



Diretório Acadêmico
Valéria Fazan



ANAIS DO XIX ENCONTRO MINEIRO DE BIOMEDICINA

17, 18 E 19 DE MAIO DE 2024

LITERACIA
CIENTÍFICA
EDITORA &
CURSOS





Diretório Acadêmico
Valéria Fazan



FAPEMIG



ANAIS DO XIX ENCONTRO MINEIRO DE BIOMEDICINA

17, 18 E 19 DE MAIO DE 2024



LITERACIA
CIENTÍFICA
EDITORA &
CURSOS



Literacia Científica Editora & Cursos

ANAIS DO XIX ENCONTRO MINEIRO DE BIOMEDICINA

1ª edição



ISBN: 978-65-84528-44-4



DOI: 10.53524/lit.edt.978-65-84528-44-4

Teresina (PI)
2024



Literacia Científica Editora & Cursos

Teresina, Piauí, Brasil

Telefones: (99) 9 8815-7190 | (86) 9 9985-4095

[http://literacienciaeditora.com.br/
contato@literacienciaeditora.com.br](http://literacienciaeditora.com.br/contato@literacienciaeditora.com.br)

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD

E56a Encontro Mineiro de Biomedicina (19. : 2024 : Uberaba, MG).
Anais do XIX Encontro Mineiro de Biomedicina, realizado nos dias
17 a 19 de maio de 2024 / Organizado por Alexandre Claudino Junior
[et al.]. – Teresina, PI: Literacia Científica Editora & Cursos, 2024.
105 p. : il.

ISBN versão digital: 978-65-84528-44-4

1. Biomedicina. 2. Inovação em Saúde. 3. Saúde pública.
I. Claudino Junior, Alexandre. II. Título.

CDD: 610

Bibliotecária Responsável:

Nayla Kedma de Carvalho Santos – CRB 3ª Região/1188



LICENÇA CREATIVE COMMONS

Todo o conteúdo das produções publicadas pela Literacia Científica Editora & Cursos está licenciado com uma Licença de Atribuição Creative Commons. Atribuição-NãoComercialNãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

Todo o conteúdo apresentado nesta obra é de inteira responsabilidade dos autores.

CORPO EDITORIAL DA LITERACIA CIENTÍFICA EDITORA & CURSOS

EDITOR-CHEFE

Francisco Lucas de Lima Fontes | Universidade Federal do Piauí (UFPI)

EDITORA EXECUTIVA

Mayara Macêdo Melo | Universidade Federal do Piauí (UFPI)

EDITORA CIENTÍFICA

Rosane da Silva Santana | Universidade Federal do Ceará (UFC)

EDITORA DE GRANDE ÁREA: CIÊNCIAS DA SAÚDE

Cidianna Emanuely Melo do Nascimento | Universidade Estadual do Ceará (UECE)

BIBLIOTECÁRIA

Nayla Kedma de Carvalho Santos – CRB 3ª Região/1188

CONSELHO EDITORIAL

André Sousa Rocha | Universidade São Francisco (USF)

Brisa Emanuelle Silva Ferreira | Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)

Dhyôvanna Carine Cardoso Beirão | Universidade Estadual do Maranhão (UEMA)

Diovana Raspante de Oliveira Souza | Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP)

Francine Rubim de Resende | Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP)

Leylaine Christina Nunes de Barros | Universidade Federal de Goiás (UFG)

Robson Diego Calixto | Universidade de São Paulo (USP)

Shaiana Vilella Hartwig | Universidade do Estado de Mato Grosso (UFMT)

DECLARAÇÃO DA EDITORA

A equipe que compõe a Literacia Científica Editora & Cursos declara que não participou de qualquer etapa do processo de organização e planejamento do **XIX Encontro Mineiro de Biomedicina**, envolvendo-se somente na etapa de publicação da obra do referido evento, com inserção de suas credenciais (ISBN, DOI geral da obra, ficha catalográfica e indexações em fontes informacionais). Outrossim, a Literacia Científica Editora & Cursos não se responsabiliza e nem assume qualquer responsabilidade pelo teor ou possíveis erros de linguagem dos trabalhos divulgados na presente obra, a qual recai, com exclusividade, sobre seus organizadores e respectivos autores.

Francisco Lucas de Lima Fontes

Editor-chefe

Mayara Macêdo Melo

Editora executiva

Prefixos

International Standard Book Number (ISBN): 978-65-995572 / 978-65-84528

Digital Object Identifier (DOI): 10.53524

Ficha catalográfica

Confeccionada pela bibliotecária da Editora: Nayla Kedma de Carvalho Santos (CRB 3ª Região/1188)



XIX Encontro Mineiro de Biomedicina

ORGANIZAÇÃO

Diretório Acadêmico Valéria Fazan de Biomedicina - Gestão Vozes Biomédicas
Comissão Organizadora do XIX Encontro Mineiro de Biomedicina

PRESIDENTE DO DIRETÓRIO ACADÊMICO VALÉRIA FAZAN

Alexandre Claudino Junior

COORDENADORA DA COMISSÃO CIENTÍFICA DO XIX EMBM

Maria Juliana Ribas do Nascimento da Silva

INTEGRANTES DA COMISSÃO DE APRESENTAÇÃO DE TRABALHO

MODALIDADE ORAL

Amanda Crespo Amaral
Ana Laura Carvalho da Silva
Rebecca Martins Araújo

INTEGRANTES DA COMISSÃO DE APRESENTAÇÃO DE TRABALHO MODALIDADE PÔSTER CIENTÍFICO

Ana Clara Vaz e Silva
Melissa Helena Garcia Matheus
Yasmin Corrêa Vasconcellos

IMAGEM DA CAPA, EDIÇÃO DE ARTE, DIAGRAMAÇÃO

Maria Juliana Ribas do Nascimento da Silva

AVALIADORES DA COMISSÃO CIENTÍFICA

Andrei Giacchetto Felice
Aline Beatriz Mahler Pereira
Aline Cristina Souza da Silva
Ana Carolina de Moraes Oliveira Scussel
Carolina Rodrigues da Fonseca
Celene Maria de Oliveira Simões Alves
Chamberttan Souza Desidério
Cristhianne Molinero Andrade Ratkevicius
Fernanda Machado Fonseca
Hanstter Hallison Alves Rezende
Hugo Felix Perini
Karina Ferrazzoli Devienne Vicentine
Lays Adrienne Mendonça Trajano Silva
Lívia das Graças Vieito Lombardi Teodoro
Marcos Vinícius da Silva
Mariana de Castro Silva
Matheus Felipe Marcon
Patrícia Helena Zanier Gomes
Polyanna Miranda Alves
Rafaela Pires Erthal Michelato
Rosângela Maria Rodrigues
Thaís Soares Farnesi de Assunção
Thais Vilela de Almeida Silveira
Vanessa Beatriz Monteiro Galassi Spini
Simone Acrani



XIX Encontro Mineiro de Biomedicina

SOBRE O EVENTO

Contando com 19 anos de tradição e 19 edições, o Encontro Mineiro de Biomedicina é um evento científico idealizado e realizado integralmente por discentes do curso de Biomedicina da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM) através do Diretório Acadêmico de Biomedicina (DAVF), e já ocupa hoje o lugar de segundo maior congresso de Biomedicina do Brasil.

A edição de 2024, que aconteceu dos dias 17 a 19 de maio teve como objetivos a valorização do profissional biomédico, assim como a divulgação da produção científica e das mais de 35 habilitações do biomédico através de palestras, apresentações de trabalhos (tanto na modalidade de pôster científico quanto na modalidade de apresentação oral) e minicursos. O evento contou ainda com momentos pensados para fortalecer a cooperação entre a comunidade de biomédicos e discentes do curso com a realização do também tradicional Coquetel.

MENSAGEM DA ORGANIZAÇÃO

Olá! Sou Alexandre Claudino Junior, presidente do Diretório Acadêmico de Biomedicina Valéria Fazan e líder da Comissão Organizadora. É com imensa satisfação que venho apresentar o Livro de Anais Científicos do XIX Encontro Mineiro de Biomedicina, onde agradecemos calorosamente a todos os membros da comissão, palestrantes, participantes e colaboradores, cujo empenho e dedicação foram fundamentais para o sucesso deste encontro.

Foi uma experiência verdadeiramente enriquecedora estar junto de todos vocês, compartilhando conhecimento e fortalecendo os laços da nossa comunidade biomédica.

Que este evento inspire novas conquistas e avanços na nossa área.

Atenciosamente, Alexandre Claudino Junior.

Os organizadores da presente obra não assumem qualquer responsabilidade pelo teor ou possíveis erros de linguagem dos trabalhos divulgados na presente obra, os quais recaem em sua totalidade sobre seus respectivos autores.



XIX Encontro Mineiro de Biomedicina

CRONOGRAMA DO XIX ENCONTRO MINEIRO DE BIOMEDICINA

17/05/2024

7:00 - 7:40 Credenciamento

7:40 - 8:10 Abertura

8:10 - 9:10 Palestra "O que faz um(a) neurocientista? Desafios e oportunidades na carreira biomédica"

9:10 - 9:40 COFFEE BREAK

9:40 - 10:30 Mesa Redonda "Biomedicina além da bancada"

10:30 - 11:30 Palestra "Hemogramas nas leucemias"

11:30 - 13:00 ALMOÇO

13:00 - 13:30 CHECK-IN

13:30 - 14:30 Palestra "Pesquisa clínica: o que a faculdade não te conta"

14:40 - 15:40 Palestra "Transformando pesquisa e desenvolvimento através de reagentes personalizados: desvendando sinergias por meio de modelos de parceria com a FastBio"

15:40 - 16:10 COFFEE BREAK

16:10 - 17:10 apresentação oral graduação

17:10 - 18:10 Palestra "Saúde estética: uma visão biomédica"

18:10: DESPEDIDA

18/05/2024

7:40 - 8:10 CHECK-IN

8:10 - 9:10 Palestra "A perfusão em suas mãos"

9:10 - 10:10 Palestra "O futuro da biomedicina"

10:10 - 10:40 COFFEE BREAK

10:40 - 12:00 apresentação de pôster/avaliação de pôster

12:00 - 13:30 ALMOÇO

13:30 - 14:00 CHECK-IN

14:00 - 16:00 minicursos

16:00 - 16:30 COFFEE BREAK

16:30 - 18:30 minicursos

21:00 - 3:00 COQUETEL

19/05/2024

8:30 - 9:00 CHECK-IN

9:00 - 10:00 Palestra "O biomédico no munda da reprodução assistida"

10:00 - 10:40 Mesa Redonda "Caminhos da biomedicina"

10:40 - 11:10 COFFEE BREAK

11:10 - 12:10 Palestra "Procedimentos técnicos de levantamento pericial em local de crime"

12:10 - 12:30 PREMIAÇÕES E ENCERRAMENTO



XIX Encontro Mineiro de Biomedicina

TRABALHOS PREMIADOS E MENÇÕES HONROSAS

APRESENTAÇÃO DE TRABALHO CIENTÍFICO MODALIDADE PÔSTER

Prêmio Prof^a. Ma. Roseane Lopes da Silva Grecco de melhor apresentação pôster na categoria pós-graduação do XIX Encontro Mineiro de Biomedicina

“Efeitos da quercetina em linhagem de células epiteliais pulmonares A549 estimuladas com o extrato da fumaça do cigarro”, Hellen Sant’Ana Pereira

Prêmio Prof^a. Ma. Roseane Lopes da Silva Grecco de melhor apresentação pôster na categoria graduação do XIX Encontro Mineiro de Biomedicina

“Ancestralidade genômica subcontinental e sua correlação com o haplótipo CYP2C:TG”, Isadora Helena Tassoni

Menção Honrosa

“Associação entre o polimorfismo RS895819 do MIRNA 27A com a endometriose”, Júlia Anfra Bernardi

Menção Honrosa

“Detecção de IgG total anti- Toxoplasma gondii e avidéz no líquido amniótico de gestantes com suspeita de toxoplasmose aguda: imunodiagnóstico para toxoplasmose congênita”, Thauani Isabelle Egilio

APRESENTAÇÃO DE TRABALHO CIENTÍFICO MODALIDADE ORAL

Prêmio Prof. Dra. Fernanda Bernadelli de Vito de melhor apresentação oral na categoria graduação do XIX Encontro Mineiro de Biomedicina

“Efeitos de psicoestimulantes em peixe-zebra”, Paula Pinheiro Teixeira

Menção Honrosa

“Compostos Metálicos de Pd(II), Pt(II) E Zn(II) como uma Abordagem Terapêutica Inovadora Contra o Vírus Mayaro”, Bruna Coelho Sandim

Menção Honrosa

“Exposição *in vitro* ao clorotalonil prejudica a atividade mitocondrial e a capacidade de realizar reação acrossômica de espermatozoides humanos”, Nicolay Caixeta Gonçalves



XIX Encontro Mineiro de Biomedicina

SUMÁRIO

RESUMO SIMPLES.....	14
COX-2 CONTRIBUI PARA A DISFUNÇÃO DO TECIDO ADIPOSE PERIVASCULAR EM UM MODELO EXPERIMENTAL DE ESTRONGILOIDÍASE.....	10
EFEITO ANTITUMORAL DE EXTRATOS DE ANNONA SP. EM LINHAGEM DE CARCINOMA DE CÉLULAS RENAIIS.....	11
IMPACTO DO USO DE FÁRMACOS ANTIDEPRESSIVOS NA QUALIDADE ESPERMÁTICA E FERTILIDADE EM MODELOS EXPERIMENTAIS: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA.....	12
ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Origanum vulgare</i> SOBRE ISOLADOS DE ESPÉCIES DE CANDIDA.....	13
AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA E BACTERICIDA MÍNIMA DO PEPTÍDEO ANOPLIN E ANÁLOGO EM PSEUDOMONAS AERUGINOSA.....	14
ALTERAÇÕES NO METABOLISMO HEPÁTICO DE ANIMAIS INFECTADOS COM A CEPA Y DO <i>Trypanosoma Cruzi</i> (T. cruzi).....	15
AVALIAÇÃO DA PREVALÊNCIA DE INFECÇÃO ASSINTOMÁTICA POR LEISHMANIA INFANTUM EM DOADORES DE SANGUE DE REGIÃO ENDÊMICA PARA LEISHMANIOSE VISCERAL.....	16
EFEITOS DA QUERCETINA EM LINHAGEM DE CÉLULAS EPITELIAIS PULMONARES A549 ESTIMULADAS COM EXTRATO DA FUMAÇA DE CIGARRO.....	17
DA CONCEPÇÃO À COMPLEXIDADE: UM ESTUDO MULTIDICIPLINAR DO DESENVOLVIMENTO CEREBRAL PRÉ-NATAL.....	18
ANCESTRALIDADE GENÔMICA SUBCONTINENTAL E SUA CORRELAÇÃO COM O HAPLÓTIPO CYP2C:TG.....	19
A FORMAÇÃO DE BIOFILMES BACTERIANOS EM HOSPITAIS.....	20
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI- <i>Trypanosoma cruzi</i> DE DERIVADOS DE 2-AMINO-TIOFENOS.....	21
ASSOCIAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO RS895819 DO MIRNA 27A COM A ENDOMETRIOSE.....	22
PRÓPOLIS VERMELHA BRASILEIRA E SEU POTENCIAL FRENTE A MICRORGANISMOS CAUSADORAS DE INFECÇÕES ENDODÔNTICAS.....	23
AVALIAÇÃO DO PERFIL DE RESISTÊNCIA DE <i>Staphylococcus sp.</i> ISOLADAS EM UM HOSPITAL VETERINÁRIO.....	24
FÁRMACOS NO MEIO AMBIENTE: UMA VISÃO GERAL SOBRE OS ANTIMICROBIANOS.....	25
AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DE EXTRATOS OBTIDOS DE FOLHAS DE ARRABIDAEA CHICA.....	26
CORRELAÇÃO DOS MARCADORES DO ESTADO REDOX NA DISFUNÇÃO RENAL EM CENÁRIO DE OBESIDADE INDUZIDA POR DIETA RICA EM AÇÚCAR E GORDURA.....	27



XIX Encontro Mineiro de Biomedicina

MODELAGEM E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DO TRÍMERO “CABEÇA” DA GLICOPROTEÍNA GC DE ORTHOBUNYAVIRUS OROPOUCHE.....	28
O IMPACTO VITAL: ATIVIDADE FÍSICA NA LUTA CONTRA O CÂNCER E FORTALECIMENTO DO SISTEMA IMUNOLÓGICO	29
OCORRÊNCIA AMBIENTAL DE ANTINEOPLÁSICOS: UMA VISÃO GERAL.....	30
DETECÇÃO DE IGG TOTAL ANTI- TOXOPLASMA GONDII E AVIDEZ NO LÍQUIDO AMNIÓTICO DE GESTANTES COM SUSPEITA DE TOXOPLASMOSE AGUDA: IMUNODIAGNÓSTICO PARA TOXOPLASMOSE CONGÊNITA.....	31
COMPARAÇÃO ENTRE DOIS MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE DNA EM AMOSTRAS DE SALIVA E PLACA BACTERIANA	32
RESUMOS EXPANDIDOS.....	33
COMPOSTOS METÁLICOS DE Pd(II), Pt(II) E Zn(II) COMO UMA ABORDAGEM TERAPÊUTICA INOVADORA CONTRA O VÍRUS MAYARO.....	34
AVALIAÇÃO IN VITRO DO POTENCIAL IMUNOMODULADOR DE UM DERIVADO VEGETAL PRODUZIDO A PARTIR DE CINCO PLANTAS MEDICINAIS.....	40
ESTUDO DA INCIDÊNCIA DE PARASITOS EM CÃES ORIUNDOS DE ABRIGO ANIMAL NA CIDADE DE BARRETOS-SP	47
AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE ESTRESSE E ASSOCIAÇÃO COM O ÍNDICE DE MASSA CORPÓREA EM ESTUDANTES UNIVERSITÁRIOS DE BARRETOS-SP	50
AVALIAÇÃO DO EFEITO FUNGICIDA DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINCO (ZNO) COMBINADA COM PRATA (AG) CONTRA LEVEDURAS DO GÊNERO CRYPTOCOCCUS	54
ANÁLISE DOS NÍVEIS DE TNF- α , IL-1 β E IL-10 NO PLASMA DE INDIVÍDUOS COM MEGAESÔFAGO CHAGÁSICO.....	59
AVALIAÇÃO DO EFEITO DO EXTRATO DA GLÂNDULA SALIVAR (EGS) DE <i>Rhodnius prolixus</i> NA INFECÇÃO DE CÉLULAS TROFOBLÁSTICAS DA LINHAGEM BEWO INFECTADAS POR <i>Toxoplasma gondii</i>	66
CÉLULAS TRONCO MESENQUIMAIS COMO ALVOS NA PATOGÊNESE DA INFLAMAÇÃO ASSOCIADA A ATEROSCLEROSE.....	73
CO-RESISTÊNCIA AOS AMINOGLICOSÍDEOS E BETA β ACTÂMICOS EM ISOLADOS DE <i>Enterococcus faecium</i> RESISTENTES À VANCOMICINA	78
EXPOSIÇÃO IN VITRO AO CLOROTALONIL PREJUDICA A ATIVIDADE MITOCONDRIAL E A CAPACIDADE DE REALIZAR REAÇÃO ACROSSÔMICA DE ESPERMATOZOIDES HUMANOS.....	86
EFEITOS DO PSICOESTIMULANTES EM PEIXE-ZEBRA.....	94
AVALIAÇÃO DO GENE CD274 (PD-L1) EM DIFERENTES GENÓTIPOS CLÍNICOS NA COVID-19	101

RESUMOS SIMPLES



COX-2 CONTRIBUI PARA A DISFUNÇÃO DO TECIDO ADIPOSEO PERIVASCULAR EM UM MODELO EXPERIMENTAL DE ESTRONGILOIDÍASE

Ana Carolina Mendonça de Almeida Santos¹; Lauren Soares Coelho¹; Júlia Ferreira de Lima¹; Ana Laura Silva Peixoto¹; Juliano Vilela Alves¹; Kamilla Antônia Moraes Dutra¹; Rosângela Maria Rodrigues¹; Rafael Menezes da Costa^{1*}.

¹Universidade Federal de Jataí

E-mail: anacarolinamasantos@gmail.com

Introdução: A estrogiloidíase, causada pelo helminto *Strongyloides* sp., é um problema de saúde pública. Durante a fase de infecção, o *S. stercoralis* ativa células efectoras do sistema imune para eliminar a larva. Além de causar danos gastrointestinais e pulmonares, a infecção por esse parasita resulta em danos ao sistema cardiovascular. O vaso sanguíneo possui três túnicas, a mais externa conhecida como tecido adiposo perivascular, PVAT, possui papel importante para a estrutura, manutenção e função vascular, atuando no efeito anti-contrátil. Em várias patologias, o PVAT encontra-se disfuncional, os principais meios que explicam isso são o estresse oxidativo e a inflamação. **Objetivo:** O estudo testou a hipótese de que a infecção por *S. venezuelensis* compromete a função do PVAT por promover maior expressão e atividade de COX-2. **Métodos:** Ratos Wistar foram divididos em quatro grupos experimentais: machos controle, fêmeas controle, machos infectados por *S. venezuelensis* e fêmeas infectadas por *S. venezuelensis*. Os ratos foram inoculados na região ventral com 2.000 larvas, por via subcutânea. Após 30 dias, foi feita a reatividade vascular em anéis de aorta torácica, e a curva de concentração-efeito para fenilefrina na presença e na ausência do PVAT. A atividade total da COX e a atividade da COX-2 foram definidas em amostras de PVAT por fluorometria, as concentrações de PGE2 foram determinadas em sobrenadantes de PVAT homogeneizados, e a determinação dos níveis séricos do fator de necrose tumoral alfa, interleucinas 6 e 10 foi feita por método imunoenzimático. **Resultados:** A infecção por *S. venezuelensis* promoveu inflamação sistêmica em machos. Além disso, notou-se perda do efeito anti-contrátil do PVAT por mecanismos dependentes da maior atividade de COX-2 e produção de PGE2. Não foram notadas mudanças funcionais e moleculares no PVAT de fêmeas. **Conclusão:** A infecção por *S. venezuelensis* compromete a função do PVAT de machos por promover inflamação dependente de COX-2.

Palavras-chave: Tecido adiposo perivascular; *Strongyloides venezuelensis*; inflamação; ciclooxigenases

EFEITO ANTITUMORAL DE EXTRATOS DE ANNONA SP. EM LINHAGEM DE CARCINOMA DE CÉLULAS RENAIIS

Ana Carolina Souza Mizael¹; Laura Penna Rocha¹; Juliane Cabral Silva²; Jackson Roberto Guedes da Silva Almeida³; Régia Caroline Peixoto Lira^{1*}

¹Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), ²Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas (Uncisal), ³Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF).

E-mail: d202120573@uftm.edu.br

Introdução: O Carcinoma de células renais (CCR) é o tipo mais comum de câncer renal. Apesar das terapias-alvo e imunoterapia serem eficientes, há casos de resistência e o alto custo limita o acesso à terapia, aumentando a taxa de óbitos. Portanto, são necessárias formas alternativas e acessíveis para tratar a doença. Espécies da família Annonaceae são utilizadas na medicina popular e estudos relatam propriedades antiproliferativas em células de câncer devido seus metabólitos secundários. **Objetivo:** Avaliar o efeito de extratos da espécie *Annona sp.* na viabilidade de células de CCR. **Métodos:** A linhagem 786-O de CCR foi tratada com extratos metanólico da raiz *Annona vepretorum* (1), etanólico bruto da atemoia (2) e hexânico da atemoia (3). A viabilidade celular foi verificada por ensaio de resazurina. Para isso, 6×10^3 células foram semeadas em quadruplicata (placas de 96 poços) e tratadas com diferentes concentrações dos extratos. Após 24, 48 e 72 horas, a resazurina foi adicionada, incubada por 4h, medidas as absorbâncias em espectrofotômetro e os dados foram analisados em planilha e software SPSSv20. **Resultados:** Comparado ao grupo sem tratamento (controle), todos os extratos reduziram, significativamente, a viabilidade celular da linhagem 786-0 para maioria das doses utilizadas (teste ANOVA one way com pós-teste Bonferroni). Os extratos (1) e (2) atingiram redução de 21% e 18% após 48h e 72h de tratamento com 100ug/mL e 250ug/mL respectivamente. Já o extrato (3) demonstrou maior efeito antitumoral, de maneira tempo dependente, alcançando redução de 32% na viabilidade celular após 72h de tratamento com 250ug/mL, dose máxima utilizada. **Conclusão:** Os dados sugerem que extratos da *Annona sp.* possuem efeito antitumoral significativo para CCR. Entretanto, os resultados serão confirmados pela repetição dos ensaios e inclusão de doses mais elevadas, para verificar potenciais efeitos dose-dependentes.

Palavras-Chave: Carcinoma de células renais, *Annona sp.*, viabilidade celular.

IMPACTO DO USO DE FÁRMACOS ANTIDEPRESSIVOS NA QUALIDADE ESPERMÁTICA E FERTILIDADE EM MODELOS EXPERIMENTAIS: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

Beatriz Teixeira De Oliveira¹; Lorena Oliveira De Paula Santos¹; Paula Rafaela Queiroz Da Silva¹; Hugo Felix Perini²; Gláucia Eloisa Munhoz De Lion Siervo^{1*}

¹Departamento de Patologia, Genética e Evolução/Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), ²Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia/Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM)

E-mail: d202111755@uftm.edu.br

Introdução: A incidência de transtornos mentais como depressão e ansiedade tem aumentado, e conseqüentemente o aumento da prescrição de fármacos antidepressivos para o tratamento destas condições. Embora a literatura evidencie alguns efeitos destes fármacos sobre parâmetros reprodutivos, os dados ainda são conflitantes. **Objetivo:** Realizar uma revisão sistemática sobre os efeitos dos fármacos antidepressivos sobre a qualidade espermática e a fertilidade masculina em modelos animais. **Métodos:** Foi realizada pesquisa bibliográfica nas bases de dados: PubMed, Web of Science e Scopus em abril/2023. Os operadores booleanos “AND” e “OR” foram usados para combinar os termos “espermatozoide”, “fertilidade” e “sêmen” com as diferentes classes de antidepressivos. Os critérios de inclusão foram: estudos sobre os parâmetros de fertilidade e/ou espermatozoide após exposição de antidepressivos em modelos animais. **Resultados:** Foram encontrados 7.787 trabalhos, dos quais 35 foram incluídos. Destes, 48,6% (n=17) usaram inibidores seletivos da recaptção de serotonina (ISRS) e 20% (n=7) avaliaram os efeitos dos inibidores da recaptção de serotonina e norepinefrina (ISRN). O fármaco mais estudado foi a Venlafaxina (20%, n=7), seguido pela Fluoxetina (14,3%, n=5). Nos parâmetros espermáticos, o maior achado foi a queda de sua concentração/contagem (74,3%, n=26). Nos estudos avaliados, 71,4% (n=25) relatou alterações na motilidade espermática e 68,3% (n=24) observou anormalidades em sua morfologia. Em relação a viabilidade, 28,6% (n=10) mostrou declínio de gametas viáveis. Além disso, 22,9% (n=8) estudos relataram danos ao DNA ou genotoxicidade. Dos 8 estudos (22,9%) que avaliaram parâmetros de fertilidade, 3 relataram aumento da perda pré-implantação e queda no número de fetos vivos, todos associados à exposição à ISRS. **Conclusão:** Em modelos experimentais, a maioria dos antidepressivos analisados mostraram-se prejudiciais aos espermatozoides, podendo afetar a fertilidade de machos.

Palavras-chave: espermatozoide, toxicologia, depressão, animal

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Origanum vulgare* SOBRE ISOLADOS DE ESPÉCIES DE CANDIDA

Débora Maria Soares Rodrigues¹; Ludmilla Sousa Oliveira²; Ralciane de Paula Menezes³; Reginaldo dos Santos Pedroso³

¹Instituto de Ciências biomédicas/Universidade Federal de Uberlândia (UFU), ²Faculdade de Medicina/Universidade Federal de Uberlândia, ³Escola Técnica de Saúde (ESTES)/Universidade Federal de Uberlândia (UFU)

E-mail: deboramsr8642@gmail.com

Introdução: As infecções causadas por espécies de *Candida* geralmente são oportunistas e muitas vezes de difícil tratamento, considerando os casos de candidíase vulvovaginal recorrente, por exemplo. Atualmente muitos estudos têm sido feitos buscando terapias alternativas ou complementares para o tratamento deste tipo de infecção, incluindo os estudos com óleos essenciais. **Objetivos:** Avaliar o efeito antifúngico do óleo essencial de *Origanum vulgare* (orégano) contra *Candida* spp. **Métodos:** Foi analisado o óleo essencial da folha de *Origanum vulgare*. No teste in vitro, foram utilizados seis isolados de espécies de *Candida*, sendo três ATCC e três clínicos, das espécies *C. albicans*, *C. krusei* e *C. parapsilosis*. A atividade antimicrobiana foi avaliada através da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) por meio da metodologia de microdiluição em caldo. **Resultados:** Foram observadas variações na CIM de 1000 a 2000 µg/mL, sendo assim, *C. albicans* ATCC 90028, *C. krusei* ATCC 6258, *C. parapsilosis* ATCC 22019 e *C. albicans* e *C. krusei* clínicas com a CIM de 2000 µg/mL. Considerando os menores valores registrados de *Origanum vulgare* para o isolado clínico de *C. parapsilosis* (1000 µg/mL). **Conclusão:** óleo essencial de *Origanum vulgare* apresentou atividade anticandida nas concentrações testadas, o que sugere a continuação de estudos para analisar o mecanismo pelo qual esses compostos são capazes de inibir, in vitro, o crescimento de espécies de *Candida*. A partir da confirmação da não toxicidade deste óleo essencial para seres humanos, será possível avaliar a aplicação na prática, por exemplo, no desenvolvimento de novos tratamentos antifúngicos ou na melhoria de produtos existentes. Essas investigações adicionais são essenciais para explorar o potencial terapêutico dessas plantas e aproveitar seus benefícios na luta contra infecções fúngicas.

Palavras-Chave: *Candida*; *Origanum vulgare*; antifúngica.

AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA E BACTERICIDA MÍNIMA DO PEPTÍDEO ANOPLIN E ANÁLOGO EM PSEUDOMONAS AERUGINOSA

Eli Júnior Pereira Rodrigues¹; Stéfanne Rodrigues Rezende¹; Esteban Nicolas Lorenzon¹; Hanstter Hallison Alves Rezende^{1*}

Instituto de Ciências da Saúde/Universidade Federal de Jataí¹

E-mail: eli.rodrigues@discente.ufj.edu.br

Introdução: As infecções multirresistentes causadas por bactérias que possuem resistência aos fármacos, ocasionam 700 mil óbitos globalmente. Uma dessas bactérias é a *Pseudomonas aeruginosa*, bacilo gram-negativo não fermentador, a qual adquiriu mecanismos de resistência aos antibióticos convencionais, devido a utilização exacerbada. Com isso, novas formas terapêuticas são necessárias para combater esses patógenos, sendo uma delas a utilização do peptídeo Anoplin e análogo. **Objetivos:** Definir a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a Concentração Bactericida Mínima (CBM) do peptídeo Anoplin e dímero sob *Pseudomonas aeruginosa*. **Métodos:** Para realizar a CIM uma alíquota da *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 0027 (Newprov[®]) foi transposta para um tubo contendo Brain Heart Infusion (BHI), após 24 horas foi semeada em Ágar Mueller Hinton (MHA), para que fosse feita uma suspensão bacteriana segundo a escala Mc Farland 0,5. Com isso, em uma placa de 96 poços foi adicionado 50 µL de Caldo Mueller Hinton (MHB) nos poços de B a H das colunas 1 a 3 e 5 a 7, 100 µL da solução do Anoplin nos poços A da coluna 1 a 3 e 100 µL da solução do dímero nos poços A da coluna 5 a 7. Como forma de validação do experimento, foi adicionado 100 µL de MHB nos poços A, B e C da coluna 10 como controle negativo, 50 µL de MHB com 50 µL de suspensão bacteriana nos poços A, B e C da coluna 12 como controle positivo, e 50 µL de rifamicina com 50 µL de suspensão bacteriana nos poços A, B e C da coluna 11. Por fim, com o intuito de realizar a CBM foi retirado 20 µL dos poços que não houve crescimento bacteriano e semeados em Ágar Nutriente. **Resultados:** O Anoplin não inibiu o crescimento bacteriano, porém o dímero, em sua concentração de 256 µM, foi capaz de inibir e ocasionar a morte celular bacteriana. **Conclusão:** O análogo do peptídeo poderá ser usado como uma nova forma terapêutica contra a *Pseudomonas aeruginosa*, evitando o uso indiscriminado de antimicrobianos nos hospitais.

Palavras-chave: Antimicrobianos; bactérias multirresistentes; peptídeo

ALTERAÇÕES NO METABOLISMO HEPÁTICO DE ANIMAIS INFECTADOS COM A CEPA Y DO *Trypanosoma Cruzi* (T. cruzi)

Giovanna Riqueti Garcia¹; Yarlla Loyane Lira Braga², Marcos Vinícius Da Silva³, Juliana Reis Machado⁴, Maria Emília Soares Martins Dos Santos^{5*}.

^{1,5} Laboratório de Bioquímica,³ Laboratório de Parasitologia,⁴ Laboratório de Patologia, Instituto de Ciências Biológicas e Naturais (ICBN), Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba-MG, Brasil

² Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública – Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia-GO, Brasil

E-mail: d202110426@uftm.edu.br

Introdução: A Doença de Chagas (DC) é uma protozoonose cujo agente etiológico é o *T. cruzi*. A DC apresenta uma fase aguda que pode ser ou não sintomática. A fase crônica da patologia também pode permanecer por décadas sem a manifestação de nenhum sintoma, apenas servindo de reservatório para o parasita. Entretanto, os sintomas, quando se manifestam, envolvem principalmente os sistemas cardio-digestivos. O diagnóstico laboratorial da DC é feito a partir de métodos parasitológicos diretos e/ou métodos sorológicos. Para o acompanhamento da evolução da doença, exames de função hepática, renal entre outros podem ser realizados. **Objetivo:** Avaliar as alterações no metabolismo hepático de animais infectados com a cepa Y do *T. cruzi*. **Métodos:** Foram utilizados 6 camundongos Balb-c, com um peso inicial de 22-25 gramas, que foram divididos aleatoriamente em dois grupos (G) (n=3-6 animais/G): 1) Controle (C) e 2) Infectado (I) (animais inoculados subcutaneamente com 10^5 ou 10^6 tripomastigotas da cepa Y de *T. cruzi*). Os animais tiveram seu peso monitorado semanalmente e no 30º dia após infecção foram eutanasiados para coleta de tecido hepático para dosagem das enzimas ALT e AST, triglicérides (TAG) e colesterol total (CT) por meio de kits da ® Bioclin e os lipídios totais (LP) foram quantificados por meio do método de FOLCH. Os resultados foram analisados usando o teste t de Student ($P < 0.05$) e expresso como em média \pm desvio padrão. Experimentos aprovados: Comitê de ética da UFG (nº039/20). **Resultados:** LP, TAG e ALT não apresentaram diferença estatística entre os G avaliados. Por outro lado, houve aumento significativo do CT no I vs C. além de ter sido observado uma tendência de diminuição nos valores de AST no I vs C. **Conclusão:** A infecção por *T. cruzi* parece ser capaz de modificar alguns aspectos do metabolismo hepático, o que pode prejudicar a função deste órgão. Entender melhor esses padrões pode ser útil para aprimorar os tratamentos de indivíduos infectados.

