



Apresentam:

VII Simpósio de Neurociências da UFF

II Simpósio de Neurociências UFF-Fiocruz

**“Neurociências sem Fronteiras – 20 Anos do PPG
Neurociências/UFF”**

Livro Oficial de Resumos

1. CARACTERIZAÇÃO DO SISTEMA ENDOCANABINOIDE EM CÉLULAS DE RETINOBLASTOMA HUMANO

Adrielle Christina Silva de Paiva 1, Heitor Roque Oliveira Alves Da Cruz 1, Lucianne Frangel-Madeira 1

1 UFF - Universidade Federal Fluminense (Alameda Barros Terra, s/n - Centro, Niterói - RJ, 24020-150)

O retinoblastoma é o tumor maligno intraocular infantil mais comum, levando a cegueira. O sistema endocanabinoide já foi mostrado como um sistema neuromodulatório muito promissor no tratamento de tumores. Logo, estabelecer uma relação modulando o mesmo poderia interferir no prognóstico do retinoblastoma. O sistema endocanabinoide é complexo e está presente em todo o corpo, envolvido em vários mecanismos fisiológicos, bem como em condições fisiopatológicas. Este sistema é composto pelos dois receptores clássicos, o receptor canabinoide tipo 1 e 2 (rCB1 e rCB2), seus ligantes endógenos Anandamida (AEA) e o 2-araquidonoil glicerol (2-AG) e suas enzimas de síntese fosfolipase D e DAG-lipase. As enzimas de degradação desses ligantes são a amida hidrolase de ácidos graxos (FAAH), monoacilglicerol lipase (MGL). Ainda cabe ressaltar que a superfamília de receptores de potenciais transitórios (TRPs) está intimamente relacionada ao sistema endocanabinoide, especificamente o receptor de potencial transitório anquirina tipo 1 (TRPA1) um canal catiônico permeável ao cálcio. Sendo assim, o objetivo deste projeto foi analisar a presença de alguns componentes do sistema endocanabinoide, os receptores CB1, CB2, TRPA1 e a enzima FAAH, em cultura de células da linhagem Y79 de retinoblastoma humano. Células de retinoblastoma da linhagem Y79 foram cultivadas em garrafas de 25 cm² em meio RPMI 1640 suplementado com 10% soro fetal bovino, 1% L-glutamina, 100 U/ml penicilina e 100 µg/ml estreptomicina a 37°C em uma atmosfera com 5% CO₂. As células foram mantidas em suspensão com a concentração máxima de 2x10⁶ células/mL. As células foram processadas para extração de proteínas para posterior análise por Western Blotting e também para Imunofluorescência. Com isso, verificamos uma intensa marcação peri-citoplasmática para CB1, CB2 e TRPA1 nas células Y79 por imunofluorescência mostrando a imunomarcação nas membranas das células do retinoblastoma. Entretanto, a imunomarcação para FAAH se mostrou ausente por esta técnica. Para confirmar estas expressões foi realizada a técnica de Western Blotting, resultando na confirmação da presença de CB1, CB2 e agora também da FAAH. Contudo, as bandas marcadas para o TRPA1 foram irregulares com relação a seu peso molecular, o que se justifica pela inaplicabilidade do anticorpo para esta técnica. Diante dos resultados, caracterização dos componentes do sistema endocanabinoide nesta linhagem de células de retinoblastoma possibilita maiores estudos sobre o tema, permitindo também estabelecer uma possível intervenção terapêutica no futuro.

Apoio financeiro: CNPq, Faperj, Proppi-UFF.

Palavras-chaves: Retinoblastoma, Endocanabinóide, Y79.

2.IMPACTO DO TRATAMENTO CRÔNICO COM CAFEÍNA SOBRE O SISTEMA VISUAL DE RATOS

Campos, Adrienne Dias¹, Campello-Costa, Paula¹

¹Laboratório de Neuroplasticidade, UFF, Rio de Janeiro, Brasil

A cafeína é a droga psicoativa mais consumida no mundo e em doses diárias normalmente ingeridas através do café, age sobre os receptores de adenosina como um antagonista não-seletivo. Em estudos anteriores, nosso grupo viu que o tratamento crônico com cafeína em ratos gera um aumento na plasticidade natural do sistema visual, mais especificamente do colículo superior, dentro e fora do período crítico em doses comparativas com o consumo diário humano. Para se avaliar o perfil dessas novas conexões causadas pelo consumo de cafeína, verificamos o nível de expressão da subunidade constitutiva do receptor de glutamato NMDA – GluN1 e os níveis dos receptores de adenosina A1 e A2A. Para tal, usamos ratos da linhagem Lister Hooded submetidos a tratamento oral com cafeína (1mg/mL), ad libitum, do dia pós-natal(DPN) 21 até o DPN 40. Fizemos também um tratamento com maior período de exposição de DPN 21 a DPN 70. Alternativamente, os animais do grupo controle receberam água durante o mesmo período dos respectivos grupos de cafeína e reversão. Por fim, para avaliar se a suspensão do tratamento reverteria os padrões encontrados, fizemos um grupo reversão que recebeu cafeína de DPN 21 até o DPN 40 e a partir desse dia receberam água até o DPN 70. Fizemos análises através das técnicas de Western Blotting e Imunofluorescência. Os resultados mostraram que a expressão dos receptores A1 no grupo de animais DPN 40 tratados com cafeína parece diminuída em relação ao grupo controle e a expressão do receptor A2A aumentada nessa mesma idade. No grupo de animais DPN 70, o grupo tratado com cafeína parece aumentar a expressão dos receptores A1 e diminuir a de A2A. Em relação à subunidade GluN1, embora o conteúdo global visto por Western Blotting não tenha se modificados entre os grupos, a análise celular demonstrou uma localização distinta nos animais tratados com a cafeína, com aparente aumento nas regiões visuais do colículo superior. O grupo reversão revelou que parte dos efeitos causadas pelo consumo prolongado da cafeína é perdido no DPN 70. Mais análises precisam ser feitas para conclusão dos dados.

3. MODULAÇÃO DA FOSFORILAÇÃO DA AKT E PRODUÇÃO DE ÓXIDO NÍTRICO INDUZIDOS PELO ASCORBATO EM CULTURAS DE CÉLULAS DA RETINA

Aline Teixeira Duarte Silva., Ivan Carlos de Luca Domith Gallo., Roberto Paes de Carvalho

Programa de Neurociências, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil

Introdução: O ascorbato (AA), forma reduzida da vitamina C, tem importantes funções no Sistema Nervoso. Já foi observado que o sistema glutamatérgico está envolvido com a liberação de AA pela reversão do transportador de vitamina C dependente de sódio (SVCT2) em células da retina. O AA pode regular os níveis de glutamato extracelular, diminuindo sua captação, e é capaz de inibir a captação de glutamato pela inibição do transportador de aminoácido excitatório do glutamato 3 (EAAT3). Além disso, devido à inibição da captação de glutamato, observou-se aumento dos níveis de glutamato extracelular.

Objetivos: Investigar se o AA poderia ativar vias de sinalização envolvidas com a atividade glutamatérgica, mais especificamente, a via AKT.

Métodos: Culturas de células da retina foram preparadas usando embriões de galinha com 8 dias de idade. No terceiro dia em cultura, as células foram tratadas por 30 minutos com AA 1,5 mM. Para a análise do nível de fosforilação de AKT, utilizou-se o ensaio de western blot. Os dados foram normalizados em relação aos valores de controle de cada grupo e expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). Para análise estatística foram utilizados pós-teste One-way Anova e Bonferroni no programa GraphPad Prism versão 6.01. Os experimentos foram realizados em conformidade com o Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEPA) da Universidade Federal Fluminense (número 00146/09).

Resultados: Observou-se que o AA aumenta significativamente a fosforilação da AKT (Controle 100%; AA $231,3 \pm 55,1\%$). Em seguida usamos MK801, um antagonista do receptor NMDA, e DNQX, um antagonista do receptor AMPA / kainato, para explorar o envolvimento do receptor de glutamato ionotrópico nesse efeito. Tanto o MK801 quanto o DNQX inibiram a fosforilação da AKT induzida pelo AA (Controle 100%; AA $291,3 \pm 63,5\%$; MK801 $67,8 \pm 13,0\%$; MK + AA $148,1 \pm 23,1\%$; DNQX $26,6 \pm 7,4\%$; DNQX + AA $74,9 \pm 16,1\%$). A ativação dos receptores NMDA aumenta a permeabilidade celular ao Ca^{2+} e isso pode levar à produção de óxido nítrico. Dessa forma, usamos o BAPTA-AM, um quelante de Ca^{2+} , e o 7NI, um inibidor seletivo da óxido nítrico sintase. BAPTA-AM e 7NI inibiram o efeito do AA na fosforilação da AKT (Controle 100%; AA $176,4 \pm 23,7\%$; BAPTA-AM $72,3 \pm 41,4\%$; BAPTA + AA $34,3 \pm 6,0\%$; 7NI $80,9 \pm 14,0\%$; 7NI + AA $67,3 \pm 18,7\%$).

Conclusões: O AA é um modulador da ativação de receptores de glutamato em células neuronais. Esses dados sugerem um novo papel desempenhado pelo AA na fosforilação da AKT e na via de sinalização do óxido nítrico.

Financiamento: FAPERJ, CNPq, PROPPi/UFF, CAPES.

4. CHARACTERIZATION OF THE COLINERGIC SYSTEM IN THE COLON OF MOUSE MODEL PARKINSON'S DISEASE INDUCED BY 6-OHDA.

1MUSSAUER, Amanda; 1THOMASI, Beatriz; 1VALDETARO, Luisa; 1HAYASHIDE, Livia; 1SERFATY, Claudio Alberto; 1CAMPELLO, Paula; 1MELIBEU, Adriana; 1RIBEIRO, Manuel Gustavo; 2,3MOURA NETO, Vivaldo; 1TAVARES GOMES, Ana Lúcia.

1 UFF (Universidade Federal Fluminense), Instituto de Biologia; Departamento de Neurobiologia Laboratório da Interação Neuro-Glial; 2 Instituto Estadual do Cérebro Paulo Niemeyer; 3 Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Instituto de Ciências Biomédicas

Introduction: Parkinson's disease (PD) is the second neurodegenerative disease that affects more people all over the world. Recent studies have shown that the effects of PD are not only associated with the Central Nervous System (CNS) but also with the Enteric Nervous System (ENS). Gastrointestinal disorders such as slow colonic transit and dyssynergic defecation, are among the main non-motor symptoms of PD. The cholinergic circuitry compose one of the major neurotransmitter systems in the ENS, being related both to gastrointestinal tract motility and the activation of the cholinergic anti-inflammatory pathway from the action of the $\alpha 7$ nicotinic receptors, being thus an important target of study.

Objective: The goal of this study was to characterize the cholinergic system in the colon of mouse model of Parkinson's Disease (PD) induced by administration of 6-hydroxydopamine (6-OHDA).

Methods: Adult C57B16 mice were treated with 6-OHDA to the induction of PD model with stereotactic surgery. After the surgical procedure, we worked with different survival times: 1, 2 and 4 weeks. The tissue were processed for the enzymatic evaluation of acetylcholinesterase (AChE) and immunofluorescence for staining the nicotinic $\alpha 7$ receptor with the sc-5544 Santa Cruz antibody. Statistical analysis was performed using GraphPad Prism5 and one-way ANOVA with Tukey post test.

Results: In the mucosa layer, after 1 week post-lesion, the animal model of PD showed a significant decrease in activity of AChE ($p=0,0213$). At 2 and 4 weeks of survival, we observed no significant differences related to the mucosa layer of the colon, with a p-value of 0,4886 and 0,8181 respectively. In the neuromuscular layer, we observed a significant decrease in the enzymatic activity in 6-OHDA treated animals with 1 and 2 weeks of survival ($p=0,0216$ e $p=0,0444$ respectively) but not in the 4-week group ($p=0,3120$). Related to the $\alpha 7$ nicotinic receptor, we observed a decreased expression at 1 and 2 weeks post-surgery in the colonic neuromuscular layer.

Conclusion: The animal model of PD induced by 6-OHDA demonstrated changes in cholinergic system, with both an AChE activity and $\alpha 7$ nicotinic receptor expression diminish. We suggest that this scenario leads a disruption of the intestinal cholinergic anti-inflammatory pathway, that could be part of the inflammatory alteration present in this model.

5.MODELO EXPERIMENTAL 6-OHDA INDUZ MODULAÇÃO TEMPORAL DE DARPP-32 NO ESTRIADO DE CAMUNDONGOS

Fernandes, A.C.M.N; Ribeiro, M.G.L., Serfaty, C.A.; Campello-Costa, P; Faria-Melibeu, A.C.

A Doença de Parkinson (DP) é uma doença neurodegenerativa em que há severo comprometimento motor devido à degeneração progressiva e específica de neurônios dopaminérgicos da substância nigra. A fosfoproteína regulada por dopamina e AMPc de peso molecular 32 kDa (DARPP-32) é encontrada em neurônios estriatais. Além da dopamina, sua fosforilação e atividade podem ser moduladas por outros neurotransmissores, peptídeos e neuromoduladores, estando envolvida na integração de múltiplos sinais que chegam ao estriado. Nosso objetivo foi investigar os níveis protéicos de DARPP-32 total no estriado de camundongos 6-OHDA durante diferentes sobrevidas. Todos os procedimentos experimentais foram conduzidos de acordo com o Comitê de Ética de Pesquisa Animal (CEPA/No. 244/14). Camundongos adultos C57Bl6 foram anestesiados, submetidos à cirurgia estereotáxica onde foi realizada injeção estriatal unilateral de 6-OHDA (2µl, 0,5 µl / 5 min) seguindo coordenadas específicas e mantidos por 1, 2 ou 4 semanas no biotério. Animais aprovados no teste de comportamento rotacional com apomorfina foram eutanasiados e o estriado dissecado para análises bioquímicas. Nossos dados mostram que, ao longo da janela temporal estudada, os camundongos apresentam rotação contralateral e dificuldades na coordenação motora durante as primeiras 2 semanas, com diminuição na quarta semana. Na análise bioquímica estriatal observamos que, em relação ao estriado controle, ocorre redução nos níveis estriatais de DARPP-32 total na sobrevida de 2 semanas (50%) e que essa queda persiste de maneira menos intensa na sobrevida de 4 semanas (20%). Esses dados sugerem que possa estar ocorrendo um remodelamento nas conexões estriatais envolvendo a fosforilação de DARPP-32 no estriado lesionado e que este possa estar contribuindo para a melhora parcial do comportamento motor observado em animais submetidos à lesão 6-OHDA.

6.SINALIZAÇÃO PURINÉRGICA NO DESENVOLVIMENTO DE PROGENITORES GLIAIS DE RETINA EM CULTURA

Martins Silva, T., Carvalho, P.S., Cosentino, P.C., Lopes, C.G., França, G.R., Ventura, A.L.M., Departamento de Neurobiologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ.

Lesões e doenças da retina são uma das causas mais importantes de invalidez humana envolvendo a deficiência visual pela perda progressiva e permanente de neurônios da retina. Durante o desenvolvimento, a montagem deste tecido requer o engajamento de mecanismos dependentes de sinais, sucessivos e sobrepostos, que incluem a proliferação de progenitores, a neurogênese, a morte celular, a diferenciação neuroquímica e a sinaptogênese. Durante uma lesão da retina, vários destes mecanismos são reativados com consequências tanto benéficas quanto prejudiciais. Purinas e pirimidinas assim como seus metabólitos têm surgido como moléculas importantes na regulação do desenvolvimento da retina e de suas respostas a injúrias. Neste tecido, a expressão de diversos receptores P2 tem sido demonstrada, incluindo receptores ligados a canais iônicos (P2X) e receptores acoplados a proteína G (P2Y), a maioria deles envolvidos na modulação dos níveis de cálcio intracelular. Na retina de embrião de galinha, enquanto receptores P2Y2/4 sensíveis ao UTP estão envolvidos na proliferação de progenitores neurais e adesão/migração de células gliais em cultura, a ativação de receptores P2X7 e P2Y1-13 tem sido implicada na morte neuronal e proliferação de progenitores gliais, respectivamente. Além de nucleotídeos, neurotransmissores clássicos como adenosina, dopamina e PACAP e fatores tróficos como o EGF também têm sido associados com o desenvolvimento da retina. Neste trabalho, nós investigamos o envolvimento de alguns destes neurotransmissores na proliferação e crescimento de progenitores gliais da retina induzidos por nucleotídeos. Nossos dados revelam que enquanto a inosina derivada do metabolismo de adenosina contribui para a proliferação de progenitores gliais induzida por ADP, o crescimento, adesão e migração de células gliais de culturas mais diferenciadas são determinados pelo balanço entre a formação de AMP cíclico induzida por PACAP e o aumento de cálcio intracelular induzido por UTP. Outros dados mostram ainda que a estimulação de receptores canabínicos é capaz de induzir morte celular na retina através de um mecanismo dependente de ativação de receptores P2X7 de ATP.

Suporte financeiro: CAPES, CNPq, PROPPi-UFF, FAPERJ.

7.ÓXIDO NÍTRICO REGULA A EXPRESSÃO DOS RECEPTORES A2a DE ADENOSINA EM CULTURAS DE RETINA

1Haiidamus, A.B.*, 2Brito, R., 3Paes-de-Carvalho, R., 1Pereira, M.R.

1Laboratório de Sinalização Química do Sistema Nervoso, Programa de Pós-graduação em Neurociências, UFF, Niterói. 2Instituto de Ciências Biológicas e de Saúde, Setor de Fisiologia, UFAI, Maceió. 3Laboratório de Neurobiologia Celular, Programa de Pós-graduação em Neurociências, UFF, Niterói.

Adenosina é um neuromodulador envolvido na liberação de neurotransmissores e neuroproteção. Atua através de 4 receptores: A1, A2a, A2b e A3. Os receptores A2a estão envolvidos em diversos eventos como plasticidade sináptica e neuroproteção. O óxido nítrico (NO) é um mediador gasoso sintetizado a partir da L-arginina através da NO sintase e regula eventos como morte e sobrevivência celular e plasticidade sináptica. Dados prévios do nosso grupo mostraram que SNAP, doador de NO, protege neurônios contra a morte induzida por glutamato. Esse efeito poderia envolver a regulação da expressão dos receptores A2a, já que a ativação destes receptores também modula a excitotoxicidade do glutamato. Nosso objetivo foi avaliar a regulação da expressão de receptores A2a pelo NO. Para isso, culturas mistas de retinas de embrião de galinha foram tratadas em C1 com L-arginina ou inibidores e utilizadas em C3 para experimentos de Western Blot. Também foram realizados tratamentos in vivo em E8. Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da UFF (00146/09). Nossos dados mostram que L-arginina por 48h reduz os níveis proteicos do receptor A2a (controle: $100 \pm 2.5\%$; L-arginina: $54 \pm 12.5\%$; $n=3$; $p < 0.05$), o que não foi observado em 24h (controle: 99.8 ± 12.4 ; L-arginina: 113.8 ± 3.5 , $n=4$). O tratamento com 7-NI, inibidor da NO sintase, bloqueou o efeito da L-arginina (controle: $100 \pm 11.0\%$; L-arginina: $51.8 \pm 7.5\%$; 7-NI: 119.7 ± 13.3 ; L-arginina + 7-NI: 131 ± 11.5 , $n=3$; $p < 0.05$). SNAP também reduziu os níveis proteicos do receptor (controle: $100 \pm 8.1\%$; SNAP: 49 ± 7.6 , $n=3$; $p < 0.05$). A injeção de SNAP em ovos de E8 também reduziu a expressão do receptor A2a após 48 h (controle: 100.8 ± 9.1 ; SNAP: 63.3 ± 1.7 , $n=4$; $p < 0.01$). A inibição dos receptores tirosina kinase (Trk) com K252a também reduziu a expressão dos receptores A2a e não bloqueou o efeito da L-arginina (controle: 100.0 ± 3.1 , L-arginina: 68.0 ± 0.6 , K252a: 53.3 ± 5.8 , L-arginina + K252a: 40.7 ± 10.2 , $n=3$; $p < 0.05$, 0.01 e 0.001). Conclui-se que L-arginina reduz a expressão do receptor A2a por um mecanismo dependente da produção de NO. Esse efeito também foi observado em retinas de embriões injetados em E8 e analisadas em E10, demonstrando que essa regulação também ocorre no tecido durante o desenvolvimento in vivo. Apesar dos receptores Trk serem importantes para a manutenção dos níveis endógenos do receptor A2a, a regulação destes receptores por NO é independente da ativação de receptores Trk.

