BELL, 2021). Essa família de receptores foi primeiramente descrita nos fotorreceptores da mosca do gênero *Drosophila*. Nos mamíferos, os canais TRP consistem em 28 proteínas de membrana sendo classificadas em seis subfamílias: TRPC (canônico), TRPV (vanilóide), TRPM (melastatina), TRPP (policistina), TRPML (mucolipina) e TRPA (anquirina) (ZHAO; MCVEIGH; MOISEENKOVA- BELL, 2021). Como previsto a partir de sua homologia de sequência para canais dependentes de voltagem, todos os canais TRP têm a transmembrana S1-S4 segmentos que formam domínios de detecção periféricos, enquanto S5 e S6 tetramerizam para criar uma central poro (ZHAO; MCVEIGH; MOISEENKOVA- BELL, 2021).

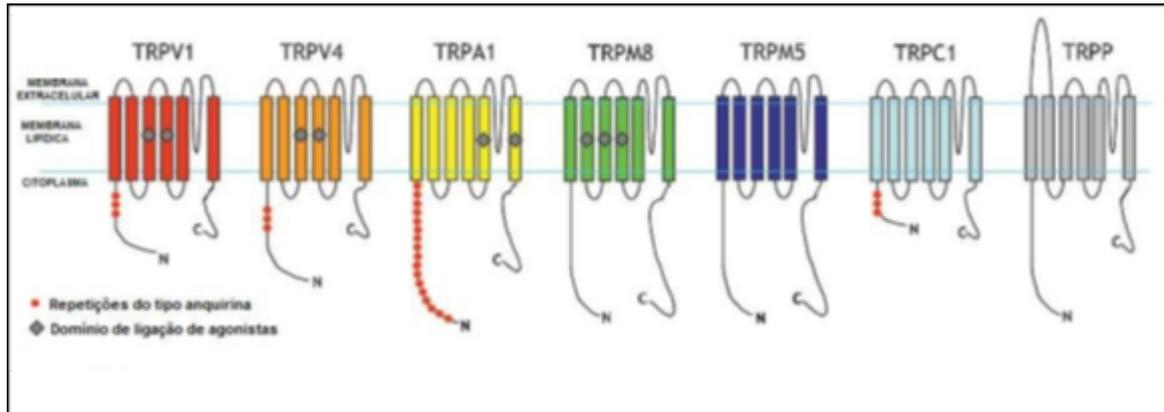


Figura 2 – Representação estrutural da estrutura das diferentes famílias de receptores TRPs. Fonte: Adaptado de Blackshaw et al., 2015

O canal TRPA1 foi primeiramente identificado na linhagem celular de fibroblastos de pulmão fetal de humanos, e até o momento é o único da subfamília anquirina descrito em mamíferos (JAQUEMAR; SCHENKER; TRUEB, 1999). Posteriormente, este canal foi descrito em outras espécies de mamíferos, como camundongos, ratos, cachorros, e em seres vertebrados e invertebrados, como a mosca-da-fruta, peixe-zebra e *Caenorhabditis elegans* (NILIUS; APPENDINO; OWSIANIK, 2012). Estruturalmente, este receptor é considerado uma proteína tetramérica formada pela união de quatro subunidades. Cada subunidade possui seis domínios transmembrana (TM1-TM6), com um poro entre as regiões TM5-TM6 e possui cerca de 14 a 18 repetições de anquirina na porção N-terminal intracelular, característica esta que gerou o nome da subfamília (ANDRADE; MEOTTI; CALIXTO, 2012; NILIUS; PRENEN; OWSIANIK, 2011; STORY et al., 2003).

Além disso, este receptor é amplamente expresso em neurônios nociceptivos, principalmente de fibras C não mielinizadas de processamento de dor e fibras A δ pouco mielinizadas em GDR, gânglios nodosos, trigêmeos e em células de Schwann (MEENTS; CIOTU; FISCHER, 2019). Ainda, este receptor também atua como um sensor ao frio nocivo levando ao desenvolvimento de alodínia ao frio, que geralmente é reduzida após o tratamento com antagonista TRPA1 em modelos de dor crônica (ANTONIAZZI, et al., 2019; DE LOGU et al., 2020; DE LOGU et al., 2017; TREVISAN et al., 2016; TREVISAN et al., 2013). Assim, antagonistas TRPA1 como o A-967079 e o HC030031 vem sendo avaliados visando verificar seu potencial analgésico (LOGASHINA et al., 2019).