Palavras-Chave: *Trypanosoma cruzi*; alterações hepáticas; lipídios hepáticos; colesterol total; enzimas AST e ALT.

AVALIAÇÃO DA PREVALÊNCIA DE INFECÇÃO ASSINTOMÁTICA POR LEISHMANIA INFANTUM EM DOADORES DE SANGUE DE REGIÃO ENDÊMICA PARA LEISHMANIOSE VISCERAL

Giullia Marques Vieira¹; Loren Queli¹; Fernanda Bernadelli De Vito¹; Hélio De Moraes De Souza¹; Sarah
Cristina Sato Vaz Tanaka¹

¹Departamento de Hematologia e Hemoterapia/Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM)

Introdução: A Leishmaniose Visceral humana é uma doença tropical negligenciada, endêmica no Brasil, causada por protozoários do gênero *Leishmania*. Apesar de ser uma doença potencialmente fatal, estima-se que cerca de 85% dos indivíduos infectados são assintomáticos, representando um risco para a segurança transfusional. Considerando que a região do Triângulo Mineiro se encontra próxima a regiões endêmicas para a doença, justifica-se a necessidade de estudos que busquem compreender a dinâmica relacionada à leishmaniose visceral assintomática e segurança transfusional. **Objetivo:** Avaliar a prevalência de infecção assintomática por *Leishmania infantum* em doadores de sangue do Hemocentro Regional de Uberaba. **Métodos:** Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal do Triângulo Mineiro e Fundação Hemominas (CAAE29950120.4.0000.5154). O grupo de estudo foi composto por 325 indivíduos doadores de sangue, selecionados no Hemocentro Regional de Uberaba, com idade entre 18 a 69 anos, de ambos os sexos, aptos à doação de sangue. Foram coletadas amostras de sangue periférico no momento da doação de sangue, juntamente com o material coletado para os testes de triagem. A detecção qualitativa de anticorpos IgG contra *L. infantum* foi realizada através por ELISA. A análise descritiva foi realizada através do Software SPSS, versão 20.0. **Resultados:** A mediana de idade dos doadores foi de 36 anos (mínimo 18 – máximo 69). A maioria dos doadores (53,2%) era do sexo masculino, branca (49,1%), solteira (49,8%), nunca havia visitado região endêmica (76%) e nem possuía conhecimento sobre leishmaniose visceral. Além disso, 68,6% dos doadores relataram posse de animal de estimação (cães) e 65,6% declararam residir em locais com quintal. Em relação a avaliação sorológica, não foram encontradas amostras reagentes. **Conclusão:** Não foi detectada presença de doadores assintomáticos infectados com *L. infantum* no Hemocentro de Uberaba. **Palavras-chave:** doadores de sangue; leishmaniose visceral; portador assintomático; transfusão de sangue.

EFEITOS DA QUERCETINA EM LINHAGEM DE CÉLULAS EPITELIAIS PULMONARES A549 ESTIMULADAS COM EXTRATO DA FUMAÇA DE CIGARRO

Hellen Sant'ana Pereira¹, Kássia Gonçalves De Castro¹, Alexandre De Paula Rogério², David Nascimento Silva Teixeira^{1*}

¹Laboratório De Pesquisa Em Ativação Celular - Lipac, UFTM; ²Laboratório De Imunofarmacologia Experimental - Life, UFTM.

E-mail: hellen96pf@gmail.com

Introdução: O câncer de pulmão lidera o *ranking* de cânceres que causam os maiores índices de óbitos no mundo e o cigarro é o maior responsável pela incidência desse tipo de carcinoma. Novas estratégias terapêuticas complementares são necessárias devido ao grande número de efeitos colaterais dos tratamentos convencionais associados à necessidade de prevenção do declínio da função pulmonar. O estudo de substâncias naturais é de extrema importância para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas complementares aos tratamentos convencionais do câncer de pulmão. A quercetina é uma molécula presente em alimentos como frutas e que apresenta algumas propriedades anti-inflamatórias e anti-tumorais. **Objetivos:** Dentro deste contexto, investigamos os efeitos da quercetina sobre parâmetros do processo de transição epitelial-mesenquimal (EMT) de células pulmonares A549, expostas in vitro ao extrato da fumaça do cigarro (EFC). **Métodos:** Foram avaliados a citotoxicidade do EFC e da quercetina pelo ensaio de MTT, a produção de mediadores solúveis envolvidos na EMT (TGF- β) por ELISA e a expressão de marcadores epiteliais (E-caderina/CD324) e mesenquimais (N-caderina/CD325) envolvidos na EMT por citometria de fluxo. **Resultados:** Os resultados mostram que a quercetina não é citotóxica para as monocamadas de células pulmonares. O pré-tratamento com quercetina foi capaz de inibir a produção de TGF- β induzida pela exposição das células A549 ao EFC. Além da redução do TGF- β , o pré-tratamento das células pulmonares com quercetina provocou a redução da expressão do marcador mesenquimal (N-cadherina) e aumento do marcador epitelial (E-cadherina). **Conclusão:** Os resultados sugerem que a quercetina module a EMT nas células pulmonares expostas ao EFC, podendo contribuir para o desenvolvimento futuro de novas estratégias terapêuticas complementares direcionadas aos tumores do tecido pulmonar.

Palavras-chaves: Quercetina, A549, Extrato da fumaça do cigarro.

DA CONCEPÇÃO À COMPLEXIDADE: UM ESTUDO MULTIDICIPLINAR DO DESENVOLVIMENTO CEREBRAL PRÉ-NATAL

Isabela Ferraz Rodrigues Cunha¹; Giuliana Leal Cordova¹; Julia Vitória Ribeiro Lima¹; Letícia Santos Rosa¹; Renata Bianco Montijo¹; Nicole Blanco Bernades¹.

¹Universidade do Estado de Minas Gerais – Passos

E-mail: isabelaFerrazCunha@gmail.com

Introdução: O estudo aborda o desenvolvimento do cérebro humano desde a concepção até o nascimento, utiliza-se uma abordagem que integra diferentes campos, com enfoque na neurociência, na psicologia e na medicina fetal. Essa perspectiva faz-se necessária para a compreensão das consequências dos distúrbios e condições que podem afetar negativamente a evolução cerebral. Compreende-se também a influência exercida pelas bases genéticas e os fatores epigenéticos desde a fecundação. **Objetivo:** Identificar a formação do cérebro antes do nascimento envolvendo a neurociência, psicologia e medicina fetal além de examinar os comportamentos que influenciam o desenvolvimento ainda nas primeiras fases da vida. **Métodos:** Revisão integrativa nos bancos de dados: GOOGLE ACADÊMICO, PUBMED e BVS com diferença de no máximo 5 anos anteriores ao projeto. **Discussão:** Trata-se de um artigo multidisciplinar sobre o desenvolvimento pré-natal do cérebro envolvendo a integração de diferentes perspectivas para obter uma compreensão abrangente de como o cérebro humano se desenvolve e como esse desenvolvimento é influenciado. Tais estudos requerem diferentes campos de investigação, partilha de conhecimentos e diferentes metodologias para abordar as questões complexas envolvidas no desenvolvimento pré-natal do cérebro. **Conclusão:** Conclui-se que o desenvolvimento cerebral pré-natal é um processo complexo e crucial para a formação do cérebro humano. Uma compreensão mais aprofundada do desenvolvimento cerebral pré-natal pode ajudar a identificar e abordar problemas potenciais que podem surgir mais tarde na vida.

Palavras-Chave: Cérebro; pré-natal; nascimento.

ANCESTRALIDADE GENÔMICA SUBCONTINENTAL E SUA CORRELAÇÃO COM O HAPLÓTIPO CYP2C:TG

Isadora Helena Tassoni¹; Guilherme Belfort Almeida¹; Caíque Manóchio Nunes da Silva¹; Fernanda Rodrigues Soares¹

¹Instituto de Ciências Biológicas e Naturais - Universidade Federal do Triângulo Mineiro

E-mail: d202020402@uftm.edu.br

Introdução: O haplótipo CYP2C:TG, composto por 2 SNPs (rs2860840 e rs11188059) e localizado no gene CYP2C18, foi recentemente observado em alta frequência em indivíduos com alta ancestralidade nativo americana. Este haplótipo consegue influenciar a expressão do gene CYP2C19, o qual codifica uma enzima de mesmo nome responsável por metabolizar medicamentos de diferentes áreas terapêuticas. Visto que indivíduos que apresentam esse haplótipo estão suscetíveis a sofrer falhas terapêuticas ao receberem doses padrão de medicamentos metabolizados pela CYP2C19, esse estudo pretende fomentar a importância de conhecer sua distribuição nas diferentes populações e etnias, agregando dados às populações negligenciadas dos estudos farmacogenômicos. **Objetivo:** Inferir a frequência do haplótipo CYP2C:TG em 26 populações do banco de dados 1000 Genomes Project e em 150 nativos peruanos, além de correlacioná-las com oito componentes de ancestralidade genômica. **Métodos:** Dados dos indivíduos para o haplótipo foram importados para a plataforma R. Foi realizado o phasing, permitindo em sequência calcular as frequências do haplótipo nos indivíduos e correlaciona-las com a ancestralidade genômica, por meio de scripts. **Resultados:** O haplótipo apresentou correlação positiva com ancestralidade sul europeia e nativa; e negativa com ancestralidade africana, onde quase todos os indivíduos africanos obtiveram frequência nula. Os nativos peruanos, analisados pela primeira vez na literatura, apresentaram as maiores frequências (29 a 71%), seguidos pelos latino americanos (24 a 42%), europeus (15 a 24%), leste asiáticos (10 a 20%) e sul asiáticos (11 a 16%). **Conclusão:** Estudos da distribuição de variantes e a implementação de uma medicina de precisão são importantes, uma vez que populações geneticamente diferentes recebem o mesmo padrão de tratamento e podem sofrer com falhas terapêuticas e efeitos adversos, apesar de apresentarem diferenças na presença de variantes importantes na prática clínica.

Palavras-Chave: Nativos americanos, Farmacogenes, Polimorfismo, 1000 Genomes Project, CYP2C:TG.

A FORMAÇÃO DE BIOFILMES BACTERIANOS EM HOSPITAIS

Jéssyca Lopes Dourado¹; Stefanne Rodrigues Rezende¹; Lara Giovanna Gauer do Nascimento¹; Hanstter Hallison Alves Rezende¹

Instituto de Ciências da Saúde/Universidade Federal de Jataí¹

E-mail: jessyca.dourado@discente.ufj.edu.br

Introdução: O biofilme trata-se de uma forma de vida microbiana séssil constituída por um conjunto de células isoladas envoltas por uma matriz polimérica altamente hidrofóbica, o que confere sua proteção, podendo se formar em superfícies abióticas e bióticas. Vários microrganismos possuem capacidade de formação de biofilmes como mecanismo de resistência, principalmente as bactérias. Esta particularidade tem sido um fator etiológico para diversas doenças em seres humanos, principalmente quando formados em bancadas ou em dispositivos médicos de hospitais, como cateteres, válvulas cardíacas, lentes de contato entre outros, deixando os pacientes suscetíveis à infecções hospitalares, tornando-se um grave problema de saúde pública no Brasil. **Objetivo:** Esse trabalho teve como objetivo fazer uma revisão da literatura quanto a gravidade da formação dos biofilmes bacterianos para pacientes hospitalizados.. **Métodos:** Para a realização do estudo foi feita uma revisão bibliográfica em trabalhos publicados a partir de 2013 com os descritores "Biofilmes" e "Hospitais" no Google Acadêmico e Science Direct. **Resultado:** As pesquisas demonstraram que 80% das infecções hospitalares por agentes bacterianos resistentes são provenientes de biofilmes, o que se deve à resistência das bactérias associadas a biofilmes aos antimicrobianos, fator que corrobora para o agravamento desse quadro. De maneira geral, a maioria das infecções adquiridas em hospitais são em pacientes portadores de próteses ou implantes, bem como os cateteres, causadores de infecções relacionadas ao trato urinário, causadas pelas bactérias *Proteus mirabilis* e *Escherichia coli*. **Conclusão:** Portanto, para determinar a gravidade do quadro clínico de cada paciente, é imprescindível analisar as características inerentes a cada espécie formadora do biofilme, juntamente com a elaboração de medidas para mitigar a formação de biofilmes em instituições hospitalares no Brasil.

Palavras-Chave: Biofilmes; saúde pública; hospitais; Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde.

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-*Trypanosoma cruzi* DE DERIVADOS DE 2-AMINO-TIOFENOS

Jhordana Santos Oliveira¹; Thais Amanda de Lima Nunes¹; Airton Lucas Sousa dos Santos²; João Paulo Araujo de Sousa²; Julyanne Maria Saraiva de Sousa²; Beatriz Sodré Matos¹; Klinger Antonio da Franca Rodrigues²; Hugo Felix Perini¹; Marcos Vinicius da Silva^{1*}

¹Universidade Federal do Triângulo Mineiro, ²Universidade Federal do Delta do Parnaíba

E-mail: jhordanasantos@gmail.com

Introdução: A Doença de Chagas é uma doença tropical negligenciada (DTN) causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* que acomete cerca de 6 a 7 milhões de pessoas no mundo. O tratamento terapêutico utilizado atualmente acarreta efeitos adversos intensos, motivando, em muitos casos, a interrupção do tratamento pelos pacientes. Derivados de 2-amino-tiofenos, como o SB200, apresentam atividade anti-leishmania se apresentando como potencial alternativa terapêutica contra *T. cruzi*, uma vez que *Leishmania* spp. e *T. cruzi* são da mesma família de protozoários. **Objetivos:** Avaliar a atividade citotóxica (CC50) do composto SB200 em mioblastos C2C12 (CRL-1772) e avaliar a concentração inibitória mínima (CI50) do composto SB200 contra formas tripomastigotas de *T. cruzi* (cepa Colombiana). **Métodos:** As células C2C12 e as formas tripomastigotas foram cultivadas em DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium), as células na concentração de 1.10^5 células/mL e os parasitos em 5.10^5 parasitos/mL; após foi feito tratamento em diluições de 100 a $3,12 \mu\text{g/mL}$ por 24 horas com SB200 e realizado ensaio de metabolização da resazurina (540 nm). **Resultados:** Os resultados indicam que o SB200 não é tóxico para as células C2C12, sendo a CC50 maior que $100 \mu\text{g/mL}$, pois em nenhuma das diluições testadas houve citotoxicidade maior que 50%. Também se mostra efetivo contra as formas tripomastigotas de *T. cruzi* (cepa Colombiana), sendo a IC50 igual a $12,30 \mu\text{g/mL}$, pois nessa concentração foi eficaz em inibir 50% dos parasitos. **Conclusão:** De acordo com os resultados encontrados pode-se afirmar que o SB200 apresenta baixa toxicidade contra C2C12 e mostra atividade anti-*T. cruzi* contra formas tripomastigotas, o que abre perspectiva para novos ensaios contra outras formas do parasito e ensaios in vivo para melhor compreensão dos efeitos farmacológicos do composto.

Palavras-chave: Doença de Chagas; SB200; tripomastigotas

ASSOCIAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO RS895819 DO MIRNA 27A COM A ENDOMETRIOSE

Júlia Anfra Bernardi¹, Alessandra Bernadete Trovó de Marqui¹, Marco Fábio Prata Lima¹,
Mariana Kefalas de Oliveira Gomes¹, Mariangela Torreglosa Ruiz Cintra¹

Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM)¹

E-mail: juliabernardi.a@gmail.com

Introdução: A endometriose é uma condição ginecológica definida pelo crescimento de tecido semelhante ao endométrio externo à cavidade uterina. As mulheres afetadas têm prejuízo em diversos aspectos de suas vidas, seja pelos sintomas como dor crônica pélvica, dismenorréia, dispareunia e infertilidade, ou pelo impacto psicológico, nas relações pessoais e produtividade. Uma das possíveis alterações genéticas podem ocorrer nos micro RNAs, que participam de diversas vias e modificações e são considerados potenciais biomarcadores no diagnóstico da endometriose. Dentre eles, o miRNA-27a e seu polimorfismo rs895819 que resulta na alteração dos nucleotídeos A por G, já associado à outras condições ginecológicas, como a síndrome dos ovários policísticos. **Objetivo:** Investigar o polimorfismo rs895819 de miRNA-27a em pacientes com endometriose e verificar se o mesmo contribui para a patogênese da endometriose, podendo, a longo prazo, ser usado como biomarcador. **Métodos:** Com aprovação no CEP-UFTM (protocolo 1628), foi coletado sangue periférico de aproximadamente 100 mulheres atendidas no Ambulatório de Ginecologia e Obstetrícia da UFTM e foi realizada a extração de DNA genômico pelo método de salting out. Posteriormente verificou-se a qualidade e quantidade do material para realização da discriminação alélica por meio de PCR em tempo real. A sonda utilizada foi a rs895819 do miR-27a, identificada como Assay ID – C_3056952_20, e o equipamento o StepOne™ Real Time PCR System. As análises estatísticas foram realizadas por meio do teste do Qui-Quadrado. **Resultados parciais:** Até o presente momento inexistem diferenças estatísticas significativas entre o grupo de casos e controle para o polimorfismo ($X^2=0,66$ e $p=0,72$). A população analisada estava em equilíbrio de Hardy Weiberg entre os controles ($X^2=1,56$ e $p=0,21$) e entre as pacientes ($X^2=0,14$ e $p=0,70$). **Conclusão:** Os resultados parciais indicam que não houve diferença significativa entre o os genótipos nos grupos estudados.

Palavras chave: Endometriose, MicroRNAs, Polimorfismo de nucleotídeo único.

PRÓPOLIS VERMELHA BRASILEIRA E SEU POTENCIAL FRENTE A MICRORGANISMOS CAUSADORAS DE INFECÇÕES ENDODÔNTICAS

Júlia Gomes Teixeira¹; Nagela Bernadelli Sousa Silva¹; Gabriel Guimarães Calefi¹; Jairo Kenupp Bastos²; Rodrigo Cássio Sola Veneziani³; Sérgio Ricardo Ambrósio³; Carlos Henrique Gomes Martins^{1*}.

¹Universidade Federal de Uberlândia (UFU), ²Universidade de São Paulo (USP), ³Universidade de Franca (UNIFRAN).

Email: juliagomesudi@gmail.com

Introdução: as infecções endodônticas são causadas por bactérias e leveduras que formam biofilme. A Própolis Vermelha Brasileira (PVB) torna-se uma opção terapêutica promissora em devido suas diversas atividades biológicas. **Objetivo:** avaliar a atividade antimicrobiana e antibiofilme do extrato bruto hidroalcolico e as substâncias isoladas Oblongifolina B e Gutiferona E da PVB frente a microrganismos causadores de infecções endodônticas. **Métodos:** as bactérias avaliadas foram: *Enterococcus faecalis* (ATCC 4082 e isolado clinico), *Streptococcus salivarius* (ATCC 25975 e isolado clinico), *Staphylococcus aureus* (isolado clinico) e as leveduras *Candida glabrata* (ATCC MYA 276) e *C. albicans* (ATCC 28366). As amostras de PVB foram avaliadas nas concentrações de 0,195 a 3000 µg/mL. A atividade antimicrobiana foi avaliada determinando-se a Concentração Inibitória Mínima (CIM), bem como a Concentração Bactericida e Fungicida Mínima. A atividade antibiofilme foi avaliada pela determinação da Concentração Inibitória Mínima do Biofilme (CIMB₅₀). Adicionalmente foi realizada a contagem de microrganismos para avaliação dos organismos viáveis presentes no biofilme (log₁₀UFC/mL). **Resultados:** os valores de CIM variaram de 3,12 a 6,25 µg/mL frente às bactérias e de 5,8 a 46,8 µg/mL frente às leveduras. A substância Gutiferona E demonstrou ação bactericida frente a *S. salivarius* (isolado clínico). Os valores de CIMB₅₀ da Gutiferona E variaram de 0,195 a 12,5 µg/mL frente as bactérias e de 31,25 a 250 µg/mL frente as leveduras, sendo os menores valores observado frente a *S. salivarius* (ATCC) e *C. albicans* (ATCC 28366). O número de células viáveis nos biofilmes bacterianos variou de 2,3 a 10,7 log₁₀UFC/mL e 4,3 a 10,1 log₁₀UFC/mL nos biofilmes leveduriformes. **Conclusão:** esse estudo demonstrou a atividade antimicrobiana e antibiofilme da PVB frente a bactérias e leveduras causadoras de infecções endodônticas e visa contribuir para o desenvolvimento científico nessa temática.

Palavras-Chave: Atividade antimicrobiana; Atividade antibiofilme; Infecções endodônticas.

AVALIAÇÃO DO PERFIL DE RESISTÊNCIA DE *Staphylococcus sp.* ISOLADAS EM UM HOSPITAL VETERINÁRIO

Lara Giovanna Gauer do Nascimento¹; Vanessa Bridi¹; Jéssyca Lopes Dourado¹; Hanstter Hallison Alves Rezende¹

Instituto de Ciências da Saúde/Universidade Federal de Jataí¹

E-mail: lara.nascimento@discente.ufj.edu.br

Introdução: A resistência aos antimicrobianos representa uma grande preocupação na saúde pública, tanto humana quanto veterinária, visto que esse perfil diminui a capacidade de eliminar o crescimento bacteriano. O perfil de resistência bacteriana se dá por mutações genéticas naturais, e também através de mutações condicionadas pela alta exposição desses microrganismos às drogas antimicrobianas, fato esse que tem sido cada vez mais presente nos dias atuais. **Objetivos:** Avaliar o perfil de resistência de isolados do gênero *Staphylococcus sp.* **Métodos:** Foram coletadas 33 amostras de diferentes superfícies e objetos de um hospital veterinário escola da região Sudoeste de Goiás, utilizando Swabs estéreis embebidos em solução salina estéril a 0,9% e conservados em tubos de ensaio contendo caldo Brain Heart Infusion. As amostras foram previamente identificadas e posteriormente submetidas ao teste de sensibilidade aos antimicrobianos através do método de disco-difusão, com suspensão bacteriana em turvação de 0,5 na escala de McFarland, sendo esta semeada em uma placa com ágar Mueller-Hinton. Após a semeadura, foram adicionados os discos antimicrobianos correspondentes ao *Staphylococcus sp.*, com a interpretação dos halos feita de acordo com os parâmetros definidos pelo BrCAST. **Resultados:** Foram isoladas 31 amostras do gênero *Staphylococcus sp.*, sendo estas: *S. epidermidis* 35,5% (11/31), *S. coagulase negativa* 32,3% (10/31), *S. pseudintermedius* 25,8% (8/31) e *S. aureus* 6,4% (2/31). Após a realização do TSA, foi observado que 15 isolados apresentaram o perfil multidroga resistente com resistência à oxacilina, 8 amostras foram apenas multidroga resistente e 8 isolados foram não droga resistente. **Conclusão:** As bactérias do gênero *Staphylococcus sp.* apresentam resistência em padrão multirresistente, assim como resistência à oxacilina, havendo a necessidade de melhores práticas de higiene e de prevenção de contaminações cruzadas.

Palavras-chave: Bactérias multirresistentes; antimicrobianos; clínica animal

FÁRMACOS NO MEIO AMBIENTE: UMA VISÃO GERAL SOBRE OS ANTIMICROBIANOS

Marcus Paulo Vilela Medeiros¹; Rian Henrique Simão¹; Matheus Marcon^{1*}

¹Laboratório de Estudos Farmacológicos (LEF), Instituto de Ciências Biológicas e Naturais (ICBN),
Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM)

E-mail: marcuspaulo.gtba@gmail.com

Introdução: A partir da síntese laboratorial dos fármacos antimicrobianos, estas substâncias foram cada vez mais exploradas e incorporadas no tratamento de infecções, diminuindo sua letalidade e mortalidade. Entretanto, seu uso indiscriminado e em larga escala veio acompanhado de algumas preocupações, como o surgimento de linhagens patogênicas multirresistentes a esses fármacos, a contaminação ambiental e, conseqüentemente, efeitos nocivos diretos aos seres vivos. **Objetivo:** Realizar uma revisão da literatura científica no intuito de sintetizar os dados sobre a presença de antibacterianos, antifúngicos e antiparasitários no meio ambiente, em especial em águas de superfície, e relatar seus potenciais efeitos ecotoxicológicos. **Métodos:** Realizamos uma busca ampla de estudos no Google Scholar, PubMed, SCOPUS e Web of Science utilizando descritores referentes ao meio ambiente e aos fármacos em questão. **Resultados parciais:** Até o atual momento, diversas fontes de contaminação ao redor do globo foram descritas, como rios, águas residuais industriais, esgoto residencial e hospitalar e até água potável, em concentrações como 31 mg/L de ciprofloxacino, 236,95 mg/L de fluconazol e 682,7 ng/L de albendazol. Os principais efeitos toxicológicos causados por estes fármacos foram toxicidade em algas, carcinogênese em moscas e alterações na espermatogênese em humanos. **Conclusão:** A contaminação ambiental por antimicrobianos já é conhecida e amplamente descrita na literatura. Esses compostos já são classificados como contaminantes emergentes, e inúmeras são as conseqüências de sua contaminação ambiental, como o desenvolvimento de microrganismos multirresistentes, a ocorrência de efeitos nocivos para o ecossistema e indiretamente para os seres humanos, representando atualmente um grave problema ambiental e uma ameaça à saúde global.

Palavras-chave: antibacterianos; antifúngicos; antiparasitários; ecotoxicologia; contaminantes emergentes.

AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DE EXTRATOS OBTIDOS DE FOLHAS DE ARRABIDAEA CHICA

Mariana Luiza Leal¹; Thaís Farnesi Soares Assunção¹; Karina Ferrazzoli Devienne Vicentine^{1*}

¹Laboratório de Estudos Farmacológicos (LEF), Instituto de Ciências Biológicas e Naturais (ICBN), Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba - MG, Brasil.

E-mail: d202210902@uftm.edu.br

Introdução: Nas últimas décadas, o Brasil vem intensificando suas políticas públicas na área de fitoterapia, com intuito de estimular o uso racional e seguro de fitoterápicos. Dentre as plantas de interesse científico e aplicação no SUS, está a Arrabidaea chica, espécie vegetal, popularmente conhecida como Pariri e utilizada como antianêmico, cicatrizante, analgésico e antitumoral. Vários métodos de preparo e uso do pariri são descritos na literatura, fato que pode interferir na composição fitoquímica e, conseqüentemente, na eficácia terapêutica e segurança dos fitoterápicos. **Objetivos:** Avaliar a citotoxicidade in vitro de diferentes extratos obtidos das folhas de A. chica sobre células da linhagem Vero CCL81. **Métodos:** A matéria-prima vegetal foi adquirida comercialmente, mediante apresentação de laudo de identificação botânica. O extrato aquoso (EA) foi preparado por infusão e os demais extratos foram obtidos por maceração em álcool etílico 70% (EE) e em diclorometano (EDCM). Após evaporação do solvente, os efeitos de diferentes concentrações dos extratos foram avaliados sobre a viabilidade celular, através da técnica do vermelho neutro. O índice citotóxico (IC₅₀) foi determinado através de regressão linear. **Resultados:** Dentre os extratos avaliados, o EA foi o fitoterápico que apresentou menor citotoxicidade (IC₅₀ = 557,5 + 14,8 µg/mL), seguido pelos EE (IC₅₀ = 58,3 + 1,3 µg/mL) e EDCM (IC₅₀ = 35,0 + 1,3 µg/mL), os quais apresentaram potencial citotóxico superior ao verificado para o EA. **Conclusão:** Considerando que constituintes hidrofóbicos têm maior facilidade em atravessar a membrana citoplasmática, podendo desencadear efeitos intracelulares, uma relação direta entre grau de lipofilicidade dos extratos e citotoxicidade pode ser estabelecida. Diante disso, é de extrema importância considerar o método e o sistema extrator utilizados na preparação de fitoterápicos obtidos das folhas A. chica, uma vez que exercem influência sobre a toxicidade.

Palavras-chave: Arrabidaea chica; Pariri; citotoxicidade.

CORRELAÇÃO DOS MARCADORES DO ESTADO REDOX NA DISFUNÇÃO RENAL EM CENÁRIO DE OBESIDADE INDUZIDA POR DIETA RICA EM AÇÚCAR E GORDURA

Marina De Paula Salomé Dos Santos¹; Juliana Silva Siqueira¹; Fabiane Valentini Francisqueti-Ferron^{1,2}; Camila Renata Corrêa*¹

¹ Faculdade de Medicina de Botucatu – FMB, ² Faculdades Integradas de Bauru – FIB

E-mail: marina.salome@unesp.br

Embora reconhecida há muito tempo como fator de risco cardiovascular a obesidade, por mecanismos diversos, também se associa à doença renal. O aumento na produção de espécies reativas de oxigênio e/ou na redução da atividade antioxidante desenvolve o estresse oxidativo (EO), o qual causa danos em lipídios, proteínas e DNA de células, que no tecido renal, promove injúria tubular e glomerular. O objetivo do estudo foi avaliar a correlação entre marcadores do estresse oxidativo e parâmetros da doença renal em animais obesos por dieta rica em açúcar e gordura. Ratos Wistar foram distribuídos em dois grupos: dieta controle (C, n= 7) ou dieta high sugar fat acrescida de 25% de sacarose na água + veículo (HSF, n= 7) por um período de 20 semanas (CEUA: 1337/2019). Foram avaliados o índice de adiposidade (IA); função renal: razão proteína/creatinina e pela taxa de filtração glomerular (TFG); marcadores de EO renais: malondialdeído (MDA), 4 hidroxinonenal (4-HNE), proteínas oxidadas (AOPP), carboniladas (CBO) e a atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT). Dados foram expressos em média \pm desvio padrão. A comparação foi determinada por Two-way ANOVA seguida pelo post-hoc de Tukey. A correlação entre marcadores do EO e parâmetros da função renal foi estabelecida pela correlação de Pearson. Nível de significância: 5%. O grupo HSF apresentou maiores IA, proteinúria e CBO e menor TFG comparado ao C. Houve correlação positiva e significativa entre AOPP, MDA e CBO com proteinúria, correlação negativa e significativa entre CBO e TFG. Em conclusão, o EO mostrou correlação positiva com disfunção renal.

Palavras-chave: “Obesidade”; “rins”; “estresse oxidativo”.

MODELAGEM E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DO TRÍMERO “CABEÇA” DA GLICOPROTEÍNA Gc DE ORTHOBUNYAVIRUS OROPOUCHE

Raquel Ataíde Guimarães¹; Ricardo Lemes Gonçalves¹; Roosevelt Alves da Silva¹

¹Universidade Federal de Jataí - UFJ

Email: raquel.guimaraes@discente.ufj.edu.br

Introdução: Orthobunyavirus Oropouche (OROV) é um arbovírus com surtos epidêmicos subnotificados por todo o Brasil, transmitido através do mosquito *Culex ssp*, sendo um vetor de grande distribuição. OROV tem sintomas clínicos semelhantes à dengue, como por exemplo cefaléia, mialgia e erupções cutâneas, dificultando sua identificação. Apesar da sua importância, não existe tratamento, vacina ou diagnóstico sorológico para o OROV. Estruturalmente, OROV é caracterizado por seu envelope esférico com trimeros glicoproteicos na superfície. Esses trimeros são importantes para a estrutura e para o ciclo viral, sendo o domínio “cabeça” monomérico da glicoproteína Gc a única estrutura registrada do OROV. **Objetivo:** Predizer e caracterizar estruturalmente o domínio cabeça da glicoproteína Gc do Orthobunyavirus Oropouche e comparar essa com as estruturas glicoproteicas de outras espécies dentro do gênero citado. **Métodos:** Foi realizada uma busca de sequência referencial ocorrida no Brasil (NCBI), em seguida, através do BLASTp foi feita a comparação sequências depositadas no genbank para o entendimento da variabilidade, posteriormente, foi feita a modelagem do trímero do domínio “cabeça” via servidores AlphaFold e SWISS-MODEL. A qualidade das estruturas modeladas foi avaliada via MolProbity e ProSA-web. Com as estruturas validadas, a caracterização foi efetuada em busca de regiões com potencial drogável por meio do DoGSiteScorer. **Resultado:** Modelos estruturais do domínio cabeça da glicoproteína Gc do OROV foram caracterizados e analisados, reconhecendo regiões importantes para futuras técnicas biotecnológicas. **Conclusão:** Os modelos obtidos permitem maior entendimento de aspectos moleculares da principal proteína estrutural de OROV. O presente trabalho fomentará a realização de dinâmica e ancoragem molecular, assim como o mapeamento de epítomos para facilitar o desenvolvimento de ferramentas biotecnológicas como medida de enfrentamento de potenciais futuras epidemias de OROV.

Palavras-Chave: Orthobunyavirus Oropouche; Modelagem Molecular; Glicoproteína Gc.

O IMPACTO VITAL: ATIVIDADE FÍSICA NA LUTA CONTRA O CÂNCER E FORTALECIMENTO DO SISTEMA IMUNOLÓGICO

Renata Bianco Montijo¹, Nicole Blanco Bernades²

Universidade do Estado de Minas Gerais - Passos¹

E-mail: renatabiancomontijo@gmail.com

Introdução: O artigo aborda a importância da prática de atividade física por pacientes oncológicos em tratamento, ressaltando o efeito do exercício no sistema imune. Como forma de tratamento não-farmacológica, o exercício físico é ideal para prevenção do câncer e reabilitação para pacientes que já apresentam a doença, pois quando analisado especificamente em células NK (Natural Killer) do sistema imune, a atividade física estimula maior atividade no combate às células tumorais. **Objetivo:** identificar a importância da prática de atividade física por pacientes em tratamento ao câncer além de apresentar a atividade de células NK em células oncológicas. **Métodos:** O trabalho apresenta uma revisão integrativa nos bancos de dados: SciELO, GOOGLE ACADÊMICO e MEDLINE, com diferença de no máximo 10 anos anteriores ao projeto utilizando combinação de palavras-chaves. **Resultados:** O projeto prevê apresentar evidências científicas sobre os efeitos benéficos da atividade física na modulação do sistema imunológico, com foco na atividade das células Natural Killer, conhecidas por seu papel na destruição de células tumorais para auxiliar na melhora da resposta imune em pacientes afetados pelo câncer. **Conclusão:** Conclui-se que a combinação da prática de atividade física com pacientes oncológicos é eficaz, pois induz o aumento da atividade de células do sistema imune que são responsáveis por atacar células afetadas pelo câncer, porém com seleção cuidadosa dos exercícios físicos e acompanhado de supervisão médica, tendo em vista que variedades do câncer em diferentes pacientes pode alterar a resposta imune e o condicionamento físico do indivíduo.

Palavras-Chave: Atividade física; tratamento câncer; pacientes oncológicos.