Apoio: FAPERJ, CNPQ, CAPES, PRONEX-MCT.

8. ESTIMULAÇÃO CRÔNICA COM CAFEÍNA IN OVO ALTERA O PERFIL DE CAPTAÇÃO DE GABA EM RETINAS DE PINTO DURANTE O DESENVOLVIMENTO.

1Souto, A.C., 1Borges-Martins, V.P.P., 1Ferreira, D. D. P., 1Günter, A., 2Reis, R.A.M., 1Kubrusly, R. C. C., 1MFL, UFF, Niterói/RJ, 2IBCCF^o, UFRJ, Rio de Janeiro/RJ

Introdução: A cafeína (caf) possui ação principal no sistema nervoso central (SNC) de antagonizar os receptores adenosinérgicos A1 e A2A. Em retina de aves, a caf demonstrou atuar na potencialização da liberação de GABA induzida por aspartato após exposição aguda de cafeína, via inibição de receptores A1 *Neuroscience*;281 c:208-15 (2014).

Objetivos: Avaliar a captação de GABA em retina de embriões de galinha, após injeção de 100 μ M de caf por 96h in ovo, iniciado na idade embrionária de 11 dias (E11).

Métodos: Foram realizadas injeções de 100 μ M de caf em ovos de galinha Leghorn, em idade embrionária de E11 até E15. Em E15 os experimentos de captação de [3H]-GABA, Western Blotting e ensaio de AMPc foram realizados após dissecação da retina. Para avaliação estatística foi utilizado ANOVA de uma via, seguido de pós-teste de Bonferroni em casos de 3 ou mais grupos experimentais e Teste t não pareado para resultados com 2 grupos experimentais. Os resultados foram expressos como \pm SEM e a significância estatística foi alcançada com $p < 0,05$. O Projeto foi aprovado no #035.

Resultados: A captação de GABA foi inibida após tratamento com 50 μ M de NO-711, bloqueador de GAT1 (Ctrl=0.2946 \pm 0.0304; NO-711=0.0536 \pm 0.0037; [3H]-GABA pmol/mg/hora; $p < 0,005$; n=3). Em seguida foi verificado que em uma curva temporal de administração de caf por 1h, 24 h e 96h somente o ponto de 96h alterava os níveis de captação de [3H]-GABA (Ctrl=1.00; Caf 1h=1.147 \pm 0.035; Caf24h=1.034 \pm 0.111; Caf96h=0.6203 \pm 0.0837; $p < 0,05$; n=3 n=4 n=8). Além disso, verificamos que CHA 100nM, agonista de receptores A1, previne o efeito da caf de 96h (Ctrl=0,2946 \pm 0,030; CHA100nM=0,3244 \pm 0,032; Caf96h=0,1828 \pm 0,024; Caf+CHA=0,3081 \pm 0,036; [3H]-GABA pmol/mg/hora; $p < 0,05$; n=8). A análise de Western Blotting demonstrou que os receptores A1 têm aumento de sua expressão (Ctrl=1; Caf96h=2,045 \pm 0,2957; % tratamento/controle (U.A.); $p < 0,05$; n=3), enquanto que os receptores A2A não apresentam (Ctrl=1; Caf96h=0,9141 \pm 0,3111; % tratamento/controle (U.A.); $p < 0,05$; n=2). A proteína GAT-1 também apresentou aumento em sua expressão (Ctrl=1; Caf96h=1,520 \pm 0,1876; % tratamento/controle (U.A.); $p < 0,05$; n=6). Por fim, observamos o desafio com CHA 100nM (Ctrl=151,3 \pm 18,79; CHA 100nM=76,88 \pm 3,360; níveis de AMPc pmol/mg/hora, $P < 0,05$, n=3) e do tratamento com caf (Basal=151,3 \pm 18,79; Caf 96h 100 μ M=83,11 \pm 19,45; níveis de AMPc pmol/mg/hora, $P < 0,05$, n=3).

Conclusões: GAT-1 e A1 estão funcionais em retina de aves e aumentam sua expressão após o tratamento com caf. O tratamento com caf reduz a captação de GABA após 96h de caf e é revertida com a adição de CHA.

Apoio financeiro CAPES e Proppi-UFF.

Palavras-chaves: AMPc, GABA, Retina.

9.S100 β , GDNF AND OCCLUDIN CONTENT IN THE COLON OF MOUSE MODEL OF PARKINSON'S DISEASE: A POSSIBLE MECHANISM INVOLVED IN INTESTINAL EPITHELIAL BARRIER HOMEOSTASIS

1THOMASI, B., 1VALDETARO, L.,1MUSSAUER, A.,1DA SILVA, M.L.,1CHAUVET, M., 1CAMPELLO, P., 1MELIBEU, A.C.F.,1SERFATY, C., 1RIBEIRO, M.G., 2,3MOURA NETO, V., 1TAVARES GOMES, A.L.

1Departamento de Neurobiologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense;2Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro; 3Instituto Estadual do Cérebro Paulo Niemeyer.

Parkinson's disease (PD) is considered nowadays a gastrointestinal disorder due to the presence of lesions characteristic of PD and dysfunction of gastrointestinal (GI) tract in about 60% of patients. The enteric glia (EG) has fundamental functions for the GI physiology like immunomodulation and regulation of intestinal epithelial barrier (IEB). In our previous results, the animal model of PD induced by 6-hydroxydopamine (6-OHDA) showed a colonic inflammatory response and increased expression of GFAP. Our aim was to study the S100 β - a specific biomarker of glial cells, the glial cell-derived neurotrophic factor (GDNF) and the occluding of IEB in the colon of the animal model of PD. The animal model of PD was performed through the unilateral striatal injection of 6-OHDA in C57BI6 male mice (2-3months). Another group of animals operated uninjured was used as the control. The animals had 1week of survival time post-lesion. Colonic samples enriched in neuromuscular and mucosal components were submitted to Western blotting. We also performed immunofluorescence for S100B. Statistical analysis was performed using unpaired test t of Graph Pad Prism5 where p-value<0,05 were considered significant. Approval code of ethics committee on animal experimentation: 617/2014. We detected an S100 β decrease (p=0,0199, n=4) in the colonic neuromuscular layer in the animal model of PD. In this same compartment, we found an increase in GDNF expression (p=0,0175, n=3). We also detected an increase of GDNF in the mucosal layer (p=0,0395, n=3) along with an increase of occluding expression (p=0,0315, n=3) in the colon of the animals submitted to the model of PD. The enteric response elicited by 6-OHDA administration promoted an alteration in S100B, GDNF and occludin protein. Our previous results presented an increase of GFAP content in the same colonic layer where S100B is decreased suggesting that the 6-OHDA model of PD promoted a modification in colonic EG subpopulations. In the mucosal layer, modulation of GDNF and occluding could be a response of the inflammatory state already shown in our work, since GDNF has been associated with tight junction integrity and with the preservation of IEB. So, we propose that the disruption in EG subpopulations in myenteric ganglia could induce a protection mechanism that involves GDNF enhancing barrier function through occluding regulation.

CAPES, FAPERJ, Proppi-UFF.

10. EVALUATION OF IMMUNOPATHOGENIC MECHANISMS ASSOCIATED WITH DEMYELINATION IN LEPROSY

Beatriz Junqueira de Souza¹ ; Marina Scharra Rangel Nery de Souza¹ ; Roberta Olmo Pinheiro¹; Euzenir Nunes Sarno¹ , Bruno de Siqueira Mietto²

1- Leprosy Laboratory, Oswaldo Cruz Institute/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brazil

2- Institute of Biological Sciences/UFJF, Juiz de Fora, Brazil

Introduction and objective: Leprosy is a chronic infectious disorder caused by the intracellular pathogen *Mycobacterium leprae* (ML), which has unique tropism for Schwann cells. During leprosy neuropathy, the demyelination phenotype is frequently observed in infected nerves, highlighting the importance of understanding the mechanisms related to myelin dysfunction during bacilli infection. After nerve injury, Schwann cells acquire a dedifferentiated phenotype that is induced by autophagy-related mechanisms. In this regard, recent reports have provided evidence that demyelination induced by nerve trauma is mediated by autophagy-related proteins (ATG7, ATG9, ULK complex, ATG7, WIPI2 and Beclina-1). In addition, our group have also demonstrated the involvement of pro-inflammatory cytokines in mediating myelin loss during leprosy infection. However, the interplay of autophagy-related mechanisms and inflammation during demyelination in Leprosy disorders is largely unknown. Thus, the objective of this study was to interrogate potential crosslink between inflammatory cytokines and autophagy pathways in a model of myelin breakdown in Schwann cells.

Materials and Method: For myelin-loaded Schwann cell cultures (SC), sciatic nerves were extracted from Balb/C mice. The epineurium was stripped off and SC were obtained after enzymatic and mechanical dissociation. Different stimuli were offered to the SC - live and irradiated *M. leprae* (MOI 50:1) and rTNF- α (1 ng/mL) - during an interval of 24h and 72h of exposure in vitro.

Results and Conclusion: We observed that ML infection enhanced myelin degradation in SC as compared to control ones. Moreover, the myelin loss was further accelerated in the presence of rTNF- α . Overall, the present data demonstrated the pathological role of ML in accelerating myelin breakdown in Schwann cells. Also, we observed that TNF- α exposure enhanced myelin loss in infected cells. As a next step of this study, we propose to perform the autophagy flux to identify a possible target related to neural damage in Leprosy neuropathy.

11.EFEITO DA INGESTÃO DE CAFEÍNA DURANTE A LACTAÇÃO SOBRE O COMPORTAMENTO E SISTEMA GLUTAMATÉRGICO DA PROLE DE RATOS

1Bruna Teixeira Silva, 1Paula Campello Costa Lopes

1 PPG Neurociências, Instituto de Biologia, UFF, Rio de Janeiro.

Introdução: O sistema nervoso ainda está em desenvolvimento no período pós-natal, o que faz com que as suas conexões ainda estejam susceptíveis a influências do meio externo. A cafeína é a droga psicoativa mais consumida no mundo, estando presente em diversos alimentos e medicamentos. Ela é capaz de ultrapassar tanto a barreira hematoencefálica, quanto passar através do leite materno, modulando assim os circuitos neurais e afetando o desenvolvimento pós-natal.

Objetivos: Investigar os efeitos indiretos da cafeína, durante a lactação, no comportamento e plasticidade do hipocampo (HPC) da prole de ratos.

Metodologia: O trabalho foi aprovado pelo comitê de ética da UFF (#802). Foram utilizados ratos da linhagem Lister Hooded, e a partir do dia do nascimento dos filhotes, as mães foram submetidas ao tratamento oral com cafeína na concentração de 1g/L até o final do período de lactação no 21º dia pós-natal (DPN). Os animais controle receberam água. A partir do DPN24 foram realizados 3 dias de testes comportamentais. Em seguida, o hipocampo dos animais foi processado para western blot ou imunofluorescência para as subunidades dos receptores NMDA. Foram aplicados os Teste-T e Anova One Way, sendo considerados significativos os valores de $p < 0,05$.

Resultados: Nossos resultados demonstraram um perfil do tipo ansioso nos filhotes que receberam cafeína indiretamente, visto que apresentaram uma maior defecação (ctl: n=15; caf: n=14, $p=0,0376$) e uma menor porcentagem de cruzamentos no centro do campo aberto (ctl: n=15; caf: n=14, $p=0,0261$) em relação aos controles. Não houve diferenças em relação a locomoção total (ctl: n=15; caf: n=14, $p=0,1755$), vertical (ctl: n=15; caf: n=14, $p=0,4106$) e grooming (ctl: n=15; caf: n=14, $p=0,1181$). Não houve diferenças nos testes de memória de habituação (ctl: n=15; caf: n=14, $p=0,1920$) e reconhecimento de objetos (ctl: n=7; caf: n=5, $p=0,471$). O conteúdo de GluN1 (ctl e caf: n=6, $p=0,3269$) e GluN2A (ctl e caf: n=14, $p=0,1498$) permaneceram iguais no dHPC e vHPC dos animais. Contudo, detectamos um aumento da subunidade GluN2B no dHPC dos animais que receberam a cafeína (ctl e caf: n=6, $p=0,0125$), diminuindo assim a razão GluN2A/GluN2B no no dHPC do grupo cafeína (ctl e caf: n=6, $p=0,0305$).

Conclusões: Os animais que receberam o tratamento indireto de cafeína apresentaram um perfil tipo ansioso e de possíveis prejuízos de memória. Além disso, razão entre GluN2A/GluN2B no dHPC se mostrou alterada após tratamento com a cafeína, sugerindo um perfil mais imaturo de sinapses, quando comparado ao controle. Com isso, podemos concluir que a ingestão de cafeína durante a lactação leva a alterações prejudiciais no desenvolvimento das conexões e comportamento da prole.

Apoio: CNPq, FAPERJ, CAPES, PROAP-UFF

12. BLOCKADE OF FAAH ENZYME INDUCED NEUROPROTECTION IN A MURINE MODEL OF RETINITIS PIGMENTOSA

Magalhães, C. F and Fragel-Madeira, L.

Department of Neurobiology, Fluminense Federal University, Niterói/RJ.

Retinitis pigmentosa (RP) is an inherited retinopathy manifested by degeneration of photoreceptor cells and its last step is blindness. Endocannabinoid system has protective activity and two main enzymes which control endocannabinoid levels are the fatty acid amide hydrolase (FAAH) and monoacylglycerol lipase (MAGL). We aimed to blockade FAAH pharmacologically in a murine model of RP, the PDE6 β rd10/rd10. We performed injections of URB597 (FAAH inhibitor) either intraperitoneally (i.p 0.3mg/kg – began at P13 and finished at P18 or P24) or intravitreally (i.v 30nM/100nM/300nM – one injection at P18) and evaluated: photoreceptor cells by immunofluorescence for recoverin, cell death by TUNEL assay, reactive gliosis using GFAP marker and microglial infiltration by immunofluorescence for Iba-1. This project agrees with the Ethical Principles for Animal Experimentation and obtained approval for implementation by Ethics Committee on Animal Use (CEUA) under protocol number 679/2015. All the quantitative data was performed by GraphPad Prism v.7.00 using unpaired Student t test with Welch's correction and the p values minors than 0.05 was considered significant. As results, URB597 i.p injections increased the number of photoreceptor cells increased 45% in treated animals (496.5 ± 2.6) when compared to control (331.5 ± 35.6) at P19, whereas at P25 treated animals (320.0 ± 43.5) versus control (280.4 ± 36.9) this increase was about 15%. Meanwhile, i.v injections increased about 30% in the concentrations 30nM and 100nM but 300nM did not alter the number of photoreceptors cells at P19. The same occurred with the thickness (μm) of the ONL, where photoreceptor cells are found in the retina. The P19 treated animals showed an increase about 50% compared to controls animals (control= 0.0017 ± 0.003 , URB597= 0.0025 ± 0.003), but this effect was lost at P25 animals (control= 0.0015 ± 0.001 , URB597= 0.0016 ± 0.002). Concurrent with the photoreceptors number increase, was also seen a decrease of cell death in the ONL at P19 animals (control= 0.028 ± 0.0004 , URB597= 0.015 ± 0.004) and at P25 (control= 0.019 ± 0.0002 , URB597= 0.014 ± 0.002). Cell death decreased 30% succeeding i.v injection (30nM and 100nM). Analysis of glial cells revealed that i.p. injections decreased GFAP fluorescence intensity in 35% whereas microglial number in the ONL remains the same. We conclude that anandamide may provide a neuroprotective effect rescuing photoreceptors from cell death. Therefore, the endocannabinoid system can be an interesting target of research in the context of RP. The funding support was made by Capes, FAPERJ, CNPq and Proppi-UFF.

13. EVIDÊNCIA DA PRESENÇA DO FATOR NEUROTROFICO DOPAMINA CEREBRAL (CDNF) NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL DE UM CRUSTÁCEO

1Gomes, C.A.B.A., 2Corrêa, C.L., 3Foguel, D., 1Allodi, S.

1Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, UFRJ, RJ. 2 Departamento de Fisioterapia, UFRJ, RJ. 3Instituto de Bioquímica Médica, UFRJ, RJ.

Introdução: Os fatores neurotróficos compreendem proteínas importantes em processos de maturação, diferenciação e proliferação celular. No sistema nervoso, podem atuar no desenvolvimento neuronal e de neuritos, plasticidade e crescimento axonal. Somado a isto, tem crescido o número de estudos, em invertebrados e vertebrados, das ações neuroprotetora e restauradora do CDFN, encontrado em neurônios dopaminérgicos e astrócitos (na forma do fator derivado de astrócitos mesencefálicos), em função de sua maior eficácia, quando comparado a outros fatores, na proteção contra eventos degenerativos. Os crustáceos são conhecidos por expressarem fatores neurotróficos com funções homólogas aos vertebrados, já sendo descritos: o fator de crescimento de fibroblasto (FGF), derivado do nervo (NGF), derivado de células gliais (GDNF), derivado do cérebro (BDNF) e vascular endotelial (VEGF), porém ainda não foi descrita a presença do CDFN em crustáceos. Assim, a presença destes fatores pode sugerir mecanismos protetores, indicando-os como bons modelos de estudo de degeneração e regeneração nervosa, como em modelos de indução do parkinsonismo. **Objetivos:** Evidenciar a presença do CDFN no sistema nervoso central (SNC) do crustáceo *Ucides cordatus*. **Métodos:** Todos os procedimentos estão autorizados pelo "IBAMA" (#14689-1, #2440408) e foram realizados em machos com idade em torno de 6 anos. Os animais foram crioanestesiados e preparados para imuno-histoquímica e Western blotting (WB). Na primeira, o SNC foi imerso em paraformaldeído 4% por 30 minutos, incluídos em Paraplast e reagido para os anticorpos anti-CDFN (1:100), TH (1:50) e GFAP (1:100), para verificar o tipo celular que contém o fator. No WB, o SNC foi imerso em coquetel de inibidores, seguido de dosagem proteica. Após a corrida e transferência, foi reagido com o anticorpo anti- CDFN (1:1000), detectado pelo sistema Biotina-Avidina. **Resultados:** A imunofluorescência revelou presença do fator no pedúnculo óptico, marcado nas regiões da lâmina ganglionar, medula externa e medula interna, regiões de processamento sensorial e ricas em neurônios dopaminérgicos e astrócitos-like. No gânglio cerebral foi encontrado nos clusters 6, 9 e 10, locais de controle motor, neurogênese e interconexões, ricas nos mesmos tipos celulares. A dupla marcação mostrou que ambos os tipos celulares possuem o marcador, análogo aos vertebrados. O WB mostrou um peso molecular de 70 KDa, maior que o dos vertebrados. **Conclusão:** Os resultados mostraram que o fator é encontrado nos mesmos tipos celulares que os vertebrados e que poderia atuar em mecanismos de proteção contra eventos neurodegenerativos.

Apoio Financeiro: CNPq e FAPERJ.

14. EXPOSIÇÃO CRÔNICA DE CAFEÍNA ALTERA OS PERFIS DE CAPTAÇÃO E LIBERAÇÃO DE AMINOÁCIDOS EXCITATÓRIOS NO HIPOCAMPO DE CAMUNDONGOS ADOLESCENTES

¹Teixeira, C.H.C., ¹Ferreira M.C., ¹Martins, R.S., ²Sathler, M.F., ¹Kubrusly, R. C. C.