O bloqueio do receptor TRPA1 tanto pelo A-967079 como pelo HC030031 reduziu a alodínia mecânica e a hiperalgesia ao frio e ao calor de camundongos em induzidos com EAE-P (RITTER et al., 2020). Igualmente, estes mesmos antagonistas do receptor TRPA1 apresentaram atividade antinociceptiva no modelo EAE-RR (DALENOGARE et al., 2020). Neste modelo os animais apresentam sintomas dolorosos já relatados para pacientes com EMRR. Assim como alterações nos marcadores de mielina, ativação da micróglia e astrócitos,

presença de processo inflamatório e produtos do estresse oxidativo (DALENOGARE et al., 2020). Além disso, em outro estudo foi evidenciado a presença de marcadores inflamatórios e subprodutos do estresse oxidativo no modelo da EMP-EAE (PERES et al., 2021). Finalmente, os efeitos antidepressivos e ansiolíticos do antagonista de TRPA1 e antioxidantes foram demonstrados. Pela primeira vez, foi observado uma relação entre o TRPA1 e o desenvolvimento dos sintomas do tipo depressivo e ansioso no modelo de camundongos EMP-EAE. Esses achados demonstram que o TRPA1 parece ser um possível alvo terapêutico para o desenvolvimento de novas drogas no tratamento de sintomas de depressão e ansiedade em pacientes com EMP (PERES et al., 2021).

2. MÓDULO PRÁTICO

2.1. Objetivo geral

Apresentar aos alunos envolvidos no curso os projetos em desenvolvimento no laboratório e em seguida demonstrar o modelo de EMRR em camundongos e os parâmetros nociceptivos e comportamentais abordados neste modelo.

2.2. Objetivos específicos

- Apresentar o laboratório.
- Demonstrar os testes desenvolvidos nos projetos e vídeos ilustrativos.
- Interação com perguntas pelo Kahoot[®]

2.3. Protocolo experimental

Indução do modelo de esclerose múltipla recorrente-remitente (EMRR)

Para realização da indução de EMRR são utilizados camundongos fêmeas adultas (C57BL/6, 20-25 g), com idade entre 4 e 6 semanas, provenientes do Biotério Central da Universidade de Santa Maria. O modelo de encefalomielite autoimune experimental (EAE) foi padronizado em nosso laboratório de acordo com o descrito por Dalenogare et al. (2020). Neste método, a MOG deve ser associada ao adjuvante de saponina (Quil-A, 45µg) que deve ser diluído em 100 µl de solução tampão fosfato. Em seguida, 50 µl desta solução são administrados por injeção subcutânea (s.c.) em ambos os flancos. Além disso, é administrado toxina pertussis (250 ng) diluído em PBS na concentração de 1 ng/µl. Assim, uma dose de 100 µl deve ser administrada no momento da indução e após 48 horas. Os animais do grupo controle recebem a mesma dose de QuilA e toxina pertussis, sem a MOG (DALENOGARE et al., 2020).

2.3 Protocolos:

Após a indução do modelo, diferentes testes comportamentais serão realizados nas diferentes fases da doença (7º dia após a indução ao 35º dia) a fim de avaliar os comportamentos nociceptivos. No 35º dia, é observado o pico nociceptivo, onde é realizado a avaliação de outros comportamentos para avaliação de sintomas tipo depressivos e ansiosos e o envolvimento do receptor TRPA1 (DALENOGARE et al., 2020).

2.4 Testes comportamentais:

Avaliação do Escore clínicos

As condições clínicas dos animais serão avaliadas utilizando um índice de escore clínico para averiguar o progresso da doença. A avaliação consiste em realizar exames comportamentais/patológicos nos animais para testar sua força/capacidade neuromotora nas extremidades. Sendo que para o modelo de EMRR utilizamos os escores: 0 comportamento normal; 0.5 fraqueza da região distal da cauda e aparência curvada; 1 cauda completamente flácida ou fraqueza nos membros posteriores; 1.5 Cauda flácida e fraqueza dos membros posteriores distinta reconhecida pela marcha instável e pobre aderência dos membros posteriores durante a suspensão na parte inferior da gaiola; 2 Cauda flácida com paralisia unilateral parcial dos membros posteriores; 2.5 Cauda flácida e paralisia bilateral parcial dos membros posteriores; 3 Paralisia completa dos membros posteriores; 3.5 Paralisia completa dos membros posteriores e paralisia unilateral dos membros anteriores; 4 Quadriplegia (DALENOGARE et al., 2020).