OCORRÊNCIA AMBIENTAL DE ANTINEOPLÁSTICOS: UMA VISÃO GERAL

Rian Henrique Simão¹; Marcus Paulo Vilela Medeiros¹; Matheus Marcon^{1*}

¹Laboratório de Estudos Farmacológicos (LEF), Instituto de Ciências Biológicas e Naturais (ICBN)
Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM)

E-mail: rian1652@outlook.com

Introdução: O aumento dos casos de câncer no mundo segue acompanhado do consumo crescente dos antineoplásicos para o tratamento dessa enfermidade. O consumo elevado, a produção, bem como, o descarte inadequado, resulta na inserção desses compostos no meio ambiente. Essa contaminação ambiental é de interesse especial devido aos perigos para o ecossistema, pois essas substâncias apresentam efeitos citotóxicos e oncogênicos. **Objetivo:** Realizar uma revisão sobre a ocorrência ambiental de antineoplásicos e seus possíveis efeitos ecotoxicológicos. **Métodos:** Fizemos uma busca ampla na literatura no Google Scholar, PubMed, SCOPUS e Web of Science utilizando descritores referentes ao meio ambiente e aos antineoplásicos. **Resultados parciais:** Os antineoplásicos já foram encontrados em várias amostragens ao redor do mundo, incluindo esgoto hospitalar, municipal, águas superficiais e água potável. Destacam-se concentrações de quase 1,2 mg/L de cisplatina e carboplatina em esgoto hospitalar, 161 ng/L de metotrexato e 8 ng/L de fluorouracil em águas superficiais, além de 1,2 ng/L de ciclofosfamida em água potável. Os estudos em roedores têm demonstrado danos renais com a exposição à cisplatina e alterações nas funções ovariana, espermiática, no desenvolvimento embrionário e depleção de leucócitos com a exposição à ciclofosfamida. Também foram relatados comprometimento motor e cognitivo com a exposição à cisplatina e vincristina. **Conclusão:** Os antineoplásicos foram relatados em amostras ambientais de várias regiões, inclusive em água potável, e vários efeitos ecotoxicológicos já foram reportados em estudos com roedores. A conscientização e criação de programas para descarte adequado de medicamentos, desenvolvimento de produtos farmacêuticos biodegradáveis, pesquisa e implementação de tecnologias de remoção, são algumas medidas que podem mitigar a presença dessas substâncias no meio ambiente.

Palavras-Chave: Antineoplásicos; ecotoxicologia; contaminantes emergentes.

DETECÇÃO DE IGG TOTAL ANTI- TOXOPLASMA GONDII E AVIDEZ NO LÍQUIDO AMNIÓTICO DE GESTANTES COM SUSPEITA DE TOXOPLASMOSE AGUDA: IMUNODIAGNÓSTICO PARA TOXOPLASMOSE CONGÊNITA

Thauani Isabelle Egilio¹; Paloma Cristina Pimenta¹; Angelica De Oliveira Gomes¹; Ana Carolina De Morais Oliveira-Scussel¹

¹ Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, Brasil.

E-mail: d202220845@uftm.edu.br

Introdução: A toxoplasmose é uma doença provocada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*, que acomete cerca de um terço da população mundial, e com registros de 14.308 casos de toxoplasmose congênita (TC) no Brasil, em 2022. A TC ocorre pois o parasita detém a capacidade de atravessar a barreira placentária, causando efeitos deletérios no embrião e até aborto. O diagnóstico é pela detecção no soro de anticorpos IgA e/ou IgM, na fase aguda, e de IgG para a fase crônica; ou pela pesquisa do DNA do parasito por PCR no líquido amniótico (LA), porém dado as limitações de cada método podem gerar falso-negativos ou falso-positivos. A detecção de anticorpos específicos ao parasita no LA não é atualmente padronizada nem utilizada para diagnóstico. **Objetivo:** Detectar IgG total anti-*T. gondii* e sua avidéz no LA, para maximizar os resultados de diagnóstico precoce de TC. **Métodos:** Foram analisadas 47 amostras de LA e 25 de soro materno (SM) de gestantes atendidas no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro e no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, pelo ensaio imunoenzimático (ELISA) de IgG total e avidéz (CEP 4.529.344). **Resultados:** Detectou-se a presença de IgG total em 23 amostras de SM (sendo 21 com alta avidéz, 1 avidéz intermediária e 1 baixa avidéz) e em 44 de LA (sendo 10 com alta avidéz, 25 avidéz intermediária e 9 baixa avidéz). Dentre as amostras analisadas, 12 de LA eram pareadas com o SM, sendo que todas foram positivas para IgG total e apresentaram queda significativa de avidéz do SM para o LA. Assim, os níveis de IgG bem como a avidéz de IgG no LA foram significativamente menores que no SM, e apenas no LA houve correlação positiva significativa entre os níveis de IgG total e sua avidéz. **Conclusão:** A baixa avidéz de IgG sugere um quadro agudo da doença, que pode cursar com a TC. Assim, a dosagem de IgG total anti-*T. gondii* e sua avidéz no LA pode ser uma ferramenta valiosa para auxiliar no diagnóstico precoce.

Palavras-chaves: “Toxoplasmose congênita”; “IgG total”; “IgG avidéz”; “líquido amniótico”.

COMPARAÇÃO ENTRE DOIS MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE DNA EM AMOSTRAS DE SALIVA E PLACA BACTERIANA

Victória Bianculli¹; Renata Delfino Nascimento¹; Hugo Felix Perini¹; Juliane Cabral Silva²; Régia Caroline Peixoto Lira¹; Lenaldo Branco Rocha^{1*}

¹Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), ²Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas (Uncisal).

E-mail: victoriabianculli123@gmail.com

Introdução: A detecção precoce do *Streptococcus mutans* pode contribuir para prevenção e tratamento da cárie em populações de risco. Estudos têm demonstrado resultados consistentes da aplicação de técnicas moleculares para identificar bactérias cariogênicas. A partir de amostras de saliva ou placa bacteriana, presente na superfície do dente, é possível extrair DNA e realizar a reação em cadeia da polimerase (PCR) sem a etapa prévia de cultivo microbiológico. No entanto, devido a grande variedade de protocolos de extração de DNA, é fundamental padronizar a técnica de acordo com o tipo de amostra e peculiaridades de cada estudo. **Objetivos:** Comparar dois métodos de extração de DNA em amostras de saliva e placa bacteriana de crianças atendidas em Unidade de saúde do bairro Alfredo Freire, Uberaba-MG. **Métodos:** Um total de 75 amostras (40 salivas e 35 placas) tiveram DNA extraído por kit específico para DNA bacteriano ou por método de fervura. A concentração de DNA[ng/ul] e razão 260/280 foram mensuradas em espectrofotômetro. Análises estatísticas no programa SPSSv20 (test-t ou Mann-Whitney) foram realizadas para identificar diferenças na qualidade e concentração de DNA. Aprovação Comitê de ética em pesquisa UFTM: 5.700.069 de 22/10/22. **Resultados:** Dentre as 75 amostras, 24 foram extraídas com o kit e 51 por fervura. A extração por fervura resultou em concentração de DNA, significativamente, maior do que o kit (média=34,9±63,1 versus 4,8±4,1 respectivamente; Razão de chance=3,6; p<0,0001). A razão 260/280 foi semelhante entre os métodos (média=1,8±1,9 para fervura e 1,3±0,7 para o kit;p=0,152). A diferença entre os métodos foi maior para amostras de placa (Razão de chance=4,7) do que nas salivas (Razão de chance=2,9). **Conclusão:** Os dados sugerem que o método de fervura resulta em maior concentração de DNA extraído sem alterar, de maneira significativa, a qualidade (razão 260/280). Sendo relevante sua aplicação, principalmente, para extração nas amostras de placa.

Palavras-chave: Extração de DNA, Placa bacteriana, Saliva.

RESUMOS EXPANDIDOS



COMPOSTOS METÁLICOS DE Pd(II), Pt(II) E Zn(II) COMO UMA ABORDAGEM TERAPÊUTICA INOVADORA CONTRA O VÍRUS MAYARO

Bruna Coelho Sandim¹; Igor de Andrade Santos¹; Natasha Marques Cassani¹; Laiane dos Santos Oliveira²; Pedro Henrique de Souza Guarda²;

Camilla Abbehausen²; Ana Carolina Gomes Jardim^{1,3}; ¹Instituto de Ciências Biomédicas/Universidade federal de Uberlândia (UFU), ³Departamento de Química Inorgânica/Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), ³Instituto de Biociências, Letras e Ciências exatas/Universidade Estadual de São Paulo (UNESP)

RESUMO

O vírus Mayaro (MAYV) é um arbovírus da família *Togaviridae*, causador da febre do Mayaro, caracterizada por febre, dores de cabeça, mialgia e artralgia, podendo persistir por meses a anos. Não existem fármacos específicos ou vacinas aprovadas contra o MAYV, sendo o tratamento sintomático a abordagem clínica principal. Nesse sentido, complexos metálicos apresentam potencial terapêutico conhecido contra diferentes vírus e consistem em fontes promissoras para o desenvolvimento de fármacos antivirais. Este estudo visou avaliar a atividade antiviral de complexos metálicos de paládio (Pd), platina (Pt) e zinco (Zn) contra o MAYV *in vitro*. A citotoxicidade dos complexos BBAMPHCl, PdBBAMP, PtBBAMP, ZnBBAMP e PtLO4PPh₃COOH foi avaliada em células Vero E6, selecionando as maiores concentrações não citotóxicas para o ensaio antiviral. BBAMPHCl, PdBBAMP, PtBBAMP e ZnBBAMP a 10 µM reduziram a replicação viral em 31%, 49,8%, 33,8% e 44,1%, respectivamente. O complexo PtLO4PPh₃COOH a 50 µM reduziu a replicação viral em 93,9%. Em ensaios de dose-resposta, os complexos apresentaram índices de seletividade de 11,6, 9,1, 16,7, 68,9 e >23,7, respectivamente. Estes resultados indicam potencial antiviral dos complexos metálicos contra o MAYV, embora sejam necessários estudos adicionais para elucidar os mecanismos de ação antivirais. Esses achados destacam esses complexos como candidatos promissores para o desenvolvimento de futuros fármacos antivirais contra o MAYV.

Palavras-Chave: Vírus Mayaro; Antivirais; Complexos Metálicos; Replicação Viral.

INTRODUÇÃO

O vírus Mayaro (*Mayaro vírus*, MAYV) pertence ao gênero *Alphavirus* e à família *Togaviridae*, e foi detectado pela primeira vez em 1954, em Trinidad, no soro de trabalhadores florestais (Diagne *et al.*, 2020). O genoma do MAYV consiste em uma fita simples de RNA de polaridade positiva, com duas regiões abertas de leitura (*Open Reading Frames*, ORFs), sendo a primeira traduzida em quatro proteínas não estruturais (nsPs): nsP1, nsP2, nsP3 e nsP4, envolvidas na replicação viral; e a segunda ORF traduzida em seis proteínas estruturais: capsídeo (C), envelope 1-3 (E1, E2 e E3), *transframe* (TF) e viroporina (6k) (Andreolla *et al.*, 2022).

O MAYV é o agente etiológico da Febre do Mayaro em humanos, que se caracteriza por sintomas como calafrios, febre, tontura, manifestações gastrointestinais, dor de cabeça, dor ocular, mialgia e artralgia persistentes. Sua transmissão ocorre, principalmente, pela picada da fêmea de mosquitos do gênero *Hemagogus*, mas outras espécies de mosquitos hematófagos, como *Aedes albopictus* e *Aedes aegypti*, também foram caracterizados como possíveis vetores do vírus (Esposito; da Fonseca, 2017; Dieme *et al.*, 2020). De forma agravante, mais de 50% dos pacientes infectados podem desenvolver a fase crônica e apresentam artralgia severa e prolongada, que pode durar por meses ou anos, impactando diretamente fatores socioeconômicos em países tropicais e subtropicais (Li *et al.*, 2019; Mendonça *et al.*, 2023). Adicionalmente, não existem vacinas e/ou antivirais licenciados capazes de prevenir ou tratar a doença, sendo a abordagem clínica atual baseada no manejo dos sintomas, com o uso de anti-inflamatórios e/ou analgésicos (Diagne *et al.*, 2020). Nesse sentido, é evidente a necessidade de identificar novas moléculas que possam ser aplicadas no desenvolvimento de novos fármacos anti-MAYV.

Os íons metálicos estão envolvidos em muitas funções vitais dos sistemas biológicos, como a regulação do balanço eletrolítico, o transporte de oxigênio e a transferência de elétrons, além de serem cofatores de diversas enzimas. Nesse contexto, a associação de íons específicos com estruturas orgânicas ou inorgânicas podem resultar em complexos metálicos inovadores com atividade biológica maximizada e, conseqüentemente, no desenvolvimento de novos fármacos. Os complexos metálicos têm sido descritos com atividades biológicas antitumorais, anti-inflamatórias e antimicrobianas (Burlec *et al.*, 2023), mas também contra diversos vírus como o vírus da imunodeficiência humana (*Human immunodeficiency virus*, HIV), *Orthoebolavirus zairense*, *Alphainfluenzavirus influenzae*, *Chikungunya virus* (CHIKV) e o Coronavírus 2 relacionado à síndrome respiratória aguda grave (*Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus*, SARS-CoV-2), sendo alguns descritos pelo nosso grupo de pesquisa (de Paiva *et al.*, 2021; Oliveira *et al.*, 2020; Santos *et al.*, 2022).

Dessa forma, considerando o potencial terapêutico dos complexos metálicos e a necessidade de identificação de novas moléculas capazes de inibir a replicação do MAYV, este trabalho avaliou a atividade antiviral de complexos metálicos de Pd, Pt e Zn na replicação do MAYV.

OBJETIVOS

Avaliação da atividade de complexos metálicos de Pd, Pt e Zn na replicação do MAYV *in vitro*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os complexos metálicos avaliados nesse trabalho foram sintetizados pela Profa. Dra. Camilla Abbehausen, do Departamento de Química Inorgânica da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) conforme literatura publicada (Oliveira *et al.*, 2024) Os complexos metálicos BBAMP₂HCl, PdBBAMP, PtBBAMP, ZnBBAMP, PtLO₄PPH₃COOH e PtLO₄TCEP foram dissolvidos em Dimetil-sulfóxido (DMSO 99,9%, v/v) e mantidos a -20°C por dois dias.

A citotoxicidade dos complexos foi avaliada utilizando células de rim de macaco verde

africano (Vero-E6) semeadas em placas de 96 poços e tratadas com cada compostos nas concentrações de 50, 10 e 2 μ M. A viabilidade celular foi avaliada por ensaio de MTT ((3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazoliumbromide), sendo utilizado DMSO como controle não tratado. A maior concentração viável de cada composto (viabilidade \geq 80%) foi selecionada para triagem antiviral (Kamiloglu *et al.*, 2020).

O efeito dos compostos no ciclo replicativo do MAYV foi analisado empregando o MAYV-*nanoluc*, um clone infeccioso que carrega o gene da nanoluciferase. Para isso, as células Vero-E6 foram infectadas com MAYV-*nanoluc* em uma multiplicidade de infecção (MOI) de 0,1 na presença ou ausência de cada molécula. Após 24h, a atividade da nanoluciferase, que é proporcional à replicação viral, foi quantificada de acordo com o protocolo do kit *Renilla Luciferase Assay System* (Promega). O ensaio de viabilidade foi realizado paralelamente. DMSO foi utilizado como controle não tratado.

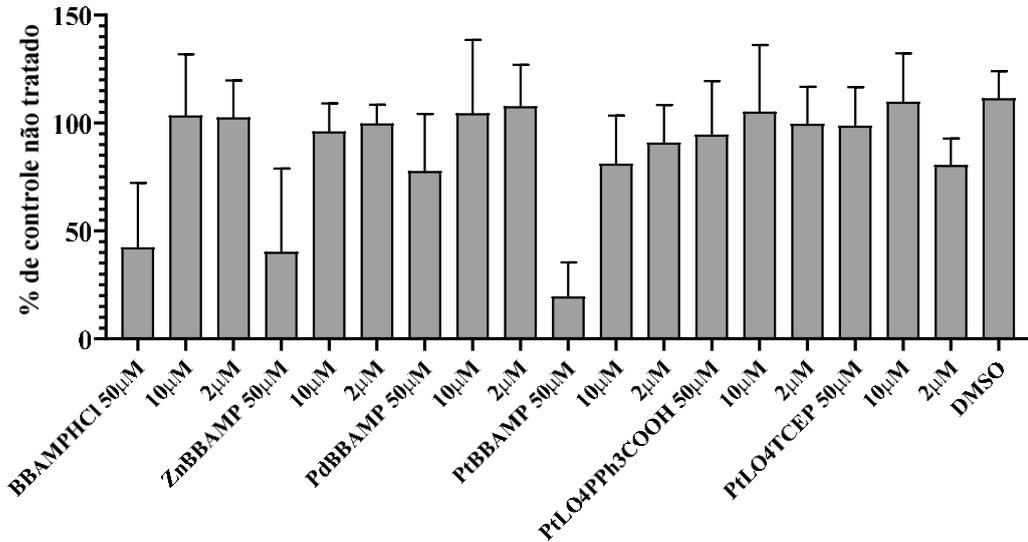
Os complexos ativos foram selecionados para a realização de um ensaio de dose- resposta empregando uma diluição seriada 1:2, em oito concentrações variando entre 2,3 e 300 μ M, na presença ou ausência do MAYV-*nanoluc* em um MOI de 0,1. Após 24h, a leitura da viabilidade celular e replicação foram realizadas como descrito acima. A concentração efetiva de 50% (EC₅₀), a concentração citotóxica em 50% (CC₅₀) e o índice de seletividade (SI) foram determinados utilizando o software GraphPad Prism 8, que fornece os valores de CC₅₀ e EC₅₀ e uma curva de dose-resposta para o composto.

Foram considerados os valores médios de pelo menos dois experimentos independentes concordantes, em triplicata, incluindo o desvio padrão. DMSO 0,1% foi usado como controle não tratado. As análises estatísticas foram feitas utilizando o software GraphPad Prism 8.0, em que valores de $p < 0,05$ foram considerados significantes. Para o estabelecimento dos valores de EC₅₀ e CC₅₀, os dados foram transformados em Log(X), onde X é a concentração, e submetidos a uma regressão não linear com quatro parâmetros em *slope* variável.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

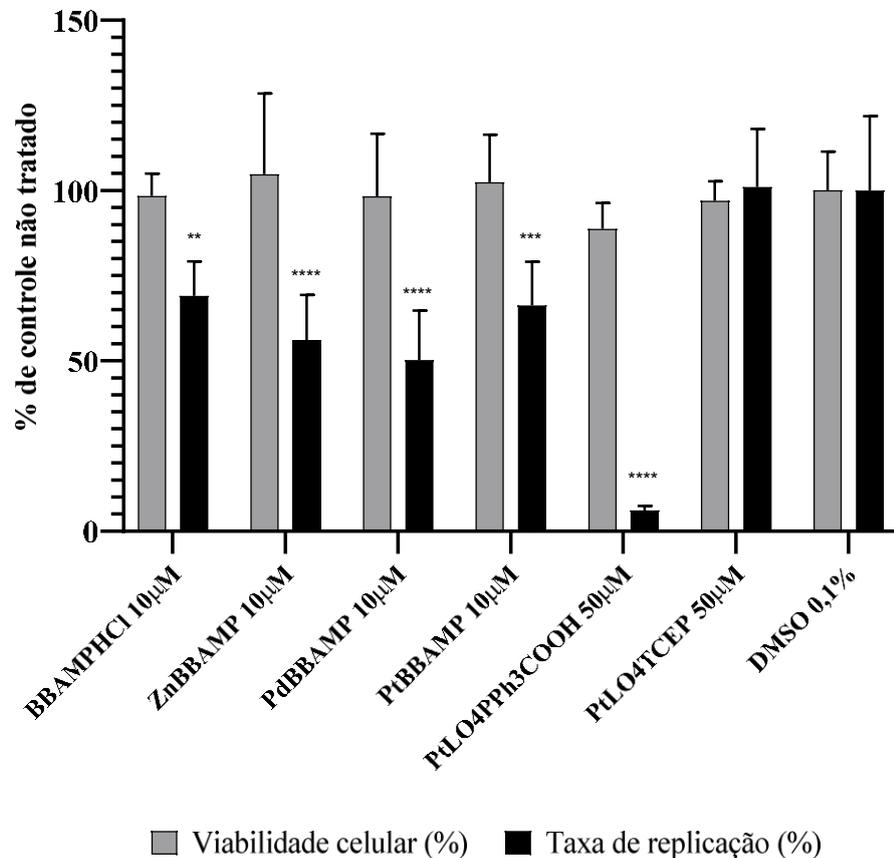
A partir da triagem inicial da viabilidade celular, os compostos PTLO4PPh3COOH e PTLO4TCEP foram considerados viáveis a 50 μ M com uma viabilidade de 94,5% e 98,5%, respectivamente, enquanto BBAMPHCl, ZnBBAMP, PdBBAMP e PtBBAMP foram viáveis a 10 μ M (103,3, 95,8, 104,3 e 81,0%, respectivamente) (**Figura 1**). Esses compostos em suas maiores concentrações não citotóxicas foram selecionados para avaliação contra o MAYV. Após o tratamento com cada composto, foi identificado que PTLO4PPh3COOH inibiu 93,9% da replicação viral. BBAMPHCl, ZnBBAMP, PdBBAMP e PtBBAMP reduziram a replicação do MAYV em 31%, 44,1%, 49,8% e 33,8%, respectivamente. Em contrapartida, o composto PtLO4TCEP não inibiu a replicação do vírus (**Figura 2**).

Figura 1: Viabilidade dos complexos metálicos em células Vero-E6.



Legenda Figura 1: Células Vero-E6 foram tratadas com os compostos BBAMPHCl, ZnBBAMP, PdBBAMP, PtBBAMP, PtLO4PPh3COOH e PtLO4TCEP nas concentrações de 50, 10 e 2 μ M. Após 72h, a citotoxicidade foi avaliada por ensaio de MTT. DMSO 0,1% foi utilizado como controle não tratado. Estão representados os valores médios de dois experimentos independentes medidos em quadruplicada. A imagem foi gerada pelo *Software GraphPad Prism 8*.

Figura 2: Efeito de complexos metálicos de Zn, Pd e Pt em células Vero-E6 e na replicação do MAYV.

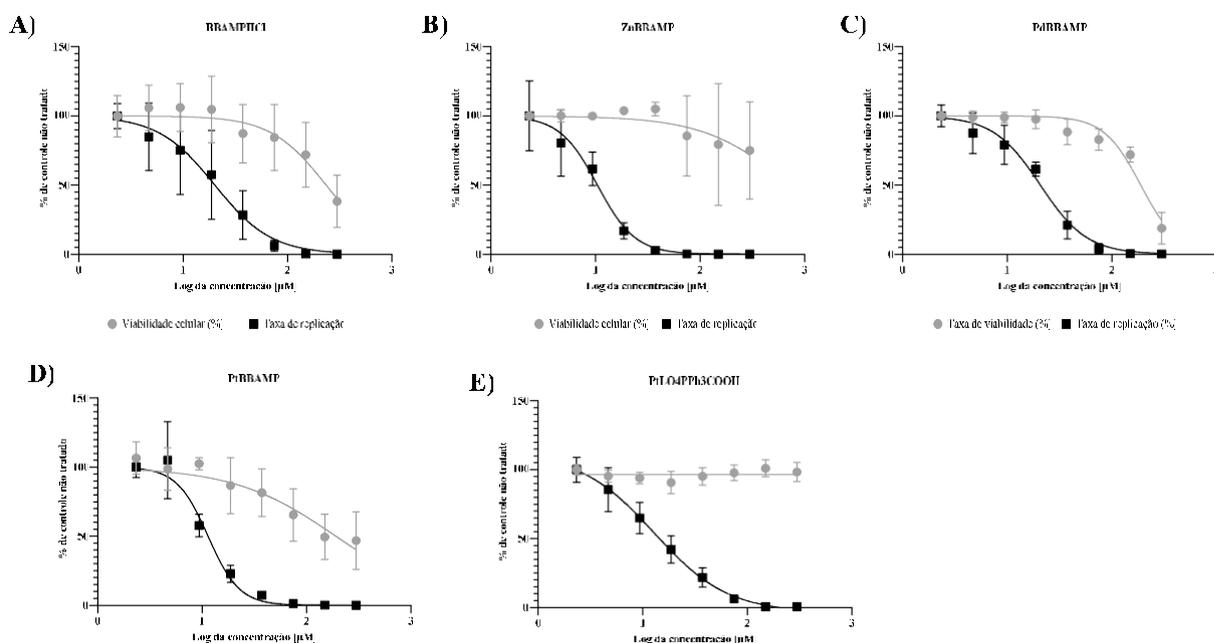


Legenda Figura 2: A viabilidade celular (cinza) foi avaliada tratando células Vero-E6 com os compostos nas concentrações específicas. A atividade antiviral (preto), foi avaliada pela adição do composto e MAYV (MOI = 0,1) simultaneamente nas células Vero-E6. Os valores médios de no mínimo dois experimentos independentes, cada um

medido em triplicata, são representados. (**) $P < 0,01$, (***) $P < 0,001$, (****) $P < 0,0001$. A imagem foi gerada usando o *GraphPad Prism 8*.

Os complexos ativos BBAMPHCl, ZnBBAMP, PdBBAMP, PtBBAMP e PtLO4PPh3COOH foram avaliados em relação a dose-resposta. Como resultado, o composto BBAMPHCl obteve um CC_{50} de 234,3 μM e um EC_{50} de 20,4 μM , enquanto o ZnBBAMP obteve um CC_{50} de 722,4 μM e um EC_{50} de 10,4 μM . Da mesma forma, o composto PdBBAMP apresentou um CC_{50} de 189,0 μM e um EC_{50} de 20,7 μM , o PtBBAMP obteve um CC_{50} de 191,4 μM e um EC_{50} de 11,4 μM e o PtLO4PPh3COOH apresentou um $CC_{50} > 300 \mu\text{M}$ e um EC_{50} de 12,9 μM . Os índices de seletividade dos compostos foram 11,6, 68,9, 9,1, 16,7 e $>23,7$ para os compostos BBAMPHCl, ZnBBAMP, PdBBAMP, PtBBAMP e PtLO4PPh3COOH, respectivamente (**Figura 3**).

Figura 3: Curvas de dose-resposta de BBAMPHCl, ZnBBAMP, PdBBAMP, PtBBAMP e PtLO4PPh3COOH em células Vero-E6 e na replicação do MAYV



Legenda Figura 3: Células Vero-E6 foram tratadas com os complexos metálicos BBAMPHCl (A), ZnBBAMP (B), PdBBAMP (C), PtBBAMP (D) e PtLO4PPh3COOH (E), na presença ou não de MAYV- *nanoluc* (MOI = 0,1),

empregando uma diluição seriada 1:2, em concentrações variando de 2,3 a 300 μM . Após 24h, foi realizada a leitura da viabilidade por ensaio de MTT e dos níveis de replicação pelo protocolo do kit *Renilla Luciferase Assay System* (Promega). Os valores de EC_{50} , CC_{50} e o SI foram determinados utilizando o software *GraphPad Prism 8*. Os gráficos representam valor médio de dois eventos independentes, medidos em triplicata, incluindo o desvio padrão.

CONCLUSÃO

Os dados apresentados sugerem que os complexos metálicos de paládio, platina e zinco apresentam potente atividade antiviral anti-MAYV, e por isso, os resultados indicam esses complexos como potenciais candidatos para o desenvolvimento de antivirais contra o MAYV. Estudos adicionais são necessários para identificar o modo de ação dos compostos ativos.

AGRADECIMENTOS

CNPq, FAPEMIG e CAPES.

REFERÊNCIAS

- ABATE, C. *et al.* Metal-Based Compounds in Antiviral Therapy. **BiomoleculesMDPI**, 1 jul. 2022.
- ANDREOLLA, A. P. *et al.* Mayaro Virus: The State-of-the-Art for Antiviral Drug Development. **VirusesMDPI**, 1 ago. 2022a.
- BURLEC, A. F. *et al.* Current Overview of Metal Nanoparticles' Synthesis, Characterization, and Biomedical Applications, with a Focus on Silver and Gold Nanoparticles. **Pharmaceuticals Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI)**, 1 out. 2023.
- DE PAIVA, R. E. F. *et al.* What is holding back the development of antiviral metallodrugs? A literature overview and implications for SARS-CoV-2 therapeutics and future viral outbreaks. **Dalton Transactions**, v. 49, n. 45, p. 16004–16033, 2020.
- DIAGNE, C. T. *et al.* Mayaro virus pathogenesis and transmission mechanisms. **PathogensMDPI AG**, 1 set. 2020.
- DIEME, C.; CIOTA, A. T.; KRAMER, L. D. Transmission potential of Mayaro virus by *Aedes albopictus*, and *Anopheles quadrimaculatus* from the USA. **Parasites and Vectors**, v. 13, n. 1, 1 dez. 2020.
- ESPOSITO, D. L. A.; FONSECA, B. A. L. DA. Will Mayaro virus be responsible for the next outbreak of an arthropod-borne virus in Brazil? **Brazilian Journal of Infectious Diseases Elsevier Editora Ltda**, 1 set. 2017.
- KAMILOGLU, S. *et al.* Guidelines for cell viability assays. **Food Frontiers**, v. 1, n. 3, p. 332–349, 1 set. 2020.
- LI, X. *et al.* Development of a rapid antiviral screening assay based on eGFP reporter virus of Mayaro virus. **Antiviral Research**, v. 168, p. 82–90, 1 ago. 2019.
- MENDONÇA, D. C. *et al.* A study of the MAYV replication cycle: Correlation between the kinetics of viral multiplication and viral morphogenesis. **Virus Research**, v. 323, 2 jan. 2023.
- OLIVEIRA, D. M. DE *et al.* Organometallic Complex Strongly Impairs Chikungunya Virus Entry to the Host Cells. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, 15 dez. 2020.
- OLIVEIRA, L. S. *et al.* Novel Bidentate Amine Ligand and the Interplay between Pd(II) and Pt(II) Coordination and Biological Activity. **ChemBioChem**, v. 25, n. 6, 15 mar. 2024.
- SANTOS, I. A. *et al.* Repurposing potential of rimantadine hydrochloride and development of a promising platinum(II)-rimantadine metallodrug for the treatment of Chikungunya virus infection. **Acta Tropica**, v. 227, 1 mar. 2022.
- PUJHARI, S. *et al.* Characterization of Mayaro virus (strain BeAn343102) biology in vertebrate and invertebrate cellular backgrounds. **Journal of General Virology**, v. 103, n. 10, 2022.

AVALIAÇÃO IN VITRO DO POTENCIAL IMUNOMODULADOR DE UM DERIVADO VEGETAL PRODUZIDO A PARTIR DE CINCO PLANTAS MEDICINAIS

Bruna Falqueiro de Souza¹; Chamberttan Souza Desidério²; Luis Fernando da Silva Martins³; Carlo José Freire de Oliveira⁴

¹UFTM, ²UFTM, ³UFTM, ⁴UFTM

RESUMO

A Diabetes *Mellitus*, síndrome metabólica crônica, está relacionada com complicações sistêmicas e/ou específicas de órgãos /tecidos do portador da doença. A conexão entre metabolismo e imunidade é bidirecional. A fisiopatologia da doença envolve processos mediados pelo sistema imune, como a destruição das células produtoras de insulina do pâncreas, na Diabetes tipo 1. A glicose exacerbada no meio extracelular sinaliza perigo metabólico, posto que ela ativa células reguladoras da inflamação crônica no tecido adiposo. Dessa forma, a busca por medidas de prevenção e tratamento é de extrema importância, visto que as alternativas atuais são de alto custo, baixa efetividade ou difícil adesão. Centenas de achados na literatura indicam o potencial das plantas medicinais para o tratamento das diabetes. Nesse cenário, o objetivo do projeto foi avaliar o potencial imunomodulador de um extrato vegetal, composto por cinco plantas, cajueiro (*Anacardium occidentale*), carqueja (*Baccharis trimera*), jambolão (*Syzygium cumini*), pata de vaca (*Bauhinia forficata*) e pau de ferro (*Libidibia ferrea*), a fim de determinar o potencial fitoterápico do composto para a Diabetes. Para isso, foi realizado o Ensaio Imunoenzimático (ELISA) para determinação de secreção das citocinas IL-1 β , IL-6, TNF- α e IL-10 em diferentes diluições do tratamento. Os resultados iniciais mostraram-se promissores na imunomodulação da secreção de IL-1 β , IL-6, TNF- α e IL-10. Logo, conclui-se que o extrato, feito a partir de plantas medicinais encontradas no Triângulo Mineiro, tem potencial imunomodulador benéfico, podendo ser uma futura alternativa a ser testada em situações de doenças de caráter pró-inflamatório, tais como diabetes mellitus e dislipidemias.

Palavras Chave: *Diabetes; imunologia; fitoterapia.*

INTRODUÇÃO

A Diabetes *Mellitus*, patologia em ascensão devido às mudanças socioeconômicas e culturais da população, se caracteriza como uma doença metabólica crônica, provocada pela alta concentração de glicose sanguínea e afeta cerca de 422 milhões de pessoas globalmente, causando aproximadamente 1,5 milhões de mortes por ano. Há dois tipos de Diabetes de maior prevalência, a Diabetes Mellitus tipo 1 e a Diabetes Mellitus tipo 2. Elas são deletérias se não controladas, pois afetam não só os sistemas endócrino e cardiovascular, mas também o sistema imune, ambos com ação sistêmica no organismo (WHO, 2022).

Em condições de saúde, a insulina é secretada pelas células β pancreáticas em resposta ao aumento de glicose no sangue. Na Diabetes *Mellitus*, um desequilíbrio no metabolismo de carboidratos gera hiperglicemia. Além do mais, a fisiopatologia na Diabetes tipo 1 envolve a deficiência na secreção de insulina, decorrente da destruição mediada pelos linfócitos TCD8⁺ das células produtoras do hormônio, devido a inflamação mediada por linfócitos Th1 CD4⁺ reativas a antígenos da ilhota pancreática e a produção de citocinas como TNF- α e IL-1, promovendo dano nas ilhotas (C. A. BALDA; A. PACHECO-SILVA, 1999). Já, na Diabetes tipo 2, a inflamação crônica é um possível fator etiológico da resistência à insulina, pois prejudica a secreção de insulina, além de promover a intolerância à glicose. Ademais, evidências sugerem que suas complicações, tais como dislipidemias, neuropatia, retinopatia e pé diabético, são dependentes de interações entre células imunes e componentes da parede celular. Nesse sentido, a inflamação crônica emerge como uma característica chave da doença, observada no alvo de insulina e nos tecidos (ROHM et al., 2022).

Fontes naturais foram utilizadas pelo homem em toda a história para o tratamento de doenças. Atualmente, boa parte dos fármacos são produzidos a partir de plantas (BARREIRO; BOLZANI, 2009). O Brasil é detentor de uma diversidade de plantas, o que torna o estudo de novas espécies promissor. A utilização de compostos bioativos tem recebido cada vez mais destaque, pois modulam a resposta do indivíduo de diversas formas, entretanto mais estudos são necessários para o entendimento desses compostos no organismo (ILSI, 2019). Apesar de existirem intervenções como os hipoglicemiantes orais, esses em sua maioria não contribuem para a melhora das complicações da patologia e são de alto custo. Além do mais, o manejo via mudanças de hábitos alimentares e prática da atividade física têm pouca aderência. Logo, a procura por alternativas de baixo custo e que somem um bom prognóstico às opções existentes se faz necessária.