¹Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil

²Department of Biomedical Sciences, Colorado State University, Fort Collins, CO, USA

Introdução: A cafeína (caf) age como um antagonista não seletivo dos receptores de adenosina A1 (A1R) e A2a (A2aR), amplamente distribuídos no hipocampo, interagindo com vários sistemas de neurotransmissores, incluindo o sistema glutamatérgico.

O glutamato desempenha um papel fundamental no hipocampo nos processos de aprendizagem e memória, onde seus receptores (NMDA e AMPA) e seus transportadores (EAATs) têm ação direta na modulação desses processos.

Objetivo: Avaliar a captação e liberação de aminoácidos excitatórios no hipocampo após o tratamento crônico com cafeína.

Métodos: Camundongos suíços, machos e fêmeas, com idades entre 30 e 35 dias pós-natais são injectados subcutaneamente uma vez por dia, durante cinco dias, com 10, 20 e 40 mg/kg de caf ou veículo. Os grupos experimentais são divididos em quatro: Grupo 1 (1h de tratamento = agudo); Grupo 2 (120h de tratamento = vigência); Grupo 3 (120h de tratamento + 120h de retirada = abstinência); Grupo 4 (120 horas de tratamento + 120 horas de retirada + 1 hora de tratamento = desafio). Analisamos a captação e liberação de [³H]-D-ASP de todos os grupos. ANOVA univariada seguido de pós-teste de Bonferroni foram realizados para resultados com 3 ou mais grupos e teste t não pareado para resultados com 2 grupos. Os resultados foram expressos como média ± EPM. Significância estatística foi alcançada com p <0,05. O projeto foi aprovado no CEUA / 968/2017.

Resultados: Realizamos um tratamento subcutâneo com 10, 20 e 40mg / kg de caf nos grupos experimentais. Não houve diferença na captação de [³H]-D-ASP no grupo 1 (basal = 100,0; caf 10 mg/kg = 90,50 ± 6,652; caf 20 mg/kg = 87,75 ± 3,881; caf 40 mg/kg = 91,50 ± 3,403; p <0,05, n = 4); o grupo 2 mostra uma diminuição na captação (basal = 100,0; caf 10 mg/kg = 85,00 ± 8,926; caf 20 mg/kg = 70,43 ± 6,301; caf 40 mg/kg = 68,75 ± 8,960; p <0,05, n = 8), como ocorre no grupo 3 (basal = 100,0; caf 10 mg/kg = 87,40 ± 5,528; caf 20 mg/kg = 81,20 ± 6,857; caf 40 mg/kg = 73,00 ± 6,675; p <0,05, n = 12) e grupo 4 (basal = 100,0 ; caf 20 mg/kg = 88,33 ± 1,716; p <0,05, n = 10). Observamos os níveis de liberação de [³H] -D-ASP apenas com a dose de 20 mg/kg no grupo 2 (basal = 7,016 ± 1,311; caf 20 mg/kg = 5,362 ± 1,069; p <0,05, n = 7) e grupo 4 (basal = 9,450 ± 0,8549; caf 20 mg/kg = 3,717 ± 1,395; p <0,05, n = 4), ambos apresentando redução quando comparados ao controle.

Conclusão: A captação e liberação de aminoácidos excitatórios estão diminuídas no hipocampo pelo tratamento crônico com cafeína. Apoio Financeiro: FAPERJ, CNPq.

15. NEUROPROTECTIVE EFFECTS OF TOPICAL TREATMENT WITH CB2 RECEPTOR ANTAGONIST IN A MURINE MODEL OF RETINITIS PIGMENTOSA

Senos, D.L.1, Magalhães, C.F.1 e Fragel-Madeira, L.1

1 Neurobiology Department – Fluminense Federal University, Niterói – RJ.

Retinitis Pigmentosa is a neurodegenerative disease that causes progressive death of photoreceptors cells and remains without cure. A PDE6 β rd10 (rd10) mice is a model used to study this disease and shows several alterations during disease progression, for example, microglial infiltration through the retinal layers. It is known that endocannabinoid system is altered in others retinal degenerative models. However, its presence in the mice retina is not known during development. In this project we used rd10 mice aiming to analyze if the topical treatment with CB2 receptor antagonist, AM630, alters the disease progression. This project was approved by Ethics Committee on Animal Use (CEUA) protocol number 679/2015. We used control animals (C57Black/6 mice) and rd10, to analyze the microglial infiltration. Based on this result, beginning the daily treatment at P15, in concentrations of 0,1 μ M, 1 μ M and 10 μ M, using DMSO as a vehicle, and finishing at P23. Without treatment or after treatment, the animals had their retinas processed for immunohistochemistry against to recoverin, a photoreceptor marker, and IBA-1, a marker of microglial cells. The quantitative data was performed by ImageJ v1.51h and GraphPad Prisma v7.0, using a One-Way ANOVA and Tukey post-test or Two-Way ANOVA and Dunnett's post-test and p values minor than 0.05 was considered significant. As results, when we analyze the presence of microglia, we noticed an increase on microglial infiltration in outer nuclear layer at P21 (27.1 ± 6.5) and P23 (48.6 ± 6.9). A rate of microglia in the outer nuclear layer/ total microglia per retina shows a peak of infiltrating microglia at P23 (0.55 ± 0.06). According to literature data, the peak of microglial infiltration is at P21, however, in our experimental conditions, this peak was at P23. The topical treatment with AM630 shows a tendency to increase the number of photoreceptors cells, mainly in the concentration of 0,1 μ M. On the other hand, the topical treatment did not change the outer nuclear layer thickness. When analyzing the number of microglial cells, we observed a decrease with topical treatment, mainly in the concentration of 0,1 μ M. According to previous results, that shows an increase in microglial cells and increase in expression of CB2 receptor during degeneration, the topical treatment with CB2 receptor antagonist seems delay the disease progression, increasing the photoreceptor cells and decreasing the microglial cells.

Financial support: Capes, FAPERJ, CNPq and Propri-UFF.

16. SINGLE MODERATE DOSE OF CAFFEINE AMELIORATES ACUTE ISCHEMIC CELL DEATH IN AVIAN DEVELOPING RETINA

1Pereira-Figueiredo, D., 3Brito, R., 2Paes de Carvalho, R., 1Calaza, KC. De-partment of neurobiology

1Laboratory of retinal neurobiology, 2Laboratory of cellular neurobiology, Federal Fluminense University, Niterói, Rio de Janeiro, Brazil; 3Physiology and Pharmacology Sector, Federal University of Alagoas, Maceio, Alagoas.

Introduction: Ischemia is a condition in which the tissue is deprived of blood supply. In the retina, such event is part of several eye pathologies such as glaucoma, and retinopathy of prematurity. Caffeine is a psychoactive compound that inhibits adenosine A1 and A2A receptors. The xanthine exerts beneficial effects in adults, although, developing tissue seem to be affected oppositely when exposed to high concentration of the compound.

Objectives: Here we sought to investigate the effect of moderate doses of caffeine on the avian developing retina submitted to oxygen and glucose deprivation (OGD) for 50 minutes.

Methods and Results: Upon approval of ethics committee (number 197-2012) at sixteen embryonic days (E16), the retinas previously injected to caffeine (30 mg/kg of egg at E14) were processed to different approaches. Caffeine-treated retinas showed lower levels of extracellular LDH (CTR=100±28.38%, n=6; OGD= 309.2±43.98%, n=8; CAF=97.37±32.68, n=6; CAF+OGD=194.1±43.86%, n=6), indicating diminished cell death. Western blot analyzes showed increased levels of signaling proteins including, pERK (CTR=100±25.49%, n=6; OGD=15.56±2.14%, n=5; CAF=369.6±40.5%, n=4; CAF+OGD=28.72±10.10%, n=4), pCREB (CTR=100±16.3%, n=6; OGD=21.70±1.45%, n=5; CAF=191.5±55.97%, n=4; CAF+OGD=32.03±11.02%, n=5), and BDNF (CTR=100±13%, n=5; CAF=170.4±23.9%, n=5) after caffeine exposure. Functional [3H]-MK-801 binding studies revealed that caffeine treatment was increasing NMDA receptor activity (CTR basal = 4.90±1.84 n=3; CAF basal = 18.11±1.58 n=3; CTR stimulated = 15.17±1.10 n=3; CAF stimulated = 19.74±4.72 n=3), and this could contribute to BDNF production, involving ERK and CREB. The K-Cl-cotransporter 2 (KCC2), the main responsible for the maintenance of the chloride inward electrochemical gradient, was decreased (CTR=100±17%, n=8; CAF=54.41±11.03, n=6), probably contributing for increased excitability. Finally, co-injecting an antagonist of the TrkB receptor (K252A) with caffeine, the previous protective effect disappear (CTR=100±33.3%, n=10; OGD=491.4±61.6% n=8; CAF=173.6±25.7, n=9; CAF+OGD=361±35.1%, n=8; K252A=174.9±40.7%, n=6; K252A+OGD=450.6±81.5%, n=6; CAF+K252A=80.54±17.95%, n=6; CAF+K252A+OGD=481.9±96%, n=7) indicating that BDNF should be essential for caffeine effect.

Conclusion: We conclude so far that caffeine at moderate doses seem to exert beneficial effects upon developing retina under ischemic conditions. This effect seems to involve an increased excitability and BDNF production.

Financial support: CAPES, CNPq, Faperj.

17. CAMUNDONGOS COM MALFORMAÇÃO CORTICAL SÃO PREDISPOSTOS À CONVULSÃO FEBRIL E POSSUEM MAIOR QUANTIDADE DE OLIGODENDRÓCITOS

PORTELA, DM 1, PEDRONI, PF 1, PIRES, GN 1, MENDONCA, HR 1

1 Unidade Integrada de Pesquisa em Produtos Bioativos e Biociências UFRJ
Universidade Federal do Rio de Janeiro, Macaé, Rio de Janeiro

Introdução: Malformações corticais durante o desenvolvimento induzem atividade epileptiforme. A excitabilidade é alterada, aumentando atividade recorrente na zona epileptogênica.

Objetivo: Por conta disso, hipotetizamos que córtices malformados seriam propensos a convulsionar quando estimulados, possivelmente por alterações na mielinização.

Materiais e métodos: Para testar essa hipótese utilizamos 4 grupos de animais diferentes: (1) induzimos microgiria em camundongos suíços, no dia pós-natal (DPN)1. Após anestesia com ketamina (100mg/kg) e xilazina (10mg/kg), o crânio foi exposto por incisão com lâmina de bisturi. Uma sonda de cobre a -55°C foi encostada sobre a superfície craniana sobre a região parieto-occipital por 5 segundos. No DPN12, animais submetidos (2) ou não (3) à lesão foram submetidos à convulsão febril por exposição do animal a ar seco a 47-48°C até o aparecimento de uma convulsão tônico-clônica generalizada. O tempo para aparecimento da convulsão foi quantificado. Animais não submetidos a nenhum procedimento foram considerados controles (4). Na idade adulta, após completar três meses (DPN100), o encéfalo dos animais foi retirado para análise histológica utilizando a técnica de imunoperoxidase para verificar o número de oligodendrócitos em áreas pré-determinadas do corpo caloso, das substâncias, branca e cinzenta, da região em que fizemos a lesão, através da marcação anti-CC1. A diferença entre os grupos foi testada utilizando o teste one-way ANOVA seguido de teste de comparação múltipla de Tuckey. Esses experimentos foram aprovados no CEUA UFRJ-Macaé sob o protocolo 0043.

Resultado: A latência, em minutos, até o animal com microgiria apresentar uma crise é menor que a do animal normal (06.44 ± 0.16 x 08.55 ± 0.49 , respectivamente) ($p = 0.0006$). Os animais com microgiria apresentam um número maior de oligodendrócitos, no corpo caloso, do que os animais controle (60.17 ± 5.73) ($p=0.0142$). Todos os animais tratados, convulsão, microgiria e microgiria + convulsão, apresentam aumento do número de oligodendrócitos na substância branca (19.10 ± 5.24 x 13.38 ± 4.41 x 20.60 ± 4.53 , respectivamente) ($p=0.0056$) e na substância cinzenta (13.35 ± 1.40 x 37.27 ± 4.69 x 61.60 ± 5.17 , respectivamente) ($p=0.0050$), comparados aos animais controle. Os resultados foram considerados significativos quando $p < 0.05$.

Conclusão: Os dados sugerem que malformação cortical predispõe o cérebro a sofrer crises convulsivas e promove o aumento de oligodendrócitos, podendo ter mais mielinização causando uma diminuição nos intervalos sinápticos, sendo um dos efeitos que levam à hiperexcitabilidade cortical.

18. PKC ACTIVATION INCREASES RETINAL GANGLION CELLS SURVIVAL DEPENDS ON IL1- β RELEASE

1Ferreira, E.C., 2Oliveira, A.C.R.;3Albuquerque, C.F.G. , 3Castro Faria Neto, H.C. ; 2Serfaty, C; 2Araujo, E.G. ;1Santos, A.A.

1Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Instituto Biomédico, Universidade Federal Fluminense, Niterói – RJ

2 Departamento de Neurobiologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói - RJ, Brasil.

3Departamento de Fisiologia e Farmacodinâmica, Instituto Oswaldo Cruz, RJ.

Introduction:PKC activation is involved in the development of the innervation system, cell survival and differentiation. Our previous work has shown that treatment of retinal cell cultures of neonatal rats with 12-myristate 13-acetate phorbol (PMA) for 48 hours, promotes an increase in retinal ganglion cell survival (RGCs) after axotomy and modulates the intracellular levels of IL-1 β .

Goal:Our objective is to investigate a possible role of IL1- β release in the RGCs survival mediated by PMA treatment.

Methodology:cultures of retinal cells were obtained from Lister Hooded (P2) mice in the presence of 199 medium and / or 50 ng / mL of PMA for different time periods. Protein levels were determined by the Western blotting method. Survival of the RGCs was evaluated by the RGC count, revealed by the Mesulam method. Extracellular levels of IL-1 β were assessed by the ELISA technique. Immunocytochemistry was used to evaluate the colocalization of the CD11B and IL1- β microglial marker. Statistical analysis was performed using unidirectional variance analysis. The experimental procedures were approved by the Animal Research Ethics Committee of UFF (project number 642/15).

Results:Extracellular levels of IL-1 β were evaluated and the results show that PMA treatment does not induce a statistically significant difference in IL-1 β levels after 15 minutes in culture (CT15min: 67.8pg/ml, PMA15min: 147.4pg/ml, n = 8). However it is observed a significant increase after 30 min (CT30min:72,62pg/ml, PMA30 min:288.3pg/ml, n = 8). After this period of time the results show no statistically difference in IL-1 β levels in retinal cell cultures treated with PMA (CT45min: 7.7pg/ml, PMA45min: 92.4pg/ml \pm , n = 6), (CT24h: 43.4pg / ml, PMA24h: 86.6pg/ml, n = 7), (CT48h: 101.5pg/ml, PMA48h: 161pg/ml, n= 5). PMA treatment for 15min and 24h leads to an increase in expression of microglial marker and it is also observed a colocalization of IL1- β with microglial marker, indicating that this cell type could be the source of IL1- β release. The neutralization of IL1- β (anti-IL1-beta 0.1 ng/mL) abolishes the effect of PMA on the increase in RGCs survival (CT4h 100%, CT 48h 54,6% , PMA 120,6% , anti-IL1- β 52,7% , anti-PMA+anti-IL1- β 63,5% , n=3).

Conclusion: Our data suggest that PMA induces IL-1 beta release by microglial cells and that this effect is involved in the neuroprotective effect mediated by PMA treatment on RGCs after axotomy.

19. PAPEL DO SISTEMA ENDOCANABINOIDE NO DESENVOLVIMENTO DA RETINA

Cosendey Bockmann, E, Ventura, ALM, França, GR, Calaza, KC. Departamento de neurobiologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Rio de Janeiro

INTRODUÇÃO: O sistema endocanabinoide (EC) estão presentes e regulam fenômenos do desenvolvimento do sistema nervoso central. Na retina de embrião de galinha também já foi demonstrado a presença dos componentes do sistema endocanabinoide. Contudo, seu funcionamento e papel durante o desenvolvimento da retina ainda é desconhecido.

OBJETIVOS: Caracterizar e demonstrar a presença dos receptores CB1 e CB2 na retina em várias idades do desenvolvimento e investigar o papel do EC no desenvolvimento da retina.

MÉTODOS: Aprovação comitê de ética no 197. O conteúdo proteico dos receptores canabinoides em retina embrionária (E) de galinha (E6, E8, E10, E12, E14, E16, E18) e pós-eclosão (PE) foi avaliado por western blot, com anticorpos primários anti-CB1 e anti-CB2 (1:1000). Para confirmar a presença dos receptores na cultura processamos por imunocitoquímica, com anticorpos anti-CB1 1:100, CB2 1:150 e 2M6 1:200 (marcador glial). Para avaliar proliferação, culturas de células foram tratadas por 24 h com URB597 (inibidor da enzima FAAH; 0,01 uM, 0,1 uM, 1 uM), URB602 (inibidor enzima MAGL; 10 uM, 50 uM, 100 uM) e os antagonistas CB1 AM251 (1 uM) e CB2 AM630 (1 uM). Incubamos as culturas com [3H]-timidina (0,2 µCi) por 1 h e medimos a radioatividade por cintilação líquida. Para avaliar a morte celular utilizamos o mesmo protocolo de tratamento e realizamos o ensaio colorimétrico de atividade de MTT. O teste estatístico utilizado foi o One-way ANOVA, com $p < 0,05$ sendo considerado significativo.

RESULTADOS: Os dados sugerem que não há diferenças significativas entre as idades E10-PE (n=2). O receptor CB2 não apresenta diferença significativa entre as idades. A imunocitoquímica revelou a presença dos receptores CB1 e CB2 nas culturas de retina, tanto em neurônios quanto glias (n=2). O tratamento com o URB597 (0,01 uM, 0,1 uM e 1 uM) não altera a proliferação (n=5). Já o tratamento com o URB602 (10 uM, 30 uM, 50 uM) inibe a proliferação de modo dependente da concentração (n=2). O dado preliminar utilizando antagonistas de receptores CB1 (AM251, 1uM) ou CB2 (AM630, 1 uM) indica que o efeito depende da ativação desses receptores (n=1). O tratamento com URB602 50 e 100 uM, mas não URB597, induz intensa morte celular (por volta de 80%).

CONCLUSÃO: Há receptores CB1 e CB2 na retina de embrião de galinha, e aparentemente não há alterações ao longo do desenvolvimento. O tratamento com URB602, mas não URB597, diminui a proliferação e induz morte de células de retina em cultura. Esses dados sugerem que o endocanabinoide envolvido seja 2-AG, e não anandamida. Ambos os fenômenos do desenvolvimento parecem ocorrer via receptores CB1 e CB2. Os mecanismos pelos quais esses efeitos ocorrem ainda serão estudados.

APOIO FINANCEIRO: CNPq, Faperj, PIBIC/UFF.

20. PROJEÇÕES RETINOFUGAIS, MARCADORES COLINÉRGICOS E GLUTAMATÉRGICOS EM MODELO DE DEGENERAÇÃO DE RETINA(RD10).

1Vieira, F.B., 1 Menezes, G. D., 1Campello-Costa, P. 1 – Programa de PG em Neurociências, Universidade Federal Fluminense-RJ.

Introdução: Através da visão podemos perceber/interagir com os seres e o ambiente no qual vivemos. A experiência visual tem início na retina, mais precisamente nos fotorreceptores, que transmitem os sinais visuais através das células ganglionares para alvos subcorticais como núcleo geniculado lateral dorsal (NGLd) e colículo superior (CS). A retinose pigmentar (RP) engloba um grupo de doenças genéticas hereditárias que levam à degeneração dos fotorreceptores e do epitélio pigmentar. Inicialmente o paciente apresenta perda da visão periférica e progressivamente perda da visão central. Ocasionalmente a cegueira. Os modelos animais têm sido bastante úteis para ampliar nosso entendimento acerca de determinadas doenças. Neste trabalho, investigamos o camundongo RD10 (slow retinal degeneration), um modelo de RP autossômica recessiva, com mutação na fosfodiesterase 6 β e apresenta o pico de degeneração dos fotorreceptores no dia pós-natal 20 (DPN20). **Objetivos:** Avaliar as projeções retinofugais em animais RD10 comparando-os aos animais controles em diferentes etapas do desenvolvimento e avaliar a maturação sináptica na retina e no colículo superior, através da expressão e conteúdo de subunidades de receptores: glutamatérgicos do tipo NMDA (GluN2b); nicotínico (β 2) além do EGR, um gene relacionado a atividade neural.