Avaliação da atividade locomotora e exploratória pelo teste do cilindro giratório (Rotarod)

O teste do cilindro giratório, mais conhecido como Rotarod, é utilizado para avaliar a coordenação motora e o equilíbrio dos animais, possivelmente afetadas pelo desenvolvimento clínico da EAE deste modelo nos dias (7, 14, 21, 28, 35), conforme Dalenogare et al. (2020). O rotarod foi realizado para estabelecer se os camundongos não apresentam comprometimento motor após a indução EMRR (DALENOGARE, et al., 2020). Primeiramente, os animais foram treinados no rotarod um dia antes da indução (60 segundos/ 16 rpm), esta sessão foi repetida duas vezes. O teste do rotarod foi realizado nos dias 7, 14, 21, 28 e 35, usando a mesma velocidade fixa por 180 segundos, e a latência de queda do animal será registrada. Os animais com um grau clínico ≥ 0.5 ou que não permaneceram 180 segundos no rotarod serão removidos do estudo. Os animais foram pesados antes dos procedimentos experimentais, caso haja a perda de 20% ou mais do peso o animal será retirado do estudo (OLECHOWSKI et al., 2013).

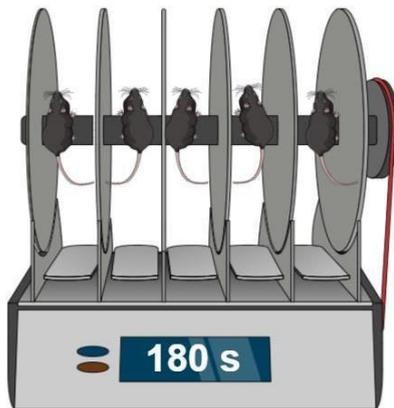


Figura do equipamento do cilindro giratório para avaliação da atividade locomotora e exploratória.

Avaliação da alodinia mecânica na pata pelo teste do Von frey

Para avaliação da alodinia mecânica é realizado pelo teste de Von Frey, (TREVISAN et al., 2016). Brevemente, os animais são ambientados por 1 hora no local de experimentação, que consiste em câmaras de acrílico elevadas sob um chão de tela metálica. Após esse período, é realizada a estimulação da pata traseira esquerda de cada animal com filamentos de von Frey pelo método de up-and-down. O primeiro filamento utilizado promove uma pressão de 0,6 g, quando ocorre o comportamento de retirada da pata, o próximo filamento aplicado promove uma pressão menor. Caso não ocorra retirada, serão aplicados filamentos com pressão crescente. No total, serão realizadas seis estimulações, utilizando os filamentos de 0,07; 0,16; 0,4; 0,6; 1,0; 1,4; e 2,0 g). A partir dos resultados obtidos, foi calculado o valor correspondente a 50 % do limiar, em g, que cada animal suporta (limiar 50 %) (TREVISAN, et al., 2013; DALENOGARE, et al., 2020; RITTER, et al., 2020).

Avaliação do comportamento tipo ansioso pelo teste de labirinto em cruz elevado

O teste do labirinto em cruz elevado é considerado padrão ouro para avaliação do comportamento tipo ansioso de roedores. Esse teste é baseado no medo inato que os roedores têm para espaços abertos e elevados. O aparato consiste em uma plataforma em forma de barra, elevada a 50 cm do chão. Dois braços opostos (30X5cm) são fechados por paredes com 40 cm de altura, enquanto os outros dois braços não possuem paredes. Os quatro braços têm na sua interseção uma plataforma central (5x5 cm), que dá acesso a qualquer um dos quatro braços (PELLOW et al., 1985). No início de cada teste, o animal será colocado na plataforma central de frente para um braço aberto e avaliado por 5 min. As medidas espaço temporais serão feitas pelo número de entradas e o tempo gasto em ambos os braços do labirinto (expresso como uma porcentagem da duração total do teste), usado como medida do nível de ansiedade. O total de

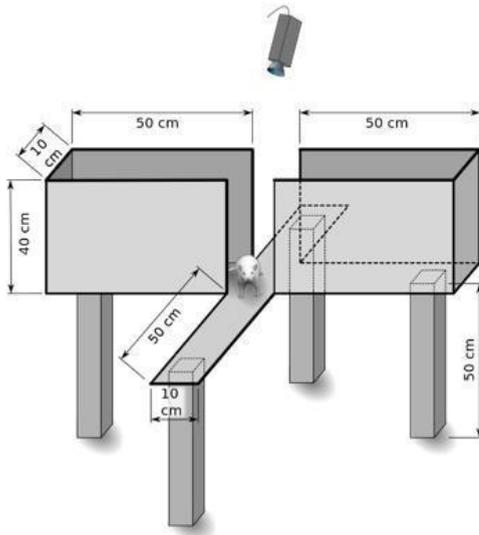
cruzamento entre baixos abertos ou fechados não pode dar diferença.