Muitas são as plantas medicinais com compostos bioativos capazes de modular, mesmo que de maneira experimental, alguns parâmetros clínicos e biológicos da Diabetes. Dentre eles, alguns se destacam e apresentam uma diversidade de estudos na literatura a citar: Cajueiro (*Anacardium occidentale*), carqueja (*Baccharis trimera*), jambolão (*Syzygium cumini*), pata de vaca (*Bauhinia forficata*) e pau de ferro (*Libidibia ferrea*). Ademais, a população da região do Triângulo tem utilizado um extrato contendo tais plantas a décadas.

Assim, o objetivo foi avaliar o derivado vegetal proveniente dessas plantas, pois são de baixo custo e impacto, em um modelo in vitro para determinar o potencial imunomodulador após o tratamento em células. A junção de plantas em fitoterápicos, como proposta no trabalho, não é muito explorada e ainda não há fitoterápicos baseados numa união de compostos provenientes de diferentes plantas. No entanto, o estudo de tal aspecto surge como alternativa na investigação se os efeitos benéficos das plantas serão somatórios ou mesmo sinérgicos, aumentando de forma significativa a eficácia do tratamento (WOOTEN; ALBERT, 2020).

OBJETIVOS GERAL

Avaliar o potencial imunomodulador de um derivado vegetal produzido a partir de cinco plantas medicinais utilizadas pela população do Triângulo Mineiro para Diabetes *Mellitus*.

ESPECÍFICOS

Determinar a secreção de citocinas (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10) in vitro por meio do Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA) em células polimorfonucleares do sangue periférico (PBMCs).

MATERIAIS E MÉTODOS

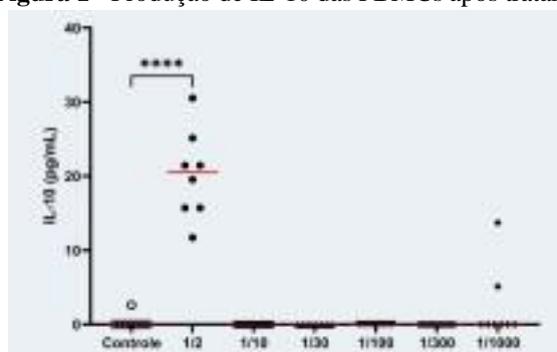
O derivado vegetal foi obtido pelo pesquisador coordenador, responsável pela pesquisa. Foram utilizadas PBMCs para análise do perfil imunomodulador. Inicialmente, as células foram isoladas no laboratório e a concentração das citocinas (IL-6, IL-10, IL-1 β e TNF- α) foram determinadas por ELISA, no sobrenadante da cultura das células de acordo com as recomendações do fabricante. Os resultados encontrados foram tabulados no Excel e transferidos para o programa GraphpadPrism 8.1, o qual foi utilizado para realizar as análises estatísticas. Os dados que não apresentaram distribuição normal, foram analisados por testes não paramétricos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

É possível encontrar na literatura diversos potenciais biológicos interessantes nas plantas utilizadas, bem como mostrado por nossos resultados obtidos a partir da junção das espécies utilizadas. Quanto à composição química, a literatura traz os mais diversos compostos bioativos nas plantas, tais como flavonóides, terpenos e ácidos clorogênicos correlacionados com suas atividades biológicas, tais como antioxidante, anti-inflamatória, hipoglicemiante gastroprotetor, cardioprotetora e hepatoprotetor (AJIBOYE, 2020)(JUNG *et al*, 2022)(RABELO; COSTA, 2018)(QAMAR *et al*, 2021).

Na menor diluição de nosso tratamento (1/2), o derivado vegetal apresentou elevação na secreção de IL-10 com diferença estatística em relação ao controle e as demais diluições (figura 1). Apesar da escassez de trabalhos mostrando a redução de modo direto em relação à IL-10, diversos achados apontam efeitos indiretos resultantes desse resultado. O tratamento com a infusão de carqueja foi capaz de combater a obesidade, a diabetes e suas complicações como a dislipidemia, esteatose hepática e a inflamação crônica em camundongos com distúrbios metabólicos e macrófagos ativados (XIMENES *et al*, 2022). Em uma pesquisa experimental, utilizando camundongos com diabetes induzida por dieta rica em lipídios associada a estreptozotocina, os animais tratados com extrato contendo jambolão reduziram significativamente a glicose em jejum, colesterol total e a LDL em relação aos animais controle, semelhante à metformina e de modo seguro para o consumo (MASAENAH *et al*, 2021). Assim, nossos resultados são condizentes com o verificado por vários cientistas.

Figura 1 - Produção de IL-10 das PBMCs após tratamento.



Nas diluições 1/2, 1/10, 1/30 e 1/100 nossos resultados mostram redução da secreção de citocinas de perfil pró-inflamatório, destacando IL-1 β e IL-6 (figura 2). Na literatura científica, as plantas demonstram atividades que corroboram com nossos dados experimentais. Por exemplo, o extrato etanólico das folhas, aumentou a sobrevivência e

longevidade de ratos diabéticos submetidos à sepse letal em relação ao grupo experimental sem tratamento, mostrando que a espécie é efetiva para melhora de parâmetros que impactam a resposta imune e metabólica no quadro de diabetes (OLIVEIRA et al, 2019). Em relação a citocina TNF- α , não foram observadas diferenças estatísticas (figura 3). No entanto, alguns autores enfatizam a capacidade de algumas dessas plantas em reduzir a secreção dessa molécula, como em um ensaio in vivo com extrato etanólico do pau de ferro (*Libidibia ferrea*). Nesse ensaio, a espécie apresentou atividade anti-inflamatória no modelo de artrite induzida por zymosan em camundongos, inibindo a inflamação sinovial, diminuindo o infiltrado inflamatório e a secreção de citocinas IL-1 β e de TNF- α . (FALCÃO et al, 2019). Dessa forma, o derivado vegetal pode apresentar alta capacidade de modular respostas imunes a fim de promover ações terapêuticas.

Figura 2 - Produção de IL-6 das PBMCs após tratamento

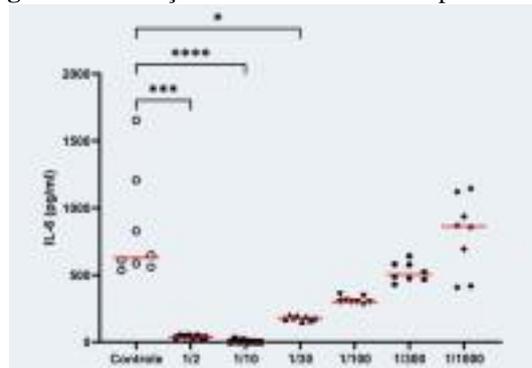


Figura 3 -Produção de IL-1 β das PBMCs após tratamento

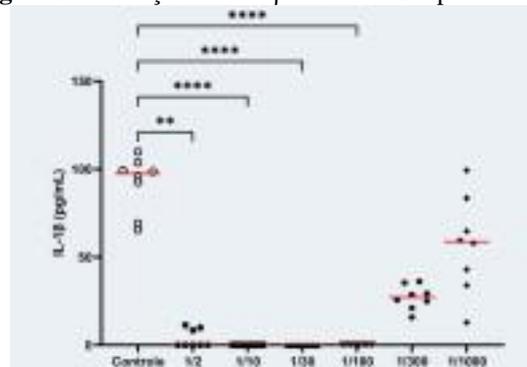
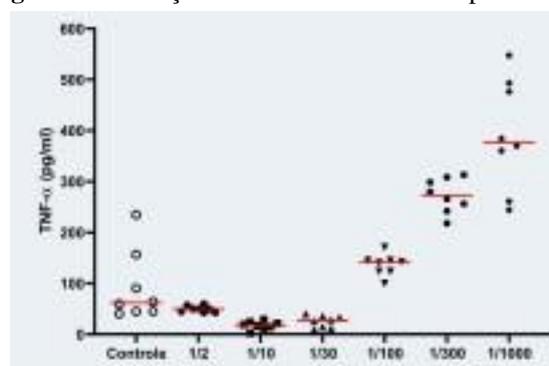


Figura 4 - Produção de TNF- α das PBMCs após tratamento



Ademais, analisando o padrão de imunomodulação com o extrato vegetal em PBMCs, podemos afirmar que são promissoras as possíveis utilizações de tal intervenção nas mais diversas condições, especialmente as de caráter inflamatório como é a diabetes mellitus. Sob ótica de estudos individuais focados nas plantas de forma isolada, os desfechos são positivos. Uma revisão avaliando o efeito do jambolão em parâmetros da síndrome metabólica, ressaltou que estudos clínicos e pré clínicos confirmaram benefícios agindo como hipoglicemiante, antioxidante, hipolipidêmico e

anticarcinogênico (RIZVI *et al.*, 2022). O extrato etanólico da pata de vaca tem alta capacidade antioxidante, potencial inibidor de enzimas digestivas, além da eliminação de espécies reativas do oxigênio e produtos de glicação avançada, moléculas produzidas em grandes quantidades no diabetes e relacionadas ao envelhecimento, alzheimer, doenças renais crônicas, artrite e principalmente desordens cardiovasculares (FRANCO *et al.*, 2020). Ainda, cápsulas contendo grânulos do extrato como tratamento adjuvante em pacientes com DM2 durante 4 meses tiveram o melhor controle metabólico em comparação com o grupo que recebeu placebo (TONELLI *et al.*, 2022). Em outro estudo, a carqueja foi capaz de reverter todos os parâmetros alterados negativamente de ratos diabéticos expostos à fumaça de cigarros e comida enriquecida de colesterol (SOUZA *et al.*, 2020). Logo, as plantas apresentam aspectos interessantes tanto para metabolismo glicêmico, imunomodulação e efeitos cardioprotetor.

Diante do exposto, ao investigar os dados de cada planta individualmente na literatura e, somado a isso, considerando o impacto da combinação das plantas em nossa pesquisa, podemos concluir que a utilização do extrato apresenta perspectivas promissoras em diferentes condições. Este cenário sugere uma potencial eficácia e relevância terapêutica do extrato, respaldada pela possível sinergia observada entre as plantas.

REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K.; **Cell and molecular immunology**. 10 edição. Philadelphia, Pennsylvania: Editora Elsevier, 20 de maio de 2021. ISBN: 978-0-323-75748-5

AJIBOYE, Basiru Olaitan. In vitro antioxidant and inhibitory activities of polyphenolic-rich extracts of *Syzygium cumini* (Linn) Skeels leaf on two important enzymes relevant to type II diabetes mellitus. **Pakistan Journal Of Pharmaceutical Sciences**, v. 33, n. 2, 1 mar. 2020. Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, University of Karachi.
<http://dx.doi.org/10.36721/pjps.2020.33.2.reg.523-529.1>.

BALDA, C. A.; PACHECO-SILVA, A. Aspectos imunológicos do diabetes melito tipo 1. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v. 45, n. 2, p. 175–180, 1999.

FALCÃO, Tamires Rocha; RODRIGUES, Cássio Alexandre Oliveira; ARAËJO, Aurigena Antunes de; MEDEIROS, Caroline Addison Carvalho Xavier de; SOARES, Luiz Alberto Lira;

FERREIRA, Magda Rhayanny Assunção; VASCONCELOS, Roseane Carvalho; ARAËJO JÚNIOR, Raimundo Fernandes de; LOPES, Maria Luiza Diniz de Sousa; GUERRA, Gerlane Coelho Bernardo. Crude extract from *Libidibia ferrea* (Mart. ex. Tul.) L.P. Queiroz leaves decreased intra articular inflammation induced by zymosan in rats. **Bmc Complementary And Alternative Medicine**, v. 19, n. 1, p. 0-0, 12 fev. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12906-019-2454-3>.

FRANCO, Rodrigo Rodrigues; ALVES, Victor Hugo Mota; ZABISKY, Luiz Fernando Ribeiro; JUSTINO, Allisson Benatti; MARTINS, Mário Machado; SARAIVA, André Lopes; GOULART, Luiz Ricardo; ESPINDOLA, Foued Salmen. Antidiabetic potential of *Bauhinia forficata* Link leaves: a non-cytotoxic source of lipase and glycoside hydrolases inhibitors and molecules with antioxidant and antiglycation properties. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 123, p. 109798, mar. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109798>.

JUNG, Eliane Przytyk; FREITAS, Beatriz Pereira de; KUNIGAMI, Claudete Norie; MOREIRA, Davyson de Lima; FIGUEIREDO, Natália Guimarães de; RIBEIRO, Leilson de Oliveira; MOREIRA, Ricardo Felipe Alves. *Bauhinia forficata* Link Infusions: chemical and bioactivity of volatile and non-volatile fractions. **Molecules**, v. 27, n. 17, p. 5415, 24 ago. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules27175415>.

OLIVEIRA, Aluísio S.; NASCIMENTO, Johnny R.; TROVÃO, Liana O.; ALVES, Patrícia C.s.; MACIEL, Marcia Cristina G.; SILVA, Luís Douglas M; MARQUES, André A.; SANTOS, Ana Paula S.A.; SILVA, Lucilene A.; NASCIMENTO, Flavia Raquel F.. The anti-inflammatory activity of *Anacardium occidentale* L. increases the lifespan of diabetic mice with lethal sepsis. **Journal Of Ethnopharmacology**, v. 236, p. 345-353, maio 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2019.03.014>.

QAMAR, Muhammad; AKHTAR, Saeed; ISMAIL, Tariq; YUAN, Ye; AHMAD, Naveed; TAWAB, Abdul; ISMAIL, Amir; BARNARD, Ross T.; COOPER, Matthew A.; BLASKOVICH, Mark A.T.. *Syzygium cumini*(L.),Skeels fruit extracts: in vitro and in vivo anti-inflammatory properties. **Journal Of Ethnopharmacology**, v. 271, p. 113805, maio 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2021.113805>.

QAMAR, Muhammad; AKHTAR, Saeed; ISMAIL, Tariq; WAHID, Muqet; ABBAS, Malik Waseem; MUBARAK, Mohammad S.; YUAN, Ye; BARNARD, Ross T.; ZIORA, Zyta M.;

ESATBEYOGLU, Tuba. Phytochemical Profile, Biological Properties, and Food Applications of the Medicinal Plant *Syzygium cumini*. **Foods**, v. 11, n. 3, p. 378, 28 jan. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/foods11030378>

RABELO, Ana Carolina Silveira; COSTA, Daniela Caldeira. A review of biological and pharmacological activities of *Baccharis trimera*. **Chemico-Biological Interactions**, v. 296, p. 65-75, dez. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbi.2018.09.002>.

RIZVI, Maryam Khalid; RABAIL, Roshina; MUNIR, Seemal; INAM-UR-RAHEEM, Muhammad; QAYYUM, Mir Muhammad Nasir; KIELISZEK, Marek; HASSOUN, Abdo;

AADIL, Rana Muhammad. Astounding Health Benefits of Jamun (*Syzygium cumini*) toward Metabolic Syndrome. **Molecules**, v. 27, n. 21, p. 7184, 24 out. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules27217184>.

ROHM, Theresa V.; MEIER, Daniel T.; OLEFSKY, Jerrold M.; DONATH, Marc Y.. Inflammation in obesity, diabetes, and related disorders. **Immunity**, v. 55, n. 1, p. 31-55, jan. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2021.12.013>.

SOUZA, Marília Moraes Queiroz; SILVA, Gustavo Ratti da; COLA, Itaruã Machri; SILVA, Aniely Oliveira; SCHAEGLER, Maysa Isernhagen; GUARNIER, Lucas Pires; PALOZI, Rhanany Alan Calloi; BARBOZA, Lorena Neris; MENETRIER, Jacqueline Vergutz; FROELICH, Diego Lacir. *Baccharis trimera* (Less.) DC: an innovative cardioprotective herbal medicine against multiple risk factors for cardiovascular disease. **Journal Of Medicinal Food**, v. 23, n. 6, p. 676-684, 1 jun. 2020. Mary Ann Liebert Inc. <http://dx.doi.org/10.1089/jmf.2019.0165>.

TONELLI, Carlos André; OLIVEIRA, Simone Quintana de; VIEIRA, Andriele Aparecida da Silva; BIAVATTI, Maique Weber; RITTER, Cristiane; REGINATTO, Flávio Henrique;

CAMPOS, Angela Machado de; DAL-PIZZOL, Felipe. Clinical efficacy of capsules containing standardized extract of *Bauhinia forficata* Link (pata-de-vaca) as adjuvant treatment in type 2 diabetes patients: a randomized, double blind clinical trial. **Journal Of Ethnopharmacology**, v. 282, p. 114616, jan. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2021.114616>.

WHO - World Health Organization. "Diabetes". www.who.int. Acesso em 1 de dezembro de 2022.

XIMENES, Thalita Vieira Nascimento; CARVALHO, Raquel; BONFÁ, Iluska Senna; SANTOS, Vanessa Samúdio; CANDELORO, Luciane; ALVES, Flávio Macedo; SILVA, Denise Brentan;

CAROLLO, Carlos Alexandre; GIELOW, Karine de Cássia Freitas; SILVA-FILHO, Saulo Euclides. *Baccharis trimera* Infusion Reduces Macrophages Activation and High-Fat Diet-Induced Metabolic Disorders in Mice. **Pharmaceuticals**, v. 15, n. 10, p. 1258, 13 out. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ph15101258>.

ESTUDO DA INCIDÊNCIA DE PARASITOS EM CÃES ORIUNDOS DE ABRIGO ANIMAL NA CIDADE DE BARRETOS-SP

Jayne Melo Peixoto¹; Lívia Lopes Scandarolli¹; Karla Da Costa Henrique¹;
Leonardo Gangi¹; Amir Horiqini¹; Ana Carolina Pedrosa^{1*};

¹Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos – UNIFEB

RESUMO

Há muitos séculos, os cães tem fornecido companhia aos humanos, o que tem resultado em diversos benefícios para ambos. No entanto, junto a este estreitamento de laços, há também a crescente preocupação com a saúde dos animais. Uma vez que, os cães podem ser uma importante fonte de parasitas, capazes de infectar o homem e conseqüentemente, comprometer sua saúde. Deste modo, o presente estudo analisou a incidência de parasitos encontrados em cães. Tratar-se-á de um estudo transversal, descritivo, em que as amostras (40) de fezes foram analisadas utilizando a metodologia de flutuação e sedimentação, para a pesquisa de ovos de helmintos, as amostras foram coletadas em triplicata oriundas de uma clínica veterinária particular no município de Barretos. Com base nas análises coproparasitológicas realizadas, foi constatada a incidência de 35% de ovos parasitários nas 40 amostras de fezes estudadas.

Palavras-chave: zoonoses, helmintos, saúde pública, cão.

INTRODUÇÃO

Os cães são animais de companhia que há anos convivem com o ser humano, e esta convivência tem fornecido diversos benefícios para ambas as partes. A infecção do homem com parasitas de cães ocorre frequentemente, principalmente, devido à facilidade na transmissão. Para que esta ocorra, basta que os agentes sejam liberados pelas fezes dos cães, contaminem o ambiente e posteriormente, infectem o ser humano. No entanto, o estrito contato entre cães e humanos, também traz o alerta para a saúde destes animais. Haja vista que, os cães podem representar uma importante fonte de agentes patológicos causadores de zoonoses (RIBEIRO *et al.*, 2015). A infecção do homem com parasitas de cães ocorre frequentemente, principalmente, devido à facilidade na transmissão. Para que esta ocorra, basta que os agentes sejam liberados pelas fezes dos cães, contaminem o ambiente e posteriormente, infectem o ser humano (WEESE *et al.*, 2004).

OBJETIVO

Diante do exposto, o presente estudo tem como objetivo analisar a incidência de parasitas em animais oriundos de um abrigo animal, localizado na cidade de Barretos-SP.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um estudo transversal, descritivo, no qual foram analisadas amostras de fezes de cães provenientes de abrigo animal, localizado no município de Barretos. Para tanto, foram coletadas 40 amostras de fezes (uma por animal). Após as coletas, as fezes foram armazenadas em recipientes e transferidas para o Laboratório de Parasitologia do Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos – UNIFEB, onde foram processadas e analisadas através do método de sedimentação espontânea, utilizando a técnica de Hoffman (HOFFMAN; PONS; JANER, 1934). Após a realização das análises coproparasitológicas, os resultados obtidos foram expressos em porcentagens utilizando-se Excel for Windows (2020), de acordo com os patógenos detectados.

RESULTADOS PARCIAIS

Com base nas análises coproparasitológicas realizadas, foi constatada a incidência de 35% de ovos parasitários nas 40 amostras de fezes estudadas. Dentre as positivadas, destacou-se a presença de *Ancylostoma duodenale* (15%), porém, também, houve uma grande variedade de ovos de espécies diferentes encontradas, tais como: *Ascaris lumbricoides* (7,5%), *Strongyloides stercoralis* (7,5%), *Enterobios vermicularis* (5%), *Hymenolepis nana* (2,5%), *Entamoeba coli* (2,5%).

CONCLUSÃO

Com base nos resultados parciais obtidos, tornou-se evidente a importante incidência de parasitas presentes nos cães de abrigo em Barretos-SP. Isso destaca a importância do monitoramento e controle regulares para proteger tanto os animais quanto a saúde pública. Reforçando que medidas eficazes de manejo sanitário são essenciais para garantir o bem-estar dos cães e prevenir a propagação de doenças parasitárias.

REFERÊNCIAS

HOFFMAN, W. A.; PONS, J. A.; JANER, J. L. The sedimentation method in *Schistosomiasis mansoni*. The Puerto Rico J. Publi. **Health Trop. Med**, v. 9, n. 3, p. 283-291, 1934.

RIBEIRO CM, LIMA DE, KATAGIRI S. Infecções por parasitos gastrintestinais em cães domiciliados e suas implicações na transmissão zoonótica. **Vet. e Zootec.** 2015 jun.; 22(2): 238-244.

WEESE JS, PEREGRINE AS, ARMSTRONG J. Occupational health and safety in small animal veterinary practice: Part II-Parasitic zoonotic diseases. **Can Vet J.** 2002;43:799-02.

AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE ESTRESSE E ASSOCIAÇÃO COM O ÍNDICE DE MASSA CORPÓREA EM ESTUDANTES UNIVERSITÁRIOS DE BARRETOS-SP

Karla Da Costa Henrique¹ Guilherme Cassiano¹, Geovanna Marques¹, Giovanna Zanele D'umbrã¹, Jayne Melo Peixoto¹, Nilson Carvalho Cristiano Filho¹ Amir Horiquni Barbosa^{1*}

¹Centro Universitário Da Fundação Educacional De Barretos – Unifeb

RESUMO

A obesidade é uma doença causada pelo excesso de gordura corporal e possui uma prevalência crescente e global, responsável por levar ao desenvolvimento de outras doenças e até o câncer. O estresse é uma reação vindo de frustrações que está presente em estudantes. O objetivo do estudo foi avaliar o nível de estresse e correlacionar com diferentes categorias do IMC em diferentes estudantes universitários. Foram incluídos no estudo 93 estudantes. O estudo utilizou o questionário Isaq-A, para levantamento de dados sociodemográficos, estilo e qualidade de vida, e a Escala de Estresse, Ansiedade e Depressão-21 (EADS-21) para avaliação dessas três subescalas. Para avaliar a obesidade, o estudo utilizou o cálculo do Índice de Massa Corpórea (IMC). A maioria dos estudantes foram classificados com sobrepeso (40,9%) o nível médio de estresse diminui conforme o aumento do IMC. A ansiedade e depressão não demonstraram haver relações com o aumento do IMC. O nível de estresse avaliado demonstrou haver uma relação com o IMC nos estudantes avaliados neste estudo.

Palavras-chave: Obesidade, Estresse, IMC, Questionário, Estudantes universitários.

INTRODUÇÃO

A obesidade é caracterizada por ser uma doença crônica causada pelo acúmulo elevado de gordura, formação exagerada de tecido adiposo no corpo, levando ao comprometimento da saúde (SOUZA *et al*, 2022). A presença da doença obesidade entre crianças e adolescentes pode levar a doenças, desde asma, apneia do sono, diabetes tipo II e até alguns tipos de câncer (CHEEMA *et al*, 2021). Índices governamentais relatam que a obesidade mundial vem aumentando desde 1975 e já temos mais de 600 milhões de adultos acima do peso e mais de 100 milhões de jovens (PURNELL *et al*, 2023).

Sua etiologia multifatorial contribui para uma epidemiologia mundial como um fator preocupante à saúde pública, um dos cálculos de composição corporal que auxilia a definir é o Índice de Massa Corporal (GUPTA *et al*, 2020). De acordo com a literatura, a obesidade pode ser uma doença evitada e reversível (CHEEMA *et al*, 2021), principalmente com atividade física, que demonstrou trazer perda de peso em obesos segundo a referência (BELLICHA *et al*, 2021). Em relação ao seu desenvolvimento, a obesidade pode vir tanto por fatores genéticos, como os polimorfismos (AKTER *et al*, 2022), quanto por fatores sociais, emocionais, ambientais e até com disfunção da microbiota (LUSTIG *et al*, 2022; GUPTA *et al*, 2020).

Outro estudo também alega que conviver em ambiente obesogênicos, ambientes que facilitam a escolha de alimentos não saudáveis e/ou comportamentos sedentários, levam a pessoa ao desenvolvimento (ENDALIFER *et al*, 2020).

Portanto, sua origem multifatorial contribui para que cada caso seja tratado e analisado com cuidado. o estresse é conhecido e descrito na literatura como uma reação que pode vir de diferentes origens, geralmente relacionada com traumas, frustrações, exposições psicossociais (VAN DER VALK *et al*, 2018). O estresse pode estar relacionado com o desenvolvimento de obesidade, através de análises hormonais com o cortisol, porém pontuam que nem todos os casos têm a mesma relação (VAN DER VALK *et al*, 2018).

Com a globalização e a urbanização cada vez maior da população o estresse é uma reação frequentemente descrita sobretudo nos jovens universitários que passam por um amadurecimento e responsabilidades cada vez maior, como estudar para exames, procurar emprego, e que acabam levando ao consumo de bebidas alcoólicas e o uso de tabaco (LEE *et al*, 2019). Tendo em vista a grande preocupação em relação ao aumento de obesidade mundial, vale entender mais sobre essa doença em diferentes classes sociais, faixas etárias e possíveis “estressores”. Além disso, avaliar os níveis de estresse, ansiedade e depressão, correlacionados com o desenvolvimento de doenças como a obesidade.

OBJETIVO

Avaliar o nível de estresse e correlacionar com diferentes categorias do IMC em diferentes estudantes universitários em um centro universitário no interior de São Paulo.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um estudo transversal, onde os alunos foram submetidos a um questionário mesclado formado por dois questionários padronizados, como base foram utilizados o questionário Isaq-A (Adaptado) é composto pelas seguintes seções: informações sobre o curso; indicadores sociodemográficos; indicadores do estilo de vida e saúde; hábitos alimentares e controle do peso corporal; atividades físicas e opções de lazer; comportamentos preventivos; e indicadores dos níveis de estresse (RIBEIRO *et al*, 2004). O questionário, em sua versão final, composta por 48 questões, e para avaliar o nível de estresse dos estudantes foi utilizado o questionário *Depression, Anxiety and Stress Scale – Short Form* (DASS-21), do português Escala de Estresse, Ansiedade e Depressão-21 (EADS-21), que foi desenvolvida por Lovibond e

Lovibond (1995) com o objetivo de medir e diferenciar os sintomas de ansiedade, depressão e estresse, através das respostas de múltipla escolha dos próprios estudantes (PATIAS et al, 2016).

Foi incluído no estudo alunos regularmente matriculados de diferentes cursos de graduação e diferentes faixas etárias. Foram excluídos do estudo participantes que não responderam inteiramente ao questionário, principalmente nos tópicos que focou este estudo, como: idade, altura, peso, hábitos alimentares, atividade física, dados tabagista e consumo de álcool; quem rasurou ou informou errado a pergunta ou respondeu de forma inconsistente; Para as análises estatísticas dos dados gerados, o presente estudo utilizou o *software* SPSS versão 20 e o ambiente R studio tanto para análises quanto para confecções de gráficos e tabelas. A normalidade dos dados foi feita através do teste de Shapiro-Wilk. Para dados paramétricos, foi utilizado o teste T para comparação de grupos. Havendo uma característica não paramétrica dos dados, a correlação de Spearman foi utilizada para correlacionar as diferentes variáveis do estudo. Para todas as análises foi considerado o $p < 0,05$.

RESULTADOS

Após o preenchimento do questionário, foi extraído as informações sociodemográficas dos participantes ($n=93$). O estudo obteve um maior número de indivíduos do sexo feminino (65,59%) em relação aos do sexo masculino (33,33%). A maioria dos participantes, no momento da pesquisa, estavam solteiros (90,32%), moravam em cidades próximas a Barretos-SP (52,68%), não fumavam (84,94%) e bebiam semanalmente (51,61%). Através do questionário, eles disponibilizaram seus respectivos pesos e alturas, que serviram de dados para o cálculo do IMC. Além disso, os níveis médios de estresse entre os gêneros masculinos e femininos foram observados a fim de comparar qual gênero possui maior estresse junto com a média do IMC de ambos. A análise mostrou que o grupo feminino possui a maior média de estresse (11,93) e um IMC médio classificado como peso normal (24,22), ao contrário do grupo masculino que obteve uma média de estresse menor (8) e um IMC médio classificado como sobrepeso (27,12).

CONCLUSÃO

O nível de estresse medido pelo EADS-21 demonstrou haver uma relação inversa com o IMC nos estudantes universitários avaliados neste estudo. Porém, é necessário a realização de um estudo com um número maior de estudantes para confirmar o mesmo resultado.

REFERÊNCIAS

SOUZA, A. C. M. DE. **Obesidade**. 2022.

CHEEMA, S. *et al.* Assessment of Overweight, Obesity, Central Obesity, and Type 2 Diabetes among Adolescents in Qatar: A Cross-Sectional Study. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, n. 21, p. 14601, 7 nov. 2022.

PURNELL, J. Q. Definitions, Classification, and Epidemiology of Obesity. Em: FEINGOLD, K. R. *et al.* (Eds.). **Endotext**. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc., 2023.

GUPTA, A.; OSADCHIY, V.; MAYER, E. A. Brain-gut-microbiome interactions in obesity and food addiction. **Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology**, v. 17, n. 11, p. 655–672, nov. 2020.

BELLICHA, A. *et al.* Effect of exercise training on weight loss, body composition changes, and weight maintenance in adults with overweight or obesity: An overview of 12 systematic reviews and 149 studies. **Obesity Reviews: An Official Journal of the International Association for the Study of Obesity**, v. 22 Suppl 4, n. Suppl 4, p. e13256, jul. 2021.

PATIAS, N. D. *et al.* Depression Anxiety and Stress Scale (DASS-21) - Short Form: Adaptação e Validação para Adolescentes Brasileiros. **Psico-USF**, v. 21, n. 3, p. 459–469, dez. 2016.

RIBEIRO, José Luís Pais; HONRADO, Ana Alexandra Jorge Duarte; LEAL, Isabel Pereira. Contribuição para o estudo da adaptação portuguesa das escalas de ansiedade, depressão e stress (EADS) de 21 itens de Lovibond e Lovibond. **Psicologia, saúde & doenças**, p. 2229-239, 2004.

AValiação DO EFEITO FUNgICIDA DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINCO (ZNO) COMBINADA COM PRATA (AG) CONTRA LEVEDURAS DO GÊNERO CRYPTOCOCCUS

Larissa De Aguiar¹ Rafaela Moreira Da Silva², Diego Batista Carneiro De Oliveira³
Bruna Da Silva Souza⁴ Fernanda Machado Fonseca^{5*}

¹Universidade Federal do Triângulo Mineiro/Discente, ²Universidade Federal do Triângulo Mineiro/Discente de Iniciação Científica, ³Universidade Federal do Triângulo Mineiro/Técnico de Laboratório, ⁴Universidade Federal do Triângulo Mineiro/Pós-graduanda, ⁵Universidade Federal do Triângulo Mineiro/Docente.

RESUMO

A criptococose é uma micose causada por leveduras do gênero *Cryptococcus* que frequentemente evolui para quadros graves e pode levar a óbito. O tratamento dessa infecção ainda é limitado, tanto pelas poucas opções de drogas quanto pelo surgimento de alguns relatos de resistência. Diante disso, a busca por formas alternativas de tratamento vem ganhando destaque, como a utilização de nanopartículas (NPs) metálicas. O presente trabalho teve como objetivo testar o potencial antifúngico de NPs de óxido de zinco dopadas com 9% de prata (ZnO:9Ag) contra isolados clínicos de leveduras do gênero *Cryptococcus* e avaliar possíveis interações dessas NPs associadas ao fluconazol (FLU) e à anfotericina B (AMB). A suscetibilidade antifúngica foi realizada pelo teste de microdiluição em caldo, por meio do qual foi determinada a concentração inibitória mínima (CIM) das NPs e dos antifúngicos. O efeito sinérgico foi avaliado pelo método “tabuleiro de xadrez” (*checkerboard*). Foram analisadas oito amostras clínicas de *Cryptococcus* e amostras de referência de *Cryptococcus neoformans* (ATCC 28957), *Cryptococcus gattii* (ATCC 24065) e *Candida albicans* (ATCC 14053). A CIM de ZnO:9Ag, FLU e AMB variou de 2 a 16 µg/mL, 0,25 a 4 µg/mL e 0,5 a 4 µg/mL, respectivamente. Foi encontrado sinergismo na associação de ZnO:9Ag com AMB. O trabalho demonstra que as NPs de ZnO:9Ag apresentam boa atividade antifúngica, bem como sinergismo com a AMB, usualmente utilizada para o tratamento da criptococose. Com isso, as NPs demonstraram um potencial antifúngico promissor, além da possibilidade de atuarem como adjuvante no tratamento já existente.

Palavras-chave: Criptococose; *Cryptococcus neoformans*; *Cryptococcus gattii*; Nanopartículas.

INTRODUÇÃO

A criptococose é uma micose causada por leveduras do gênero *Cryptococcus* que frequentemente evolui para quadros graves e pode levar a óbito. *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii* são os principais agentes etiológicos e as manifestações clínicas variam de acordo com o estado imunológico do hospedeiro, podendo causar desde infecções cutâneas a formas pulmonares, as quais podem se disseminar e atingir o sistema nervoso central (SNC), causando meningite criptocócica (Srikanta *et al.*, 2014; Brasil, 2023). Pacientes imunossuprimidos, como aqueles com AIDS, transplantados, em uso prolongado de corticóides, entre outros, são os mais frequentemente infectados por *C. neoformans*. Por outro lado, os hospedeiros imunocompetentes são afetados majoritariamente por *C. gattii* e em regiões endêmicas (Tay *et al.*, 2022).