Metodologia: Animais em diferentes idades pós-natal receberam injeção intravítrea de HRP, um traçador neuroanatômico ou foram eutanasiados para análise de conteúdo proteico por western blotting. O projeto foi submetido ao comitê de ética e inscrito sob o protocolo 802.

Resultados: Nossos resultados indicam que as projeções retinofugais são normalmente formadas e mantidas até a idade adulta, mesmo após a total degeneração do fotorreceptor. Além disso, o conteúdo da subunidade Beta2 do receptor nicotínico não sofreu variação na retina nas idades avaliadas. A análise do conteúdo de EGR no colículo superior parece aumentar a partir de DPN25 e a subunidade beta 2 em DPN60. Por outro lado, o conteúdo de GluN2b está diminuído em todas as idades estudadas.

Conclusões: Em conjunto os resultados sugerem que a manutenção das projeções retinofugais nos animais RD10 possa estar sendo mantida pela sinalização colinérgica via receptores contendo subunidade beta 2 e ainda por alterações na sinalização glutamatérgica.

Apoio financeiro: CAPES.

21. ESTUDO ONTOGÊNICO DO P75NTF: POSSÍVEL RECEPTOR PARA A PROTEÍNA PRECURSORA DO AMILÓIDE SOLÚVEL α (α APPs) EM MODELO DE PLASTICIDADE NA VIA RETINOCOLICULAR.

Móras-Curty, G.L., Gonçalves,R.G.J., Faria-Melibeu, A.C.

Introdução: A proteína precursora do amilóide (APP) processada pela via não-amiloidogênica gera um fragmento chamado de proteína precursora do amilóide solúvel α (α APPs) com funções neurotróficas e de crescimento neurítico em neurônios de todo sistema nervoso central (SNC). A via retinotectal de ratos vem sendo usada como modelo para investigação dos mecanismos que regem o desenvolvimento e a plasticidade no SNC. Estudos anteriores mostraram uma alteração da plasticidade nesse modelo, quando utilizado nicotina alterando o processamento da APP. O receptor de neurotrofina P75 (P75NTF) é alvo de muitos fatores de crescimento, incluindo fator de crescimento nervoso (NGF), e medeia processos envolvidos com morte celular e sobrevivência. Estudos mostraram em outros modelos que o P75NTF pode se ligar tanto a APP, quanto aos seus fragmentos, gerando respostas diferentes. Quando ligado a α APPs induz crescimento neurítico.

Objetivos: Caracterizar a presença e os níveis do receptor p75NTR nas camadas visuais do CS ao longo do desenvolvimento pós-natal (DPN0 ao DPN70) através da técnica de Western Blot.

Metodologia: O projeto foi aprovado pelo comitê de ética da UFF protocolo de número 00205. Foram usados ratos da linhagem Lister Hooded em diferentes estágios do desenvolvimento pós-natal, desde o DPN0 até o DPN70. Foram dissecadas amostras de colículo superior (CS) para análise bioquímica através da técnica de Western Blot. As análises estatísticas foram realizadas pelo programa Graphpad Prism e foram considerados significativos os valores de $P < 0,05$.

Resultados: O receptor P75NTF foi identificado em todas as idades analisadas, não apresentando diferenças significativas nos níveis proteicos ao longo do desenvolvimento ($n=5$ para cada idade. One-way ANOVA $F=0.1904$, $p=0.9854$, $MS=30822371$ entre colunas).

Conclusão: A presença contínua do receptor P75 nas camadas visuais do CS ao longo do desenvolvimento pós-natal sugere a participação desta proteína nas diferentes etapas do desenvolvimento da via visual, inclusive do refinamento sináptico. Nosso próximo passo se tal receptor é capaz de interagir com a α APPs a fim de elucidar os mecanismos através dos quais os efeitos plásticos induzidos pela nicotina acontecem.

22. INTRAVITREOUS INJECTION OF IL-4 OR IL-6 ALTERS ACETYLCHOLINE AND GLUTAMATE RECEPTORS IN THE RETINOTECTAL PATHWAY

¹Menezes, GD; ¹Serfaty, CA; ¹Campello-Costa, P

¹Neuroscience Program - Fluminense Federal University, Niterói/RJ.

Interleukins can induce many effects in different areas of the central nervous system (CNS), including retina. Interleukin- 4 (IL-4) and interleukin-6 (IL-6) are classically known as anti-inflammatory and pro-inflammatory cytokines, respectively. Previously we showed that either IL-4 or IL-6 intravitreal injection leads to a sprouting in the retinotectal pathway. Modulation on cholinergic or glutamatergic receptors modify the retinotectal map. The aim of this research was to investigate if IL-4 or IL-6 modulate the content of acetylcholine and glutamate receptor subunits in the visual system. The project was approved by the ethics committee of Fluminense Federal University under protocol number 12909. Lister Hooded rats were treated with IL-4 (5U/ μ L) or IL-6 (50ng/mL) in the right eye at PND10. Control matched-group received PBS (vehicle) injection. At PND11 or PND14, retinas and superior colliculus (SC) were processed for western blot. Our results showed no difference in GluN1 content (PBS $n \geq 4$, IL-4 $n \geq 3$, IL-6 $n \geq 3$) in the retina and SC of different groups. However, $\beta 2$ (PBS $n=8$, IL-4 $n=8$, IL-6 $n=8$) and GluN2B (PBS $n=3$, IL-4 $n=3$, IL-6 $n=3$) subunits were increased in both IL-4 and IL-6 treatments and GluN2A subunit (PBS $n=5$, IL-4 $n=4$, IL-6 $n=4$) was decreased in IL-4 treatment in retinal tissue compared to the control animals. In the subcortical target, GluN2B content (PBS $n=3$, IL-4 $n=3$, IL-6 $n=3$) was increased and GluN2A content (PBS $n=4$, IL-4 $n=5$, IL-6 $n=3$) was decreased in IL-4-treated animals. Moreover pGluA1 subunit (PBS $n=4$, IL-4 $n=3$, IL-6 $n=4$) was increased in IL-6-treated animals in the SC compared to PBS treatment. Together, our data provides evidence that acetylcholine and glutamate receptors could be associated to interleukins effects on retinotectal plasticity.

Keywords: Interleukins, retinotectal pathway, plasticity

Financial Support: FAPERJ, CAPES, CNPq, UFF- Proppi

23. INFLUÊNCIA DO EXERCÍCIO E PRÉ-CONDICIONAMENTO NA REGENERAÇÃO NERVOSA PERIFÉRICA DE CAMUNDONGOS

1Assis G.S; 2 Laurindo, R. P.; 1Santos, A.C.R.; 1,2Martinez, A.M. B; 1,3 Marques, S.A.

1Programa de pós-graduação em Anatomia Patológica, UFRJ,RJ;2Faculdade de Medicina, Departamento de Patologia, UFRJ,RJ. 3Instituto de Biologia,Departamento de Neurobiologia, UFF,RJ.

Introdução: As lesões do nervo isquiático (NI) são as mais frequentes nos acometimentos das extremidades inferiores e afetam milhares de pessoas ao redor do mundo, e a causa mais frequente são os acidentes automobilísticos. O exercício é capaz de acelerar o brotamento do neurônio motor, diminuir o tempo de latência da reinervação, e estimular a plasticidade.

Objetivo: Avaliar o potencial regenerativo do exercício em modelo de lesão periférica por compressão do nervo isquiático de camundongos.

Métodos: Neste projeto (CEUA-UFF:589/2014), utilizamos 12 camundongos C57/Bl6 machos, com peso 19 ± 25 g. Estudamos 4 grupos ($n=6$ /grupo):PTT (pré-treino/cirurgia/exercício), LTT(lesão e exercício)e CST(sem lesão e sem exercício). Os animais foram anestesiados e submetidos ao esmagamento na porção proximal do NI por 1'.O treino na esteira ($10m'$), iniciou 3 dias após, em dois ciclos de 30', com pausa de 10' entre eles, durante 10 dias. Avaliações sensoriais (analgesímetro digital e pinprick) e motoras (IFI , rotarod) foram realizadas antes da cirurgia e no dia 14, quanto a eletroneuromiografia(ENMG) e as análises morfológicas foram realizadas.Utilizamos ANOVA e de pós-teste Bonferroni, e usamos valores de média \pm EPM.

Resultados:14 dias pós-lesão, os grupos PTT ($0,545\pm 0,008$, $p<0,01$) e LTT ($0,650\pm 0,028$, $p<0,001$) apresentaram aumento no limiar de detecção tátil quando comparado ao CST($0,380\pm 0,022$).PTT apresentou resposta mais próxima a normalidade, com diferença significativa quando comparado ao LTT($p<0,05$). Os grupos não apresentaram diferença estatística em relação à sensibilidade dolorosa(PTT $4,500\pm 0,2887$; LTT $4,750\pm 0,2500$ e CST $5.0\pm 0,0$).Na resposta motora, os grupos tratados apresentaram uma melhora funcional pós-lesão, porém o PTT apresentou melhor desempenho (IFI- $28,21\pm 10.64$, $p<0,005$; rotarod $0,75\pm 0,75$, $p>0,05$) quando comparado ao LTT (IFI $3,50\pm 13,62\pm$, $p<0,005$; rotarod 0.500 ± 0.5000 $p>0,005$). Este melhor desempenho do PTT é confirmado pelos resultados da ENMG, em relação à amplitude da onda (PTT $6,438\pm 0,276$;LTT $2,693\pm 0,946$, $p<0,05$) e latência (PTT $0,001\pm 0,022$;LTT $0,145\pm 0,033$, $p<0.05$), indicando melhor regeneração nervosa e reinervação muscular. Estes dados funcionais estão de acordo com as análises morfológicas, a partir de cortes semifinos, que apresentam melhor organização da citoarquitetura do nervo e preservação de fibras nervosas mielínicas no grupo PTT.

Conclusão: Nossos resultados demonstram que o exercício pode otimizar a regeneração nervosa e a recuperação da função neuromotora, e que os indivíduos previamente condicionados apresentam melhor aproveitamento desta terapia.

Apoio Financeiro: CAPES

24. ADENINE NUCLEOTIDES REGULATES PROLIFERATION IN RETINOBLASTOMA CELLS IN VITRO

¹ Cruz, H. R, ¹ Pereira, L. A, ¹ Repossi, M ¹ Fragel-Madeira, L.

Department of Neurobiology, Institute of Biology, Fluminense Federal University;

Adenine nucleotides are crucial signaling molecules present in healthy tissue and in tumoral microenvironment. Purinergic metabotropic receptors, such as P2Y1 and P2Y12, has been recently shown as growth regulators of central nervous system's tumors. Hence distinct studies consider the purinergic signaling as a target for novel cancer therapy development. Retinoblastoma is a malignant eye tumor of early childhood mostly related to RB1 gene deletion in a neural stem cell at the retina. In this current study, we aimed to evaluate the effects of purinergic signaling modulation on the proliferating retinoblastoma cells. Y79 retinoblastoma strain cells were cultivated in 25cm² culture flasks in RPMI 1640 medium supplemented with 10% fetal bovine serum, penicillin and streptomycin, in an atmosphere with 5% CO₂ at 37°C. Cells were treated with MRS2179, a P2Y1 receptor antagonist, at the concentrations of 1μM, 10μM, 50μM, ADP or with ATP at 100μM for 24, 48 or 72 hours. After the treatment, cells were counted in the Neubauer chamber by trypan blue exclusion assay and MTT assay was performed to measure cell viability. Our previous results indicate that P2Y1 receptor blockade for 24h reduced the number of retinoblastoma cells in a dose-dependent manner. Moreover, stimulation with ADP, but not ATP, also reduced cell number but without altered number of cells labeled for Ki-67, a proliferation marker. In the other hand, MTT assays showed no alteration in cell viability in 24h of treatment (Control = 100%; MRS 1μM = 105.4 ± 7.1; 10μM = 100 ± 1.0; 50μM = 108 ± 5.4; 100μM = 87.5 ± 6.4; ADP = 89.8 ± 4.9; ATP = 90.5 ± 5.9; n=4). Preliminary results suggest that P2Y1 blockade and ADP treatment for 48h might reduce cell number: (CTR = 113500 ± 45370; MRS 1μM = 64417 ± 26960; 10μM = 75000 ± 2179; 50μM = 81670 ± 2179; ADP = 70830 ± 15280; ATP = 101700 ± 21840; n=3). Meanwhile in 72h of treatment the reduction effect seems to belong only to ATP: (Control = 100000 ± 7217; MRS 1μM = 108333 ± 17638; 10μM = 77500 ± 28976; 50μM = 116667 ± 11024), (ADP = 128333 ± 4410; ATP = 65833 ± 6667; n=3). These findings suggest that P2Y1 receptors are not inducing cell death in retinoblastoma cells but rather playing a role in proliferation itself even though previous data showed no alteration in Ki-67 expression. This mechanism might be probably dependent upon activation of other P2Y receptors such as P2Y12 since ADP stimulus had a similar effect.

Financial support: CAPES, CNPQ e Proppi-UFF.

25. TRACE AMINE-ASSOCIATED RECEPTOR 1 IN AN ANIMAL MODEL OF ATTENTION DEFICIT AND HYPERACTIVITY DISORDER.

Raony, I.; Domith, I; Paes-de-Carvalho, R.; Pandolfo, P. Program of Neurosciences, Institute of Biology, Federal Fluminense University, Rio de Janeiro, Brazil.

Introduction: Attention Deficit and Hyperactivity Disorder (ADHD) is characterized by symptoms of inattention and/or hyperactivity-impulsivity. Spontaneously hypertensive rats (SHR) are widely used for the study ADHD, as they mimic behavioral and neurobiological characteristics of the disorder. The trace amine-associated receptor 1 (TAAR1) can be found in several regions of the central nervous system (CNS), such as the striatum (ST), prefrontal cortex (PFC) and hippocampus (HIP), regions that are related to ADHD. This receptor also modulates dopaminergic transmission and is able to improve cognitive and impulsive impairments. However, there are no studies regarding their participation in the neurobiology of ADHD.

Objectives: This arm of the project aimed to characterize the protein levels of TAAR1 in different regions involved in the neurobiology of ADHD, comparing the SHR with their control strain – Wistar Kyoto (WKY) rats.

Methods: Samples processed from the PFC, ST and HIP of 10 male rats (n = 5 WKY; 5 SHR) between 80-120 days of age were used for western blotting (approved by CEUA UFF, nº 783). Statistical analyzes were performed using Student's t-test, and significance level was set at $p < 0.05$. Values are expressed as means \pm S.E.M.

Results and discussion: The expression level of TAAR1 found in ST was lower in SHR than in WKY rats (WKY $100.0 \pm 7.798\%$; SHR $65.61 \pm 3.870\%$; $p = 0.0084$). Since TAAR1 can positively regulate tyrosine hydroxylase activity, increasing dopamine synthesis, and that ADHD is associated with a low tonic release of this neurotransmitter, the relatively low expression of TAAR1 found in ST of SHR strain may be an indication of the involvement of TAAR1 in the neurobiology of the disorder. In addition, the expression level of TAAR1 in the PFC of SHR was also lower than in the PFC of WKY rats (WKY $99.99 \pm 8.034\%$; SHR $60.83 \pm 13.17\%$; $p = 0.0325$). This region is associated with the control of attention, memory, planning, and behavioral flexibility. Several studies show its key role in the neurobiology of ADHD. Finally, in line with the previous results, the level of TAAR1 was lower in the HIP of the SHR when compared to the WKY (WKY $100.0 \pm 2.678\%$; SHR $63.14 \pm 11.07\%$; $p = 0.0085$). This region, associated with underlying memory processes, is also behind the learning and memory difficulties encountered in both human and murine models of ADHD.

Conclusion: Our findings may expand the understanding of the neurobiology of ADHD and encourage more experiments to evaluate the role of TAAR1 in molecular and behavioral aspects of this disorder.

Funding source: This work was supported by grants from CNPq, CAPES and FAPERJ.

26. EFFECTS OF SULFASALAZINE AND DEHYDROASCORBIC ACID IN THE VIABILITY OF CULTIVATED GLIOBLASTOMAS

ROMANO, I.1; GARCIA, C. G.1; VILAS, M. C.1; BUENO, G.1,3; COSSENZA, M.1,4

1. PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS – UFF; 3. Uni IBMR;

4. DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA – UFF

Introduction: Gb are tumors of the CNS and presents extreme lethality. There are no cure for this pathology. The GB presents antioxidants systems adapted to a high production of ROS consequence of intense energetic metabolism. SAS, an anti-inflammatory, was propose as an inhibitor of the production of tumoral GSH, through a glutamate/cystine exchanger. This molecule can be find in the oxidized form DHA or in the reduced form AA. Its known that DHA can be transported to the cells through GLUT1 and 3. Also is postulated that DHA can be converted to AA through GSH consumption decreasing the antioxidant protection of tumors. As SAS already was describe as an efficient GB suppressor through mechanisms that involve GSH depletion.

Objectives: The aims of this work were study the effects of different concentrations of SAS with or without DHA in GBs cell lineage U87MG and verify the GSH and ROS levels after the treatments.

Materials and Methods: Cell Culture: The U87MG cells was maintained in DMEM F-12 with 10% of FBS in 5%CO₂ in 37°C. Cells was seeded in 24 wells plate with DMEM F-12 medium with 10% of FBS for 24h. The medium was changed to DMEM F-12 with 5% of FBS and treated. Viability Assay: Cells was treated with 125, 250, 500, 1000 and 2000µM of SAS, DHA and SAS+DHA for 24 and 48h and 500, 1000 and 2000µM for 120h. GSH Levels Assay: Cells was treated with 1000µM of SAS, DHA and SAS+DHA for 24h. After that was added the probe ThiolTracker for 15min and the fluorescence images was captured. ROS Levels Assay: Cells was treated with 1000µM of SAS, DHA and SAS+DHA for 24h. Latter this culture was added CM-H₂DCFDA Probe for 20min and the fluorescence images was captured.

Results: The viability of U87MG cells was decreased in the treatment with SAS and SAS+DHA in almost all the times. In 48 and 120h the treatment with DHA increased the viability of U87MG cells. Comparing the treatments with SAS and SAS+DHA, SAS+DHA treatment with 1000µM decrease more than SAS in all times. In the treatments of 2000µM comparing SAS with SAS+DHA we also observed the diminution of viability in the SAS+DHA treatments comparing with SAS treatment, in all times, we observe almost no cells in treatments with SAS and SAS+DHA. The GSH levels trend to decrease in the treatment with SAS and SAS+DHA, with a greater decrease in the SAS+DHA treatment. The levels of ROS trend to increase with the treatments with DHA, SAS and SAS+DHA, with a greater increase in the SAS+DHA treatment.

Conclusions: We observe a diminution of viability with the treatments with SAS and SAS+DHA, mainly in the treatments with 1000 and 2000µM. The use of both SAS and DHA in the treatment increase the death speed of the U87MG cells.

27. THE IMPACT OF NEGATIVE STIMULI ON MOTOR ACTIVITY OF URBAN VIOLENCE VICTIMS: AN ELECTROPHYSIOLOGICAL STUDY

Andrade, I¹., Lobo, I²., Campagnoli, R.R.¹, Figueira, J.S.B.¹, David, I¹.

¹Universidade Federal Fluminense (UFF)

²Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)

INTRODUCTION: The study of human defensive motor reactions under threat is important to the understanding of Posttraumatic Stress Disorder (PTSD) vulnerability.