As medidas etológicas incluem a frequência de imersão da cabeça (movimento exploratório de cabeça/ombros sobre os braços abertos e para baixo em direção ao solo), posturas alongadas (quando o animal se estica com as patas dianteiras e se volta para sua posição original sem avançar) e criação (POTE et al., 2018; PERES et al., 2022).

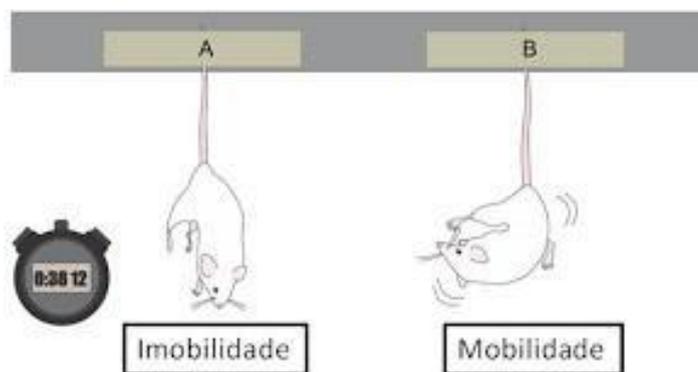
O índice de ansiedade é calculado pela fórmula:

$$1 - \left[\left(\frac{\text{Tempo gasto nos braços abertos}}{\text{tempo total no labirinto}} + \frac{\text{número de abertos entradas do braço}}{\text{total de entradas no labirinto}} \right) / 2 \right]$$

O aparato é limpo entre um animal e outro com álcool 30%. Esse teste e o campo aberto são filmados e analisados por meio do software ANYMAZE®



Avaliação do comportamento tipo depressivo pelo teste da suspensão da cauda



O teste de suspensão da cauda é usado para avaliar o comportamento do tipo-depressivo em camundongos. Resumidamente, o animal é suspenso pela cauda na borda de um aparato de madeira ou prateleira e posicionado a 60 cm

acima da superfície. Os animais são fixados com fita adesiva crepe e a latência (segundos) e o tempo de imobilidade (segundos) são registrados no tempo de 6 minutos (STERU et al., 1985; PERES et al., 2021).

REFERÊNCIAS:

ANTONIAZZI, C. et al. Transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) plays a critical role in a mouse model of cancer pain. *International Journal of Cancer*, v. 144, n. 2, p. 355–365, 2019.

BASBAUM, A. et al. Cellular and Molecular Mechanisms of Pain Introduction: Acute Versus Persistent Pain. p. 1–22, 2009.

BIBLE, E. Pain: Comorbidity of neuropathic pain and migraine in patients with multiple sclerosis. *Nature Reviews Neurology*, v. 9, n. 10, p. 544, 2013.

BREIVIK, H. International association for the study of pain: Update on WHO-IASP activities. *Journal of Pain and Symptom Management*, v. 24, n. 2, p. 97–101, 2002.

COMPSTON, A. et al. Multiple sclerosis. *Lancet*, v. 372, p. 1502–1517, 2008.

DALENOGARE, D. et al. TRPA1 activation mediates nociception behaviors in a mouse model of relapsing-remitting experimental autoimmune encephalomyelitis. *Experimental Neurology*, v. 328, 113241, 2020.

DOBSON, R. et al. Multiple sclerosis - a review. *European Journal of Neurology*, England, v. 26, n. 1, p. 27-40, 2019.

EHDE, D. et al. Chronic pain secondary to disability: A review. *Clinical Journal of Pain*. v.19, p. 3-17, 2003.

EISKE, A. G. et al. Pain and sensory complaints in multiple sclerosis. *European Journal of Neurology*, v. 11, n. 7, p. 479–482, 2004.

FEDERAÇÃO INTERNACIONAL DE ESCLEROSE MÚLTIPLA. Atlas da EM. 3. ed. Tradução: Lucas Musa; Helena Burock. Equipe Marketing e Design ABEM, 2020. 36p.

FEINSTEIN, A. et al. Treatment of progressive multiple sclerosis: What works, what does not, and what is needed. *The Lancet Neurology*, v. 14, n. 2, p. 194-207, 2015.

FERRARO, D. et al. Systematic assessment and characterization of chronic pain in multiple sclerosis patients. *Neurological Sciences*, v. 39, n. 3, p. 445–453, 2018.