Atualmente, a meningite criptocócica é responsável por cerca de 181.000 mortes anuais no mundo e possui taxas elevadas de mortalidade quando não tratada. Mesmo assim, o tratamento da criptococose ainda é limitado, com poucas opções de antifúngicos, dos quais os polienos, os azóis e as equinocandinas se destacam dentre os mais prescritos. A anfotericina B (AMB; polieno) geralmente é o antifúngico de primeira escolha, podendo ser combinada ou não com fluconazol (FLU) ou flucitosina. Entretanto, em muitos países, a utilização da flucitosina ainda não é disponibilizada e o tratamento com a anfotericina B é apenas hospitalar. Além disso, há um aumento do número de relatos de resistência antifúngica aos principais antifúngicos utilizados. Ainda, sabe-se que o uso prolongado de antifúngicos pode acarretar toxicidade ao hospedeiro, principalmente hepato e nefrotoxicidade. Adicionalmente, o fato de o tratamento existente ser de alto custo, contribui para que o maior número de mortes ocorra em países com baixos recursos e acesso limitado aos medicamentos (Vince *et al.*, 2022).

Nesse contexto, nas últimas décadas, muitos estudos têm sido desenvolvidos no intuito de se descobrir novos agentes antifúngicos que sejam mais acessíveis e menos tóxicos. Desses candidatos a novos antifúngicos, as nanopartículas (NP) têm ganhado destaque em diversos trabalhos, com relatos de boas atividades antifúngicas, inclusive contra *Candida* spp., por exemplo, outra levedura de grande relevância (Kermani, 2020). Entretanto, pouco se sabe sobre seus efeitos contra as espécies causadoras da criptococose. Neste sentido, as NP se mostram como uma boa alternativa para o desenvolvimento de um novo antifúngico (Renzi *et al.*, 2020). Assim, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o efeito antifúngico da nanopartícula de óxido de zinco dopadas com a prata (ZnO:9Ag) contra *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii*.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Testar a atividade antifúngica de nanopartículas de ZnO dopadas com prata contra *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii*.

Objetivos específicos

- Avaliar o efeito antifúngico das nanopartículas de ZnO:9Ag contra cepas de *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii* por meio da técnica de microdiluição em caldo.
- Avaliar possíveis interações das nanopartículas de ZnO:9Ag associadas ao fluconazol e à anfotericina B contra amostras de *C. neoformans* e *C. gattii*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Obtenção das amostras:

As amostras são provenientes da micoteca do laboratório de microbiologia da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM). Utilizamos as cepas de referência de *Candida albicans* (ATCC 14053), *Cryptococcus neoformans* (ATCC 28957), *Cryptococcus gattii* (ATCC 24065) e amostras clínicas (sangue, líquido, urina e aspirado pulmonar) de *Cryptococcus* spp.. As nanopartículas de ZnO:9Ag (óxido de zinco dopados com 9% de prata) foram sintetizadas no Laboratório de Nanotecnologia do Instituto de Física da Universidade Federal de Alagoas (UFAL).

Ensaio da suscetibilidade antifúngica:

Os perfis de suscetibilidade dos isolados de *Cryptococcus* aos compostos foram determinados pelo método de microdiluição em caldo de acordo com o documento do CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) (CLSI, 2008a; CLSI, 2008b) para leveduras (M27-A3 e M27-S4), utilizando meio de cultura RPMI. A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi determinada visualmente como a menor concentração do composto capaz de inibir completamente o crescimento fúngico em relação ao controle positivo (NCCLS 2002).

Avaliação de possíveis interações das nanopartículas de ZnO:9Ag em associação ao fluconazol e anfotericina B.

A interação entre fluconazol e anfotericina B com as nanopartículas ZnO:9Ag foi determinada pelo método “checkerboard” (tabuleiro de xadrez) em placas de 96 poços (Odds, 2003). Esse ensaio é realizado da mesma forma do anterior, de forma que as NP foram colocadas nos poços da primeira fileira (A1 a A12) e o FLU ou a AMB foram distribuídos nos poços da primeira coluna (A1 a H1). No restante da placa foi testado o efeito sinérgico entre as NP e os antifúngicos. De acordo com as CIMs, o índice fracionário de concentração inibitória (Σ CIF) foi calculado para identificar sinergismo ($\leq 0,5$), indiferença ($0,5 < \Sigma$ CIF ≤ 4) e antagonismo (> 4) (Argenta, 2008).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram testadas oito amostras clínicas e amostras de referência de *Candida albicans* (ATCC 14053), *Cryptococcus neoformans* (ATCC 28957) e *Cryptococcus gattii* (ATCC 24065). No teste de suscetibilidade antifúngica, a CIM de ZnO:9Ag das amostras clínicas variou de 2 a 16 $\mu\text{g/mL}$, já a CIM das ATCCs variou de 2 a 4 $\mu\text{g/mL}$. Para o FLU, a CIM contra as amostras clínicas variou de 0,5 a 4 $\mu\text{g/mL}$ e para as ATCCs de 0,25 a 4 $\mu\text{g/mL}$. Em relação à AMB, a CIM variou de 2 a 4 $\mu\text{g/mL}$ e de 0,5 a 2 $\mu\text{g/mL}$ contra as amostras clínicas e ATCCs, respectivamente (Tabela 1). Um estudo demonstrou que para a NP de ZnO contra *C. neoformans* e *Candida albicans* foi obtido a CIM no valor de 125 $\mu\text{g/mL}$ (Al-askar et al., 2023), enquanto que a NP de prata e de ouro demonstrou efeito antifúngico contra várias espécies do gênero *Candida* e também contra *C. neoformans* (Du et al., 2021), o que vai de encontro aos nossos resultados sobre o efeito antifúngico de ZnO:9Ag.

Tabela 1 - Concentração inibitória mínima de ZnO:9Ag, FLU e AMB para as amostras de referência e isolados clínicos

ATCC	CIM ($\mu\text{g/mL}$)		
	ZnO9Ag	FLU	AMB
<i>C. albicans</i> (14053)	4	0,25	0,5
<i>C. neoformans</i> (28957)	4	1	0,5
<i>C. gattii</i> (24065)	2	4	2
Isolados clínicos			
01 - <i>C. gattii</i>	2	1	4

09 - <i>C. neoformans</i>	4	1	4
12 - <i>Cryptococcus</i>	4	4	4
13 - <i>Cryptococcus</i>	16	4	2
14 - <i>Cryptococcus</i>	4	2	2
15 - <i>Cryptococcus</i>	4	0,5	2
16 - <i>Cryptococcus</i>	4	1	2
17 - <i>Cryptococcus</i>	16	2	2

ZnO:9Ag: Óxido de zinco com 9% de prata; FLU: Fluconazol; AMB: Anfotericina B; CIM: Concentração Inibitória Mínima

Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

Em relação à interação entre nanopartículas e antifúngicos, foi observado sinergismo entre ZnO:9Ag e AMB em uma das amostras (Σ CIF igual a 0,5), onde foi constatada a diminuição da CIM de 4 $\mu\text{g/mL}$ para 1 $\mu\text{g/mL}$ na presença de 1 $\mu\text{g/mL}$ da nanopartícula (Tabela 2). Um estudo utilizando amostras clínicas de *C. albicans* que eram resistentes ao FLU, testou o efeito de NPs de ácido metacrílico com prata combinadas com FLU e demonstrou atividade sinérgica, conseguindo restaurar a sensibilidade ao antifúngico. Além de se observar redução da CIM, também foi evidenciado, como consequência, a inibição da formação do tubo germinativo, que é um importante fator de virulência desse fungo, o que ressalta o potencial das NPs nos casos de resistência (Falcão *et al.*, 2022), o que vai de encontro aos nossos resultados com a presença da interação dos compostos.

Tabela 2 – Resultado do teste de sinergismo entre as NPs de ZnO:9Ag e AMB

Amostra Clínica 12						
Poço da placa	CIM ZnO9Ag ($\mu\text{g/mL}$)	CIF ZnO9Ag ($\mu\text{g/mL}$)	CIM AMB	CIF AMB	Σ CIF	Resultado
B8	2	0,5	0,5	0,125	0,625	I
C7	1	0,25	1	0,25	0,5	S
D2	0,0312	0,0078	2	0,5	0,5078	I
E2	0,0312	0,0078	4	1	1,0078	I
F2	0,0312	0,0078	8	2	2,0078	I
G2	0,0312	0,0078	16	4	4,0078	A
H2	0,0312	0,0078	32	8	8,0078	A

S: Sinergismo; I: Indiferente; A: Antagonismo; CIM: Concentração Inibitória Mínima; CIF: Concentração Inibitória Fracionada; Σ CIF: Somatória da Concentração Inibitória Fracionada; AMB: Anfotericina B; FLU: Fluconazol

Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

CONCLUSÃO

Os resultados do presente trabalho evidenciam o potencial antifúngico das NPs de ZnO:9Ag contra *Cryptococcus*. Além disso, demonstrou, a depender do isolado, sinergismo com a AMB, antifúngico amplamente utilizado na terapia antifúngica. Diante do exposto, o estudo contribui para o desenvolvimento de novos agentes antifúngicos, mais efetivos e menos dispendiosos.

REFERÊNCIAS

AL-ASKAR, A. A. *et al.* Green Biosynthesis of Zinc Oxide Nanoparticles Using *Pluchea indica* Leaf Extract: Antimicrobial and Photocatalytic Activities. **Molecules**, v. 28, n. 12, p. 4679, 1 jan. 2023.

ARGENTA, J. S. *et al.* In Vitro Activities of Voriconazole, Itraconazole, and Terbinafine Alone or in Combination against *Pythium insidiosum* Isolates from Brazil. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 52, n. 2, p. 767–769, fev. 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Criptococose**. Ministério da Saúde, 2023. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/c/criptococose#:~:text=O%20diagn%C3%B3stico%20da%20criptococose%20C3%A9,o%20exame%20do%20C3%ADquor%2DLCR>>. Acesso em: 21 fev. 2024.

DU, W. *et al.* Striking Back against Fungal Infections: The Utilization of Nanosystems for Antifungal Strategies. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 18, p. 10104, 1 jan. 2021.

FALCÃO, C. M. C. *et al.* Activity of poly(methacrylic acid)-silver nanoparticles on fluconazole-resistant *Candida albicans* strains: Synergistic and cytotoxic effects. **Journal of Applied Microbiology**, v. 132, n. 6, p. 4300–4309, 1 jun. 2022.

KERMANI SA, SALARI S, ALMANI PGN. Comparison of antifungal and cytotoxicity activities of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles with amphotericin B against different *Candida* species: in vitro evaluation. **J Clin Lab Anal**, v. 35, e23577, 2020.

RENZI DF, CAMPOS LA, MIRANDA EH, MAINARDES RM, ABRAHAM WR, GRIGOLETTO DF, KHALIL NM. Nanoparticles as a tool for broadening antifungal activities. **Bentham Science**, v. 28, p. 1841-1873, 2020.

SRIKANTA FH, TIRADO S, DOERING TL. *Cryptococcus neoformans*: historical curiosity to modern pathogen. **NIH**, v. 32, p. 47-60, 2014.

TAY E, CHEN SCA, GREEN W, LOPEZ R, HALLIDAY C. Development of a real-time PCR assay to identify and distinguish between *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* species complexes. **J Fungi (Basel)**, v. 8, p. 1-8, 2022.

VINCHE ADL *et al.* Antifungal activities of liriodenine on clinical strains of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* species complexes. **J Venon Anim Toxins Incl Trop Dis**, v. 28, p. 1-11, 2022.

ANÁLISE DOS NÍVEIS DE TNF- α , IL-1 β E IL-10 NO PLASMA DE INDIVÍDUOS COM MEGAESÔFAGO CHAGÁSICO

Letícia Yurie Aoki¹ Thainá Silva Bologna¹ Juliana Reis Machado E Silva¹
Marcos Vinícius Da Silva¹ Virmondes Rodrigues Jr.¹ Fernanda Rodrigues Helmo¹

¹Universidade Federal Do Triângulo Mineiro

RESUMO

A forma digestiva da doença de Chagas acomete entre 5-15% dos indivíduos infectados e reconhece-se que a eficiente resposta imune contribui na redução e controle da carga parasitária. Todavia, os mecanismos e mediadores envolvidos na etiopatogênese do megaesôfago chagásico (MEC) não estão totalmente elucidados. Assim, o objetivo desta pesquisa foi avaliar a concentração das citocinas *TNF- α* , *IL-1 β* e *IL-10*, representantes do balanço da inflamação no plasma de indivíduos com MEC. Foram selecionados 49 indivíduos diagnosticados com megaesôfago, os quais foram classificados em: MEC, com sorologia positiva para o *T. cruzi* (n = 38) e megaesôfago idiopático (MEI), com sorologia negativa para o *T. cruzi* (n = 11). As concentrações de *TNF- α* , *IL-1 β* e *IL-10* foram dosadas em amostras de plasma obtidas a partir do sangue periférico por meio do ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*). As concentrações de *TNF- α* , *IL-1 β* e *IL-10* não apresentaram diferença entre os grupos MEC e MEI. Assim como não foram observadas diferenças nas concentrações nos graus de MEC, ou nos casos de MEC avançado e não avançado; embora se observe uma tendência de níveis maiores de *IL-10* no grupo não avançado da infecção. Deste modo, conclui-se que o perfil modulador pode favorecer à menor progressão da lesão esofágica.

Palavras Chave: *TNF- α* ; *IL-1 β* ; *IL-10*; *Megaesôfago*; *Trypanosoma cruzi*

INTRODUÇÃO

A doença de Chagas é uma infecção crônica causada pelo protozoário hemoflagelado *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*). Esta doença acomete cerca de seis a sete milhões de indivíduos no mundo, tratando-se de uma infecção endêmica em 21 países latino-americanos, entre eles o Brasil. Nesses países a doença de Chagas é responsável pela perda de cerca de 700 mil dias úteis decorrente de mortes prematuras, e quase dois bilhões de dólares em produtividade (PEREZ-MOLINA; MOLINA, 2018; DE SOUSA *et al.*, 2024).

A infecção ocorre quando as formas infectantes, a tripomastigota metacíclica, invadem diferentes tipos celulares, principalmente macrófagos, fibroblastos e células epiteliais, dentro das quais se diferenciam, e podem invadir músculos e outros órgãos (YOSHIDA, 2008; CAROD-ARTAL, 2018). Na doença de Chagas são consideradas duas fases distintas: uma fase aguda que se estende por até oito semanas, e caracterizada por elevada parasitemia e parasitismo, ativação excessiva do sistema imune caracterizada por níveis plasmáticos elevados de mediadores pró-inflamatórios, recrutamento e ativação de macrófagos, neutrófilos, células dendríticas, linfócitos T e B (RASSI; RASSI; MARIN-NETO, 2010; DE OLIVEIRA *et al.*, 2017); e uma fase crônica que perdura ao longo da vida, e caracterizada por baixa ou parasitemia ausente, reduzido parasitismo, níveis aumentados de anticorpos circulantes, presença de infiltrado inflamatório mononuclear e áreas de fibrose nos tecidos infectados (RASSI; RASSI; MARIN-NETO, 2010).

O curso clínico é variável, podendo cursar com a ausência de sintomas (forma indeterminada) ou o desenvolvimento das formas graves, como as gastrointestinais. A forma digestiva acomete entre 5-15% dos indivíduos infectados (LIDANI *et al.*, 2017; RICCI *et al.*, 2020). No Brasil, estima-se que em 2050 cento e setenta mil indivíduos vão desenvolver o megaesôfago ou megacólon chagásico. Embora o percentual de óbitos seja significativamente inferior à forma cardíaca da infecção (cardíaca: 84,9%; digestiva: 9,4%), observa-se aumento da mortalidade pela forma digestiva em todo o país (DIAS *et al.*, 2016).

Reconhece-se que a eficiente resposta imune contribui na redução e controle da carga parasitária. Entretanto, a falência dos mecanismos regulatórios na produção e síntese de mediadores pró-inflamatórios e anti-inflamatórios corrobora no desenvolvimento de lesões celulares irreversíveis e fibrose que resultam nas alterações clínicas observadas no coração e o trato digestório (DE OLIVEIRA *et al.*, 2017). O perfil Th1 é responsável pela ativação de macrófagos, e síntese de substâncias tripanocidas como o óxido nítrico e as espécies reativas do oxigênio (MANTOVANI *et al.*, 2004). Assim, as citocinas pró-inflamatórias (ex.: *IL-1 β* , *IFN- γ* e *TNF- α*) secretadas pelos linfócitos TCD4⁺ favorecem a ativação de mecanismos protetores. Já os linfócitos T reguladores (Treg) apresentam importante função na regulação da resposta pró-inflamatória na fase crônica da doença de Chagas, já que suprime atividade efetora dos linfócitos T auxiliares, suprimindo uma resposta inflamatória exacerbada (FIUZA *et al.*, 2009; JOSEFOWICZ; LU; RUDENSKY, 2012). Entretanto, parecem favorecer a persistência do parasita, por meio da síntese de *IL-10* e *TGF- β* (MARIANO *et al.*, 2008).

Embora o sistema imune exerça papel fundamental no desenvolvimento das formas gastrointestinais, ainda não está completamente elucidado o envolvimento dos mediadores pró-inflamatórios e moduladores na etiopatogênese do megaesôfago chagásico (PEREZ-MOLINA; MOLINA, 2018; HOCHBERG; MONTGOMERY, 2023; DE SOUSA *et al.*, 2024).

OBJETIVOS

O objetivo desta pesquisa foi avaliar a concentração das citocinas *TNF- α* , *IL-1 β* e *IL-10*, representantes do balanço da inflamação, em indivíduos com megaesôfago chagásico.

MATERIAIS E MÉTODOS

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de ética em Pesquisa da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM) sob o CAAE: 92356418.8.0000.5154. Foram incluídos 49 indivíduos diagnosticados com megaesôfago, acompanhados pelo ambulatório de cirurgia do aparelho digestivo da UFTM entre 2018 e 2022. Após, os indivíduos foram classificados (CREMA et al., 2003) em: (1) megaesôfago chagásico (MEC), com sorologia positiva para o

T. cruzi (n = 38) e (2) megaesôfago idiopático (MEI), com sorologia negativa para o *T. cruzi* (n = 11). Neste período foi excluído um indivíduo por se recusar a participar da pesquisa.

As amostras de sangue periférico dos indivíduos foram coletadas em tubos específicos contendo EDTA. Após, o sangue foi transferido para tubos tipo falcon (50 mL) estéreis, contendo 10 mL de Ficoll-Hypaque e após os tubos foram centrifugados a 450 xg por 30 min a temperatura ambiente. Cerca de 700 µL de plasma de cada amostra foi transferido para tubos de 2,0 mL estéreis e congelados a -80°C. As concentrações da TNF-α, IL-1β e IL-10 foram obtidas por meio da técnica de ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) conforme instruções do fabricante e protocolo já estabelecido no Laboratório de Imunologia.

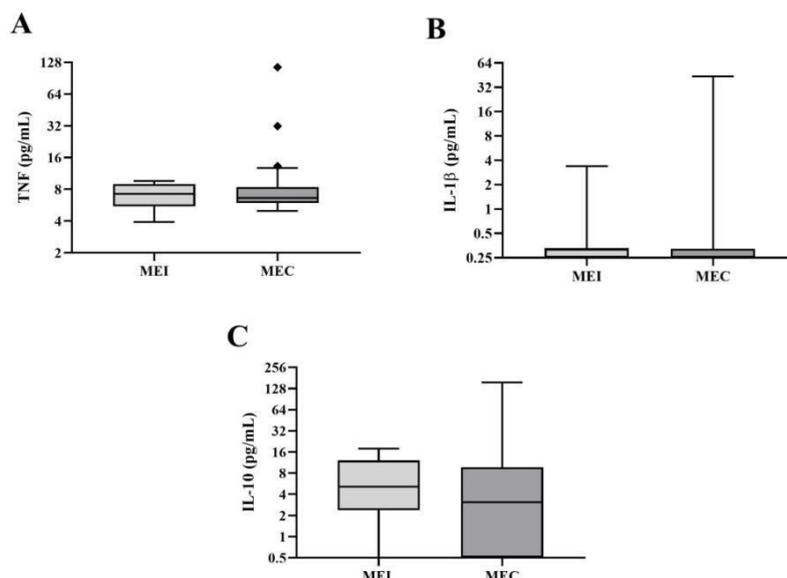
A concentração em cada amostra foi estimada por meio da comparação da curva padrão com as respectivas citocinas recombinantes. Por fim, os resultados das absorbâncias obtidas foram inseridos em uma planilha eletrônica no *Microsoft Excel*® (Microsoft, Inc., Redmond, WA, USA), e analisados através dos testes de Mann-Whitney (U) para a comparação de dois grupos, e de Kruskal-Wallis (H) para a comparação de três grupos; por meio do software GraphPad Prism® software version 8.0 (GraphPad, Inc., La Jolla, CA, USA). A concentração das citocinas foram expressas em pg/mL de plasma.

RESULTADO E DISCUSSÃO

Dos 38 participantes com MEC, 53% (20) pertenciam ao gênero feminino, e 47% (18) ao gênero masculino. A média de idade entre os indivíduos com MEC foi de 65 anos, enquanto que aqueles com MEI foi de 45 anos. Em relação à classificação do MEC, 21% (8) apresentavam o grau I/II de comprometimento, 29% (11) dos indivíduos o grau III, enquanto 50% (19) apresentava o grau IV, sendo 79% (30) classificados em MEC avançado e 21% (8) em não avançado. Já em relação ao MEI foram considerados 11 participantes, 55% (6) dos indivíduos acometidos são do gênero masculino, e 45% (5) do feminino. Além disso, 27% (3) apresentavam o grau I/II de comprometimento, 55% (6) o grau III, e 18% (2) o grau IV, sendo 73% (8) classificados em MEI avançado.

As concentrações de *TNF-α* ($p = 0,9860$), *IL-1β* ($p = 0,3228$) e *IL-10* ($p = 0,2616$) não apresentaram diferença entre os grupos MEC e MEI (Fig. 1). Segundo a literatura, a dosagem de *TNF-α* (PISSETTI et al., 2009; SALVADOR et al., 2020) e *IL-1β* (SALVADOR et al., 2020) no plasma de indivíduos com as formas cardíaca, digestiva e indeterminada da infecção também não apresentaram diferença, mas a concentração de *IL-10* foi significativamente maior na forma digestiva; indicando que níveis aumentados de *IL-10* contribuem com a persistência do parasitismo, da estimulação antigênica, e progressão das lesões teciduais (PISSETTI et al., 2009). Logo, estes achados mostram-se parcialmente em concordância aos desta pesquisa.

Figura 1. Concentração plasmática de (A) *TNF-α*, (B) *IL-1β* e (C) *IL-10* em indivíduos com megaesôfago idiopático (MEI) e chagásico (MEC). As linhas horizontais representam os valores da mediana, as extremidades das caixas representam os percentis 25% e 75%, e as linhas verticais representam os percentis 10% e 90% após o teste de Mann-Whitney.



Do mesmo modo, não foi observado diferença nas concentrações de *TNF-α* ($p = 0,7453$), *IL-1β* ($p = 0,5800$) e *IL-10* ($p = 0,5484$) nos graus de MEC (Fig. 2); assim como entre os casos de MEC avançado e não avançado [*TNF-α* ($p = 0,4958$), *IL-1β* ($p = 0,3441$) e *IL-10* ($p = 0,3028$)] (Fig. 3). Todavia, observa-se uma tendência a maior expressão de *IL-10* nos casos não avançado da infecção. Pesquisa realizada a partir da cultura de células mononucleares do sangue periférico de indivíduos com os diferentes graus de MEC também não encontrou diferença na concentração de *TNF-α* e *IL-10*, em relação ao megacólon chagásico ou a forma indeterminada mesmo após estímulo com antígenos de *T. cruzi* (RIBEIRO; CREMA; RODRIGUES, 2008). A literatura aponta que indivíduos com cardiomiopatia chagásica dilatada apresentam níveis aumentados de *TNF-α*, *IFN-γ* e *IL-6*, em relação aos não infectados (SOUSA et al., 2014); havendo correlação entre a síntese aumentada de *IL-1β* e a hipertrofia de cardiomiócitos infectados pelo *T. cruzi* (PETERSEN; BURLEIGH, 2003). Enquanto que aqueles com a forma indeterminada da infecção (SOUSA et al., 2014) ou com cardiomiopatia de grau leve (VASCONCELOS et al., 2015) apresentaram maiores concentrações plasmáticas de *IL-10*; o que reforça nosso achado no MEC não avançado.

Em suma estes achados ressaltam que a prevalência do perfil pró-inflamatório está diretamente relacionado à progressão e gravidade da lesão esofágica, caracterizada por hipertrofia das células musculares, fibrose, destruição do plexo mioentérico, redução ou ausência dos movimentos peristálticos e dilatação do órgão; uma vez que a síntese aumentada de *TNF-α* também é observada em indivíduos com MEC não avançado (CREMA et al., 2006). Enquanto que a prevalência do perfil modulador nos graus I/II contribui para o balanço da resposta imune na forma não avançada da infecção chagásica.

Figura 2. Concentração plasmática de (A) *TNF-α*, (B) *IL-1β* e (C) *IL-10* em indivíduos com megaesôfago chagásico (MEC) graus I/II, III e IV. As linhas horizontais representam os valores da mediana, as extremidades das caixas representam os percentis 25% e 75%, e as linhas verticais representam os percentis 10% e 90% após o teste de Kruskal-Wallis.

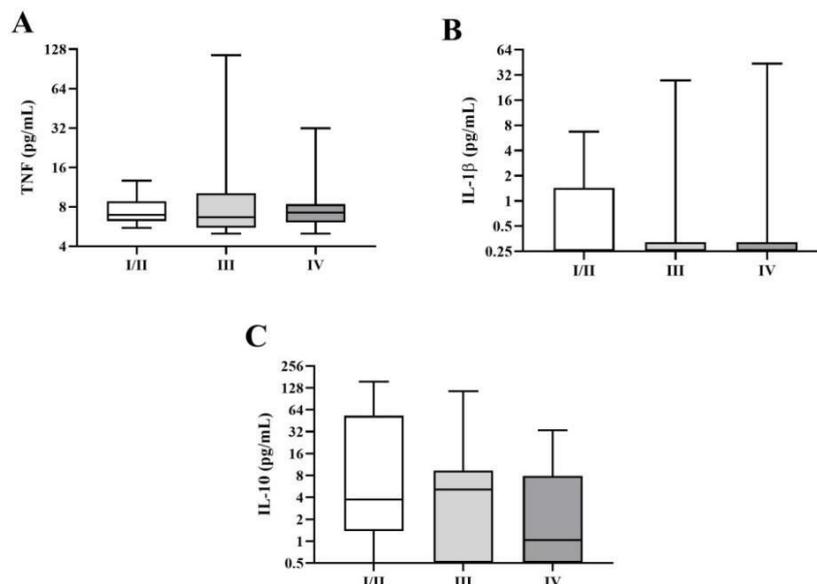
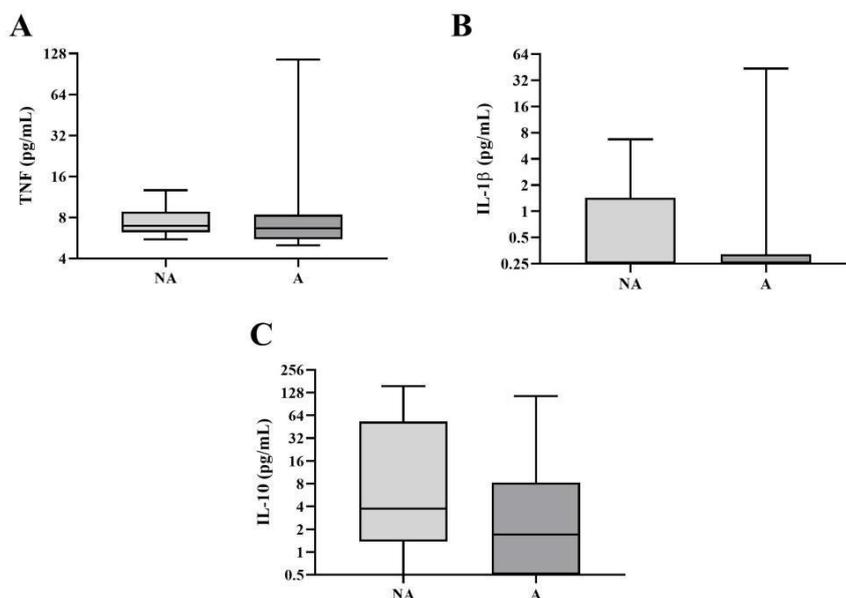


Figura 3. Concentração plasmática de (A) *TNF-α*, (B) *IL-1β* e (C) *IL-10* em indivíduos com megaesôfago chagásico (MEC) não avançado e avançado. As linhas horizontais representam os valores da mediana, as extremidades das caixas representam os percentis 25% e 75%, e as linhas verticais representam os percentis 10% e 90% após o teste de Kruskal-Wallis.



CONCLUSÃO

A resposta imune é fundamental para o controle da parasitemia e parasitismo pelo *T. cruzi*, neste sentido mostra-se importante à compreensão destes mecanismos nas diferentes formas da doença de Chagas. A etiopatogênese do MEC ainda apresenta importantes lacunas; pouco se sabe sobre as repercussões do sistema imune na progressão e manutenção da lesão esofágica na fase crônica da infecção. Nota-se uma prevalência de *IL-10* na forma não avançada do MEC, indicando que o perfil modulador mais proeminente pode favorecer a menor progressão da lesão esofágica.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

REFERÊNCIAS

- CAROD-ARTAL, F. J. Infectious diseases causing autonomic dysfunction. **Clin Auton Res**, v. 28, n. 1, p. 67-81, Feb 2018.
- CREMA, E. *et al.* Correlação manométrico-radiológica e sua importância no tratamento cirúrgico do megaesôfago chagásico. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 36, n. 6, p. 665-69, 2003.
- CREMA, E. *et al.* Evaluation of cytokines (MIG, IFN-gamma, TNF-alpha, IL-4, IL-5, and IL-10) during the different evolutive phases of chagasic esophagopathy. **Clin Immunol**, v. 119, n. 2, p. 213-8, May 2006.
- DE OLIVEIRA, A. P. *et al.* Plasma concentrations of CCL3 and CCL4 in the cardiac and digestive clinical forms of chronic Chagas disease. **Cytokine**, v. 91, p. 51-56, Mar 2017.
- DE SOUSA, A. S. *et al.* Chagas disease. **Lancet**, v. 403, n. 10422, p. 203-218, Jan 13 2024.
- DIAS, J. C. *et al.* 2 nd Brazilian Consensus on Chagas Disease, 2015. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 49Suppl 1, n. Suppl 1, p. 3-60, Dec 2016.
- HOCHBERG, N. S.; MONTGOMERY, S. P. Chagas Disease. **Ann Intern Med**, v. 176, n. 2, p. ITC17-ITC32, Feb 2023.
- LIDANI, K. C. F. *et al.* The Complement System: A Prey of Trypanosoma cruzi. **Front Microbiol**, v. 8, p. 607, 2017.
- MARIANO, F. S. *et al.* The involvement of CD4+CD25+ T cells in the acute phase of Trypanosoma cruzi infection. **Microbes Infect**, v. 10, n. 7, p. 825-33, Jun 2008.
- MANTOVANI, A. *et al.* The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. **Trends Immunol**, v. 25, n. 12, p. 677-86, Dec 2004.
- PEREZ-MOLINA, J. A.; MOLINA, I. Chagas disease. **Lancet**, v. 391, n. 10115, p. 82-94, Jan 6 2018.
- PETERSEN, C. A.; BURLEIGH, B. A. Role for interleukin-1 beta in Trypanosoma cruzi-induced cardiomyocyte hypertrophy. **Infect Immun**, v. 71, n. 8, p. 4441-7, Aug 2003.
- PISSETTI, C. W. *et al.* Association between the plasma levels of TNF-alpha, IFN-gamma, IL-10, nitric oxide and specific IgG isotypes in the clinical forms of chronic Chagas disease. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 42, n. 4, p. 425-30, 2009.
- RASSI, A., JR.; RASSI, A.; MARIN-NETO, J. A. Chagas disease. **Lancet**, v. 375, n. 9723, p. 1388-402, Apr 17 2010.
- RIBEIRO, B. M.; CREMA, E.; RODRIGUES, V., JR. Analysis of the cellular immune response in patients with the digestive and indeterminate forms of Chagas' disease. **Hum Immunol**, v. 69, n. 8, p. 484-9, Aug 2008.
- RICCI, M. F. *et al.* Neuronal Parasitism, Early Myenteric Neurons Depopulation and Continuous Axonal Networking Damage as Underlying Mechanisms of the Experimental

Intestinal Chagas' Disease. **Front Cell Infect Microbiol**, v. 10, p. 583899, 2020.

SALVADOR, F. *et al.* Serum IL-10 Levels and Its Relationship with Parasitemia in Chronic Chagas Disease Patients. **Am J Trop Med Hyg**, v. 102, n. 1, p. 159-163, Jan 2020.

SOUSA, G. R. *et al.* Plasma cytokine expression is associated with cardiac morbidity in chagas disease. **PLoS One**, v. 9, n. 3, p. e87082, 2014.

VASCONCELOS, R. H. *et al.* Interleukin-10 and tumour necrosis factor-alpha serum levels in chronic Chagas disease patients. **Parasite Immunol**, v. 37, n. 7, p. 376-9, Jul 2015.

YOSHIDA, N. *Trypanosoma cruzi* infection by oral route: how the interplay between parasite and host components modulates infectivity. **Parasitol Int**, v. 57(2): doi: , n. 2, p. 105-9, 2008.

AVALIAÇÃO DO EFEITO DO EXTRATO DA GLÂNDULA SALIVAR (EGS) DE *Rhodnius prolixus* NA INFECÇÃO DE CÉLULAS TROFOBLÁSTICAS DA LINHAGEM BEWO INFECTADAS POR *Toxoplasma gondii*

Maria Juliana Ribas do Nascimento da Silva¹, Paloma Cristina Pimenta¹ Anna Clara Balbina Silva¹, Roberto Augusto Pereira de Sousa¹ Ana Carolina de Moraes Oliveira Scusse¹ Thais Soares Farnesi Assunção¹, Marcos de Lucca Moreira Gomes¹ Virmondes Rodrigues Junior² Carlo José Freire de Oliveira² Angelica de Oliveira Gomes¹

¹Laboratório de Interações Celulares - LIC, Instituto de Ciências Biológicas e Naturais - ICBN, Departamento de Biologia Estrutural - DBE / Universidade Federal do Triângulo Mineiro- UFTM; ²Laboratório de Imunologia, Instituto de Ciências Biológicas e Naturais - ICBN, Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia - DMIP / Universidade Federal do Triângulo Mineiro- UFTM

RESUMO

A barreira placentária é uma estrutura complexa, sendo, entretanto, atravessada pelo *Toxoplasma gondii*, acarretando toxoplasmose congênita e problemas no desenvolvimento fetal. Trabalhos prévios demonstraram que essa infecção desencadeia uma resposta imune Th1 exacerbada, e também que a ação de moléculas presentes no extrato de glândula salivar (EGS) de triatomíneos, ao induzir uma resposta do tipo Th2, modulam citocinas inflamatórias. Este grupo de estudo já demonstrou redução de parasitismo cerebral em camundongos C57BL/6 infectados com *T. gondii* com o uso do EGS. É possível, então, hipotetizar os efeitos antiparasitários do EGS em outros modelos de infecção. O presente estudo, teve como objetivo avaliar os efeitos do EGS de *Rhodnius prolixus* no parasitismo por *T. gondii* e na secreção de nitrito utilizando-se de células trofoblásticas de linhagem BeWo. Para isso, células BeWo infectadas com *T. gondii* foram tratadas com diferentes concentrações de EGS. Avaliou-se a viabilidade celular e a proliferação de *T. gondii* nestas células. Também foram avaliados os níveis de óxido nítrico secretado por células BeWo infectadas e tratadas com EGS em comparação com células não tratadas. Resultados mostraram que o parasitismo foi reduzido em concentrações mais baixas do EGS, comprovando o efeito protetor nas células BeWo infectadas por *T. gondii*.