OBJECTIVE: We explored if pictures of mutilated human bodies (a cue for potential threat) would prompt differential motor reactions in students who have experienced traumatic events, based on the severity of PTSD symptoms.

METHODS: 38 Participants judged the orientation of two peripheral bars, indicating whether their orientation was the same, while ignoring a central picture (mutilated or intact bodies) presented by 200ms. PTSD symptoms severity was assessed using the PTSD checklist (PCL).

RESULTS: We found a U-shaped relationship between PTSD symptoms severity and LRP latency during the potential threat condition but not during the control. Under potential threat, participants with moderate PTSD symptoms required less time for reaction readiness than participants with minor and severe PTSD symptoms, reflecting a delayed motor preparatory activity in the latter two.

CONCLUSION: These results suggest that PTSD symptoms severity would modulate the interaction between threat perception and motor reactions. As severity increases, more intense activations of the defensive behaviours are expected, possibly varying from attentive immobility to tonic immobility.

KEYWORDS: Posttraumatic Stress Disorder (PTSD); Lateralized Readiness Potential (LRP); Motor Preparatory Activity;

FUNDING: FAPERJ; CNPq; CAPES; UFF

28. REGULAÇÃO DO TRANSPORTADOR EQUILIBRATIVO DE NUCLEOSÍDEOS DO TIPO 1 (ENT1) PELO MICRORNA 124.

de Oliveira, I., Paes-de-Carvalho, R., dos Santos-Rodrigues, A.,

Depto. de Neurobiologia, PPG em Neurociências, Instituto de Biologia, UFF.

Introdução: A adenosina (Ado) é um neuromodulador encontrado em diversas áreas do Sistema Nervoso Central (SNC), e atua regulando diversos processos celulares (e.g. plasticidade sináptica e neuroproteção). Os Transportadores Equilibrativos de Nucleosídeos (ENTs) são proteínas transmembranares que interferem no fluxo de nucleosídeos. Atualmente, 4 subtipos de ENTs já foram descritos no SNC, sendo ENT1 e ENT2 os predominantes. A literatura científica dos mecanismos regulatórios do ENT1 ainda é limitada. MicroRNAs são um grupo de RNAs não codificantes. O miR-124 é um dos mais encontrados no SNC e análises *in silico* identificaram este microRNA como um candidato para a regulação do ENT1. Uma possível fonte de microRNAs seriam os exossomos, que são vesículas secretadas no meio extracelular e que podem ser internalizadas por células vizinhas. Nosso modelo de estudo é a retina de galinha, que é parte do SNC e um ótimo modelo para o estudo de interações neuroquímicas, como as do sistema purinérgico.

Objetivos: Quantificar os níveis proteicos e a atividade do ENT1 antes e depois da transfecção com miR-124, afim de confirmar sua possível regulação em culturas mistas de retina de galinha, e também avaliar se essas culturas são capazes de produzir exossomos.

Métodos: Culturas mistas de retina de galinha foram feitas a partir de embriões com oito dias (E8) de desenvolvimento. A transfecção com o miR-124 em diferentes concentrações foi mantida por 24h ou 48h e no quarto dia de cultura foi feito o ensaio de captação de [3H]-Ado para medir a atividade dos ENTs, assim como a preparação das amostras proteicas para análise por Western Blot. A presença de exossomos no meio extracelular dessas culturas foi avaliada por meio de processos de ultracentrifugação. As análises estatísticas foram feitas com o software Prism 5.0 com a utilização de análise de variância (ANOVA) de 1 via seguido pelo pós-teste de Bonferroni.

Resultados: A exposição por 24 horas não induziu nenhuma diminuição significativa na atividade dos ENTs e nem nos níveis proteicos do ENT1. O tratamento por 48 horas provocou uma redução significativa na captação de [3H]-Ado e tendência de decréscimo dos níveis proteicos do ENT1 nas condições de miR-124 (50 e 100 nM). Também observamos a presença de exossomos nessas culturas mistas de retina.

Conclusões: A exposição do miR-124 por 24 horas em culturas mistas não alterou a atividade e os níveis proteicos do ENT1, mas o tratamento por 48h reduziu a captação de Ado e parcialmente os níveis do ENT1. Nossos resultados sugerem que o miR-124 possa ser um possível regulador do transportador e os exossomos são uma das potenciais fontes endógenas deste microRNA.

Apoio Financeiro: Capes, FAPERJ e CNPq.

29. VALIDAÇÃO DE UM MODELO FARMACOLÓGICO PARA INDUÇÃO DE ALTERAÇÕES CARACTERÍSTICAS DA ESQUIZOFRENIA EM CAMUNDONGOS.

Semeão, K.A; Dutra-Tavares, A.C; Silva, J.O; Mello, FF; Muquim, C; Souza, T.P; Abreu-Villaça, Y.

Laboratório de Neurofisiologia. Departamento de Ciências Fisiológicas. Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, IBRAG/UERJ. Rio de Janeiro/RJ.

Introdução: A esquizofrenia (SCZ), uma doença crônica que atinge cerca de 1% da população mundial, é constituída pela combinação de 3 tipos de sintomas: positivos, negativos e cognitivos. As hipóteses dopaminérgica e glutamatérgica são as mais consistentes para explicar a fisiopatologia da doença. **Objetivo:** Validar um modelo farmacológico de SCZ. **Metodologia:** A fenciclidina (PCP), antagonista glutamatérgico, foi administrada (s.c.) nas doses de 5, 10 ou 20mg/kg (PCP05, PCP10 e PCP20 respectivamente), aos 7, 9 e 11 dias de vida pós-natal (PN), em camundongos C57BL/6, machos e fêmeas (CEUA033/2018). Utilizamos dois grupos adicionais: CONT e NAIVE. De PN48 a PN50, os animais foram submetidos a testes para avaliar alterações comportamentais características da SCZ e a reversão destas com a administração do antipsicótico atípico olanzapina (OLZ). O teste do campo aberto (CA), foi utilizado para verificar a hiperatividade, sintoma positivo. (NAIVE ♀=8, ♂=8; CONT ♀=4, ♂=8; CONTOLZ ♀=6, ♂=8; PCP05 ♀=8, ♂=8; PCP05OLZ ♀=7, ♂=7; PCP10 ♀=8, ♂=8; PCP10OLZ ♀=7, ♂=10; PCP20 ♀=7, ♂=9; PCP20OLZ ♀=8, ♂=8). O teste de interação social (IS), foi utilizado para modelar um sintoma negativo (NAIVE: ♀ = 4, ♂ = 4; CONT: ♀ = 1, ♂ = 2; CONTOLZ : ♀ = 2, ♂ = 3; PCP05: ♀ = 4, ♂ = 5; PCP05OLZ : ♀ = 4, ♂ = 4; PCP10: ♀ = 4, ♂ = 4; PCP10OLZ: ♀ = 3, ♂ = 5; PCP20: ♀ = 4, ♂ = 5; PCP20OLZ: ♀ = 4, ♂ = 5). O teste de inibição pelo pré-pulso (PPI) foi utilizado para avaliar a memória atencional, sintoma cognitivo (NAIVE: ♀ = 8, ♂ = 8; CONT: ♀ = 4, ♂ = 8; CONTOLZ: ♀ = 4, ♂ = 8; PCP05: ♀ = 8, ♂ = 7; PCP05OLZ: ♀ = 2, ♂ = 7; PCP10: ♀ = 8, ♂ = 7; PCP10OLZ: ♀ = 5, ♂ = 8; PCP20: ♀ = 6, ♂ = 11; PCP20OLZ: ♀ = 4, ♂ = 6). **Resultados:** No CA, houve um aumento da locomoção nos machos PCP10 (2281,2cm) ($F_{3,58}=3,9$; $p\leq 0,01$) quando comparados aos controles (1974,3cm) ($p\leq 0,05$). A OLZ (0,25mg/kg, s.c.) reduziu a atividade locomotora (1637,0cm) ($F_{1,58}=49,6$; $p\leq 0,001$), revertendo a hiperatividade causada pelo PCP. No IS não foram identificadas diferenças significativas entre os grupos experimentais. No PPI, a maior dose de PCP causou um menor percentual de inibição em resposta ao pulso precedido pelo prepulso de 70Db em comparação ao grupo CONT+NAIVE ($p\leq 0,05$). Entretanto, identificamos apenas uma tendência de reversão deste efeito pela OLZ (2mg/kg, sc) (PCP20OLZxPCP20, $p=0,07$). **Conclusão:** Nossos dados sugerem que camundongos PCP10 são hiperativos, um sintoma positivo da SCZ. Os resultados obtidos no PPI sugerem déficits atencionais em animais PCP20, representando danos encontrados em pacientes esquizofrênicos.

Apoio Financeiro: FAPERJ; CNPq; CAPES.

30. NEUROPROTEÇÃO INDUZIDA POR BDNF CONTRA MORTE NEURONAL INDUZIDA POR GLUTAMATO: ENVOLVIMENTO DE RECEPTORES A1 E A2a DE ADENOSINA

1Teixeira, L.F.*, 2Silva, A.L.D., 2Paes-de-Carvalho, R., 1Pereira, M.R.

1Laboratório de Sinalização Química do Sistema Nervoso, Programa de Pós-graduação em Neurociências, UFF, Niterói.

2Laboratório de Neurobiologia Celular, Programa de Pós-graduação em Neurociências, UFF, Niterói.

A família das neurotrofinas é composta por 4 membros: NGF, BDNF, NT-3 e NT-4/5. O BDNF atua em importantes processos no sistema nervoso central (SNC) como regulação da sobrevivência e diferenciação neuronal, crescimento de neuritos e modulação da liberação de neurotransmissores. As ações do BDNF são mediadas pela ativação dos receptores TrkB os quais podem ativar as vias de sinalização da ERK, Akt e PKC. A adenosina é um importante nucleosídeo que atua no SNC e está envolvida na modulação da liberação de neurotransmissores e indução de neuroproteção. Exerce seus efeitos através da ativação dos receptores A1, A2a, A2b e A3. Os receptores A1 e A3 estão acoplados à proteína Gi/Go, enquanto os receptores A2a e A2b estão acoplados à proteína Gs. Dados prévios do nosso grupo demonstraram que a ativação crônica dos receptores A2a promove neuroproteção contra a morte induzida por glutamato em culturas purificadas de neurônios de retinas de embrião de galinha. O objetivo deste trabalho foi avaliar os mecanismos neuroprotetores mediados por BDNF contra excitotoxicidade induzida por glutamato em culturas purificadas de neurônios da retina e o envolvimento de receptores de adenosina neste processo. Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da UFF (00146/09). Culturas purificadas de neurônios de retina de embrião de galinha foram incubadas após 1 dia em cultura (C1) com BDNF e antagonistas de receptores A1 (DPCPX) e A2a (ZM 241385). Em C3, foi adicionado glutamato e, após 24h, as células foram fixadas e os núcleos marcados com DAPI foram contados em microscópio de fluorescência. Nossos resultados mostram que a incubação crônica com BDNF é capaz de proteger os neurônios contra a morte induzida por glutamato e que tanto ZM 241385 (controle: $100 \pm 2,8$; glutamato: $64,4 \pm 12,4$; BDNF: $104,4 \pm 11,5$; ZM: $86,9 \pm 9,2$; BDNF + glutamato: $107,8 \pm 19,8$; ZM + glutamato: $52,9 \pm 17,2$; BDNF + ZM: $95 \pm 8,5$; BDNF + glutamato + ZM: $56,7 \pm 22$; $n=4$; $p < 0,001$) quanto DPCPX (controle: $100,2 \pm 5,8$; glutamato: $64,7 \pm 11,5$; BDNF: $104,2 \pm 9,9$; DPCPX: $94,4 \pm 14,7$; BDNF + glutamato: $104,6 \pm 19,3$; DPCPX + glutamato: $78,5 \pm 15,4$; BDNF + DPCPX: $103,1 \pm 12,4$; BDNF + glutamato + DPCPX: $72,9 \pm 18,7$; $n=5$; $p < 0,05$; $p < 0,01$ e $p < 0,001$) são capazes de inibir esse efeito. Diante desses dados, podemos concluir que o efeito neuroprotetor do BDNF nas culturas purificadas de neurônios é mediado pela ativação de receptores A1 e A2a de adenosina.

Apoio financeiro: FAPERJ, CNPQ, CAPES, PRONEX-MCT.

31. EVALUATION OF REACTIVE OXYGEN SPECIES GENERATION IN MURINE MODEL OF PARKINSON'S DISEASE INDUCED BY CATECHOLAMINERGIC NEUROTOXIN

1Hayashide, LS, 2Moraes, JA, 1Pandolfo, P, 1Serfaty, CA, 3Ribeiro, MGL.

1Departamento de Neurobiologia/UFF, 2Instituto de Ciências Biomédicas/UFRJ, 3Departamento de Biologia Celular e Molecular/UFF.

Parkinson's disease (PD) is a neurodegenerative disease characterized by a severe and progressive motor impairment due to progressive and specific degeneration of dopaminergic neurons of the substantia nigra compacta. One of the main mechanisms involved in the death of dopaminergic neurons is the excessive production of reactive oxygen species (ROS), causing an imbalance between their production and the antioxidant defense system. Oxidative stress is a common feature in both familial and sporadic PD and the dopaminergic neurons are more likely to form ROS. We aimed to investigate, in a murine model of PD, the level of intracellular ROS in striatum during different periods after PD induction. C57Bl6 mice were anesthetized and submitted to unilateral injection of 6-hydroxydopamine (6-OHDA) into the left striatum using stereotaxic procedures. Sham animals were submitted to injection of saline. Mice were euthanized and control and injured striata were dissected 24h, 48h, 1 or 2 weeks thereafter. Homogenized striata was used for analysis of tyrosine hydroxylase (TH) and dopamine transporter (DAT) levels by western blotting and superoxide dismutase (SOD) activity. Intact tissues were incubated with DHE to evaluate superoxide levels. Fluorescence was monitored at excitation and emission wavelengths of 518 and 605 nm and intensity was expressed in arbitrary units corrected to protein content of tissue (au/mg ptn). All procedures were approved by the UFF's Ethics Committee on Animal Use (617/2014). Our data show that 1w after 6-OHDA treatment, the content of TH and DAT decreases significantly in the injured striata when compared with control striata. Regarding SOD activity, no differences were observed between the hemispheres in 1 week. No significant difference was detected in superoxide levels 24 hours, 1w or 2w after 6-OHDA treatment, but the injured striata showed an increase, although not significant, in superoxide fluorescence after 48 hours when compared with the control. Preliminary data suggest that the striatal injection of 6-OHDA may induce a variation in ROS levels, especially in the formation of superoxide 24 and 48 hours after 6-OHDA injection. Superoxide production seems to return to normal 1w after PD induction, what is confirmed by equal levels of in this period. At first this may indicate that 6-OHDA causes a oxidative stress mediated by changes in superoxide levels right after the surgery. SOD (and other antioxidant enzymes) activity will be measured in 24h and 48h after PD induction, as well as other oxidant species will be detected in order to obtain further details of biochemical changes in the tissue.

32. A ROLE FOR TNF- α SYSTEM IN RETINOCOLLICULAR CIRCUITRY REMODELLING AFTER MONOCULAR ENUCLEATION DURING THE CRITICAL PERIOD OF DEVELOPMENT

1Chagas, L.S.**; 1,2Trindade, P.; 1 Antonioli-Santos, R 1Serfaty, C.A. 1Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense; 2 D'Or Institute for Research and Education, Brasil

Introduction: CNS lesions are often followed by structural reorganization within intact circuits of the brain. In parallel, focal lesions also induce neuroinflammatory reaction that encourages the understanding of the mechanisms shared between neuroplasticity and immune activation, within CNS injury context. TNF- α is a key proinflammatory cytokine that exerts its effects via TNF receptor subtype-1 (TNFR1) or -2 (TNFR2). Calcineurin (CaN) is a phosphatase related to synaptic pruning and immune function, that mediates microglia activation and TNF- α release. **Goal:** Here we evaluated the role of TNF- α and microglia on the sprouting of intact retinotectal axons following monocular enucleation (ME) and the temporal expression of TNFR1/2 after lesion. **Methods:** Lister Hooded rats were submitted to ME at P10 and evaluated in different survival times. Animals also received systemic injections of cyclosporin A (50mg/kg,sc) or minocycline (125 mg/kg,sc) 3h following ME. A third group received local delivery (ELVAX) of a TNF- α neutralizing antibody 3 days before. Neuroanatomical tracers mapped structural plasticity while immunofluorescence and western blot were used to study microglia morphology, TNF- α , TNFR1/2 and CaN content. **Results:** A progressive increase of activated microglia in the contralateral superior colliculus (SC) 24h after ME, peaking at 72h presented a temporal correlation with an increase in TNFR1 and TNFR2 immunoreactivity, that ceased 7d after. Inhibition of microglia or TNF- α reduced sprouting of intact uncrossed retinotectal axons, amoeboid microglia and TNF- α expression. **Conclusion:** Our data support the hypothesis that TNF- α signalling is regulated during a microglia-dependent neuroplasticity induced by lesions during early brain development. Approved by local animal care committee (CEUA/UFF:protocol 0015109).

33. EVALUATION OF NEURONAL MARKERS AND FUNCTIONAL ANALYSIS OF THE GASTROINTESTINAL TRACT IN A PARKINSON'S DISEASE MURINE MODEL

Valdetaro, L. R. F.¹, Thomasi, B. B. M.¹, Mussauer, A.¹, Melibeu, A.¹, Campello-Costa, P.¹, Serfaty, C.¹, Ribeiro, M. G.¹, Moura-Neto, V.², Gomes, A. L. T.¹,

¹Universidade Federal Fluminense

²Instituto Estadual do Cérebro Paulo Niemeyer

Parkinson's disease (PD) is a multicentric neurodegenerative disease which affects the enteric nervous system (ENS) among other areas. Changes in the ENS during PD can lead to several gastrointestinal symptoms, such as delayed gastric emptying and constipation. 6-hydroxydopamine (6-OHDA) striatal injection is a classic model used to study DP. Studies have shown that this model presents gastrointestinal symptoms consistent with those found in patients. Neuronal populations changes have been associated with such symptoms, but little is known about synaptic changes and neuronal death in the ENS in this model. The aim of this study was to investigate if the lesion induced by 6-OHDA in the nigrostriatal pathway of mice could induce changes in the colonic neuronal network and in gastric motility. This study was submitted to the ethics committee of the UFF under the protocol no. 617. Male C57Bl6 mice 2 or 3 months old underwent stereotaxic surgery for unilateral administration of 6-OHDA in the striatum. Another group of uninjured operated mice was used as control. The analysis were performed 2 weeks after surgery. Gastric emptying assay was used to determine the percentage of gastric residual food. Immunofluorescence was performed in the colon tissue for α -synuclein and β -tubulin III. For Western blotting, the muscle and mucosal layers of the colon were separated and labeled for anti- β -tubulin III antibody. Statistical analysis was performed using unpaired test t of Graph Pad Prism5 where p-value<0,05 were considered significant. 6-OHDA animals showed higher percentage of residual gastric food, indicating a slower gastric transit (p=0,0428; n=7). α -synuclein labeling revealed a significant reduction in the colon of the PD animals, in both muscle (p=0,0302; n=3) and mucosal (p=0,0365; n=3) layers. β -tubulin III labeling had no changes in the muscle layer (n=4), but was demonstrated to be decreased in the mucosa (p=0,0362; n=4), which was confirmed by western blotting (p=0,0408; n=2 from 5 experiments). The results indicate a change in the gastric transit of 6-OHDA animals, suggesting that these mice display delayed gastric emptying. The colon showed a general loss of presynaptic terminals. This loss can be related to a more extensive neuronal disruption in the mucosal layer of the colon of animals evidenced by the reduction in β -tubulin III labelling. Together, these results indicate that the striatal administration of 6-OHDA promoted a rupture of the enteric neuronal structure, which may be involved with the gastrointestinal injury observed in the PD model.