FILIPPI, M. et al. Multiple sclerosis. *Nature Reviews Disease Primers*, v. 4, n. 43, 2018.

FINNERUP, N. et al. Neuropathic pain: An updated grading system for research and clinical practice. *Pain*, v. 157, n. 8, p. 1599–1606, 2016.

FITZCHARLES, M. et al. Nociceptive pain: towards an understanding of prevalent pain conditions. *The Lancet*, p. 2098-2110, 2021.

FOLEY, P. et al. Prevalence and natural history of pain in adults with multiple sclerosis: Systematic review and meta-analysis. *Pain*, v. 154, n. 5, p. 632–642, 2013.

GRASSO, M. et al. Pain in multiple sclerosis: A clinical and instrumental approach. *Multiple Sclerosis*, v. 14, n. 4, p. 506–513, 2008.

HADJIMICHAEL, O. et al. Persistent pain and uncomfortable sensations in persons with multiple sclerosis. *Pain*, v. 127, n. 1–2, p. 35–41, 2007.

HAUSER, S. et al. Ocrelizumab versus interferon beta-1a in relapsing multiple sclerosis. *New England Journal of Medicine*, v. 376, n. 3, p. 221–234, 2017.

HAWKER, K. Progressive Multiple Sclerosis: Characteristics and Management. *Neurologic clinics*, v. 29, n. 2, p. 423-434, 2011.

HOUSLEY, W. et al. Biomarkers in multiple sclerosis. *Clinical Immunology*, v. 161, n. 1, p. 51–58, 2015.

HUANG, J. et al. A neuronal circuit for activating descending modulation of neuropathic pain. *Nature Neuroscience*, v. 22, n. 10, p. 1659–1668, 2019.

JAQUEMAR, D.; SCHENKER, T.; TRUEB, B. An ankyrin-like protein with transmembrane domains is specifically lost after oncogenic transformation of human fibroblasts. *The Journal of biological chemistry*, v. 274, n. 11, p. 7325–33, 1999.

KALINCIK, T. Multiple sclerosis relapses: Epidemiology, outcomes, and management. A systematic review. *Neuroepidemiology*, v.44, p. 199–214, 2018.

KERFOOT, S. et al. TLR4 contributes to disease-inducing mechanisms resulting in central nervous system autoimmune disease. *Journal of immunology*, v. 173, p. 7070-7077, 2004.

KHAN, N. et al. Establishment and characterization of an optimized mouse model of multiple sclerosis-induced neuropathic pain using behavioral, pharmacologic, histologic and immunohistochemical methods. *Pharmacol Biochem Behav*. v.126,

n., p.13-27, 2014.

KISTER, I. et al. Tension-type headache and migraine in multiple sclerosis. *Curr Pain Headache Rep.* v. 14, p. 441-448, 2010.

LIÑARES, D. et al. Neuronal Nitric Oxide Synthase Plays a Key Role in CNS Demyelination. *The Journal of Neuroscience*, v. 26, n. 49, p. 12672-12681, 2006.

LOESER, John D.; TREEDE, Rolf Detlef. *The Kyoto protocol of IASP Basic Pain Terminology* Pain, 2008.

Marrie, R. et al. The incidence and prevalence of psychiatric disorders in multiple sclerosis: a systematic review. *Multiple Sclerosis.* v. 21, n. 3, p. 305-317, 2015.

MCCARTHY, D. et al. Mouse models of multiple sclerosis: experimental autoimmune encephalomyelitis and Theiler's virus-induced demyelinating disease. *Methods Mol Biol*, v. 900, p. 381-401, 2012.

MEACHAM, K. et al. Neuropathic Pain: Central vs. Peripheral Mechanisms *Current Pain and Headache Reports.* Current Medicine Group LLC 1, 1 Jun. 2017.

MEOTTI, F. C.; LEMOS DE ANDRADE, E.; CALIXTO, J. B. TRP Modulation by Natural Compounds. In: *Handbook of experimental pharmacology.* [s.l.] Springer, Cham, 2014. v. 223p. 1177–1238.

MIRABELLI, E.; ELKABES, S. Neuropathic Pain in Multiple Sclerosis and Its Animal Models: Focus on Mechanisms, Knowledge Gaps and Future Directions. *Frontiers in Neurology*, v. 12, p. 2300, 2021.

MURPHY, K. L.; BETHEA, J. R.; FISCHER, R. Neuropathic Pain in Multiple Sclerosis—Current Therapeutic Intervention and Future Treatment Perspectives. [s.l.] Codon Publications, 2017.