Palavras-Chave: Extrato de glândula salivar de triatomíneos, *Rhodnius prolixus*, *Toxoplasma gondii*.

INTRODUÇÃO

A barreira placentária é uma estrutura complexa capaz de fornecer nutrição e trocas metabólicas entre as circulações fetal e materna (Brolio *et al*, 2010). Além de suas funções de trocas moleculares, a placenta atua como órgão regulador imunológico, realizando defesa celular, com a capacidade de secretar moléculas antivirais que atuam restringindo infecções, e também transportam ativamente anticorpos, que protegem o feto por meio da expressão dos receptores de imunoglobulina. Apesar desta função de barreira restritiva, alguns patógenos como *Toxoplasma gondii* conseguem vencer a barreira placentária e infectar o feto/embrião em desenvolvimento. Com essa transmissão, denominada como transmissão vertical, podem ocorrer o surgimento de patologias, a exemplo da toxoplasmose congênita (Lopes *et al*, 2012).

A toxoplasmose congênita é uma forma de toxoplasmose, patologia causada pelo parasita intracelular obrigatório *Toxoplasma gondii*. A sua transmissão se dá principalmente de forma oral, pela ingestão de água ou alimentos crus contaminados por oocistos esporulados oriundos de fezes de gatos (hospedeiro definitivo do parasita), ingestão de cistos presentes em carne mal passada ou oocistos presentes no ambiente. A outra maneira de infecção é a transmissão congênita, anteriormente citada, já que o parasita tem a capacidade de transpor a interface materno-fetal (Dubey *et al*, 2008, Lopes *et al*, 2012).

A toxoplasmose congênita causa abortos, partos prematuros e problemas de desenvolvimento fetal variados de acordo com o trimestre gestacional que a infecção ocorre (Robbins *et al*, 2012, Maenz *et al*, 2014). Em neonatos, pode causar problemas neurológicos (hidrocefalia, convulsões, hipoacusia, microcefalia, calcificações cerebrais) (Dubey *et al*, 2008, Robbins *et al*, 2012) e problemas oftalmológicos (cegueira e retinocoroidite) (Dubey *et al*, 2008). Além de todos esses sintomas, também pode acarretar manifestações tardias em neonatos que não apresentem sintomas ao nascer.

A transposição da barreira materno-fetal pelo *T. gondii* aparentemente está correlacionada com o processo inflamatório que acontece em resposta à infecção (Gómez-Chávez *et al*, 2020). Na ocasião da infecção, *T. gondii* modula ativação celular, produção de microbicidas, citocinas e anticorpos (Souza *et al*, 2014). Para controlar o parasitismo, o organismo hospedeiro modula citocinas pró-inflamatórias como IL-2, IL-6, IL-8 e IL-12, assim como IFN- γ , em uma resposta inflamatória do tipo Th1. O IFN- γ quando produzido na resposta imune em quantidades adequadas, promove controle do parasitismo e consegue manter a patogenia em estado de latência (Meira *et al*, 2014). Produzido de forma exacerbada, no entanto, aumenta a expressão da Molécula de Adesão Celular 1 (ICAM-1) nas células sincitiotrofoblásticas e facilita a transmissão de *T. gondii* pela barreira placentária (Ferro *et al*, 2008).

Moléculas capazes de modular uma resposta imune do tipo Th1 apresentam-se como estratégia promissora para tratamento de desordens de origem inflamatória. O extrato de glândula salivar de triatomíneos apresenta este potencial. Triatomíneos são insetos hematófagos pertencentes à família *Reduviidae*, com comportamento antropofílico observado em várias espécies. Em razão de sua dieta hematófaga, sua saliva possui propriedades anti-coagulantes, anti-histamínicas, vasodilatadores e, principalmente, imunomoduladoras (Martins, 2018). O extrato de glândula salivar consegue induzir a produção de IL-10, citocina que regula a resposta pró-inflamatória é capaz de controlar a destruição tecidual causada pela resposta Th1 exacerbada, e também consegue inibir a produção de IL-6 e IL-12 (Gómez-Chávez *et al*, 2020, Mendes *et al*, 2016).

OBJETIVOS

O estudo teve como objetivo analisar a provável ação protetora e antiparasitária do extrato de glândula salivar, obtido de triatomíneos da espécie *Rhodnius prolixus*, sobre a infecção de *Toxoplasma gondii* em células trofoblásticas de linhagem BeWo, análogas à interface materno-fetal.

MATERIAIS E MÉTODOS

Cultura celular e manutenção *in vitro* de taquizoítos de *T. gondii* da cepa RH

As células BeWo foram mantidas em cultura celular, utilizando-se de meio de cultura RPMI suplementado com 10% de soro bovino fetal (SBF). Concomitantemente à cultura das células, foram mantidos *in vitro* taquizoítos de *Toxoplasma gondii*, da cepa RH, em células BeWo também cultivadas em meio de cultura RPMI, suplementado com 2% de SBF.

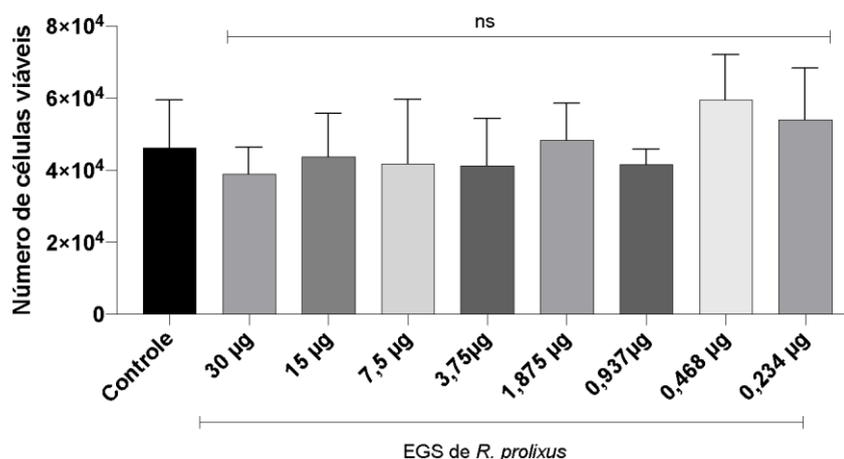
Obtenção do extrato de glândula salivar (EGS) de *Rhodnius prolixus*

Utilizando triatomíneos da espécie *Rhodnius prolixus* provenientes do insetário da UFTM, para a obtenção do extrato de glândula salivar primeiro foi realizada a desinfecção dos espécimes por submersão em álcool 70% e posterior submersão em água destilada. Após esse processo, foi realizada a dissecação dos espécimes na altura do tórax para obtenção das glândulas salivares do inseto. Em uma capela de fluxo laminar, as glândulas foram perfuradas com uma agulha e posteriormente centrifugadas a 20.000g por 10 minutos. O sobrenadante foi coletado e sua concentração proteica foi medida com auxílio de NanoDrop 2000, e então armazenado a -80°C até o momento de uso.

Ensaio de viabilidade

Para a realização do ensaio de viabilidade as células mantidas em cultura foram contabilizadas com auxílio de câmara de Neubauer e então plaqueadas em placas de cultura de 96 poços na quantidade de 5×10^4 células por poço, com meio RPMI suplementado com 10% de SBF. As placas com as células foram incubadas em estufa umidificada com 5% de

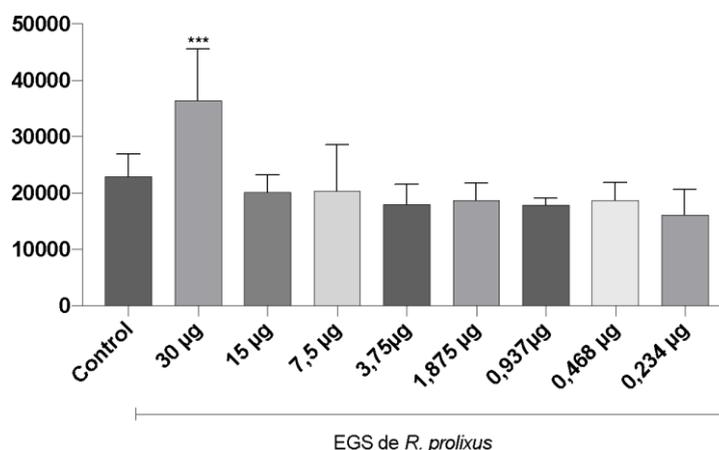
CO₂, 37°C. Após 24 horas de incubação, as células foram tratadas com quantidades 2 decrescentes de EGS (30µg, 15µg, 7,5µg, 3,75µg, 1,875µg, 0,937µg, 0,468µg, 0,234µg, 0,117µg, 0,0585µg, 0,02925µg, 0,014625µg, 0,0073125µg e 0,00365625µg) e incubadas por mais 24 horas. Células não tratadas foram usadas como controle. A seguir, foram adicionados 10µL de resazurina nas células tratadas e não tratadas. A determinação da viabilidade celular foi feita a partir da análise de absorbância no leitor automático de microplacas EnSpire.



Ensaio de proliferação

Células BeWo mantidas em cultura foram plaqueadas em placas de 96 poços na quantidade de 5×10^4 células por poço, em meio RPMI 10% SBF. As células foram incubadas em estufa de 5% CO₂ a 37°C por 24 horas. Em seguida, as células foram incubadas com EGS, e, concomitantemente, infectadas com taquizoítos de *T. gondii* (5×10^3 parasitos/poço). Células não

tratadas foram usadas como controle. A seguir as células infectadas e tratadas foram incubadas na estufa por 24h, 48h e 72h, sendo que a cada fim de ciclo era observada a contagem de parasitas por meio da realização de ensaio de β -galactosidase e analisado o resultado. O sobrenadante de cada placa ainda foi coletado e armazenado a -80°C para posteriormente ser feita dosagem de nitrito pelo método de Griess. Os dados coletados foram analisados utilizando-se do programa *Graphpad.prism 8*.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

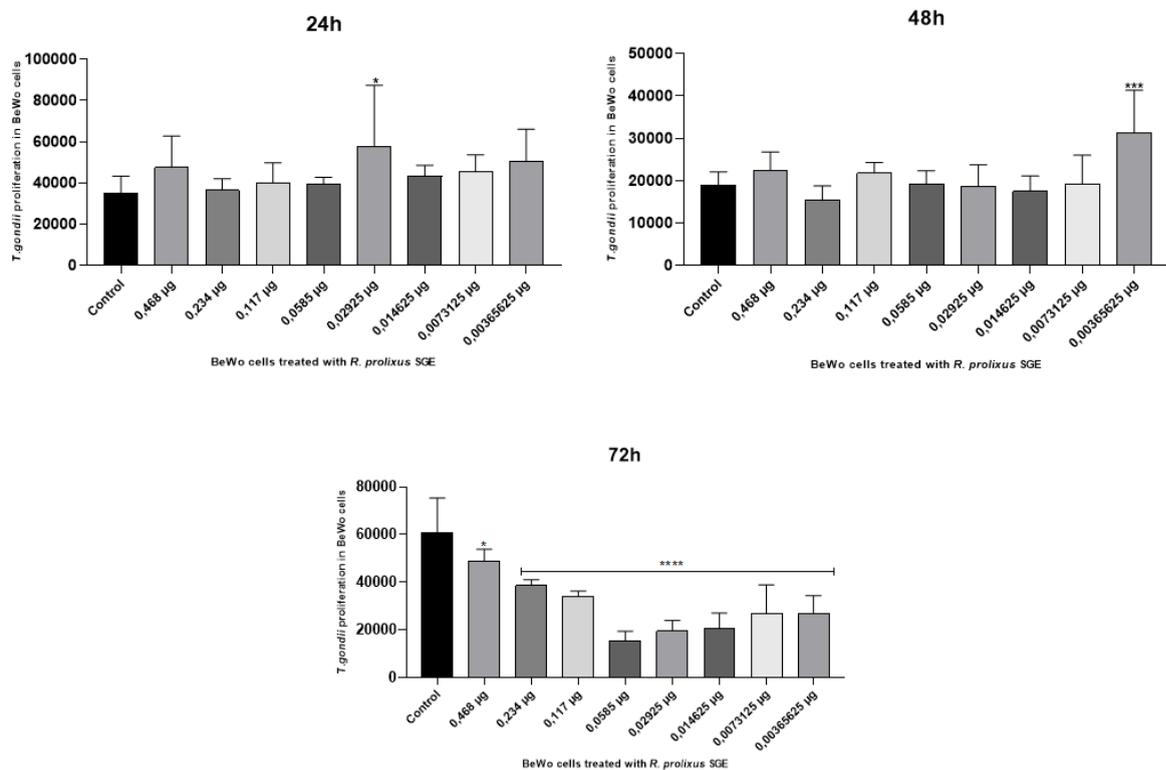
Nos ensaios de viabilidade com resazurina, o resultado demonstrou que nenhuma das quantidades utilizadas de EGS de *R. prolixus* foi citotóxico para as células BeWo. Os ensaios de proliferação demonstraram que na primeira leitura (incubação de 24 horas), a proliferação de taquizoítos de *T. gondii* ocorreu em maior nível em todas as quantidades de EGS utilizadas para o tratamento das células quando comparada com o grupo controle, exceto a quantidade de 0,234 μg . A quantidade de 0,02925 μg foi a que demonstrou maior aumento de proliferação.

A segunda leitura (incubação de 48 horas) demonstrou que houve uma diminuição nos níveis de proliferação dos parasitas de modo geral quando comparado com a primeira leitura. Quando comparado com o controle, o nível de proliferação das células tratadas e infectadas foi maior, com exceção, novamente, das células tratadas com a quantidade de EGS de 0,234 μg . O aumento mais acentuado foi observado nas células tratadas com 0,00365625 μg de EGS.

A terceira e última leitura (ciclo de 72 horas) demonstrou que as células tratadas e infectadas, quando comparadas com as células do grupo controle, tiveram o parasitismo controlado em todas as quantidades de EGS, sendo que o menor nível de proliferação foi na quantidade de 0,0585 μg . Foi também observado um aumento nos níveis de proliferação nos poços controle, não tratados com nenhuma quantidade de EGS, mesmo quando comparados com os poços controle nas leituras anteriores.

Os resultados sugerem que as quantidades mais intermediárias de EGS dentre as utilizadas seriam as mais benéficas no controle do parasitismo, enquanto os dois extremos (quantidades maiores e quantidades ínfimas) não teriam o mesmo efeito.

Sobre a dosagem de nitrito possivelmente presente no sobrenadante das células BeWo, em ensaio utilizando o método de Griess, não foi observado nível significativo de nitrito em nenhuma das leituras.



CONCLUSÃO

Os resultados do ensaio de invasão e proliferação, a partir da análise dos dados observados, permitiram demonstrar que o extrato de glândula salivar do triatomíneo *Rhodnius prolixus* possui sim um efeito protetor nas células BeWo quando estas estão infectadas com *Toxoplasma gondii*, controlando o nível de parasitismo nas células.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao CNPq por apoiar financeiramente a realização deste projeto. Agradeço também à minha orientadora, Angelica de Oliveira Gomes, assim como a todos os colaboradores do Laboratório de Interações Celulares (LIC), que de alguma forma me auxiliaram durante a realização deste projeto.

REFERÊNCIAS

- BROLIO, M. P.; AMBRÓSIO, C. E.; FRANCIOLLI, A. R.; MORINI, A. C.; GUERRA, R. R.; MIGLINO, M. A. **A barreira placentária e sua função de transferência nutricional.** *Revista Brasileira de Reprodução Animal.* Belo Horizonte, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – Universidade de São Paulo. V. 34, n. 4. P. 222-232. Out./Dez. de 2010. DOI:<<http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v34n4/p222-232.pdf>>.
- DUBEY, J. P.; JONES, J. L. **Toxoplasma gondii infection in humans and animals in the United States.** *International Journal for Parasitology.* V. 38, n. 11. Set. de 2008. P. 1257-1278. DOI:<<https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2008.03.007>>.
- FERRO, E. A., MINEO J. R., IETTA F., et al. **Macrophage migration inhibitory factor is up-regulated in human first-trimester placenta stimulated by soluble antigen of Toxoplasma gondii, resulting in increased monocyte adhesion on villous explants.** *Am J Pathol.* 2008;172(1):50-58. DOI:<10.2353/ajpath.2008.070432>.
- GOMES, Angélica O.; BARBOSA, Bellisa F.; FRANCO, Priscila S.; RIBEIRO, Mayara; SILVA, J.; GOIS, Paula S. G.; ALMEIDA, Karine C. ANGELONI, Mariana B.; CASTRO, Andressa S.; GUIRELLI, Pâmela M.; CÂNDIDO, João V. CHICA Javier E. L.; SILVA, Neide M.; MINEO, Tiago W. P.; MINEO José R.; FERRO, Eloisa A. V. **Macrophage Migration Inhibitory Factor (MIF) Prevents Maternal Death, but Contributes to Poor Fetal Outcome During Congenital Toxoplasmosis.** *Frontiers in Microbiology.* V. 9. 08 de Mai. de 2018. ISSN 1664-302X. DOI: <<https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00906>>.
- GÓMEZ-CHÁVEZ, Fernando; CAÑEDO-SOLARES Irma; ORTIZ-ALEGRÍA, Luz Belinda; FLORES-GARCÍA, Yewel; FIGUEROA-DAMIÁN, Ricardo; LUNA-PASTÉN, Héctor; GÓMEZ-TOSCANO, Valeria; LÓPEZ-CANDIANI, Carlos; ARCE-ESTRADA, G. Emmanuel; BONILLA-RÍOS, Christian A.; MORA-GONZÁLEZ, Juan Carlos; GARCÍA-RUIZ, Ricardo; CORREA, Dolores. **A Proinflammatory Immune Response Might Determine Toxoplasma gondii Vertical Transmission and Severity of Clinical Features in Congenitally Infected Newborns.** *Frontiers in Immunology.* V. 11. 13 de Mar. de 2020. ISSN 1664-3224. DOI: <<https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00390>>.
- LOPES, C. C. H.; BERTO, B. P. **Aspectos associados à toxoplasmose: uma referência aos principais surtos no Brasil.** *Saúde & Ambiente.* V. 7, n. 2. 2012. ISSN 1980-2676.
- MAENZ M; SCHLÜTER D; LIENSENFELD O; SCHARES G. GROSS U; PLEYER U. **Ocular toxoplasmosis past, present and new aspects of an old disease.** *Prog Retin Eye. Res.* V. 39 Mar. de 2014. P. 77-106. DOI:<<https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2013.12.005>>.
- MARTINS, Déborah Bianca Santos. **Expressão de antígenos salivares e avaliação da atividade apirásica salivar do triatomíneo Rhodnius neglectus, vetor da doença de Chagas.** 2018. 112 f., il. Dissertação (Mestrado em Patologia Molecular)—Universidade de Brasília, Brasília, 2018.
- MEIRA, C. S.; PEREIRA-CHIOCCOLA, V. L.; VIDAL, J. E.; MATTOS, C. C. B.; MOTOIE, G.; COSTA-SILVA, T. A.; GAVA, R.; FREDERICO, F. B.; MATTOS, L. C. **Cerebral and ocular toxoplasmosis related with IFN- γ , TNF- α , and IL-10 levels.** *Frontiers in microbiology.* V. 5. P. 492. 13 de Octo. de 2014. DOI:<<https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00492>>.

ROBBINS JR; ZELDOVICH VB; POUKCHANSKI A; BOOTHROYD JC. BAKARDJIEV AI. **Tissue barriers of the human placenta to infection with *Toxoplasma gondii***. *Infect Immun*. V. 80(1). Jan. de 2012. P. 418-28. DOI:<<https://doi.org/10.1128/iai.05899-11>>.

SOUZA, W., and BELFORT JR., R., comp. **Toxoplasmose & *Toxoplasma gondii* [online]**. Rio de Janeiro. Editora Fiocruz. 2014. ISBN: 978-85-7541-571-9. DOI:<<https://doi.org/10.7476/9788575415719>>.

CÉLULAS TRONCO MESENQUIMAIS COMO ALVOS NA PATOGÊNESE DA INFLAMAÇÃO ASSOCIADA A ATEROSCLEROSE

Maria Vitoria Mendonça Malaguti¹; Angélica Cristina Alves²; Lucas Felipe De Oliveira³; Valdo José Dias Da Silva⁴;

¹Instituto de Ciências Biológicas e Naturais - Universidade Federal do Triângulo Mineiro;

²Faculdade de Medicina - Universidade Federal do Triângulo Mineiro; ³Departamento de Fisiologia, Instituto de Ciências Biológicas e Naturais, Universidade Federal do Triângulo Mineiro; ⁴Departamento de Fisiologia, Instituto de Ciências Biológicas e Naturais, Universidade Federal do Triângulo Mineiro

RESUMO

A aterosclerose, assim como diversas doenças inflamatórias, leva à alterações no endotélio vascular, causando maior adesão leucocitária e conseqüente aumento na permeabilidade endotelial, permitindo a entrada de macromoléculas, em especial as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) que se acumulam na camada interna da parede arterial, podendo levar a complicações graves. Uma vez presente na camada íntima, o LDL é oxidado e fagocitado pelas células, desencadeando uma resposta inflamatória intensa. As células tronco mesenquimais (CTMs), conhecidas por sua capacidade regenerativa e moduladora em diversas doenças inflamatórias, podem ter sua função comprometida por esse ambiente pró-inflamatório e pela presença do LDL oxidado assim como as demais células, embora ainda seja incerto o mecanismo pelo qual isso ocorre. Dessa forma, este estudo busca determinar se as CTMs têm sua função modificada em ambientes pró-oxidativos, como na aterosclerose, e se essa modificação está relacionada com o agravamento do estado inflamatório na doença.

Palavras Chave: “células tronco mesenquimais”, “aterosclerose”, “inflamação”, “disfunção endotelial”, “LDL oxidado”.

INTRODUÇÃO

A aterosclerose se caracteriza como uma doença inflamatória multifatorial que cursa com a formação de placas de gordura, cálcio e outros componentes que se acumulam na parede das artérias. Com o passar do tempo, essas placas começam a dificultar a passagem sanguínea, levando a diversas complicações uma vez que o sangue não será distribuído de maneira correta aos tecidos.

De acordo com Locatelli et al. (2009) e Sousa e Ribeiro (2019) os fatores de risco para aterosclerose podem ser divididos em modificáveis, tais como tabagismo, sedentarismo, obesidade, estresse, hiperlipidemia, hipertensão arterial; e os não modificáveis, diabetes mellitus, hipertensão familiar, trombofilias, sexo, idade e hereditariedade. Observando o sistema vascular, vê-se que o endotélio vascular é de suma importância na manutenção da hemostasia e, alterações em sua função em resposta a ações mecânicas como ocorre na hipertensão arterial sistêmica (HAS), as reações imunológicas e/ou químicas constituem o primeiro passo fisiopatológico da ativação dos mecanismos envolvidos na aterosclerose (Melo et al., 2007; Storch et al., 2017, Gowdak, 2020). Em consequência à essa disfunção, o endotélio pode apresentar maior adesão leucocitária e aumento da permeabilidade endotelial, favorecendo a passagem de macromoléculas para a camada íntima (em especial lipoproteínas. A consequente passagem das lipoproteínas para a camada íntima aumenta o índice de fagocitose pelos macrófagos e células musculares lisas, das quais possuem receptores de LDL modificados ('scavengers') e acabam se tornando células espumosas.

O LDL sofre oxidação nos tecidos, e, uma vez oxidado, essa molécula se torna tóxica para as células endoteliais, que passam a sofrer grande agressão e indução de síntese de citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento, amplificando o ambiente pró-inflamatório na camada íntima das artérias. As células tronco mesenquimais (CTMs), constituem um subconjunto heterogêneo de células regenerativas do estroma, capazes de se diferenciar e se modular de acordo com os estímulos recebidos. Porém, ao serem afetadas pela ação do LDL oxidado e estando neste ambiente pró inflamatório, não se sabe ao certo se a função das CTMs também é afetada por essa molécula oxidada e se podem, de alguma forma, implicarem na fisiopatologia da aterosclerose (OLIVEIRA, 2010).

Portanto, este trabalho busca estabelecer se há modificação na função das CTMs no ambiente pró-oxidativo aumentado verificado na aterosclerose e se há conexão entre esta alteração e a consequente piora no estado pró-inflamatório também verificado na aterosclerose.

OBJETIVOS

O objetivo central do presente estudo foi verificar se o LDL, particularmente aquele oxidado, consegue promover alterações fenotípicas significativas nas CTMs cultivadas *in vitro*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizadas células tronco mesenquimais de medula óssea de ratos Wistar Kyoto machos com idade de 20 semanas (n=3) previamente isoladas, retiradas do banco de células congeladas e armazenadas em nitrogênio líquido no Departamento de Fisiologia da universidade. As células foram descongeladas e suspendidas em meio PBS para contagem da viabilidade celular. Posteriormente, as células foram expandidas até a quinta passagem em meio de cultura α -MEM em placas de 6 poços e mantidas na estufa de CO₂ até se atingir a confluência celular de aproximadamente 80%. As células na quinta passagem foram também avaliadas por fenotipagem molecular via citometria de fluxo e ensaio de diferenciação adipogênica e osteogênica, sendo este processo realizado em triplicata. Após confirmação de seu estado de célula tronco, as amostras foram expostas ao LDL ou ao LDL oxidado, ambos marcados com o corante fluorescente DiI. Realizou

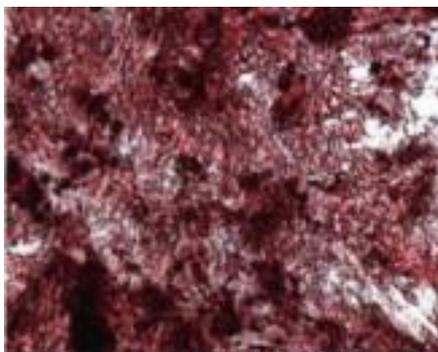
se a contagem das células marcadas positivamente para LDL ou LDL oxidado, em relação ao total de células por campo, quantificadas pelo número de núcleos marcados com DAPI. Foram avaliados 10 campos por amostra em microscópio invertido de fluorescência (AxioObserver Z1, Carl Zeiss, Germany). A razão entre o percentual de cada campo marcado com DiI e o número de núcleos em cada campo foi usada como um índice de fagocitose do LDL ou do LDL oxidado

pelas células tronco mesenquimais. A comparação da intensidade de fagocitose foi feita entre os dois grupos usando um teste t não pareado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As células tronco mesenquimais obtidas dos animais experimentais e descongeladas apresentaram características fenotípicas esperadas, tais como ausência de expressão de Ckit e CD45 e elevada expressão de CD29. Em adição, como mostrado na figura abaixo (Figura 1), as células tronco mesenquimais apresentaram capacidade de diferenciação osteogênica e adipogênica, confirmando se tratar de células tronco.

A)



B)

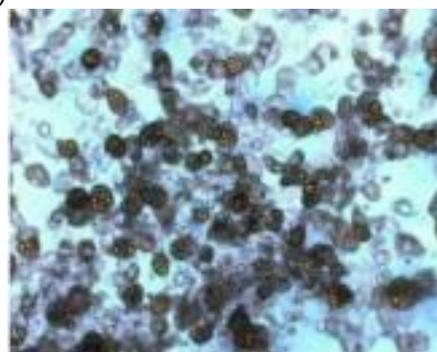
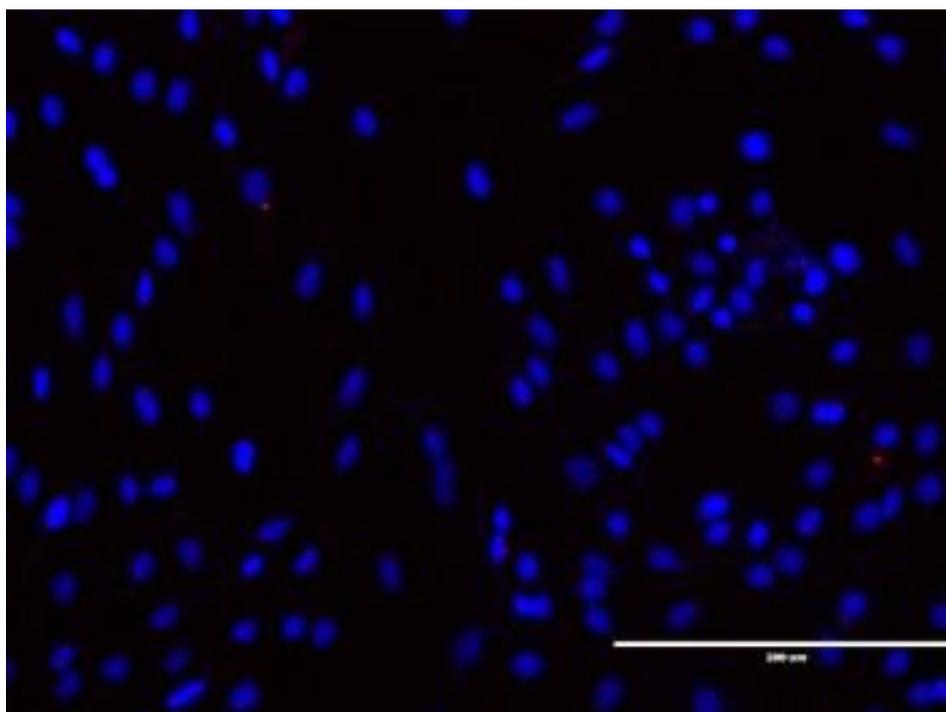


Figura 1 (A) Diferenciação osteogênica e (B) Diferenciação adipogênica de ratos Wistar Kyoto. A marcação das CTMs através do corante DiI e DAPI, como mostrado abaixo (figura 2), se mostrou eficiente para comparação da exposição ao LDL normal ou LDL oxidado.

A)



B)

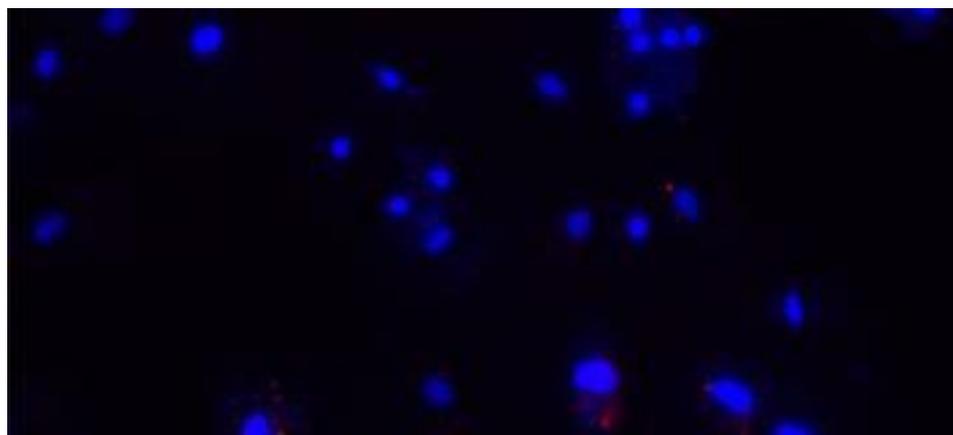


Figura 2 (A) CTMs expostas ao DiI e LDL normal. e (B) CTMs expostas ao DiI e LDL oxidado. Em azul observa-se os núcleos celulares corados através de DAPI e em vermelho observa-se moléculas de LDL corados por DiI. O índice de fagocitose das células tronco mesenquimais expostas ao DiI e LDL oxidado ($0,282 \pm 0,064\%$ /núcleo) foi significativamente maior quando comparado às células tronco expostas ao DiI e LDL normal ($0,094 \pm 0,010\%$ /núcleo, $p < 0,05$, Figura 3), indicando uma maior atividade fagocítica das células para o LDL oxidado do que para o LDL normal.

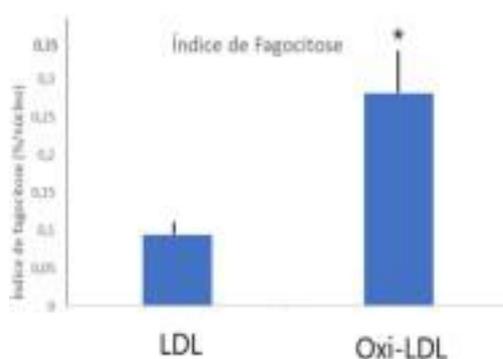


Figura 3: Valores médios (\pm erro padrão) do índice de fagocitose (em %/núcleo) de LDL ou de Oxi-LDL fagocitado pelas células tronco mesenquimais (* $p < 0,05$ versus LDL).

CONCLUSÃO

As células tronco mesenquimais mostraram características confirmadoras das propriedades de células tronco esperadas. A avaliação do índice de fagocitose mostrou que o LDL oxidado é fagocitado em maior quantidade pelas CTMs do que o LDL normal. Tal resultado mostra que as CTMs, podem de alguma forma participar da patogênese da aterosclerose, visto que o LDL oxidado, em outras células do microambiente aterosclerótico, como células endoteliais, macrófagos e células musculares lisas, promove importantes alterações fenotípicas no sentido pró-inflamatório.

REFERÊNCIAS

GOMEZ-GAVIRO MV, LOVELL-BADGE R, FERNANDEZ-AVILES F ET AL. The vascular stem cell niche. **J Cardiovasc Transl Res** 2012;5:618–630.

KLEIN D, WEISSHARDT P, KLEFF V ET AL. Vascular wall-resident CD44⁺ multipotent stem cells give rise to pericytes and smooth muscle cells and contribute to new vessel maturation. **PLoS One** 2011;6:e20540.

MELO SESFC, YUGAR-TOLEDO JC, COCA AP, MORENO JÚNIOR H. Hipertensão arterial, aterosclerose e inflamação: o endotélio como órgão-alvo **Rev Bras Hipertens** 2007; 14(4):234-238.

PAGAN LU, GOMES MJ, OKOSHI MP. Função Endotelial e Exercício Físico. **Arq. Bras. Cardiol.** 2018; 111(4):540-541.

TORSNEY E, XU Q. Resident vascular progenitor cells. **J Mol Cell Cardiol** 2011;50:304–311.
ZENGIN E, CHALAJOUR F, GEHLING UM ET AL. Vascular wall resident progenitor cells: A source for postnatal vasculogenesis. **Development** 2006;133:1543-1551.

CO-RESISTÊNCIA AOS AMINOGLICOSÍDEOS E BETAÇACTÂMICOS EM ISOLADOS DE *Enterococcus faecium* RESISTENTES À VANCOMICINA

Mylena Beatriz Cassiano Mascarenha¹; Thaís Vilela de Almeida Silveira¹; Ranyelle Aparecida Oliveira de Freitas¹; Fábio Ederson Lopes Correa²; Marcelo Costa Araújo²; Adriana Gonçalves de Oliveira¹

¹Laboratório de Pesquisa em Microbiologia (LPM) do Instituto de Ciências Biológicas e Naturais (ICBN)/UFTM, Uberaba; ²Hospital de Clínicas da UFTM, Uberaba-MG.