CAPES, FAPERJ, CNPq and PROPPI-UFF

34. PROMOVEDO A “NEUROGAMIA” NA SALA DE AULA

Luiz Claudio Marques Barcellos

A intenção desta apresentação é compartilhar os resultados da pesquisa, Promovendo "neurogamia" na sala de música, realizada entre 2017 e 2018 na atividade de prática de conjunto do ensino fundamental da Escola Americana do Rio de Janeiro, e começar a responder a questão principal: como a neurociência pode melhorar nossas práticas de ensino?

Para responder a questão colocada acima, o presente estudo estabeleceu como ponto de partida a ideia de que a sala de música pode promover a "neurogamia", conceito apresentado pelo neurologista Oliver Sacks, entendido como a união de sistemas nervosos, para desenvolver um ensino aprendizagem onde haja significado e, portanto, gere emoção. Sabe-se hoje que sem excitação cerebral não há aprendizagem. O foco principal do presente estudo é investigar como se dá a interface entre neurociência e educação dentro da sala de música.

Para atingir o objetivo, será compartilhado com os presentes, uma revisão bibliográfica com base em autores ligados a neurociência e música. Além disso, será apresentada uma análise de dados coletados por meio de depoimentos em entrevistas semiestruturadas com os alunos da prática de banda.

Por meio de um enfoque fenomenológico o material coletado foi agrupado de forma temática, descrito e analisado pelo professor/pesquisador de maneira a possibilitar uma leitura do que foi vivido em sala. O conjunto de informações foi então contextualizado quanto à dinâmica dos ensaios, escolha de repertório e apresentações no auditório. Desse modo, procurou-se reconhecer os indicadores da promoção de "neurogamia" nas aulas de música do fundamental.

O que está sendo buscado por meio desta pesquisa, na área de neurociência pedagógica, é indicar a importância de um ensino aprendizagem que retome a vocação da música capaz de unir sistemas nervosos, de forma prazerosa, entre amigos e no ambiente escolar. Desse modo, o que é aprendido se consolida na memória dos alunos.

35.EFEITOS DO CONSUMO CRÔNICO DE CAFEÍNA SOBRE O COMPORTAMENTO E A NEUROQUÍMICA HIPOCAMPAL DE RATOS ADULTOS

Peixoto-Rodrigues, M.C.¹, Pandolfo, P.², Martins, R.S.³, Kubrusly, R.C.C.³, Campello-Costa, P.¹.

¹Laboratório de Neuroplasticidade, UFF, Rio de Janeiro, Brasil. ²Laboratório de Neurobiologia do Comportamento Animal, UFF, Rio de Janeiro, Brasil. ³Laboratório de Neurofarmacologia, UFF, Rio de Janeiro, Brasil

INTRODUÇÃO: O sistema nervoso central é extremamente complexo e depende do estabelecimento correto de suas conexões para seu funcionamento. O ambiente é capaz de modificar a circuitaria neural através do processo chamado plasticidade neural. O hipocampo, uma estrutura relacionada ao aprendizado e à memória, vem sendo utilizado para estudar os mecanismos celulares e moleculares subjacentes a esta plasticidade. Diversos estudos já demonstraram que a cafeína é capaz de modular a neuroplasticidade, melhorar desempenho em tarefas de cognição e prevenir o declínio cognitivo em doenças neurodegenerativas. Já foi demonstrado que ambos, neurônios e células gliais, possuem receptores de adenosina do tipo A1 e A2A. Estudos recentes indicam que as células gliais desempenham um papel importante no aprendizado e na consolidação de memórias através da regulação de sinapses hipocampais. O objetivo deste trabalho é investigar mecanismos pelos quais a cafeína é capaz de alterar o comportamento em ratos adultos e avaliar possíveis alterações na sinalização glutamatérgica e na resposta glial.

METODOLOGIA: Ratos adultos, machos, da linhagem Lister Hooded submetidos a tratamento oral com cafeína do dia pós-natal (DPN) 21 até o DPN40. Animais do grupo controle receberam água. Após o tratamento, os animais foram submetidos a testes comportamentais e o tecido hipocampal foi dissecado e processado para análises de imunofluorescência e Western Blotting. Também foram realizados ensaios de acúmulo de AMPc e captação de [³H]-Aspartato.

RESULTADOS: Nossos dados demonstram que o tratamento crônico com cafeína por 20 dias induz uma melhora na performance em testes de memória de curta e longa duração e leva ao desenvolvimento de um comportamento tipo-ansioso nos ratos adultos. Foram observados aumentos na expressão dos transportadores de aminoácidos excitatórios 1 e 2 e também nas subunidade GluN1 e GluN2a dos receptores NMDA, e uma diminuição da expressão da subunidade GluN2b. Os ensaios de captação de [³H]-Aspartato sugerem alterações na excitabilidade neuronal. O grupo tratado também apresentou menor marcação para GFAP.

CONCLUSÃO: Os dados obtidos mostram que o tratamento com a cafeína leva a uma melhora cognitiva, acompanhada por um aumento na excitabilidade hipocampal, ocasionada por aumento na expressão de receptores A1 e NMDA, tal como no aumento da expressão dos EAATs. Em conjunto, os dados mostram que o tratamento com a cafeína é capaz de alterar a circuitaria hipocampal e, conseqüentemente, o comportamento animal.

PALAVRAS-CHAVE: Cafeína; NMDA; Glutamato; Comportamento.

SUPORTE FINANCEIRO: CAPES, CNPq e FAPERJ

36. PARTICIPAÇÃO DO COMPONENTE GLIAL NA CAPTAÇÃO DE [3H]-GABA NO CORTÉX FRONTAL DE CAMUNDONGOS: PÓS ESTIMULO NORADRENÉRGICO

1FERREIRA, M. C., 1MARTINS, R. S., 2MANHÃE, A.C., 3REIS, R. A. M., 1KUBRUSLY, R. C. C

1Laboratório de Neurofarmacologia, UFF, Niterói, Brasil.

2Laboratório de Neurofisiologia, UERJ, Rio de Janeiro, Brasil.

3Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, UFRJ, Brasil.

INTRODUÇÃO: A glia, onde os transportadores GAT-3 são altamente expressos, tem grande importância na regulação da homeostasia das sinapses e liberação de gliotransmissores. **OBJETIVO:** Avaliar a participação do transportador de GAT-3 na captação de [3H]-GABA, no córtex frontal (CF) de camundongos. **METODOLOGIA:** CF de camundongos suíços PN2, PN20, PN40 e PN60, de acordo com as normas do comitê de ética da UFF, nº CEUA 968/2017. Em animais PN40 foram realizados experimento de captação e liberação de [3H]-GABA e ensaio de AMPc, e o western blot foi realizado em PN2, PN20, PN40 e PN60 para os seguintes marcadores: GAT-1 e GAT-3 e receptores canabinóides CB1R e CB2R. Os dados foram analisados no *prima 5* e são expressos como média \pm erro padrão da média (EPM), $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. **RESULTADOS:** Há ausência de Na^+ reduziu a captação de [3H]-GABA em 75% (Basal: $208,0 \pm 13,58$; S/Na^+ : $49,60 \pm 5,464$ fmol/mg/hora; $n=5-10$). Há um aumento da liberação de [3H]-GABA com o estímulo de KCl (80mM) (Basal: $1,000 \pm 0,00$; KCl: $1,568 \pm 0,05582$ estimulado/basal; $n=3-6$), e a retirada de Ca^{2+} não teve efeito significativo. GAT-1 e GAT-3 estão expressos, o uso de NO-711 (100 μM), bloqueador GAT-1, e SNAP-5114 (100 μM), bloqueador GAT-3, diminuiu a captação de [3H]-GABA (Basal: $197,1 \pm 12,03$; NO-711: $84,21 \pm 8,125$; SNAP-5114: $87,38 \pm 19,70$ fmol/mg/hora; $n=4-10$). NA e Isoproterenol (ISO), agonista beta adrenérgico, aumentou a captação de [3H]-GABA (Basal: $191,4 \pm 17,08$; NA: $482,6 \pm 44,26$; ISO: $421,7 \pm 42,32$ fmol/mg/hora; $n=10$), e o SNAP-5114 preveniu o aumento na captação de [3H]-GABA estimulado por ISO (Basal: $200,8 \pm 14,48$; ISO: $384,0 \pm 50,29$; SNAP-5114: $65,10 \pm 10,88$; ISO + SNAP-5114: $149,0 \pm 22,12$ fmol/mg/hora; $n=3-10$). Ao longo do desenvolvimento há uma diminuição da expressão de GAT-3 em PN60 (PN2: $0,84 \pm 0,08$; PN20: $0,77 \pm 0,04$; PN40: $0,53 \pm 0,07$; PN60: $0,28 \pm 0,02$ $n=2$). CB1R e CB2R estão expressos e Win 55,212-2 (400 nM), agonista CB1R e CB2R reduz os níveis de AMPc (Basal: $181,7 \pm 29,06$; WIN: $53,04 \pm 15,16$ pmol/mg/hora; $n=4-8$). O WIN preveniu o efeito do ISO em aumentar os níveis de AMPc (ISO: $1,49 \pm 0,16$; WIN: $0,29 \pm 0,08$; WIN + ISO: $0,75 \pm 0,11$ estimulado/basal; $n=4-8$) e a captação de [3H]-GABA (ISO: $2,15 \pm 0,22$; WIN: $0,94 \pm 0,11$; WIN + ISO: $0,82 \pm 0,13$ estimulado/basal; $n=10$). **CONCLUSÃO:** GAT-3 está expresso e seu bloqueio previne o efeito do estímulo noradrenérgico em aumentar a captação de GABA. Há uma relação entre o sistema noradrenérgico e canabinoide sobre a regulação da captação de GABA e AMPc.

Apoio financeiro: CAPES, FAPERJ e PROPPi

37. MODULAÇÃO DOS NÍVEIS DE IL-6 E DO RECEPTOR DE IL-6 EM CULTURA DE CÉLULAS DA RETINA TRATADAS COM OUABAINA: O ENVOLVIMENTO DE IL-1 β E TNF- α

Azevedo,MA*1, Sant'Ana,AC1, Pinheiro,MP1, Vicente,RP1, Albuquerque,CG2, Neto,HCF2, Giestal-Araujo,E1

1UFF-Universidade Federal Fluminense;2IOC-FioCruz-Instituto Oswaldo Cruz,Fundação Oswaldo Cruz

A IL-6 é uma citocina pró-inflamatória que possui um importante papel em eventos fisiológicos, como proliferação, sobrevivências, diferenciação e apoptose. Nosso grupo, demonstrou que IL-6[50ng/mL] aumenta a sobrevida de células ganglionares da retina(CGR). Assim como ouabaina (OUA) 3nM, é capaz de garantir a sobrevida de CGR, efeito esse mediado pelas citocinas IL-1 β , TNF- α e IL-6. Nosso grupo também demonstrou que o tratamento com TNF- α [0,5ng/mL] ou IL-1 β [5ng/mL] é capaz de aumentar a sobrevida de CGR.

OBJETIVO: Investigar se o tratamento com OUA é capaz de modular os níveis de IL-6 e IL-6R em cultura de células da retina. E se IL-1 β e TNF- α estariam envolvidos.**MÉTODO:** Foram utilizados ratos neonatos, cujas retinas foram dissecadas, dissociadas por tripsina 0,1% e mecanicamente. As células foram plaqueadas e mantidas em meio 199 com ou sem OUA, IL-1 β ou TNF- α em atmosfera de 5%CO₂ e 95%de ar a 37°C. Os níveis de IL-6 e de IL-6R foram determinados por Westernblot. Os experimentos com animais foram aprovado pelo comitê de ética Animal-UFF (projeto 00124/09).

RESULTADOS: Nossos resultados demonstram que o tratamento com OUA modula os níveis de IL-6 aumentando em 5,15 e 45min(18 \pm 2,9; 48 \pm 5,73; 23 \pm 2,0 respectivamente) e diminuindo em 24 e 48h(34 \pm 9,12; 40 \pm 10,68 respectivamente).Corroborando com esses dados o tratamento com OUA induz a liberação de IL-6 em 24 e 48h. OUA também modula os níveis de IL-6R aumentando em 15 e 45min (40 \pm 26,03; 38 \pm 5,62 respectivamente) e diminui em 24 e 48h(30 \pm 9,17; 47 \pm 5,37).Com base nos dados, analisamos a influência de IL1 β e TNF α na modulação da OUA, após 15min e 24h. Notamos que na ausência de TNF α os níveis de IL-6 aumentam(45%) e em culturas tratadas com OUA na ausência de TNF α se elevam 146% em 15min e diminuem 83% em 24h.No entanto, na ausência de IL1 β os níveis de IL-6 diminuem em 15 min e 24h mesmo com OUA(30% e 12%).Nós investigamos então a modulação dos níveis de IL-6 tratadas com TNF α e IL1 β em diferentes concentrações, e observamos que o tratamento com TNF α [0,5ng/ml] ou IL1 β [5ng/ml] diminui os níveis de IL-6, 15, 45min, 24 e 48h(TNF α :10%,20%,20% e 50%;IL-1 β :45%,20%,40% e 45%).Mas na concentração 0,25ng/mL TNF- α aumenta os níveis de IL6 em 15, 45 min e 24h(45%, 30% e 75%).E na concentração de 2,5ng/ml a IL-1 β aumenta os níveis de IL-6 em 15 e 45 min(75% e 40%) e reduz os mesmo em 24h(45%).

CONCLUSÃO: Nossos resultados indicam que OUA possui um importante papel na modulação dos níveis de citocinas em cultura de células da retina. E que este efeito envolve IL-1 β e TNF- α , sugerindo, um efeito cooperativo dessas citocinas no aumento da sobrevida de CGR e no tratamento com OUA.

38. EFEITO DA OUABAÍNA NOS NÍVEIS DE TGF- β EM CÉLULAS DA RETINA DE RATOS NEONATOS MANTIDAS EM CULTURA.

Mariana Gurgel da Silva, Renan de Lyra Miranda, Thalita Mázala de Oliveira, Mariana Almeida de Azevedo, Camila Saggiaro de Figueiredo, Leandro de Araújo Martins, Elizabeth Giestal de Araujo.

Ouabaína (Oua) é um hormônio esteroide que foi utilizado no tratamento de insuficiência cardíaca congestiva. Nosso grupo demonstrou que baixas concentrações de Oua (nM) aumentam a sobrevivência de células ganglionares da retina (CGRs) em cultura, assim como foi observado o efeito da Oua nos níveis de TGF- β nas células da retina mantidas em cultura por 48h. O TGF- β é uma citocina que regula processos celulares, como proliferação, diferenciação e sobrevivência em diferentes tecidos, inclusive, na retina. O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito temporal da Oua nos níveis de TGF- β em cultura de células da retina de ratos neonatos. Utilizamos ratos da linhagem Lister Hooded (P2). Os procedimentos foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética no Uso Animal - UFF (00124/09). As retinas foram dissecadas em solução sem cálcio e magnésio, dissociadas quimicamente e mecanicamente. As células foram plaqueadas em placas de Petri (35mm) pré-tratadas com poli-L-ornitina (25 μ g/mL). As culturas foram tratadas com meio 199 na ausência (CT) ou presença de Oua (3nM) e mantidas na estufa (37°C e 5% de CO₂) por diferentes períodos de tempo. As proteínas foram extraídas e dosadas pela técnica de Bradford. Os níveis de TGF- β foram obtidos pela técnica de western blot. Os resultados foram analisados através do Teste t. Os resultados mostram que em 5 minutos houve um aumento de 59% (CT 100%, Oua 159,0% \pm 10,58, N=3), em 15 minutos, aumento de 55% (CT 100%, Oua 155,7% \pm 15,32, N=3) e 28% em 30 minutos (controle 100%, Oua 128,25% \pm 5,87, N=4). Em 24 horas, houve um aumento de 38% (CT 100%, Oua 138,7% \pm 7,22, N=3) e 34% em 48 horas (CT 100%, Oua 134,33% \pm 16,05, N=3). Esses resultados demonstram que o tratamento com a ouabaína (3nM) modula os níveis do TGF- β de células da retina mantidas em cultura. Futuros estudos investigarão a participação do TGF- β no efeito trófico da Oua nas CGRs.

39. NEUROPROTECTIVE EFFECT OF ARYLNITRONES IN IN VITRO MODELS OF STROKE

Marina da Silva Boni, Débora de Souza dos Santos Costa, Ayres Guimarães Dias, Paulo Roberto Ribeiro Costa, Newton Gonçalves Castro.

Laboratório de Farmacologia Molecular, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Laboratório de Química Bioorgânica, Instituto de Pesquisas de Produtos Naturais, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Stroke is a neurologic disease that represents the third most frequent cause of deaths in the whole world and second in Brazil. Focal ischemia leads to excitotoxicity process, which contributes to neuronal injury in the ischemic core. Thrombolysis with alteplase and mechanical thrombectomy are the only therapies available for the acute treatment of ischemic stroke. However, blood reperfusion leads to a massive production of oxidative species, promoting neuronal death in the penumbra zone and lesion propagation. Considering the redox imbalance in neural ischemia-reperfusion, our aim was to study the possible antioxidant and neuroprotective effects of the novel aryl nitrones synthesized by Laboratório de Química Bioorgânica from UFRJ in in vitro models of stroke. A high-content live-dead fluorescence assay was used to evaluate the cytotoxicity of the compounds after 24-hour exposure of HT29 human colon epithelial cells. Using rat cortex cell cultures, we analyzed the effects on excitotoxicity induced by a brief exposure to 500 μM of glutamate + 10 μM of glycine through colorimetric quantification of lactate dehydrogenase (LDH) released. Using acute cortical slices (300 μm) from adults rats, we studied the neuroprotective effects of nitrones in oxygen-glucose deprivation (OGD) followed by reperfusion to simulate ischemia. None of the tested compounds was cytotoxic to HT29 cells in the 50-1000 μM concentration range. Glutamate with glycine induced an increase of 4.8 times in LDH release (27.1% of total content) compared with the control group (cells not exposed to glutamate) (6.3% of total LDH). Initially we performed a screening of twenty aryl nitrones at 500 μM , and the compounds LQB 123, LQB 135, LQB 537, LQB 539 showed respectively 58%, 65%, 55% and 49% of protection compared with the glutamate group (N = 3 independent experiments in triplicates). OGD followed by reperfusion of cortical slices increased 4.2 times the LDH release (7.2% of total content) compared with the control group (slices not exposed to OGD) (1.7% of total). LQB 135 at 1 mM was protective in this assay. Thus, the aryl nitrones were not toxic in a large range of concentration and four compounds showed an interesting protective effect in the excitotoxicity assay. On the next steps, it would be interesting to investigate whether neuroprotection is associated with an antioxidant effect of these compounds using other models and appropriate biochemical endpoints.

CEUA-CCS protocolo: DFBICB029

Financial Support: CNPq-MS-MCTI, CNPq and CAPES fellowships.