NICOLETTI, A. et al. Headache and multiple sclerosis: A population-based case-control study in Catania, Sicily. *Cephalalgia*, v. 28, n. 11, p. 1163–1169, 2008.

NIJS, J. et al. Nociceptive Pain Criteria or Recognition of Central Sensitization? Pain Phenotyping in the Past, Present and Future. *J Clin Med.* v. 10, n.15, p. 3203, 2021.

NILIUS, B. et al. The transient receptor potential channel TRPA1: from gene to pathophysiology. *Pflügers Archiv : European journal of physiology.* v. 464, p. 425–58, 2012.

O'CONNOR, A. B. et al. Pain associated with multiple sclerosis: Systematic review and proposed classification. *Pain*, v. 137, n. 1, p. 96–111, 2008.

OH, J. et al. Multiple sclerosis: Clinical aspects. *Current Opinion in Neurology*, v. 31, n. 6, p. 752-759, 2018.

OLECHOWSKI, C. et al. Changes in nociceptive sensitivity and object recognition in experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). *Experimental Neurology*, v. 241, p 113-121, 2013.

ONTANEDA, D. et al. Progressive multiple sclerosis: prospects for disease therapy, repair, and restoration of function. *The Lancet*, v. 389, n. 10076, p. 1357–1366, 2017.

OWSIANIK, G. et al. Structure-function relationship of the TRP channel superfamily. *Reviews of physiology, biochemistry and pharmacology*, v. 156, p. 61–90, 2006.

PERES, D. et al. TRPA1 involvement in depression-and anxiety-like behaviors in a progressive multiple sclerosis model in mice. *Brain Research Bulletin*, v. 175, p. 1-15, 2021.

POTHION, S. et al. Strain differences in sucrose preference and the consequences of unpredictable chronic mild stress. *Behav Brain Res.* p. 135-46, 2004.

RACKE, M. et al. PTX cruiser: driving autoimmunity via TLR4. *Trends in Immunology*, v. 26, p. 289–291, 2005.

RACKE, M. K.; FROHMAN, E. M.; FROHMAN, T. Pain in Multiple Sclerosis: Understanding Pathophysiology, Diagnosis, and Management Through Clinical Vignettes. *Frontiers in neurology*, v. 12, 2022.

RAJA, Srinivasa N. et al. The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises. *Pain*, [s. l.], v. 161, n. 9, p. 1976–1982, 2020.

RITTER, C., et al. Nociception in a Progressive Multiple Sclerosis Model in Mice Is Dependent on Spinal TRPA1 Channel Activation. *Mol Neurobiol*, v., n., p., 2020.

ROBINSON, N., et al. The current state of animal models in research: A review. *Int J Surg*, v. 72, p. 9-13, 2019.

ROVIRA, Á. et al. Evidence-based guidelines: MAGNIMS consensus guidelines on the use of MRI in multiple sclerosis - Clinical implementation in the diagnostic process. *Nature Reviews Neurology*, v. 11, n. 8, p. 471–482, 2015.

SOLARO, C. et al. Identifying neuropathic pain in patients with multiple sclerosis: a

cross-sectional multicenter study using highly specific criteria. *Journal of Neurology*, v. 265, n. 4, p. 828–835, 2018.

SOLARO, C. et al. The prevalence of pain in multiple sclerosis: A multicenter cross-sectional study. *Neurology*, v. 63, n. 5, p. 919–921, set. 2004.

SOLARO, C.; MESSMER UCCELLI, M. Management of pain in multiple sclerosis: a pharmacological approach. *Nature Reviews Neurology*, v. 7, n. 9, p. 519–527, 16 set. 2011.

SOLOMON, A. J. et al. The contemporary spectrum of multiple sclerosis misdiagnosis. *Neurology*, v. 87, n. 13, p. 1393–1399, 2016

Steru, L. et al. A new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacology (Berl)*, v. 85, p. 367–37, 1985.

STORY, G. M. et al. ANKTM1, a TRP-like channel expressed in nociceptive neurons, is activated by cold temperatures. *Cell*, v. 112, n. 6, p. 819–29, 21 mar. 2003.

THOMPSON, A. et al. Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. *The Lancet Neurology*, v. 17, n. 2, p. 162-173, 2018a.

THOMPSON, A. et al. Multiple sclerosis. *The Lancet*, v. 391, n. 10130, p. 1622–1636, Apr. 2018b.

TRUINI, A. et al. A mechanism-based classification of pain in multiple sclerosis *journal of Neurology*, 2013.