RESUMO

Enterococcus faecium destaca-se como um agente prevalente de infecções hospitalares devido à sua habilidade de adquirir resistência a múltiplos antimicrobianos, além de pertencerem à microbiota residente de seres humanos, animais e amplamente distribuídos na natureza. Os fenótipos de resistência considerados clinicamente mais significativos são associados com o alto nível de resistência aos aminoglicosídeos, glicopeptídeos e betalactâmicos. O objetivo do estudo foi avaliar se isolados clínicos (IC) e ambientais (IA) de *E. faecium* resistentes à vancomicina (VRE_{fm}) apresentam co-resistência a antimicrobianos de outras classes (aminoglicosídeos e betalactâmicos). Os IC (n=38) obtidos de pacientes hospitalizados e os IA de alimentos (n=14) foram identificados fenotipicamente por meio de provas bioquímicas. O método de diluição em caldo foi usado para determinar a concentração inibitória mínima da ampicilina (betalactâmico), estreptomicina (aminoglicosídeo), gentamicina (aminoglicosídeo) e vancomicina (glicopeptídeo). O método disco de difusão determinou o perfil de sensibilidade aos demais antimicrobianos. Ambos realizados e interpretados segundo o CLSI. Os resultados foram analisados usando o SPSS. Dentre os IC, 78,9% eram VRE_{fm} e nenhum IA apresentou resistência à vancomicina. As porcentagens de resistência em geral foram todas mais altas para os IC em comparação com os IA, no entanto, diferença significativa (p<0,05) foi observada apenas para os glicopeptídeos (vancomicina e teicoplanina), betalactâmicos, estreptomicina, norfloxacina e tetraciclina. Dentre os IC, foi observada co-resistência à vancomicina/ampicilina (36,8%) e à vancomicina/ampicilina/estreptomicina (23,7%), principalmente. Observou-se que os VRE_{fm} apresentam comumente co-resistência à ampicilina, embora a co-resistência aos aminoglicosídeos seja relativamente baixa.

PALAVRAS-CHAVE: VRE, Aminoglicosídeo, vancomicina, beta-lactâmico, multirresistência.

INTRODUÇÃO

A resistência intrínseca e/ou adquirida a múltiplos antimicrobianos (ATM) e a plasticidade genômica são fatores responsáveis pela ampla adaptabilidade do *Enterococcus faecium*, especialmente no ambiente hospitalar, o que propiciou a esse microrganismo tornar-se um patógeno hospitalar prevalente nas últimas décadas, sendo responsável por uma série de infecções associadas à assistência em saúde (GAO, *et al.*, 2018; SPARO, *et al.*, 2018; MEADE, *et al.*, 2021; SOLACHE, *et al.*, 2019). Esta espécie também é encontrada fazendo parte da microbiota residente do intestino de seres humanos e outros animais e na natureza, em diferentes ambientes (LEBRETON, *et al.*, 2014). Consequentemente, os resíduos de ATMs destinados a fins humanos, veterinários e agrícolas liberados diariamente na natureza podem favorecer a seleção de isolados ambientais de *E. faecium* resistentes, os quais podem atingir seres humanos por meio de alimentos, de origem vegetal ou animal (VAN BOECKEL *et al.* 2017; MANYI-LOH *et al.* 2018).

Os fenótipos de resistência adquirida considerados clinicamente mais significativos entre os enterococos são aqueles associados com o alto nível de resistência aos aminoglicosídeos, aos glicopeptídeos e às penicilinas (ampicilina, penicilina G e ureidopenicilinas) (RICE, 2001). Os enterococos possuem uma resistência intrínseca aos aminoglicosídeos, porém, esta resistência é de baixo nível, o que permite combinações com betalactâmicos (penicilinas) ou glicopeptídeos (vancomicina e teicoplanina), gerando um efeito bactericida essencial para o tratamento de infecções enterocócicas mais graves (ELIOPOULOS, 2005). A resistência de alto nível (high level resistance - HLR) aos aminoglicosídeos (HLR-A) elimina o efeito bactericida promovido pelo sinergismo com os ATM que atuam na parede. A HLR à gentamicina (HLR-G) leva a uma resistência cruzada aos outros aminoglicosídeos, com exceção da estreptomicina (RICE, 2001). Por isso, rotineiramente, gentamicina e estreptomicina são os únicos aminoglicosídeos que devem ser testados para detecção fenotípica da resistência de alto nível entre os enterococos.

Devido à escassez de opções de tratamento das infecções causadas por microrganismos multirresistentes, como é o caso do *E. faecium* resistente à vancomicina (VREfm), a Organização Mundial de Saúde (OMS) passou a considerar esse agente como prioritário, para o qual é imperativo encontrar novas e eficazes estratégias terapêuticas devido à multirresistência desses microrganismos (TACCONELLI *et al.*, 2018). O monitoramento do perfil de sensibilidade de isolados de *E. faecium* também é estratégico para ações preventivas que visem à prevenção e controle de sua disseminação.

OBJETIVO

Avaliar se isolados clínicos e ambientais de *E. Faecium* resistentes e sensíveis à apresentam co-resistência a ATM de outras classes (aminoglicosídeos e vancomicina).

MATERIAIS E MÉTODOS

Os isolados clínicos de *E. faecium* foram obtidos de pacientes internados no HC da UFTM, no período de setembro de 2023 a março de 2024, pela realização de exames com fins diagnósticos no Serviço de Patologia Clínica (SPC) (Setor de Microbiologia). Os isolados ambientais foram obtidos de alimentos de origem vegetal e animal durante a execução de outro projeto de pesquisa no Laboratório de Pesquisa de Microbiologia (LPM). A confirmação da espécie foi realizada com base em sua morfologia e comportamento tintorial pela coloração de Gram e por testes bioquímicos convencionais, segundo Facklam, Sahn e Teixeira (1999).

A concentração inibitória mínima (CIM) da ampicilina, estreptomicina, gentamicina e vancomicina foi determinada pela técnica de diluição em caldo (DC), conforme recomendações do CLSI 2021. Foram feitas diluições seriadas dos ATM em caldo Mueller-Hinton, cujas concentrações variaram de 0,25 a 256µg/mL para ampicilina e vancomicina, de 1,0 a 512µg/mL para gentamicina e 1,0 a 1.024µg/mL para estreptomicina. A CIM foi considerada como a menor concentração de agente antimicrobiano capaz de inibir completamente o crescimento do

microrganismo detectado a olho nu. Para controle de qualidade, foram utilizadas amostras de referência de acordo com cada antimicrobiano.

A resistência aos demais ATM foi verificada por meio do método de disco difusão (DD). Os ATM testados foram: betalactâmicos (penicilina 10U; imipenem 10µg); fenicóis (cloranfenicol 30µg); macrolídeos (eritromicina 15µg); tetraciclina (tetraciclina 30µg); quinolonas (norfloxacina 10µg); e glicopeptídeos (teicoplanina 30µg). O inóculo bacteriano foi preparado a partir de uma cultura com 18–24 horas de crescimento e ajustado para uma turvação correspondente a 0,5 da escala de McFarland. Essa suspensão bacteriana foi semeada em toda superfície do ágar Mueller-Hinton usando swab. Em seguida, os discos com ATM a serem testados foram distribuídos com uma pinça. As placas foram incubadas à 35±2°C. A leitura foi feita após 16–18h de incubação, exceto para vancomicina (24h). Os halos de inibição do crescimento foram medidos e comparados com tabela 2D (CLSI, 2021) classificando os isolados em sensíveis, intermediários ou resistentes. A qualidade dos discos foi verificada usando *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao todo foram avaliados 52 isolados de *E. Faecium*, sendo 38 de origem clínica e 14 de origem ambiental. Nenhum isolado de origem ambiental apresentou resistência à ampicilina, estreptomicina, gentamicina e vancomicina. No entanto, 3 isolados obtidos de alface, batata e carne bovina apresentaram resistência intermediária à vancomicina (CIM de 8-16µg/mL). Com relação aos demais ATM testados, as porcentagens de isolados resistentes foram baixas (0 a 7,1%) (Tabela 1).

Tabela 1 – Perfil de sensibilidade aos antimicrobianos pelo método de disco difusão de isolados de *Enterococcus faecium* obtidos de pacientes hospitalizados (n=38) e do ambiente (n=14).

Antimicrobianos por classe	% de <i>E. faecium</i> clínicos		% de <i>E. faecium</i> ambientais		P ¹
	Sensível	Resistente	Sensível	Resistente	
Betalactâmicos					
Ampicilina ²	26,3	73,7	100,0	0,0	<0,001
Penicilina	10,5	89,5	92,9	7,1	<0,001
Imipenem	10,5	89,5	ND	ND	-
Glicopeptídeos					
Vancomicina ²	21,1	78,9	78,6	0,0 ³	<0,001
Teicoplanina	21,1	65,8 ³	100,0	0,0	<0,001
Aminoglicosídeos					
Gentamicina ²	81,6	18,4	100,0	0,0	0,094
Estreptomicina ²	71,1	28,9	100,0	0,0	0,025
Fluoroquinolonas					
Norfloxacina	15,8	84,2	71,4	0,0 ³	0,042
Macrolídeos					
Eritromicina	7,9	92,1	35,7	7,1 ³	0,094
Tetraciclina					
Tetraciclina	55,3	44,7	92,9	7,1	0,019
Fenicóis					
Cloranfenicol	76,3	23,7	100,0	0,0	0,092

¹ P ≤ 0,05 foi considerado significativo.

²Resultado obtido pelo método de diluição em caldo; para os demais ATM o resultado foi obtido pelo método disco difusão.

³Foram observados isolados com resistência intermediária para esse antimicrobiano.

Por outro lado, a maioria dos isolados clínicos apresentou resistência à ampicilina (73,7%), vancomicina (78,9%) e 18,4% e 28,9%, respectivamente, à todas mais altas que para os isolados ambientais, no entanto, diferenças significativas ($p < 0,05$) foram observadas apenas para os beta-lactâmicos, glicopeptídeos, estreptomina, norfloxacina e tetraciclina.

A tabela 2 mostra o perfil de sensibilidade dos isolados clínicos de *Enterococcus faecium* resistentes à vancomicina (VREfm; n=30) e sensíveis à vancomicina (VSEfm; n=8). Os isolados de VREfm apresentam altas taxas de resistência a todos os ATM testados em comparação com os isolados VSEfm, exceto para gentamicina e cloranfenicol. Todavia, diferença significativa foi observada apenas para os betalactâmicos, teicoplanina e norfloxacina.

Tabela 2 – Comparação do perfil de sensibilidade aos antimicrobianos dos isolados clínicos de *Enterococcus faecium* resistentes à vancomicina (VREfm; n=30) e sensíveis à vancomicina (VSEfm; n=8).

Antimicrobianos por classe	% de VREfm		% de VSEfm		P ¹
	Sensível	Resistente	Sensível	Resistente	
Beta-lactâmicos					
Ampicilina ²	16,7	83,3	62,5	37,5	0,019
Penicilina	3,3	96,7	37,5	62,5	0,024
Imipenem	3,3	96,7	37,5	62,5	0,024
Glicopeptídeos					
Teicoplanina	10,0	76,7 ³	62,5	25,0 ³	0,022
Aminoglicosídeos					
Gentamicina ²	83,3	16,7	75,0	25,0	0,624
Estreptomina ²	66,7	33,3	87,5	12,5	0,395
Fluoroquinolonas					
Norfloxacina	6,7	93,3	50,0	50,0	0,012
Macrolídeos					
Eritromicina	3,3	96,7	25,0	75,0	1,106
Tetraciclina					
Tetraciclina	53,3	46,7	62,5	37,5	0,709
Fenicol					
Cloranfenicol	73,7	23,3	75,0	25,0	0,922

¹ $P \leq 0,05$ foi considerado significativo.

² Resultado obtido pelo método de diluição em caldo; para os demais ATM o resultado foi obtido pelo método de disco difusão.

³ Foram observados isolados com resistência intermediária para esse antimicrobiano.

Taxas decrescentes de resistência ao cloranfenicol entre enterococos foi observada desde 1997 a 1999 nos EUA (19% a 12%) e na América Latina (34% a 27%), de acordo com o Programa SENTRY (LOW et al., 2001), a qual foi semelhante à observada no presente estudo (23,3%). Entretanto, sabe-se que o uso de cloranfenicol para o tratamento de infecções por VRE resultam no desenvolvimento de resistência

(LAUTENBACH et al., 2004). Em relação à tetraciclina, a taxa de resistência observada foi relativamente baixa (46,7%) e inferior ao reportado pelo Programa SENTRY para a América Latina (67,2%) (LAUTENBACH et al., 2004) e por outros estudos brasileiros em 2006-2007 (66,5%) (BENDER et al., 2009). Diferentemente, taxas elevadas de resistência à eritromicina foram observadas para VREfm e VSEfm, confirmando que a resistência a este antimicrobiano é muito comum entre os enterococos (BENDER et al., 2009; SADER et al., 2001; CONCEIÇÃO et al., 2011).

Desde seu isolamento inicial no Brasil, em 1998, o VREfm tornou-se preocupação frequente pelo seu potencial de disseminação pelo contato e por esses isolados apresentarem resistência simultaneamente a ATM de outras classes (DALLA COSTA et al., 1998), conforme reportado também no presente estudo. A presença de perfis de co-resistência a vancomicina, ampicilina, gentamicina e/ou estreptomicina entre os isolados clínicos de *E. faecium* está demonstrada na tabela 3. Os perfis mais prevalentes foram os de resistência simultânea à vancomicina/ampicilina (36,8%) e à vancomicina/ampicilina/estreptomicina (23,7%). Vinte e cinco (65,8%) isolados clínicos não poderiam ser tratados com a combinação de agentes que atuam na parede celular (ampicilina e/ou vancomicina) com os aminoglicosídeos.

Tabela 3. Perfis de co-resistência à vancomicina, ampicilina, gentamicina e ou estreptomicina entre os isolados clínicos de *Enterococcus faecium* (n=38).

Resistência ao(s) antimicrobianos(s) ¹	Número (%) de isolados
Nenhuma	3 (7,9)
VAN	2 (5,3)
AMP	2 (5,3)
GEN	2 (5,3)
EST	0
VAN, AMP	14 (36,8) ²
VAN, GEN	3 (7,9)
VAN, EST	0
AMP, EST	1 (2,6%)
AMP, GEN	0
EST, GEN	0
VAN, AMP, GEN	2 (5,3) ²
VAN, AMP, EST	9 (23,7) ²
VAN, AMP, EST, GEN	0

¹AMP, ampicilina. EST, estreptomicina; GEN, gentamicina; VAN, vancomicina.

Isolados (n=35; 65,8%) que não podem ser tratados com a combinação de ATM que atuam na parede celular (ampicilina e ou vancomicina) e aminoglicosídeos.

Segundo alguns estudos, linhagens hospitalares de *E. faecium* caracterizam-se por apresentarem resistência à ampicilina e às fluoroquinolonas. Em geral, o aumento de *E. faecium* resistente à ampicilina costuma preceder taxas crescentes de VREfm em vários locais do mundo,

especialmente em certos países europeus (TREITMAN *et al* 2005; OTEO *et al.* 2007; WERNER *et al.* 2008). Nos EUA, desde a década de 1990, os isolados de *E. faecium* representam mais de 95% de todos os VRE recuperados e a maioria deles também são resistentes à ampicilina (SHEPARD & GILMORE 2002). Da mesma forma, observou-se taxas semelhantes de resistência à ampicilina (73,7%) e vancomicina (78,9%) entre os isolados clínicos de *E. faecium* em nossa instituição. A porcentagem de resistência a norfloxacina (fluroquinolona; 84,2%) também foi alta.

CONCLUSÃO

Os dados do presente estudo mostram que o VRE_{fm} apresentam comumente co-resistência à ampicilina embora a co-resistência aos aminoglicosídeos seja relativamente baixa.

AGRADECIMENTOS

PIBIC-FAPEMIG

REFERÊNCIAS

BENDER, E. A. *et al.* Identification, antimicrobial resistance and genotypic characterization of Enterococcus spp. isolated in Porto Alegre, Brazil. **Brazilian journal of microbiology**, v. 40, n. 3, p. 693-700, 2009.

CONCEIÇÃO, N. *et al.* Trends in antimicrobial resistance among clinical isolates of enterococci in a Brazilian tertiary hospital: a 4-year study. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 2, p. 177-181, 2011.

COSTA, D. *et al.* Vancomycin Resistant Enterococcus faecium: First case in Brazil. **Braz J Infect Dis**, v. 2, n. 3, p. 160-163, 1998.

ELIOPOULOS, G. M. *et al.* Antimicrobial resistance in the Enterococcus. **Bacterial Resistance to Antimicrobials, Second Edition**, [s.l.] CRC Press, 2008. p. 255-289.

FACKLAM, R. R. *et al.* **Manual of Clinical Microbiology**. Washington DC, EUA: American Society for Microbiology Press, 1999.

GAO, W.; HOWDEN, B. P.; STINEAR, T. P. Evolution of virulence in Enterococcus taecium, a hospital-adapted opportunistic pathogen. **Current Opinion in Microbiology**, v. 41, p. 76-82, fev. 2018.

LAUTENBACH, E. *et al.* Emergence of resistance to chloramphenicol among vancomycin-resistant enterococcal (VRE) bloodstream isolates. **International journal of antimicrobial agents**, v. 23, n. 2, p. 200-203, 2004.

LEBRETON, R.; WILLEMS, R. J. L., GILMORE, M. S. Enterococcus diversity, origins in nature, and gut colonization. Em: GILMORE, M. S.; CLEWELL, D. B.; IKE, Y. (Eds.). Enterococci: From **Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection**. Boston: [s.n.].

LOW, D. E. *et al.* Clinical prevalence, antimicrobial susceptibility, and geographic resistance patterns of enterococci: results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance

Program, 1997-1999. **Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 32 Suppl 2, n. s2, p. S133-45, 2001.

MANY-LOH, C. *et al.* Antibiotic use in agriculture and its consequential resistance in environmental sources: **Potential public health implications**. *Molecules* (Basel, Switzerland), v. 23, n. 4, p. 795, 2018.

MEADE, E.; SLATTERY, M. A.; GARVEY, M. Biocidal resistance in clinically relevant microbial species: **A major public health risk**. *Pathogens*, v. 10, n. 5, p. 598, 2021.

OTEO, J. *et al.* Trends in antimicrobial resistance in 3469 enterococci isolated from blood (EARSS experience 2001- 06, Spain): increasing ampicillin resistance in Enterococcus faecium. *I Antimicrob Chemother*, v. 59, p. 1044-1045, 2007.

RICE, L. B. Emergence of vancomycin-resistant enterococci. **Emerging infectious diseases**, v.7, n.2, p. 183-187, 2001.

SADER, H. S. *et al.* Pathogen frequency and resistance patterns in Brazilian hospitals: summary of results from three years of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *The Brazilian journal of infectious diseases: an official publication of the Brazilian Society of Infectious Diseases*, v. 5, n. 4, p. 200-214, 2001.

SHEPARD, B. D.; GILMORE, M. S. Antibiotic-resistant enterococci: the mechanisms and dynamics of drug introduction and resistance. *Microbes Infect*, v. 4, p. 215-224, 2002.

SOLACHE, M.; RICE, L. B. The Enterococcus: a model of Adaptability to Its Environment. *Clinical Microbiology Reviews*. v. 32, n. 2, 2019.

SPARO, M.; DELPECH, G.; GARCIA ALLENDE, N. Impact on Public Health of the spread of High-Level resistance to gentamicin and vancomycin in enterococci. *Frontiers in microbiology*, v. 9, p. 3073, 2018.

TACCONELLI, E. *et al.* discovery, research and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *The Lancet infectious disease*, v. 18, n. 3, p. 318-327, 2018.

TREITMAN, A. N. *et al.* Emerging incidence of Enterococcus faecium among hospital isolates (1993 to 2002). *Journal of clinical microbiology*, v. 43, n. 1, p. 462-463, 2005.

VAN BOECKET, T. P. *et al.* Emergence and spread of vancomycin resistance among enterococci in Europe. *Euro Surveill*, v. 13, p. 1-11, 2008.

EXPOSIÇÃO *IN VITRO* AO CLOROTALONIL PREJUDICA A ATIVIDADE MITOCONDRIAL E A CAPACIDADE DE REALIZAR REAÇÃO ACROSSÔMICA DE ESPERMATOZOIDES HUMANOS

Nicolay Caixeta Gonçalves¹; Laís Silva Ferreira¹; Hugo Felix Perini¹; Aline Cristina Souza da Silva¹; Chamberttan Souza Desidério¹; Virmondes Rodrigues Júnior¹; Marcos Vinícius da Silva¹; Gláucia Eloisa Munhoz de Lion Siervo¹

¹Instituto de Ciências Biológicas e Naturais (ICBN), Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM)

RESUMO

A exposição a contaminantes ambientais pode estar associada com a queda da fertilidade masculina. O Clorotalonil é um fungicida de amplo espectro altamente persistente no ambiente. Apesar da ampla utilização, ainda faltam informações precisas na literatura sobre os efeitos da exposição a este composto. Assim, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da exposição *in vitro* de Clorotalonil em espermatozoides humanos. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa da UFTM (CEP-UFTM - parecer nº 6.285.041). Foram recrutados 8 voluntários cujos parâmetros seminais estavam dentro da normalidade (concentração e motilidade). Os espermatozoides foram isolados e expostos a três concentrações de Clorotalonil: 0,02, 0,2 e 2,0 µM, além do Controle, durante 3 horas. Foram avaliadas a motilidade espermática, a vitalidade e a atividade mitocondrial utilizando microscópio de luz. Para as análises de citometria de fluxo foram utilizadas sondas para marcação da concentração de espécies reativas de oxigênio (ERO), integridade da membrana acrossomal e fragmentação de DNA. A exposição ao Clorotalonil não alterou a motilidade ou a vitalidade espermática. Não houve alteração na concentração de ERO e fragmentação de DNA. Houve uma diminuição no número de espermatozoides com completa atividade mitocondrial nas concentrações de 0,2 e 2,0 µM, quando comparadas ao Controle. Houve um aumento no número de células com membrana acrossomal íntegra nas células expostas a 2 µM. Conclui-se que a exposição *in vitro* ao Clorotalonil afeta a atividade mitocondrial e a capacidade do espermatozoide sofrer reação acrossômica nas maiores concentrações, mostrando uma potencial toxicidade reprodutiva.

Palavras-chave: Organoclorado, gameta, toxicidade, agrotóxico.

INTRODUÇÃO

De acordo com a OMS (2023), é estimado que uma a cada seis pessoas manifestem infertilidade em algum momento da vida. Neste contexto, tem sido observada uma queda da saúde reprodutiva masculina, evidenciada por: redução no número de espermatozoides, queda das concentrações de testosterona e aumento dos distúrbios da puberdade (SKAKKEBAEK *et al.*, 2019). Este cenário pode ser causado principalmente pelo estilo de vida e exposição a contaminantes ambientais (BORGHT; WYNS, 2018).

É bem estabelecido que a exposição a contaminantes pode causar alterações morfológicas e fisiológicas, incluindo alterações reprodutivas (OLIVEIRA *et al.*, 2023; SKAKKEBÆK *et al.*, 2022). Dentre os contaminantes ambientais estão os agrotóxicos, que já foram associados com redução da densidade, motilidade e vitalidade dos espermatozoides, inibição da espermatogênese, indução de danos no DNA espermático e aumento da morfologia anormal do gameta (MEHRPOUR *et al.*, 2014).

O Clorotalonil foi o 5º ingrediente ativo mais comercializado no Brasil em 2022 (IBAMA, 2022). Este agrotóxico é um fungicida de amplo espectro, classificado como moderadamente tóxico e altamente persistente no ambiente (NORTOX, 2021). Foi relatado que a exposição a este composto diminui a motilidade *in vitro* de espermatozoides suínos, enquanto *in vivo* é capaz de inibir a espermatogênese de camundongos (ZHANG *et al.*, 2019). Apesar destes dados, ainda há uma carência na literatura sobre os efeitos do Clorotalonil sobre espermatozoides humanos, em doses que correspondam à realidade de exposição.

OBJETIVOS

Avaliar o efeito decorrente da exposição *in vitro* a diferentes doses de Clorotalonil em espermatozoides humanos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Este projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (CEP-UFTM, parecer nº 6.285.041). Foram recrutados voluntários que se adequaram aos critérios de inclusão: pessoas do sexo biológico masculino, sem doença crônica, sem histórico de infecção sexualmente transmissível (IST), sem doença de caráter inflamatório/infeccioso nos últimos 90 dias, sem uso de medicamentos nos últimos 90 dias, IMC até 24,99 e idade entre 20 e 39 anos. Após serem informados da pesquisa e assinarem o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), cada voluntário recebeu um frasco de plástico estéril

para a coleta do sêmen.

O sêmen foi avaliado antes da exposição, macro e microscopicamente. Foram incluídas amostras de 8 voluntários que estavam dentro dos parâmetros de normalidade (OMS, 2023). Para a exposição, os espermatozoides foram isolados pela técnica de *swim-up* em meio BWW (BIGGERS *et al.*, 1971). As células foram mantidas em placa de 96 poços, e expostas por 3h a 3 concentrações do Clorotalonil (37°C, 5% CO₂): 0,02 µM, 0,2 µM e 2,0 µM, além do controle (n=8/grupo). Após a exposição, uma alíquota de espermatozoides foi utilizada para avaliação da motilidade. Para a vitalidade, foram contados 100 espermatozoides, sendo classificados em vivos ou mortos (método eosina Y, OMS, 2021). Uma alíquota de espermatozoides foi incubada com solução contendo DAB e foram realizados esfregaços desta solução; as células foram classificadas em: peça intermediária totalmente corada; peça intermediária parcialmente corada; ausência de coloração na peça intermediária, em microscópio de luz. Para o ensaio de citometria de fluxo, foram adicionadas sondas para marcação após a exposição. Para avaliar a concentração de espécies reativas de oxigênio foi utilizada a sonda DCFDA, para avaliação da integridade da membrana acrossomal a sonda FITC-PSA e o índice de fragmentação de DNA foi avaliado utilizando laranja de acridina. As células foram analisadas utilizando o aparelho FACSCalibur cytometer (BD Biosciences).

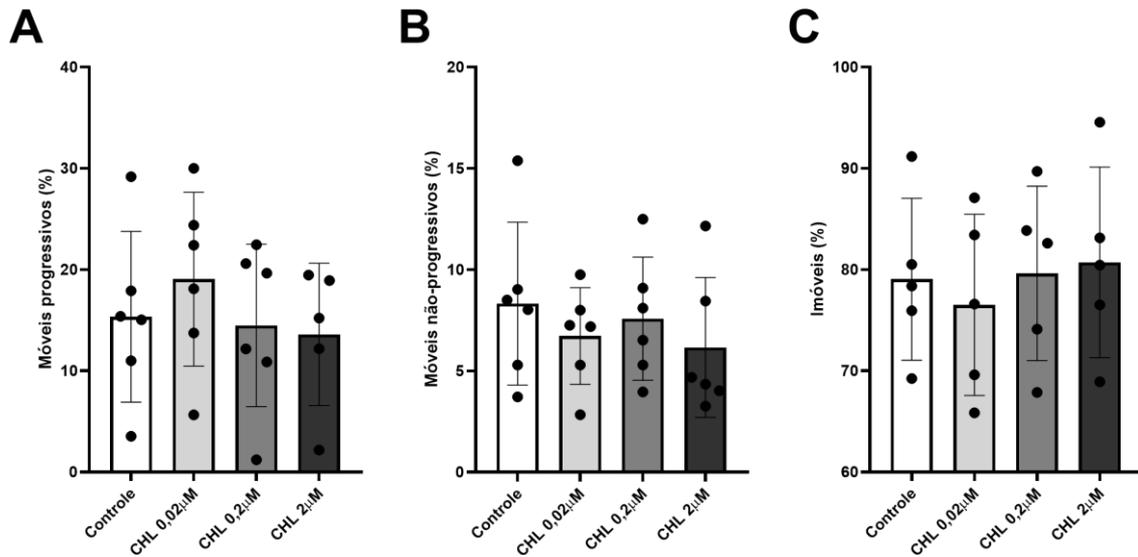
Os resultados obtidos foram submetidos ao teste ANOVA de médias repetidas, com teste *a posteriori* de Tuckey ou o teste não-paramétrico de Friedman, com teste *a posteriori* de Dunn, utilizando o software GraphPAD Prism (Version 9.5). Os valores foram considerados significativos quando $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

MOTILIDADE ESPERMÁTICA

A exposição *in vitro* ao Clorotalonil não foi capaz de alterar os parâmetros associados à motilidade analisados (Fig 1).

Figura 1 - Análise de parâmetros associados à motilidade espermática após exposição *in vitro* a diferentes doses de Clorotalonil por 3h.



(A) Porcentagem de espermatozoides com motilidade progressiva. (B) Porcentagem de espermatozoides com motilidade não-progressiva. (C) Porcentagem de espermatozoides imóveis. Média \pm desvio padrão, n=6/grupo. Teste de Friedman teste *a posteriori* de Tuckey ($p > 0,05$). Fonte: elaborada pela autora, 2024.

Este resultado difere dos apresentados por Zhang *et al.* (2019), que demonstram que o Clorotalonil nas concentrações de 0,1, 1 e 10 μM diminuiu a motilidade dos espermatozóides suínos *in vitro* de forma dose-dependente. A divergência pode estar relacionada com as diferenças de concentração, tempo de exposição - ambas as variáveis foram maiores nas pesquisas anteriores - além da espécie utilizada. Além disso, Zhang *et al.* (2019) realizaram a análise de motilidade utilizando um software específico (*Computer Assisted Semen Analysis* - CASA), o que torna a análise mais precisa.

VITALIDADE

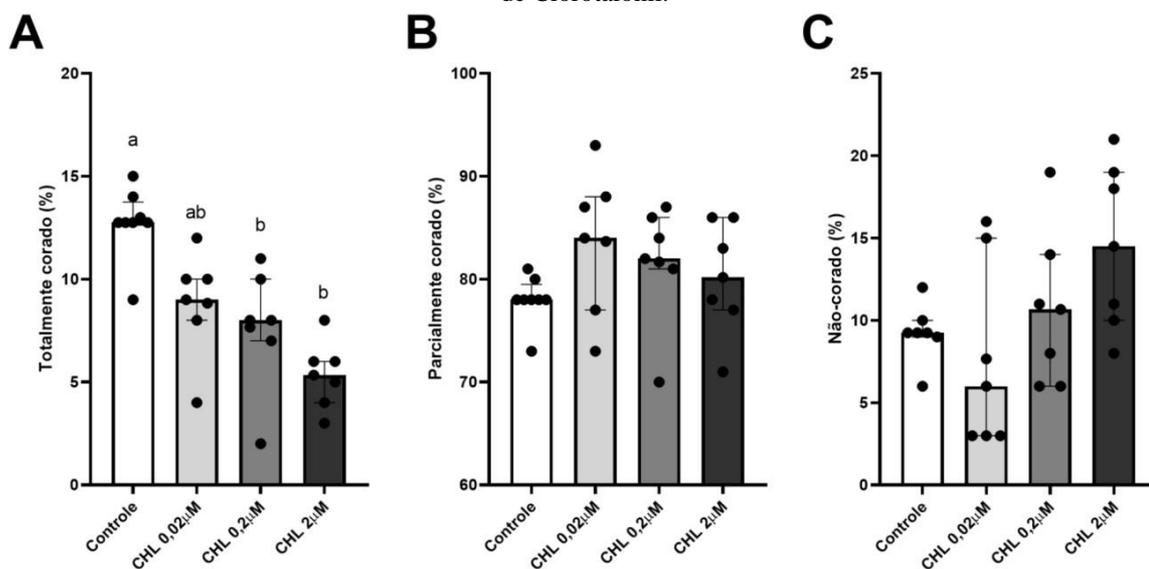
O Clorotalonil não afetou a porcentagem de espermatozoides mortos (Controle = 63,76; CHL 0,02 μM = 66,66; CHL 0,2 μM = 72,75; CHL 2 μM = 69,31) quando comparado

ao grupo Controle. Dados descritos por Fisher e Rangel (2018) mostram que o Clorotalonil em associação com o Clorpirifós (5,4mg Clorotalonil + 0,09mg Clorpirifós) diminuem a viabilidade dos espermatozoides de zangões da espécie *Apis mellifera*. Os dados divergentes podem ocorrer em razão das diferenças de modelos experimentais utilizados: Fisher e Rangel (2018) utilizaram o modelo *in vivo*, enquanto o nosso estudo foi feito *in vitro*. Ademais, o estudo referenciado utilizou o Clorotalonil combinado com outro composto em suas análises.

ATIVIDADE MITOCONDRIAL

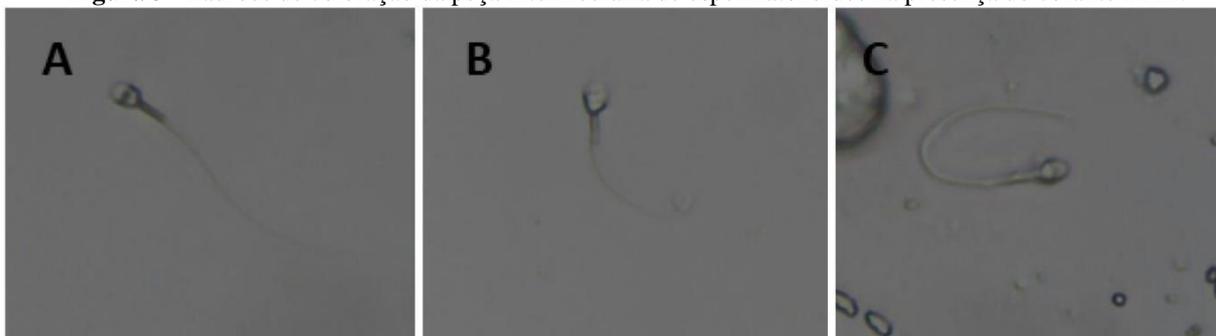
Na análise da atividade mitocondrial, as concentrações de 0,2 e 2 μM de Clorotalonil diminuíram o número de espermatozoides com a peça intermediária totalmente corada (Figuras 2A e 3A), quando comparado ao grupo Controle. Este parâmetro não diferiu entre o grupo Controle e o grupo CHL 0,02 μM , nem entre o grupo CHL 0,02 μM e CHL 2 μM . Com relação às peças intermediárias parcialmente coradas (Figuras 2B e 3B) e não-coradas (Figuras 2C e 3C), não foram observadas diferenças estatísticas entre os grupos.

Figura 2 - Análise da atividade mitocondrial de espermatozoides após exposição *in vitro* a diferentes concentrações de Clorotalonil.



(A) Porcentagem de espermatozoides com a peça intermediária totalmente corada pelo DAB. (B) Porcentagem de espermatozoides com a peça intermediária parcialmente corada pelo DAB. (C) Porcentagem de espermatozoides com a peça intermediária não-corada pelo DAB. Mediana - intervalo interquartil, $n=6/\text{grupo}$. Teste de Friedman teste *a posteriori* de Tuckey ($p>0,05$).^{a,b} Letras diferentes indicam grupos estatisticamente diferentes entre si ($p<0,05$). Fonte: elaborada pela autora, 2024.