40. INHIBITION OF E-NTPDASES REGULATES PROLIFERATION BY P2Y1 RECEPTOR AND MODULATES CELL DEATH IN RAT RETINAL PROGENITORS

¹ Repossi, M., ¹ Pereira, L. A., ² Corrêia, J. C., ² Ulrich, H, and ¹ Fragel-Madeira, L

¹ Department of Neurobiology, Fluminense Federal University, ² Institute of Chemistry, University of São Paulo

The E-NTPDases are enzymes of the plasma membrane that rapidly break nucleotides into nucleosides. ATP have an important role in the retina development, performing several functions through P2 receptors. Preliminary results demonstrated that inhibition of E-NTPDases by ARL67156 for 24 hours increased the number of proliferating cells in rat retina with four postnatal days (P4), an age that cellular proliferation rate is low. Based on this, our aim was to analyze the function of E-NTPDases in vivo during the retina development. This project obtained approval by Ethics Committee on Animal Use under protocol number 547/2014. Lister hooded rats at P4 were anaesthetized by hypothermia and intravitreal injection of ARL67156 200 μ M alone or combination with MRS2179 100 μ M (antagonist of P2Y1 receptor) was performed. The proliferation was assessed by Ki-67 immunolabeling and cell death by TUNEL assay. The expression of E-NTPDases was evaluated by Real-Time PCR at P0,P3 and P5 rat retina. The treatment with ARL at P4 rats for 24 hours increased proliferating cell number by 30% compared to control but P2Y1 blockage reversed this effect (control=4734.4 \pm 71.4; ARL=6096 \pm 150.9; ARL+MRS=5113.4 \pm 182.2). Considering that retina differentiation occurs from center to periphery we analyzed if this effect was similar at both regions. This increase in proliferation rate was observed in all retina, although P2Y1 blockage could not reversed this effect in the center (control:periphery=5721.8 \pm 131.5,center= 4074.2 \pm 190.3; ARL:periphery= 7350.4 \pm 233.9,center= 4933.2 \pm 113.7; ARL+MRS:periphery= 5484.6 \pm 227.7;center= 4829.2 \pm 295). However, the cellular proliferation induction was not sustained 48 and 72 hours after ARL injection (control:48h= 4549 \pm 141; 72h= 3937 \pm 125.9; ARL: 48h= 4826.7 \pm 245.9; 72h= 3890.7 \pm 209.1). We further analyzed if E-NTPDase blockade was inducing cell death. The results showed that, after 24 hours, ARL decreased cell death by 40%, but after 72 hours of treatment, there was an increase by 70% on TUNEL positive cells compared to control (control: 24h= 100 \pm 11.24; 48h= 100 \pm 17; 72h= 100 \pm 18.3; ARL: 24h= 59 \pm 17; 48h= 113.4 \pm 18; 72h= 170.3 \pm 19.7). Furthermore, we identified a higher expression of E-NTPDase1 in P3 and P5 rat retina (P0=2.97 \pm 1.3; P3=11.38 \pm 3; P5=12.01 \pm 3.6), but not for NTPDase2, 3 or 8, suggesting that it is a possible candidate for the action of adenine nucleotides on neuroblasts proliferation. Our data suggest that E-NTPDases blockage increased cellular proliferation of rat retinal progenitors dependently of P2Y1 receptor and this raise was counterbalanced through cell death program.

Capes,FAPERJ,CNPq and Propri-UFF

41. AUTOPHAGY AND RETINAL GANGLION CELLS SURVIVAL: THE ROLE OF A1 AND A2a ADENOSINE RECEPTORS.

1Silva, M.S.*, 1Corrêa, G.R., 1de Araujo, E.G.

1Neurobiology Department, Neuroscience Program, Biology Institute, Universidade Federal Fluminense, Niterói/RJ – Brazil

Introduction: Autophagy is an important catabolic process in which cells components are degraded in order to sustain cellular homeostasis. Previous work from our group demonstrated that treatment with Interleukin-6 (IL-6) was capable of preventing rat retinal ganglion cell (RGC) death after axotomy and this survival effect was dependent of autophagy activation. Another work from our group demonstrated that this trophic effect was also dependent on the adenosine receptors A1 (A1R) and A2a (A2aR) activation.

Objective: Investigate the role of A1R and A2aR in the trophic effect of IL-6 on the RGC mediated by autophagy.

Methodology: All procedures performed on animals have been approved by the animal ethics and utilization committee (CEUA) of Universidade Federal Fluminense (project # 00124/09). We performed a mixed cell culture from the neonatal Lister Hooded rats (P0-P2) retina to obtain the samples. These cultures were then treated with the A1R selective agonist, CHA (1nM) and the A2aR agonist CGS (10nM) at 45 minutes and 48 hours. These samples were used in the Western blot technique to evaluate the levels of Beclin1, LC3, NF-kB and JNK, in polyacrylamide gel. The values shown represent the mean \pm standard error. Differences between two groups were analyzed by Student's t-test. Data were considered significant when $p < 0.05$.

Results: The activation of A1R and A2aR altered the levels of some autophagic components in a time-dependent way. In 45 minutes, the A1R activation decreased the levels of LC3 (CT=100%; LC3=70% \pm 3,8 n=3), p-NF-kB (CT=100%; p-NF-kB=70,1% \pm 9 n=3) and p-JNK (CT=100%; p-JNK=72% \pm 4,7 n=3) and increased the levels of BECN1 (CT=100%; BECN1=194,3% \pm 26 n=3). Meanwhile, the activation of A2aR decreased the levels of BECN1 (CT=100%; BECN1=39% \pm 4,5 n=3) and increased the p-NF-kB (CT=100%; p-NF-kB=161,7% \pm 312,35 n=3) and p-JNK levels (CT=100%; p-JNK=125,3% \pm 6,9 n=3) at the time of 45 minutes. A different effect has been seen in 48 hours. A1R activation increased the levels of all autophagic components studied: LC3 (CT=100%; LC3=203% \pm 33,3 n=3), BECN1 (CT=100%; BECN1=141,7% \pm 10,9 n=3), p-NF-kB (CT=100%; p-NF-kB=214,7% \pm 5,8 n=3) and p-JNK (CT=100%; p-JNK=143,3% \pm 15,1 n=3). While the A2aR activation decreased the levels of the autophagic components: LC3 (CT=100%; LC3=52,3% \pm 5,4 n=3), BECN1 (CT=100%; BECN1=72,7% \pm 6,4 n=3) and p-NF-kB (CT=100%; p-NF-kB=58,7% \pm 1,3 n=3).

Conclusion: The activation of A1R and A2aR altered the levels of some autophagic components in different periods, suggesting a possible role of A1R and A2aR in autophagy modulation in the trophic effect of IL-6 on the RGC of newborn rats.

Funding: CAPES, FAPERJ, CNPQ and Giestal de Araújo Foundation

42. OUABAIN MODULATES THE LEVELS OF MUSCARINIC M3 RECEPTOR AND OF MOLECULA IGF-1 IN RETINAL CELL CULTURES.

1,2 Michele Rodrigues dos Santos, 1,2 Amanda Candida da Rocha Oliveira, 1,2 Elizabeth Giestal-de-Araujo.

1Programa de Pós-Graduação em Neurociências da Universidade Federal Fluminense.

2Departamento de Neurobiologia, Instituto de Biologia da Universidade Federal Fluminense, Niterói – RJ, Brasil

Data from our group showed the trophic effect of 50 U/mL IL-4 and 3 nM OUA on retinal ganglion cells maintained in mixed retinal cell cultures for 48h. In agreement with these data we demonstrated that 3nM OUA treatment induces an increase in the levels of IL-4 after 14 min, 24 and 48h. Recently, our group showed that IL-4 treatment, for 48h, promotes an increase in M3 muscarinic receptors levels in retinal cell cultures. After evaluating M3 muscarinic receptor levels in our treatments for different time intervals, we decided to check that the treatment OUA would be able to modulate also the levels of the molecule IGF-1, since data from our group demonstrated that IGF-1 and IGF-1R modulate the effect of IL-4 on M3 muscarinic receptor of the retina in vitro. Based on these results, in this present work, we investigated the levels of M3R following OUA treatment. Neonatal rats were killed, their retinas dissected, treated with trypsin and mechanically dissociated. Cells were plated at 105 cells/cm² in Petri dishes. The cultures were maintained in medium 199 (CT) with or without OUA medium in an atmosphere of 5% CO₂ / 95% air at 37 ° C. M3R levels were determined by Western blot technique. The experimental animal procedures were approved by the Ethics Committee on Animal Use of the UFF (00294/12). Our results demonstrated that treatment with OUA modulates the levels of M3R at different time intervals: At 15min and 48h OUA induced a decrease in M3R levels: (21,30% ± 1,266% n=3 p=0,002) and (17,04% ± 5,238% n=3 p=0,01) respectively. At 45min (41,47% ± 8,151% n=3 p=0,003) and 24h, OUA induced an increase in M3R levels (18,82% ± 9,133% n=3 p=0,009) respectively. Analyzing the IGF-1 levels after OUA treatment, we observed there was no modulation levels of molecule in 15 min. We observed a decrease after 45min (27,89% ± 5,425 n=3 p= 0,0085); but that emporaters recovered to the values close to the control in 24 hours. However at 48h (69% ± 2,228 n=4 p= 0,0052) we observed a increase. OUA induced an increase in IL-4 levels after 15min (100% n=3 p= 0,0027) and a small increase after 45min (15% n=4 p= 0,0052). At 24h and 48h, we observed an increase (60% n=5 p= 0,0309); and 40% n=3 p= 0,0017 respectively) in IL-4 levels. Our results demonstrated that OUA treatment modulates the levels of M3 muscarinic receptors and suggest an involvement of IL-4 and IGF-1 in this effect.

43. DEVELOPMENT OF RETINOCOLLICULAR PROJECTIONS AND DIFFERENTIATION OF POSTSYNAPTIC MARKERS IN A MODEL OF POSTNATAL HYPOTHYROIDISM.

1Ribeiro, N.C.A.R.; 2Rodrigues Junior, W.S.; 3Cardoso L.C; 1Oliveira-Silva, P 1Serfaty, C.A.

1Departamento de Neurociências/Universidade Federal Fluminense(UFF)/ Rio de Janeiro (RJ) 2Departamento de Ciências Fisiológicas/ Universidade Estadual do Rio de Janeiro (UERJ) /RJ3Departamento de Patologia/ UFF/RJ

Thyroid hormones (TH) thyroxine (T4) and 3,5,3'-triiodothyronine (T3) are essential for the normal development of the central nervous system (CNS). Congenital hypothyroidism represents the deficiency of TH in humans during the gestational and/or neonatal period and is related to severe forms of mental retardation in children. In this work, we have studied how TH deficiency interferes with neural circuits development using the visual system as a biological model. To induce hypothyroidism, developing rats were exposed postnatally to methimazole, a TH synthesis inhibitor, administered in the drinking water (concentration 0,1%) of dams just after offspring birth, so methimazole was continuously delivered through lactation until postnatal day (P) 14. Control animals received just water. T3 and T4 hormones were measured by automated chemiluminescent assay. Anterograde neuroanatomical tracer mapped retinal projections to the superior colliculus. Western blot evaluated the content of NMDAR subunits (GluN1, GluN2B and GluN2A), AMPAR subunit GluR1 and postsynaptic density protein 95 (PSD95). Weight gain of the animals exposed to methimazole was significantly reduced in the postnatal period (P7: n:24 $p < 0,0001$; P14: n:24 $p < 0,0001$; P21: n:23 $p < 0,0001$; P28 n:16 $p < 0,0001$). At P7, was observed an increase of subunit GluN1 in animals exposed to methimazole (n : 4 $p < 0.05$) and a moderate decrease in total T3 and total T4 levels in serum (T3: reduction of 30% in relation to control (CT) and T4: reduction of 80% in relation to CT) . At P14, methimazole treatment promoted a robust reduction on T3 and T4 levels in serum (T3: reduction of 50% in relation to CT and T4: reduction of 90% in relation to CT) which resulted in marked reduction in the density of retinal axons in the superior colliculus and a decrease in the content of GluR1(n:3 $p < 0.05$). At P21, after treatment withdrawal at P14, was observed a decrease of GluN2A (n:4 $p < 0.05$)and PSD95 (n:3 $p < 0.05$). At P28, T3 and T4 levels were already restored and some of these results were reversed. The data suggest that the hypothyroidism during early development causes a malformation of retinocollicular projections. At P21, the animals exposed to methimazole until P14 presented diminished levels of proteins necessary for maturation of this topography, showing, therefore, a delay in the development. Only at P28, with the recovery of the T3 and T4 levels, the retinocollicular projections were similar to the control animals.

(CEUA- UFF n° 406)

Funding: CNPQ, CAPES

44. INIBIÇÃO DA ENZIMA ADAM10 INTERFERE NA PLASTICIDADE DAS PROJEÇÕES RETINOTECTAIS DE ROEDORES

Heringer, P. V. B.¹; Vasques, J. F.²; Vicente, J. M. S. J.¹; Serfaty, C. A.¹; Campello-Costa, P.¹; Faria-Melibeu, A. C.¹

¹Departamento de Neurobiologia, UFF, RJ; ²Departamento de Biofísica, UFRJ, RJ.

INTRODUÇÃO: A Proteína Precursora Amiloide (APP) é essencial para processos biológicos como sinaptogênese, sobrevivência e crescimento celular e plasticidade sináptica. A sua clivagem proteolítica pela via amiloidogênica, acarreta na formação do A β , constituinte das placas senis, um dos marcadores da doença de Alzheimer. Pela via não-amiloidogênica, ocorre a formação da APP solúvel α (sAPP α), peptídeo com propriedades neurotróficas. Nosso grupo vem buscando compreender o papel da APP na plasticidade do sistema nervoso central usando a via retinociliar de roedores como modelo de estudo.

OBJETIVO: Investigar os efeitos da inibição da principal α -secretase, ADAM10, na plasticidade das fibras retinociliares ipsilaterais induzida pela enucleação monocular (EM).

METODOLOGIA: Os procedimentos experimentais deste trabalho estão de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal da SBCAL e com a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa Animal sob o nº0020510. Foram utilizados ratos da linhagem Lister hooded. A inibição farmacológica da enzima ADAM10 foi feita através do implante intracranial de elvax, contendo o inibidor seletivo GI254023X no DPN7. No DPN10 os animais foram submetidos à EM. Grupos experimentais: EM e sem implante de elvax; EM e implante de elvax com DMSO (veículo); EM e implante de elvax com o inibidor na concentração de 10mM. Após a EM a sobrevivência dos animais foi de 24h (DPN11) ou 18 dias (DPN28). A distribuição dos terminais ipsilaterais foi examinada em cortes cerebrais coronais após a injeção intraocular de HRP e a expressão das proteínas estudadas no colículo superior (CS) foi avaliada pela técnica de Western Blot. Para a análise quantitativa, a área visual total ipsilateral do CS foi delimitada, bem como, a densidade óptica das bandas obtidas a partir das imagens do aparelho Chemidoc.

RESULTADOS: Nossos dados morfológicos mostraram que os animais submetidos apenas à EM apresentaram, em DPN11, uma expansão dos terminais retinianos para as regiões mais dorsais do CS (n=4). Tal efeito foi abolido na presença do inibidor na concentração de 10mM (n=3; p=0,0126). As análises de Western Blot confirmaram uma redução significativa na atividade da ADAM10 (n=3; p<0,01) e nos níveis de sAPP α (n=4) no CS, nessa mesma sobrevivência. Nossos dados prévios no DPN28 sugerem um retorno dos níveis de sAPP α (n=1) vistos após a EM, possivelmente indicando uma perda do efeito de inibição causado pelo GI.

CONCLUSÃO: Nossos dados demonstram que a inibição da ADAM10 provoca uma inibição transitória da plasticidade induzida pela EM, confirmando um papel essencial da sAPP α na reorganização das fibras ipsilaterais retinociliares.

CNPq, FAPERJ, CAPES, PROPPI-UFF

45. MÁ-FORMAÇÃO CORTICAL PREDISPÕE O CÉREBRO DE CAMUNDONGOS A SOFRER CONVULSÃO FEBRIL E PROMOVE REDUÇÃO DA COMPLEXIDADE DA ARBORIZAÇÃO DENDRÍTICA DE NEURÔNIOS PIRAMIDAIS E DE SINAPSES EXCITATÓRIAS.

Pedro Freitas Pedroni 1, Debora Magalhaes Portela 1, Henrique Rocha Mendonça 1

Unidade Integrada de Pesquisa em Produtos Naturais e Biociências, Pólo Universitário Macaé, UFRJ, Rio de Janeiro, Brasil.

Introdução: Mal-formações corticais durante o desenvolvimento induzem hiperexcitabilidade. A conectividade é alterada, de forma que conexões excitatórias fortalecidas e a incapacidade de eliminar conexões imaturas aumentam a atividade recorrente na zona epileptogênica.

Objetivos: Por conta disso, hipotetizamos que córtices mal-formados seriam propensos a convulsionar quando estimulados, possivelmente por alterações na arborização dendrítica e no número de sinapses excitatórias.

Métodos: Para testar essa hipótese, induzimos microgiria em camundongos suíços, no dia pós-natal (DPN)1. Após anestesia com ketamina (100mg/kg) e xilazina (10mg/kg), o crânio foi exposto por incisão com lâmina de bisturi. Uma sonda de cobre a -55°C foi encostada sobre a superfície craniana na região parietooccipital por 5 segundos, exceto animais controle. No DPN12, induzimos hipertermia por exposição a ar seco a 47-48°C até o aparecimento de uma convulsão tônico-clônica generalizada. O tempo para aparecimento da convulsão foi quantificado. Após a convulsão, o encéfalo dos animais foi retirado para análise histológica utilizando a técnica de Golgi-cox para verificar a complexidade da arborização e de espículas dendríticas de neurônios piramidais da camada 5. A complexidade da arborização foi quantificada utilizando o método de Sholl, o qual registra o número de interseções num determinado raio a partir do corpo celular e a de espículas por contagem em 20 µm do dendrito apical entre 20 e 100 µm a partir do corpo celular. A diferença entre os grupos foi testada utilizando Teste-T de Student não pareado. Esses experimentos foram aprovados no CEUA UFRJ-Macaé sob o protocolo 004.

Resultados e Conclusões: Nossos resultados, mostram que a latência, em minutos, até o animal com microgiria apresentar uma crise é menor que a do animal normal (06.44 ± 0.16 x 08.55 ± 0.49 , respectivamente) ($p = 0.0006$). Os neurônios do animal com microgiria apresentam uma complexidade de arborização dendrítica menor que a do animal normal (17490 ± 3549 x 36710 ± 2857 , respectivamente) ($p = 0.0048$). Entretanto, a densidade de espículas no animal com microgiria não apresentou diferença em relação ao controle (12.50 ± 1.335 x 10.75 ± 1.652 , respectivamente) ($p = 0.4329$). Resultados foram considerados significativos quando $p < 0.05$. Os dados sugerem que malformação cortical predis põe o cérebro a sofrer crises convulsivas e promove a diminuição da complexidade da arborização dendrítica de neurônios piramidais e redução de sinapses excitatórias.

Apoio financeiro: FAPERJ para manutenção de biotérios.

46. RESTRIÇÃO NUTRICIONAL DO ÁCIDO GRAXO ÔMEGA-3 ALTERA A MICROGLIA E O PERFIL INFLAMATÓRIO NO SISTEMA VISUAL DE RATOS DURANTE O DESENVOLVIMENTO

1Sandre, P. C., 2Velasco, P. C., 1Chagas, L. S., 3Bonomo, A. C., 3Galvani, R. G., 3Vianna, P. H. O., 1Serfaty, C. A.