URITS, I. et al. Advances in the Understanding and Management of Chronic Pain in Multiple Sclerosis: a Comprehensive Review. *Curr Pain Headache Rep*. 2019.

WILLNER P. The chronic mild stress procedure as an animal model of depression: valid, reasonably reliable, and useful. *Psychopharmacology (Berl)* 134:371–377, 1997.

WOOLF, C. J. Central sensitization: implications for the diagnosis and treatment of pain. *Pain*, v. 152, n. 3 Suppl, mar. 2011.

WOOLF, C. J. Review series introduction What is this thing called pain? *The Journal of Clinical Investigation*, v. 120, n. 11, p. 10–12, 2010.

ZHAO, Y.; MCVEIGH, B. M.; MOISEENKOVA-BELL, V. Y. Structural Pharmacology of TRP Channels. *Journal of molecular biology*, v. 433, n. 17, 2021.



PALESTRANTES CONVIDADOS:

DIA 6: Sábado, 01 de outubro de 2022



Barbara Dotto Fontana

Pesquisadora e Pós-doutoranda na Wayne State University - MI, EUA

Bacharel em Biomedicina pelo Centro Universitário Franciscano (2016) e Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Possui experiência em Bioquímica, Biologia Molecular e Comportamento, com ênfase em Neurociências. Desenvolveu atividades de pesquisa sobre os efeitos neurocomportamentais da taurina em modelos de exposição ao etanol e crise convulsiva em peixe zebra (*Danio rerio*), no Laboratório de Neuropsicobiologia Experimental - UFSM. Durante o doutorado desenvolveu pesquisas relacionadas à função do gene latrofilina 3.1 no TDAH em peixe-zebra na Universidade de Portsmouth - Inglaterra, sob orientação do prof. dr. Matthew O. Parker. Atualmente, realiza seu pós-doutorado no departamento de Ciências Biológicas no laboratório do Prof. Dr. Justin Kenney - Wayne State University (Michigan, USA). Recentemente, pesquisa o papel da genética e sexo nas diferenças comportamentais entre indivíduos utilizando peixe zebra como organismo modelo.



Débora Farina Gonçalves

Pesquisadora e Pós-doutoranda no Instituto NeuroMyoGène, Lyon - França

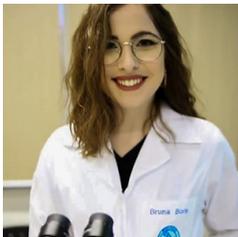
Licenciada em Química pelo Instituto Federal Farroupilha Campus São Vicente do Sul (2015). Mestre em Bioquímica Toxicológica pela Universidade Federal de Santa Maria (2017). Doutora em Bioquímica Toxicológica pela Universidade Federal de Santa Maria (2021). Atualmente, é pesquisadora em nível de pós-doutorado no Instituto NeuroMyoGène (INMG-UMR5310-INSERM U1217), localizado na cidade de Lyon-França. Desenvolve projeto relacionado a abordagens de medicina molecular e terapia genética direcionadas a modelos de ataxias autossômicas recessivas (ARCA). Tem experiência em bioenergética celular, disfunção mitocondrial e doenças neurodegenerativas.



Evelyne da Silva Brum

Aluna de doutorado do Programa de Pós-graduação em
Ciência Biológicas: Bioquímica Toxicológica da UFSM

Possui graduação em Farmácia pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) (2016) e mestrado em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica pela UFSM (2018). Atualmente é aluna de doutorado em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica pela UFSM, com período sanduíche na Università degli Studi di Firenze (Itália) através do Programa Institucional de Internacionalização (PrInt/CAPES). Tem experiência na área de Farmacologia e Toxicologia, atuando principalmente nos seguintes temas: dor, TRPA1 e produtos naturais biologicamente ativos.



Bruna Cogo Borin

Aluna de mestrado do Programa de Pós-graduação em
Ciência Biológicas: Bioquímica Toxicológica da UFSM

Bacharel no curso de Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Atualmente mestranda no Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Biologia Molecular, na UFSM. Desenvolve pesquisas na área de Biologia Molecular no laboratório de Radiação Ultravioleta & Fotobiologia, com projeto voltado para o campo de caracterização do potencial genotóxico da luz UV bem como monitoramento de incidência desta radiação na cidade de Santa Maria/RS. Adicionalmente aos dados de monitoramento de radiação UV, vem trabalhando com dados da concentração de ozônio vindos de satélites da National Aeronautics and Space Administration (NASA).