Figura 3 - Padrões de coloração da peça intermediária de espermatozoides na presença do corante DAB.

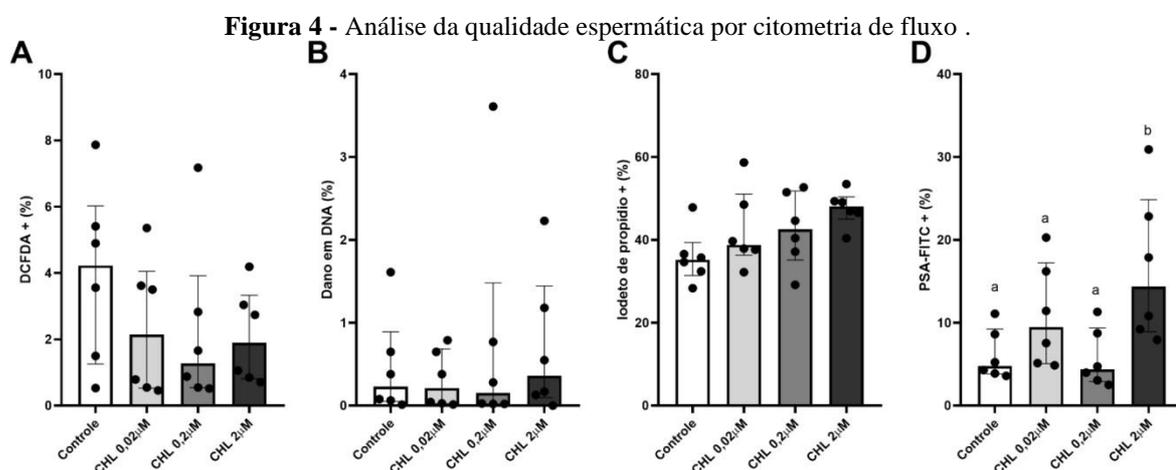


(A) Espermatozoide com peça intermediária totalmente corada pelo DAB, grupo Controle. (B) Espermatozoide com a peça intermediária parcialmente corada pelo DAB, grupo 0,2 μM . (C) Espermatozoides com a peça intermediária não-corada pelo DAB, grupo 2,0 μM . Aumento de 60x. Fonte: da autora, 2024.

Lopes *et al.* (2020) evidenciou que a exposição de peixes *Poecilia vivipara* ao clorotalonil (1 e 10 $\mu\text{g/L}$, 96 horas), a integridade da membrana e a funcionalidade mitocondrial diminuíram. Desta forma, nosso dado corrobora com os resultados já descritos na literatura.

CITOMETRIA DE FLUXO

Os parâmetros associados à concentração de espécies reativas de oxigênio (Figura 4A), os índices de fragmentação de DNA (Figura 4B), e a porcentagem de células positivas para iodeto de propídio (Figura 4C) não foram alterados. Contudo, o Clorotalonil aumentou o número de células positivas para PSA-FITC na concentração de 2,0 μM (Figura 4D).



(A) Porcentagem de espermatozoides positivos para a sonda DCFDA. (B) Porcentagem de espermatozoides com dano em DNA. (C) Porcentagem de espermatozoides positivos para a sonda iodeto de propídio. (D) Porcentagem de espermatozoides positivos para a sonda PSA-FITC. Mediana - intervalo interquartil, n=6/grupo. Teste de Friedman teste *a posteriori* de Tuckey, n=6/grupo.^{a,b} Letras diferentes indicam grupos estatisticamente diferentes entre si (p<0,05). Fonte: elaborada pela autora, 2024.

No presente estudo, os espermatozoides foram isolados e mantidos em meio capacitante. Neste tipo de meio, é esperado que os espermatozoides sofram reação acrossômica espontânea. Dessa forma, o Clorotalonil parece comprometer a capacidade da célula em realizar a reação acrossômica, processo fundamental para a fecundação. Nossos dados diferem dos observados por Zhang *et al.* (2019), que utilizou espermatozoides de suínos expostos a 0,1, 1 e 10 μM de Clorotalonil durante 24 horas e não observou diferença entre os grupos quando analisou a integridade acrossômica. A discrepância de dados entre os dois estudos podem estar relacionadas com o método de detecção, que no presente estudo foi a citometria de fluxo, um método mais preciso; enquanto Zhang *et al.* (2019) realizou sua análise por microscopia de luz. Além disso, a espécie utilizada no estudo da literatura também difere da utilizada no presente trabalho.

CONCLUSÃO

Não houve alterações significativas na motilidade, vitalidade, concentração de espécies reativas de oxigênio e dano ao DNA nos espermatozoides humanos expostos *in vitro* ao Clorotalonil. Contudo, em concentrações intermediária e alta, o composto foi capaz de afetar a atividade mitocondrial de espermatozoides, enquanto a maior concentração pode alterar a capacidade da célula realizar a reação acrossômica. Desta forma, o Clorotalonil mostra uma potencial toxicidade reprodutiva.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo financiamento da pesquisa, sob processo APQ-00221-22.

REFERÊNCIAS

- AULSEBROOK, L. C. Reproduction in a polluted world: implications for wildlife. **Reproduction**, v. 160, p. 13-23, ago. 2020.
- ARABI, M.; HEYDARNEJAD, M. *In vitro* Mercury Exposure on Spermatozoa from Normospermic Individuals. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 10, p. 2448-2453, 2007.
- BORGHTE, M. V.; WYNS, C. Fertility and infertility: Definition and epidemiology. **Clinical Biochemistry**, v. 62, p. 2-10, dez 2018.
- MEHRPOUR, O. *et al.* Occupational exposure to pesticides and consequences on male semen and fertility: A review. **Toxicology Letters**, v. 230, p. 146-156, 15 out. 2014.
- NORTOX. Clorotalonil Nortox: Tetrachloroisophthalonitrile, suspensão concentrada. **Bula do composto**.
- OLIVEIRA, C. P. A. de *et al.* Does environmental pollution affect male reproductive system in naturally exposed vertebrates? A systematic review. **Theriogenology**, v. 198, p. 305-316, mar. 2023.
- SKAKKEBÆK, N. E. *et al.* Population and fertility by age and sex for 195 countries and territories, 1950–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. **The Lancet**, v. 392, p. 1995-2051, 10-16 nov. 2018.
- SKAKKEBÆK, N. E. *et al.* Environmental factors in declining human fertility. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 18, p. 139-157, 15 dez. 2021.
- WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. **World Health Organization, HRP**, 6^a ed, 2021.
- ZHANG, P. *et al.* Low dose chlorothalonil impairs mouse spermatogenesis through the intertwining of Estrogen Receptor Pathways with histone and DNA methylation. **Chemosphere**, v. 230, p. 384-395, set. 2019.

EFEITOS DO PSICOESTIMULANTES EM PEIXE-ZEBRA

Paula Pinheiro Teixeira^{1,2} Luana Aparecida De Paula^{1,2}; Lara Júlia Moraes De Assis^{1,2};
Matheus Felipe Marcon^{1,2}

¹Laboratório de Zebrafish (ZebLab), Instituto de Ciências Biológicas e Naturais (ICBN), Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba, Brasil. ²Laboratório de Estudos Farmacológicos (LEF), Instituto de Ciências Biológicas e Naturais (ICBN), Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba, Brasil.

RESUMO

O transtorno do déficit de atenção com hiperatividade (TDAH) é um transtorno de neurodesenvolvimento que afeta cerca de 8% da população mundial, com maior prevalência em crianças e adolescentes. O principal tratamento utilizado é farmacológico pelo uso de fármacos psicoestimulantes. Embora essas substâncias demonstrem bons resultados e boa tolerabilidade, os principais estudos contam com um baixo número de participantes e tempo limitado de avaliação, o que é um problema no que tange a confiabilidade de dados e efeitos a longo prazo. Ademais, o aumento do uso desses fármacos de forma indiscriminada e sem acompanhamento médico, por indivíduos que sequer possuem o transtorno é alarmante. Nesse contexto, realizamos uma revisão sistemática da literatura, visando identificar os efeitos dos fármacos derivados anfetamínicos em peixe-zebra (*Danio rerio*). Para isso, realizamos uma busca bibliográfica nas bases de dados *PubMed*, *Scopus* e *Web of Science* utilizando palavras-chave que contemplassem nosso tema de pesquisa para intervenção (fármacos derivados anfetamínicos) e a população desejada (peixe-zebra). Identificamos 273 estudos nas bases de dados, e após aplicação de critérios de inclusão e exclusão, 29 estudos foram incluídos nesta revisão. Os estudos selecionados avaliaram majoritariamente o comportamento, seguido de toxicidade ao desenvolvimento e a expressão gênica dos peixes após exposição aos psicoestimulantes. Os dados parciais mostram que os fármacos psicoestimulantes induziram diversas alterações comportamentais no peixe-zebra, como, redução da locomoção, aumento do comportamento tipo ansiogênico e antissocial. Nota-se, portanto, a necessidade de maiores estudos sobre o tema, visando incrementar informações sobre os efeitos e complicações do consumo de psicoestimulantes.

Palavras Chave: Metilfenidato, Anfetamina, Lisdexanfetamina, Dexmetilfenidato, Dextroanfetamina.

INTRODUÇÃO

O transtorno do déficit de atenção com hiperatividade (TDAH) é um transtorno de neurodesenvolvimento caracterizado por três principais sintomas: desatenção, hiperatividade e impulsividade, em níveis prejudiciais. O diagnóstico é mais comum na infância e adolescência, mas pode prevalecer até a idade adulta. Indivíduos com TDAH enfrentam desafios nos aspectos das funções cognitivas, como a resolução de problemas, planejamento e orientação, atenção prolongada, memória de trabalho, entre outros. Além disso, também podem enfrentar entraves na regulação do humor, trazendo muitos prejuízos nos âmbitos sociais, profissionais e afetivos (Brasil, 2022; Posner; Polanczyk; Sonuga-barke, 2020).

A prevalência do TDAH aumentou de 6,1% a 10,2% nos últimos 20 anos (Xu *et al.*, 2018). É importante ressaltar que o TDAH não possui cura, de modo a cessar completamente. Dessa forma, as diretrizes clínicas vigentes recomendam uma abordagem de tratamento multimodal personalizada, abrangendo intervenções não farmacológicas e estratégias farmacológicas. Essa última acontece por meio do uso de psicoestimulantes derivados anfetamínicos, como o metilfenidato e o dimesilato de lisdexanfetamina, comercializados no Brasil com os nomes comerciais de Ritalina[®] e Venvanse[®], respectivamente, e o dexmetilfenidato e a dextroanfetamina, comercializados apenas no exterior. Tais fármacos apresentam benefícios sobre a hiperatividade e a impulsividade (World Health Organization, 2019).

No entanto, de acordo com a Portaria Conjunta nº 14 do Ministério da Saúde (2022), a resolução final da Conitec (Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no Sistema Único de Saúde) não incorporou o metilfenidato para o tratamento de crianças e adolescentes no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS) e para o tratamento de adultos, o recomendado é apenas a lisdexanfetamina. Essa decisão se deu devido a algumas limitações encontradas nos principais estudos disponíveis na literatura, como o baixo número de participantes, o curto tempo de acompanhamento (cerca de 20 semanas), além da baixa confiabilidade das evidências. Tais decisões reforçam ainda mais a necessidade de novos estudos acerca do tema (Brasil, 2022).

Ademais, são grandes as evidências do uso indiscriminado e sem acompanhamento dos psicoestimulantes derivados anfetamínicos por estudantes e profissionais que almejam aumentar o rendimento cognitivo e alcançar altos níveis de concentração. Porém, tal fato pode ser um problema no futuro, visto que ainda existem muitas dúvidas relacionadas aos efeitos, a

longo prazo, além de evidências de possíveis comprometimentos psicológicos e motores (Weibel *et al.*, 2019). Dessa maneira, ainda que os atuais tratamentos farmacológicos demonstram bons resultados e boa tolerabilidade, é de suma importância a realização de estudos sobre os efeitos a longo prazo desses fármacos e os possíveis impactos no futuro do paciente (Krinzinger *et al.*, 2019).

Nesse contexto, esse estudo de revisão sistemática tem como objetivo analisar o máximo de artigos científicos possíveis que evidenciam as interações e efeitos dos derivados anfetamínicos em peixe-zebra. Esse modelo animal representa um organismo vivo adequado para o estudo de transtornos de neurodesenvolvimento, como o TDAH, e de efeitos de derivados anfetamínicos, visto que cada vez mais vem sendo utilizado na pesquisa básica devido às várias vantagens dessa espécie, como, a elevada semelhança genética com os seres humanos (em torno de 70%) e a alta sensibilidade à manipulação farmacológica. Outros benefícios também impulsionaram o desenvolvimento de estudos com essa espécie nos últimos anos, como, o rápido ciclo reprodutivo, o baixo custo quando comparado a outros modelos animais, e a alta neuroplasticidade. Esses fatores têm contribuído para o desenvolvimento de inúmeros estudos experimentais usando esse modelo animal (De Abreu *et al.*, 2020; Português, R. V. *et al.*, 2022).

Sendo assim, é notável a necessidade de maiores estudos acerca dessa temática, visando promover informações sobre os reais efeitos do uso dos fármacos derivados anfetamínicos e suas complicações a curto e longo prazo. Essas informações podem contribuir para melhorar o entendimento dos seus efeitos terapêuticos e adversos, bem como, incentivar o desenvolvimento de novas estratégias de tratamento.

OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho foi realizar uma revisão sistemática da literatura científica sobre os efeitos dos fármacos derivados anfetamínicos utilizados no tratamento do transtorno do déficit de atenção com hiperatividade (TDAH) em peixes-zebra. Especificamente, objetivamos compilar os efeitos de metilfenidato, dexmetilfenidato, lisdexanfetamina, dextroanfetamina e a anfetamina em peixe-zebra, bem como, produzir informações sobre o uso racional desses fármacos a fim de alertar a comunidade sobre possíveis problemas devido ao uso indiscriminado e sem acompanhamento profissional.

MATERIAIS E MÉTODOS

Seguindo as recomendações PRISMA (Page et al., 2021), a busca e identificação dos estudos foram realizadas por meio de três bases de dados diferentes: *PubMed*, *Scopus* e *Web of Science*, utilizando os termos “*Methylphenidate*”, “*Dexmethylphenidate*”, “*Lisdexamfetamine*”, “*Dextroamphetamine*”, “*Amphetamine*” e “*zebrafish*”. A pesquisa nas bases de dados não utilizou nenhum filtro, restrição de linguagem e ano de publicação. Para a seleção dos estudos, foi utilizado o software Rayyan[®], excluindo inicialmente as duplicatas. Em seguida, os estudos foram selecionados por dois revisores independentes através da análise baseada em critérios pré-definidos de inclusão e exclusão, sendo as discordâncias resolvidas por um terceiro revisor. A análise foi feita primeiramente por meio do título e resumo, e posteriormente por texto completo. O critério de inclusão adotado foi apenas estudos experimentais que avaliaram os efeitos da anfetamina e dos fármacos psicoestimulantes derivados em peixe-zebra. Já os critérios de exclusão adotados foram: revisões, comentários, estudos utilizando outro modelo animal, e estudos que avaliaram apenas o efeito de outros compostos não propostos neste estudo. Após a seleção dos estudos realizamos uma varredura nas referências dos estudos incluídos com o objetivo de identificar possíveis estudos que não teriam sido encontrados pela nossa busca nas bases de dados. A extração de dados está sendo realizada diretamente do texto completo ou dos gráficos e tabelas dos artigos por dois revisores de forma independente, com um terceiro revisor analisando as possíveis divergências. A síntese dos dados está sendo organizada através do agrupamento variáveis semelhantes, como análises de comportamento, bioquímica e aspectos moleculares, apresentando-os em tabelas e gráficos para melhor sintetização. Esse estudo fará uma análise qualitativa, sem a utilização de métodos quantitativos como a metanálise.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No dia 28/11/2023 realizamos a pesquisa dos estudos nas bases de dados com os devidos descritores e encontramos um total de 273 estudos que foram incluídos no software Rayyan[®]. Depois de remover as duplicatas, obtivemos um total de 146 estudos. Após a aplicação dos critérios de inclusão e exclusão e varredura nas referências dos estudos incluídos, obtivemos um total de 29 estudos elegíveis (Figura 1).

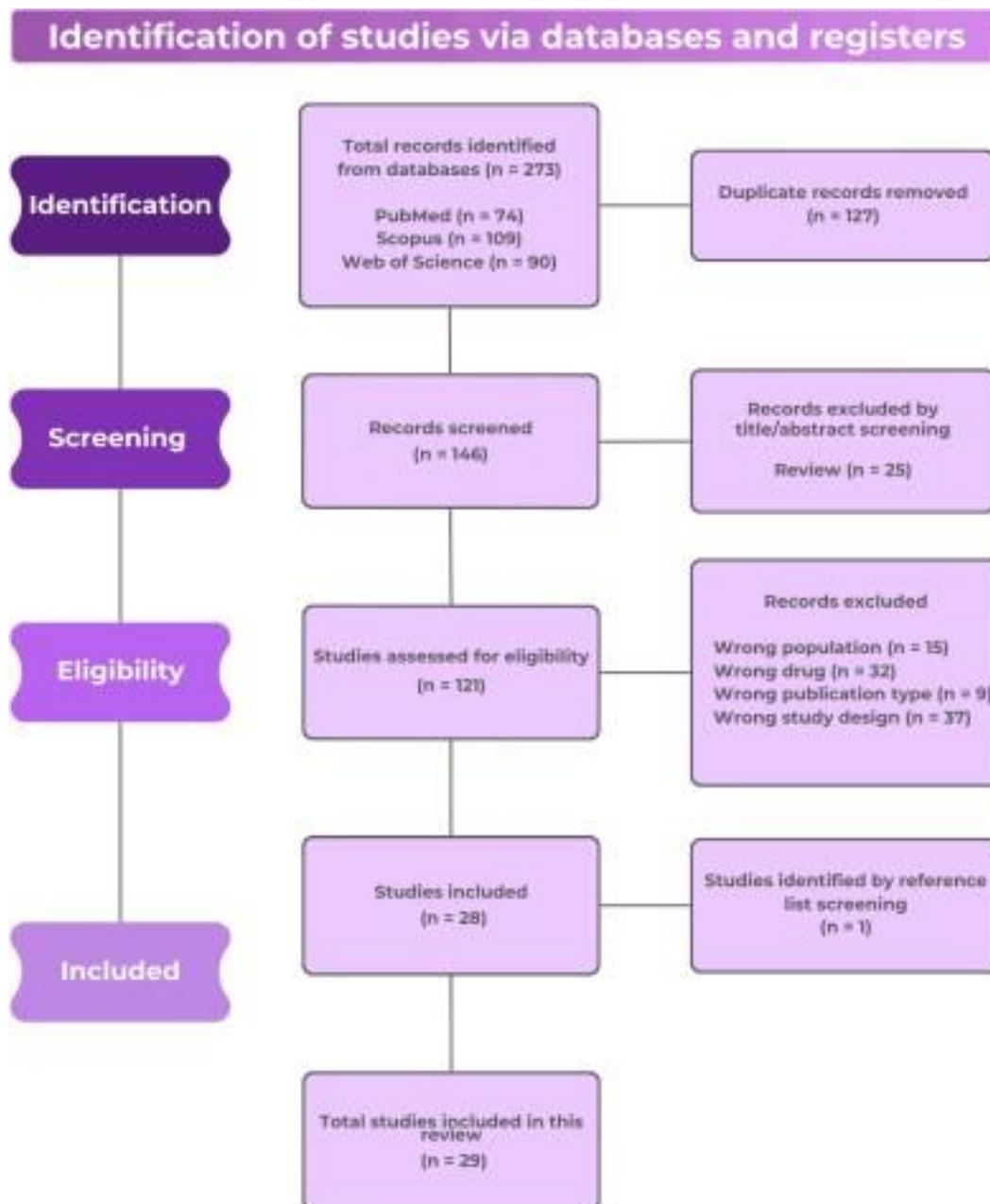


Figura 1 | Diagrama de fluxo do processo de triagem e seleção dos estudos. O diagrama de fluxo para a revisão sistemática detalha o número de estudos encontrados em cada base de dados, o número de estudos selecionados para elegibilidade, o número de estudos recuperados e o número de estudos incluídos na revisão.

Os resultados parciais desse estudo mostram que todos os artigos incluídos nesta revisão têm sua data de publicação posterior a 2006, o que demonstra ser uma temática de interesse atual, tendo em vista possivelmente devido ao número crescente de diagnósticos (Figura 2). Até o momento, observamos que os fármacos psicoestimulantes derivados da anfetamina causam diversas alterações comportamentais no peixe-zebra, como, alteração da locomoção, aumento do comportamento tipo ansiogênico e redução da interação social. Estudos também mostram que os psicoestimulantes induzem preferência de lugar

condicionada, o que sugere o alto potencial de dependência da anfetamina e seus derivados. Além disso, dados mostram que os psicoestimulantes causam toxicidade ao desenvolvimento do peixe-zebra, e especificamente, o metilfenidato alterou a expressão de 223 genes envolvidos no metabolismo de lipídios.



Figura 2 | Visão geral das publicações científicas que relatam os efeitos de fármacos psicoestimulantes derivados da anfetamina em peixe-zebra.

CONCLUSÃO

Embora esse estudo ainda esteja em desenvolvimento, já conseguimos perceber a necessidade de mais estudos sobre os efeitos a curto e longo prazo da utilização dos fármacos psicoestimulantes derivados anfetamínicos utilizados no tratamento do TDAH. Os resultados avaliados até o momento indicam diversas alterações induzidas por essas substâncias em peixes-zebra, o que é preocupante, pois o uso indiscriminado e sem acompanhamento pode levar a efeitos similares em seres humanos devido a elevada semelhança genética entre essas duas espécies ($\pm 70\%$). Esse trabalho está sendo redigido no formato de um artigo científico, a fim de demonstrar a importância de maiores estudos sobre o tema, promover maiores informações sobre o TDAH e os fármacos derivados anfetamínicos utilizados na terapêutica, bem como, para alertar sobre os potenciais perigos do uso indevido dessas substâncias.

REFERÊNCIAS

CONITEC. **Metilfenidato e Lisdexanfetamina para indivíduos com transtorno do déficit de atenção com hiperatividade (TDAH)**. [s.l.: s.n.]. Disponível em:

<https://www.gov.br/conitec/pt-br/midias/consultas/relatorios/2021/Sociedade/20210319_res_o_c236_metilfenidato_lisdexanfetamina_tdah.pdf>. Acesso em: 8 out. 2023.

DE ABREU, M. S. *et al.* **Zebrafish as a Model of Neurodevelopmental Disorders**. *Neuroscience*, v. 445, p. 3–11, out. 2020.

KRINZINGER, H. *et al.* **Neurological and psychiatric adverse effects of long-term methylphenidate treatment in ADHD: A map of the current evidence**. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, v. 107, p. 945–968, dez. 2019.

PAGE, M. J. *et al.* **The PRISMA 2020 statement: an Updated Guideline for Reporting Systematic Reviews**. *British Medical Journal*, v. 372, n. 71, 29 mar. 2021.

POLANCZYK, G. V. *et al.* **ADHD prevalence estimates across three decades: an updated systematic review and meta-regression analysis**. *International Journal of Epidemiology*, v. 43, n. 2, p. 434–442, 24 jan. 2014.

Portaria Conjunta Nº 14 - PCDT - Transtorno Do Déficit De Atenção Com Hiperatividade (TDAH).pdf — Ministério Da Saúde. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/protocolos-clinicos-e-diretrizes-terapeuticas-pcdt/arquivos/2022/portaria-conjunta-no-14-pcdt-transtorno-do-deficit-de-atencao-com-hiperatividade-d-tdah.pdf/view>>. Acesso em: 2 dez. 2023.

PORTUGUÊS, R. V. *et al.* **Avaliação acerca do Zebrafish (Danio rerio) como modelo biomédico para determinação da toxicidade do dimesilato de lisdexanfetamina**. *Research, Society and Development*, v. 11, n. 5, p. e50911528491-e50911528491, 14 abr. 2022.

POSNER, J.; POLANCZYK, G. V.; SONUGA-BARKE, E. **Attention-deficit hyperactivity disorder**. *The Lancet*, v. 395, n. 10222, p. 450–462, fev. 2020.

WEIBEL, S. *et al.* **Practical considerations for the evaluation and management of Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD) in adults**. *L'Encephale*, v. 46, n. 1, p. S0013-7006(19)302507, 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Attention deficit hyperactivity disorder (ADHD)**.

[s.l.: s.n.]. Disponível em:

<https://applications.emro.who.int/docs/EMRPUB_leaflet_2019_mnh_214_en.pdf?ua=1&ua_3>. Acesso em: 8 out. 2023.

XU, G. *et al.* **Twenty-Year Trends in Diagnosed Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder Among US Children and Adolescents, 1997-2016**. *JAMA Network Open*, v. 1, n. 4, p. e181471, 31 ago. 2018.

AVALIAÇÃO DO GENE CD274 (PD-L1) EM DIFERENTES GENÓTIPOS CLÍNICOS NA COVID-19

Thiago Teixeira de Souza¹; Lucas Fernandes Ananias¹;
Andrezza Cristina Cancian Hortolani Cunha¹; Anna Cecília Dias Maciel Carneiro¹; Fernanda
Bernadelli De Vito¹; Helio Moraes de Souza¹; Sarah Cristina Sato Vaz Tanaka¹;

¹Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM)

RESUMO

Os inibidores de checkpoint imunológico desempenham um papel importante na patogênese da COVID-19. A proteína ligante de morte celular programada I (PD-L1) é uma proteína chave nesse processo, expressa em células apresentadoras de antígenos (APCs) e em células tumorais, participa de mecanismos de inibição das funções das células imunes, além de ser um marcador de exaustão. Na COVID-19, à medida que a doença progride, ocorre elevação dos níveis séricos de citocinas pró-inflamatórias e isso está diretamente associado a depleção e exaustão funcional das células T, especificamente devido a regulação positiva de PD-L1. Assim, é razoável suspeitar que gene *CD274*, que codifica PD-1, possa contribuir para o desenvolvimento da doença. Portanto, o presente estudo teve como objetivo, avaliar o papel do gene *CD274* (PD-L1) na COVID-19. Trata-se de um estudo retrospectivo, observacional, onde foram analisadas 55 amostras, coletadas entre o período de maio de 2020 a junho de 2021, de pacientes diagnosticados com COVID-19 e atendidos em hospitais do município de Uberaba - MG. A quantificação relativa do gene *CD274* foi realizada por PCR em tempo real, após a obtenção do cDNA por RT PCR. Neste estudo, foram examinadas amostras de pacientes com uma idade média de 62 anos, a maioria dos quais eram mulheres (52,7%) e com comorbidades (67,2%). As amostras foram avaliadas quanto ao desfecho (alta hospitalar ou óbito), presença de comorbidades e a idade. Não foram observadas diferenças significativas em nenhum dos critérios avaliados. Assim, o presente trabalho conclui que não há associação da expressão de PD-L1 com os diferentes fenótipos da COVID-19.

Palavras-Chave: *CD274*, PD-L1, COVID-19.

INTRODUÇÃO

No final de 2019, um novo coronavírus respiratório denominado *SARS-CoV-2* foi descoberto em Wuhan, na China. Esse vírus foi identificado como sendo o causador da doença COVID-19, que apresentou rápida disseminação, afetando globalmente a população, tendo causado até março de 2024 mais de 7 milhões de mortes (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2024). A maioria dos pacientes infectados apresentam sintomas leves, no entanto alguns apresentam quadros mais graves da doença, necessitando de cuidados médicos (AL-MTERIN *et al.*, 2022).

A resposta imune frente à infecção por *SARS-CoV-2* envolve uma variedade de células, incluindo células T CD4+ e CD8+, células B, células natural killer (NK) e células dendríticas. No entanto, em alguns pacientes com COVID-19, a resposta imune pode ser inadequada ou excessiva, levando a complicações graves e até mesmo à morte (GUSEV *et al.*, 2022). Alguns estudos mostram que a resposta imune exacerbada, caracterizada pela liberação excessiva de citocinas pró-inflamatórias, pode levar a uma síndrome de resposta inflamatória sistêmica (SIRS) em pacientes com COVID-19 (CAO, 2020; FAJGENBAUM, 2020; SOY *et al.*, 2020).

Os inibidores de *checkpoint* imunológico desempenham um papel importante na patogênese da COVID-19 e a proteína ligante de morte programada 1 (PD-L1) é uma proteína chave nesse processo (SABBATINO, 2021). PD-L1, também conhecido como B7-H1 e CD274, é uma glicoproteína transmembranar de aproximadamente 65 kDa da família B7 de moléculas reguladoras imunes. É expresso em vários tipos de células, incluindo células imunes ativadas por inflamação, como macrófagos, células T e células B, bem como queratinócitos, células endoteliais, células epiteliais intestinais e em células tumorais (ROSANNA DI TINCO *et al.*, 2021).

Foi revelado que a expressão periférica de PD-L1/PD-L2 a partir de células T CD4+ e CD8+ em pacientes com dermatite atópica leva a uma resposta imune diminuída. Além disso, foi descoberto que a expressão de PD-L1 aumenta com a progressão da doença (WU *et al.*, 2022). Além de que a presença da proteína PD-L1 em tumores está fortemente associada a um prognóstico desfavorável em casos de câncer gástrico, carcinoma hepatocelular, CCR, CE, PC e câncer de ovário (YU *et al.*, 2016).

Assim, com base nos pontos destacados acima, compreender como o papel do gene *CD274* pode auxiliar no entendimento do papel desta via na patogênese da COVID-19 e na melhor compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos, permitindo a possível identificação de pacientes com maior risco de desenvolver doença grave, bem como identificar possíveis alvos terapêuticos.

OBJETIVOS

Avaliar o papel do gene *CD274/PDL-1* no desenvolvimento da COVID-19.

MATERIAIS E MÉTODOS

Trata-se de um estudo retrospectivo, observacional, onde foram analisadas 55 amostras coletadas entre o período de maio de 2020 a junho de 2021, de pacientes diagnosticados com COVID-19 e atendidos em hospitais do município de Uberaba - MG. A quantificação relativa do gene *CD274* foi realizada por PCR em tempo real, após a obtenção do cDNA, por RT PCR, utilizando o equipamento 7500 (Applied Biosystems™). O gene de referência *ACTB* foi utilizado como controle endógeno. Os dados quantitativos foram submetidos ao teste de normalidade de *Kolmogorov-Smirnov* e as comparações estatísticas entre dois grupos realizadas com emprego do teste *Mann-Whitney*. A significância estatística foi definida como $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisadas 55 amostras, com média de idade de 62 anos ($DP \pm 16$), sendo a maioria do sexo feminino ($n=29$, 52,7%) e com comorbidades ($n=37$, 67,2%). As amostras foram analisadas em relação ao desfecho (alta $n=34$ x óbito $n=21$), comorbidade (presença $n=x$ ausência $n=$), idade (≥ 60 $n=31$ x < 60 $n=24$). Os pacientes que foram a óbito foram analisados quanto a presença de comorbidade (Sim $n=15$ x Não $n=6$). Não foram observadas diferenças significativas em nenhuma das análises realizadas (desfecho $p=0,8941$; comorbidade $p=0,0598$; idade $p=0,8564$; relação óbito e comorbidade $p=0,2601$).

O ligante de morte programada 1 (PD-L1) está envolvido na regulação da resposta imune, com um papel na exaustão das células T e estudos têm demonstrado um importante papel desta molécula na progressão COVID-19. Estudo realizado no Brasil por Beserra e colaboradores observou níveis maiores desta molécula no soro de pacientes graves e críticos, indicando que PDL-1 pode estar diretamente relacionado a um pior prognóstico em indivíduos com COVID-19, resultado diferente do encontrado no presente estudo, onde não houve diferença na expressão de PDL-1 em relação ao desfecho.

Já Huang e colaboradores avaliaram pacientes com melanoma que tiveram COVID-19 e mostraram que o bloqueio do ponto de verificação PD-1/PD-L1 beneficia esses indivíduos, restaurando o estado imunocompetente adequado, apresentando sintomas mais leves. Apesar do

presente trabalho não ter observado diferença na expressão de PDL-1 em pacientes com COVID-19 com comorbidades, vale destacar que hipertensão, diabetes, doença cardiovascular entre outras, contribuem significativamente para a gravidade da COVID-19 de acordo com os estudos feitos por Fang e colaboradores em 2020. Essas informações, assim como as pesquisas envolvendo a análise do gene *CD274*, podem contribuir para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas direcionadas e melhora no tratamento dos pacientes com COVID-19.

CONCLUSÃO

Os resultados demonstram que não há relação entre a expressão de *PDL-1* e o o desenvolvimento da COVID-19.

AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer ao Laboratório de Ensino e Pesquisa Hematológicas UFTM e ao CNPq, pela bolsa de iniciação científica.

REFERÊNCIAS

AL-MTERIN, M. A.; ALSALMAN, A.; ELKORD, E. Inhibitory Immune Checkpoint Receptors and Ligands as Prognostic Biomarkers in COVID-19 Patients. **Frontiers in Immunology**, v. 13, 31 mar. 2022.

CAO, X. COVID-19: immunopathology and its implications for therapy. **Nature Reviews Immunology**, v. 20, n. 5, p. 269–270, 2020.

FAJGENBAUM, D. C.; JUNE, C. H. Cytokine Storm. **New England Journal of Medicine**, v. 383, n. 23, p. 2255–2273, 2020.

GUSEV, E. *et al.* SARS-CoV-2-Specific Immune Response and the Pathogenesis of COVID-19. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 3, p. 1716, 2022.

ROSANNA DI TINCO *et al.* Role of PD-L1 in licensing immunoregulatory function of dental pulp mesenchymal stem cells. v. 12, n. 1, 4 dez. 2021.

SABBATINO, F. *et al.* PD-L1 Dysregulation in COVID-19 Patients. v. 12, 7 jun. 2021.

SOY, M. *et al.* Cytokine storm in COVID-19: pathogenesis and overview of anti-inflammatory agents used in treatment. **Clinical Rheumatology**, 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. COVID-19 deaths | **WHO COVID-19 dashboard**. Disponível em: <<https://data.who.int/dashboards/covid19/deaths?n=c>>.

WU, C. *et al.* A change of PD-1/PD-L1 expression on peripheral T cell subsets correlates with the different stages of Alzheimer's Disease. **Cell & Bioscience**, v. 12, n. 1, 30 set. 2022.

YU, J. *et al.* PD-L1 expression in human cancers and its association with clinical outcomes. **OncoTargets and Therapy**, v. Volume 9, p. 5023–5039, ago. 2016.



Diretório Acadêmico
Valéria Fazan



Fundação de Ensino e
Pesquisa de Uberaba



FAPEMIG



contato@literacienciaeditora.com.br



www.literacienciaeditora.com.br/



(99) 9 8815-7190 | (86) 9 9985-4095



@LiteraciaCientifica



/LiteraciaCientifica



/company/literacienciaeditora



contato@literaciacientificaeditora.com.br



www.literaciacientificaeditora.com.br/



(99) 9 8815-7190 | (86) 9 9985-4095



@LiteraciaCientifica



/LiteraciaCientifica



/company/literaciacientificaeditora