Cássia Pereira Delgado

Aluna de doutorado do Programa de Pós-graduação em
Ciência Biológicas: Bioquímica Toxicológica da UFSM

Natural de Porto Alegre, Graduada no curso de Química Bacharelado pela Universidade Federal de Santa Maria em 2015; Mestre em Química- área de concentração Inorgânica, pela Universidade Federal de Santa Maria em 2018; Doutoranda em Biologia- área de concentração em Bioquímica Toxicológica, pela Universidade Federal de Santa Maria, Durante a Graduação participei de dois grupos de pesquisas: LAMIC- Laboratório de Análises Micotoxicológicas Tendo como ênfase de estudo neste laboratório a análise química de micotoxinas em alimentos para agroindústria.

LMI- Laboratório de Materiais Inorgânicos Tendo como ênfase de estudo neste laboratório, a iniciação científica e compreensão no estudo de complexos metálicos, ligantes orgânicos, pesquisas na área de magnetos moleculares e química de organocalcogênios. Domínio de análise de técnicas, tais como: Espectroscopia de Infravermelho; Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear; e entendimento básico de Espectroscopia de Difração de Raios X. Principais interesses: Pesquisa na área de Química Inorgânica, novos compostos derivados de organocalcogênios, mais precisamente Selênio e Telúrio. Mestrado: Linha de pesquisa: Síntese e caracterização de compostos organocalcogênio, com potencial complexação a centros metálicos e aplicação biológica. Participação de Intercâmbio profissionalizante durante três meses em Berlin- Alemanha entre julho à setembro de 2017, com intuito de aumentar o escopo da pesquisa durante o mestrado. Doutorado: Linha de Pesquisa: Pesquisas In Sílico (Docking Molecular) de drogas previamente aprovadas pelo FDA (Food and Drug Administration), para potenciais usos no combate a SARS-CoV-2.



Lara Panazzolo Marquezin

Aluna de Farmácia e de Iniciação Científica da UFSM

Graduanda do oitavo semestre do curso de Farmácia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). É integrante do Laboratório de Neurotoxicidade e Psicofarmacologia (LabNeuro) desde 2021 sob orientação da Professora Dra. Sara Marchesan de Oliveira. Atualmente é bolsista FAPERGS e está desenvolvendo um trabalho que tem o objetivo elucidar o envolvimento da diosmetina nos parâmetros dolorosos e inflamatórios em um modelo de fibromialgia induzido por reserpina em camundongos.



Amanda Favarin da Silva

Aluna de Farmácia e de Iniciação Científica da UFSM

Graduanda do nono semestre do curso de Farmácia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). É integrante do Laboratório de Neurotoxicidade e Psicofarmacologia (LabNeuro) desde 2021 sob orientação da Professora Dra. Sara Marchesan de Oliveira. Atualmente é bolsista PIBIC e está desenvolvendo um trabalho que tem o objetivo de desenvolver uma formulação em gel para uso tópico contendo diosmetina, e avaliar seu efeito antinociceptivo e anti-inflamatório em camundongos.



AGRADECIMENTOS:

O Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica contou com o apoio e o patrocínio de empresas parceiras da nossa comunidade que apostaram e colaboraram para a realização da XI Oficina de Inverno de Bioquímica Toxicológica. Queremos agradecer a:

Study English, que é uma escola de idiomas para todos os públicos. A Study fornece aulas dinâmicas e professores com formação em Letras – Inglês, além de Certificação Internacional. Sem contar que fornece diversos cursos direcionados para alunos da graduação e da pós-graduação.

Eviglas, empresa que presta suporte técnico em computadores, notebooks e impressoras e que possui também fornecimento de diversos materiais de uso laboratorial.

Aproquímica, na qual você encontra produtos químicos e laboratoriais como equipamentos, vidrarias, reagentes, embalagens, artigos de proteção. Também fornecem produtos para tratamento de água, limpeza, higiene e artesanato.

Ateliê Andréa Flôres, empresa familiar de confecção de jalecos, uniformes, roupas casuais e festivas!

Finalmente, não podemos deixar de agradecer imensamente à:

Comissão Organizadora da XI Oficina de Inverno de Bioquímica,

Universidade Federal de Santa Maria,

Núcleo de tecnologia educacional (NTE),

Pró-Reitora de Graduação (PROGRAD),

Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa (PRPGP),

Pró-Reitora de Assuntos Estudantis (PRAE),

Secretaria de Apoio Internacional (SAI),

Agência de Inovação e Transferência de Tecnologia (AGITTEC),

Todos os professores e professoras do PPGBTox que acreditaram e incentivaram a execução deste evento.