1 UFF, Instituto de Biologia, Departamento de Neurociências, Niterói-RJ.

2 UFRJ, Instituto de Nutrição Josué de Castro (INJC), Rio de Janeiro-RJ.

3 FIOCRUZ, Instituto Oswaldo Cruz, Laboratório de Pesquisas sobre o Timo, Rio de Janeiro-RJ

A relevância dos ácidos graxos (AG) é amplamente reconhecida na literatura, principalmente durante o desenvolvimento do sistema nervoso central (SNC). O conteúdo de AG n-3 e n-6 na dieta afeta diretamente a produção e o acréscimo tecidual de seus derivados, o ácido docosahexaenoico (DHA) e o ácido araquidônico (AA), respectivamente. Esses AG são substratos para eicosanoides, os quais possuem diversas funções biológicas, como na plasticidade sináptica e processos de memória, condições patológicas e processos relacionados à inflamação. A microglia é extremamente dinâmica e responsiva a mudanças homeostáticas que podem levar a alteração da sua motilidade, morfologia e função, comprometendo assim, a execução de tarefas fisiológicas cruciais. Neste trabalho, usando o sistema visual como modelo de estudo, investigamos o impacto da restrição dietética do DHA na microglia e os possíveis efeitos de uma suplementação precoce (P7 a P28) ou tardia (P28 a P49) com óleo de peixe (3g/kg/dia). Os experimentos foram conduzidos de acordo com as normas de uso de animais de laboratório em conformidade com o protocolo submetido à experimentação animal ética (CEPA-UFF) nº 0015009. Fêmeas de ratos Lister Hooded receberam dieta com óleo de soja (n-3+) ou óleo de coco (n-3-) nas 5 semanas anteriores ao acasalamento e as ninhadas foram utilizadas. Neste trabalho foram utilizadas as técnicas de cromatografia gasosa, western blotting, imunofluorescência e RT-PCR. O ganho ponderal dos animais permaneceu inalterado em todos os grupos experimentais. A análise do perfil de AG indicou que a dieta n-3- promoveu uma redução seletiva do conteúdo de DHA no colículo superior (CS) e na retina e ambas as janelas de suplementação foram capazes de reverter este efeito. Durante o desenvolvimento, o grupo n-3- mostrou alterações na morfologia microglial e aumento dos níveis de Iba-1 na retina e no CS. Dados preliminares sugerem que o grupo n-3- possui níveis elevados de iNOS na retina e que a suplementação precoce, mas não tardia parece reverter este efeito. Análises iniciais por RT-PCR mostraram que a dieta n-3- aumentou os níveis de IL-6 na retina em P14 e de IL-1 β no CS em P7, P14 e em P28, onde a suplementação precoce parece reverter este efeito. Este estudo indica que a restrição dietética crônica de DHA pode alterar o curso correto do desenvolvimento do SNC uma vez que interfere no padrão inflamatório e na população microglial.

Apoio financeiro: CAPES, CNPq, INCT-NIM

47. BIOLOGICAL RELEVANCE OF THE A2A RECEPTOR IN THE SCHWANN CELLS INFECTED BY MYCOBACTERIUM LEPRAE: A POSSIBLE PATHWAY INVOLVED IN THE LEPROSY NERVE DAMAGE?

SANTOS, P.M.F.1; MIETTO, B.2; GUTIERRES, L.1; PEREIRA, R.A.M.1; DIAZ-ACOSTA, C.C.3; MEYER-FERNADES, J.R.4; PESSOLANI, M.C.V.1 AND BERREDO-PINHO, M.1

1Laboratório de Microbiologia Celular, Fiocruz, RJ, Brazil; 2Laboratório de Hanseníase, Fiocruz, RJ, Brazil;; 3Instituto de Investigaciones em Ciencias de la Salud, UNA, Asunción, Paraguay; 2 Laboratório de Bioquímica Celular, IBqM Leopoldo de Meis, UFRJ, RJ, Brazil

Leprosy is a chronic infectious disease caused by *Mycobacterium leprae*, which evokes a strong inflammatory response and leads to nerve damage. Leprosy manifests as a spectrum of clinical forms. Two important aspects that favor the establishment of infection and survival of *M. leprae* are: lipid droplet accumulation and the capacity to induce rapid demyelination after extracellular binding to myelinating Schwann cells (SC). Recently, purinergic receptors have been shown to participate in myelination processes, lipid metabolism and immune response. In addition, the purinergic signaling system plays an important role by modulating inflammatory and immune responses, via extracellular adenine nucleotides and their derived nucleoside adenosine (ADO). The enzymatic activities of CD39, CD73 and Adenosine deaminase play strategic roles in regulating purinergic signals through the conversion of ADP/ATP to AMP, AMP to adenosine and adenosine to inosine respectively. This study aims to evaluate the role of the purinergic signaling pathway in the pathogenesis of *M. leprae* in Schwann cells, analyzing the influence of infection on the different components of this pathway, in particular the A2a receptor.

Financial Support: FAPERJ, CNPq, Newton Fund

48.CHARACTERIZATION OF FAAH ENZYME IN A MOUSE MODEL OF RETINITIS PIGMENTOSA

Azevedo, R.F.; Magalhães, C.F.; Fragel-Madeira, L.

Department of Neurobiology, Federal Fluminense University, Rio de Janeiro

Retinitis pigmentosa (RP) is a neurodegenerative disease of retina caused by mutations which lead to photoreceptor death. A therapeutic target is the endocannabinoid system, with literature supporting effects of its modulation in degenerative diseases of the central nervous system, including retinopathies. Its main ligands are anandamide and 2-arachidonoylglycerol, which are degraded by enzymes such as fatty acid amide hydrolase (FAAH). Thus, we evaluated the expression of this enzyme in Pde6 β rd10 mouse model of RP and compared to animal background C57/B16 mouse in order to verify alterations that might validate its pharmacological modulation in the context of RP. To assess its localization in retina we used immunofluorescence against FAAH in retinal slices. Morphologically at 15 post-natal days (P15), we observed cells in inner nuclear layer displaying puncta of FAAH in rd10 mice which were not shown on C57/B16. Also, at P23 we observed cells above outer nuclear layer (ONL) displaying intense labeling for FAAH. We verified these cells were co-labeling with Iba-1, showing that microglial cells invading ONL were expressing FAAH in rd10 animals. Expression of FAAH, analyzed by western blot of protein extracts from total retina, displayed a trend to be increased in rd10 animals compared to C57/B16. Taken together, these results suggest that alterations in expression of FAAH enzyme, both morphologically and quantitatively, reinforces the role of this enzyme as a potential therapeutic target. This project agrees with Ethical Principles for Animal Experimentation and obtained approval by Ethics Committee on Animal Use under protocol 679/2015.

Financial support: FAPERJ, CAPES, CNPq.48.

49. EFEITOS DO RESVERATROL NA EXCITOTOXICIDADE GLUTAMATÉRGICA EM NEURÔNIOS DA RETINA DE GALINHA

Santos-Pereira, R.1; Paes-de-Carvalho¹, R; dos Santos-Rodrigues, A.1

¹Depto. de Neurobiologia, Instituto de Biologia, UFF, Niterói, RJ.

INTRODUÇÃO: O Glutamato (Glu) é um neurotransmissor excitatório, que em altas concentrações, pode ser neurotóxico. A morte neuronal induzida por Glu contribui para o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas. O Resveratrol (Resv) é um composto polifenólico presente na pele e sementes de mais de 70 espécies de plantas diferentes, incluindo uvas, bagas, chá, grãos e amendoim. Muitos estudos relataram que o Resv possui propriedades neuroprotetoras, contudo, tais mecanismos ainda não são bem compreendidos. Nosso modelo de estudo é a retina de galinha, que é parte do SNC e é um ótimo modelo de estudo de interações neuroquímicas do SNC. Nosso objetivo foi testar se o Resv é capaz de modular morte neuronal induzida por altas concentrações de Glu em culturas purificadas de neurônios da retina.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: As culturas purificadas de neurônios de retina de galinha foram obtidas a partir de embriões com oito dias (E8) de desenvolvimento. Foram realizados pré-tratamentos com Resv (10 μ M, 50 μ M e 100 μ M) 24h e 48h de exposição antes do tratamento com altas concentrações de Glu (1mM ou 2,5mM) por 24h para a indução da morte neuronal. No primeiro dia de cultura (C1), as placas de 48h de exposição foram tratadas com Resv, enquanto que as condições de 24h foram tratadas em C2. Em C3 foi feito o tratamento com Glu. Após 24h desse pulso glutamatérgico, as culturas celulares foram fixadas. A viabilidade celular foi avaliada por contagem das células fixadas e os resultados foram avaliados no programa Prism 7.0. Nós observamos que o tratamento por 24h com o Glu 1mM induziu uma redução da sobrevivência neuronal em 52,96 \pm 0,066% (n=2) e o tratamento com o Glu 2,5mM também por 24h induziu um efeito similar (55,94 \pm 0,87% em relação ao controle). O pré-tratamento com Resv 10 μ M por 24h protegeu significativamente contra a morte neuronal induzida pelo Glu 1mM (124,13 \pm 14,28% em relação ao controle), assim como o pré-tratamento com Resv 50 μ M também impediu a morte neuronal induzida pelo Glu 1mM (105,79 \pm 9,94% em relação ao controle). Essa neuroproteção significativa também foi observada no pré-tratamento com Resv (10 μ M e 50 μ M) por 48h com Glu 2,5mM e foi de, respectivamente, 90,20 \pm 8,34% e 87,6 \pm 12,9% em relação ao controle. Nossos resultados preliminares indicam que o pré-tratamento com Resv 10 μ M tem um efeito protetor significativo contra a morte neuronal induzida pelo Glu (1mM ou 2,5mM) nos tratamentos de 24h e de 48h. O pré-tratamento com Resv 50 μ M, tanto por 24h quanto por 48h, também induziu um efeito neuroprotetor similar.

CONCLUSÕES: Os resultados parciais indicam que o Resv tem um efeito neuroprotetor contra a morte neuronal induzida por altas concentrações de Glu (1mM e 2,5mM) nos pré-tratamentos de 24h e 48h.

AGRADECIMENTOS: UFF

50. GROOMING-AT-A-DISTANCE: A TEMPORAL DYNAMICS ELECTROMYOGRAPHIC EVIDENCE OF SMILING AS A BOND-MAKING INSTRUMENT IN HUMANS.

1,2Campagnoli, R.R.; 1,2Krutman, L.; 3Lobo, I; 4Oliveira, J. M.; 4Vargas, C. D.; 5Souza, G. G. L.; 2Oliveira, L.; 2Pereira, M. G.; 4Volchan, E.; 1,2David, I.A.,

1Departamento de Neurobiologia, UFF, Niterói, RJ; 2Instituto Biomédico, UFF, Niterói, RJ; 3Grupo de Psicobiologia, UFRJ, Macaé, RJ; 4Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, UFRJ, Rio de Janeiro, RJ; 5Departamento de Ciências Biológicas, UFOP, Ouro Preto, MG.

Introduction: Social grooming or caress-like contact between individuals proved to be critical to social bonding. Smiling in humans might have evolved out of non-human anthropoids laughter as a way to expand the social grooming in tune with the increase of social groups sizes through a form of “grooming-at-a-distance”.

Aim: Our aim was to investigate in humans whether, in the presence of social bonding cues, (1) participants’ grooming styles modulate the temporal dynamic of the zygomatic activity (related to smiling), and (2) the temporal dynamic of the zygomatic activity is associated to the temporal dynamic of fingers’ flexion (a grooming-like movement).

Methods: Thirty-one college students (17 women/14 men; mean age = 21.64; SD = 2.71) viewed social bonding and control pictures in a blocked design. Each picture was exposed for 8 seconds on a computer screen. Participants were instructed to flex the fingers of the left hand over a soft cloth, few seconds after each picture onset. The movement resembled a grooming-like caress. Electromyography (EMG) recorded zygomatic activity and flexor digitorum superficialis muscle activity to estimate the latency of the maximal zygomatic EMG amplitude and the onset of the grooming-like movement, respectively. A scale was used to assess participants’ frequency of habitual grooming (grooming styles). This study was approved by the Ethics Committee of Fluminense Federal University (CAAE: 0231.0.258.000-10).

Results: Our results showed that differential zygomatic latencies (bonding minus control) are associated with the frequency of habitual grooming ($r = -0.42$; $p < 0.05$), that is, habitual groomers start smiling faster when exposed to bonding relative to control pictures. Also, when exposed to the social bonding pictures, the faster the participants initiate the fingers’ flexor movement, the faster they smile ($r = 0.43$; $p < 0.05$). This association was not observed when the participants were exposed to the control pictures ($r = 0.08$; $p = 0.65$; n.s.).

Conclusions: Taken together, these results show an association of the temporal dynamic of smiling with that of the grooming-like movement during exposure to social bonding cues. Bonding cues trigger faster a smile in habitual groomers. These findings suggest a temporal coordination between socio-driven motor actions, bringing new evidences of smiling as a bond-making instrument.

Financial Support: CAPES, CNPq, FAPERJ

51. PAPEL DA APP NA PLASTICIDADE INDUZIDA POR AGONISTAS COLINÉRGICOS NICOTÍNICOS NO SISTEMA VISUAL DE RATOS

Gonçalves, R.G.J.1, Barreto, L.G.C.1, Rodrigues Junior, W.S.2, Manhães, A.C.2, Faria-Melibeu, A.C1.

1 Departamento de Neurobiologia, Universidade Federal Fluminense, 2 Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

A Proteína Precursora Amilóide (APP) é uma glicoproteína transmembrana amplamente expressa no sistema nervoso, onde influencia diferentes etapas do desenvolvimento neural. No sistema visual, A APP regula a plasticidade natural das projeções retinoculares no período pós-natal. A APP pode ser clivada através de duas vias distintas. Na via não-amiloidogênica, a ação da α -secretase promove a liberação de um fragmento solúvel neurotrófico, a α APPs. Na via amiloidogênica, as clivagens pelas β - e γ -secretases levam à formação do peptídeo A β . A proteólise da APP pode ser regulada por diferentes sistemas de neurotransmissores. Nós mostramos anteriormente que a exposição local à nicotina entre DPN7-14 altera a expressão e o processamento da APP nas camadas visuais do colículo superior (CS), promovendo um aumento da atividade da α -secretase ADAM10 e dos níveis de α APPs. Concomitantemente, observamos uma robusta arborização dos terminais retinianos. O objetivo deste trabalho foi investigar uma relação direta entre esses efeitos e comprovar o papel da α APPs na plasticidade induzida pela nicotina na via retinocular. Estudamos também o efeito da exposição à Vareniclina, agonista parcial de receptores nicotínicos $\alpha 4\beta 2$, no desenvolvimento da via. Protocolo de aprovação na CEPA 00205/10. No DPN7, ratos Lister Hooded foram submetidos ao implante subpial de elvax contendo nicotina (100mM) e GI254023X (10mM), inibidor específico da ADAM10, vareniclina (10mM) ou DMSO. No DPN14, a atividade da ADAM10 e os níveis de APP e α APPs foram analisados por Western Blot e a distribuição dos terminais retinianos foi examinada em cortes cerebrais após a injeção intraocular de HRP. As análises estatísticas foram feitas através de teste-t não-pareado. Nossos resultados mostraram uma significativa redução na atividade da ADAM10 no CS dos animais que receberam o tratamento simultâneo com nicotina e GI (n=6; p=0,0396). Já os níveis de APP (n=4; p=0,8357) e α APPs (n=4; p=0,7765) foram semelhantes aos do controle. A reação histoquímica revelou um perfil de distribuição dos terminais ipsolaterais também semelhante ao controle, com padrão topográfico característico de animais normais desta idade (n=2). Resultados parciais indicam que a vareniclina exerce um efeito parecido com o da nicotina, provocando uma acentuada expansão dos terminais retinianos com a fusão dos clusters e espalhamento das fibras na borda visual do CS (n=1). Em conjunto, nossos dados demonstram o papel essencial da α APPs na resposta plástica induzida pela nicotina na via retinocular e sugerem que os receptores $\alpha 4\beta 2$ participem deste fenômeno.

CAPES, CNPQ, PROPPI-UFF

52. INFLUÊNCIA DA INTENSIDADE DO EXERCÍCIO NA RECUPERAÇÃO MORFO-FUNCIONAL APÓS LESÃO DE MEDULA ESPINAL EM CAMUNDONGOS

1LAURINDO, R. P.;1,2SANTOS, A.C.R.;1MASSOTO, T. B.;1MARTINEZ, A.M.B;1,3MARQUES, S.A

1Faculdade de Medicina, Departamento de Patologia, UFRJ, Rio de Janeiro. 2Programa de pós-graduação em Anatomia Patológica,UFRJ,Rio de Janeiro.3Instituto de Biologia,Departamento de Neurobiologia,UFF,Rio de Janeiro.

INTRODUÇÃO: A lesão medular traumática é um grave distúrbio clínico que causa alterações significativas das funções sensoriais e motoras. Atualmente,a reabilitação física é a única realidade para os indivíduos lesados e visa minimizar as complicações secundárias à lesão. Um estudo utilizando atividade física em modelos animais fornece boa oportunidade para testar novas estratégias terapêuticas in vivo. **OBJETIVO:** Analisar a eficácia de protocolos de exercício na plasticidade nervosa em modelo de lesão medular compressiva.

METODOLOGIA: Neste projeto,utilizamos o modelo de compressão da medula espinal estabelecido pelo nosso grupo,através de laminectomia da vértebra T9 em camundongos fêmeas jovens,C57/Bl6 e compressão extradural da medula espinal, com um clipe vascular (30g, por 10 segundos). E comparamos dois modelos de exercício, neste modelo de lesão medular e avaliamos seus efeitos na performance locomotora e preservação tecidual.Os animais foram divididos em 4 grupos:SHAM (apenas laminectomia), SCI (lesado),TMT1(lesados tratados com exercícios em esteira ergométrica, com duração de 10 minutos) e TMT2 (lesados tratados com exercícios em esteira ergométrica, com duração de 10 minutos,repouso de 10 minutos e retorno do exercício por mais 10 minutos).O treino foi iniciado na fase aguda, 7 dias após a lesão, com velocidade média de 6 a 12 m/min. Avaliações sensoriais (analgésímetro digital) e motoras (BMS e teste de caminhada em escada horizontal) foram realizadas durante 8 semanas, e após, as análises morfológicas foram feitas.

RESULTADOS: Nossos resultados demonstraram que na escala BMS,28 dias após a lesão, os animais TMT2 ($1,4752 \pm 0,309$, $p > 0,05$) apresentaram um resultado significativo em relação aos demais grupos (SCI $0,8571 \pm 0,3891$; TMT1 $0,8855 \pm 0,2282$).No entanto,42 dias após a lesão,o grupo TMT1 ($2,427 \pm 0,1236$, $p > 0,05$)apresentou valor discretamente significativo em relação ao(SCI $0,7857 \pm 0,2405$, TMT2 $2,014 \pm 0,3595$), mantendo até o final da sobrevida.Nos demais testes, não houve diferença significativa em relação aos protocolos testados nos grupos tratados. O grupo TMT1($1315 \pm 123,3$, $p > 0,05$) e o TMT2 (1158 ± 1158 , $p > 0,05$) apresentaram uma melhor preservação estrutural, através de análises qualitativas e quantitativas, com maior quantidade de fibras preservadas,em relação ao grupo SCI ($680,7 \pm 30,34$).

CONCLUSÃO: Desta forma, concluímos que, de acordo com a intensidade do exercício utilizada, pode-se ter uma melhor regeneração nervosa e promoção do retorno funcional.

53. EXPOSIÇÃO A NICOTINA DURANTE A LACTAÇÃO MODULA O SISTEMA DE SINALIZAÇÃO DOPAMINÉRGICA EM CÓRTEX FRONTAL DE CAMUNDONGOS

Souza-Marques, R1; Peiró, A1; Teixeira, C. H. C.1; Manhães, A C2; Kubrusly, R C C1;

1 Laboratório de Neurofarmacologia. Departamento de Fisiologia e Farmacologia.

Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ.

2 Laboratório de Neurofisiologia, IBRAG, Universidade Estadual do Rio de Janeiro, RJ.

Introdução: O fumo durante a gestação pode levar a alterações no desenvolvimento do sistema nervoso central, por isso, muitas mulheres se abstêm do tabagismo esse período, retornando muitas vezes a este após o parto por escolha ou por recaída. A nicotina (NIC) é o principal componente psicoativo do cigarro, e tem como mecanismo de ação a ativação de receptores nicotínicos. Além disso, sabe-se que a NIC passa para o lactente através do leite materno. Contudo, pouco se conhece a respeito do efeito da NIC nos sistemas de sinalização dopaminérgicos do córtex frontal, durante o desenvolvimento do sistema nervoso central.

Objetivo: Avaliar os efeitos do tratamento com NIC durante a lactação, seguida de um período de abstinência, em camundongos neonatos, sobre as vias dopaminérgicas do córtex frontal.

Metodologia: Fêmeas de camundongos suíços lactantes receberam tratamento com solução oral de 2% sacarina e 0,2mg/mL de nicotina, após o parto até o desmame com 21 dias pós-natal (P21). Foram feitos experimentos de captação de [3H]-Dopamina, dosagem dos níveis de AMPc e western blot para transportador de dopamina (DAT), tirosina hidroxilase (TH) e receptor de dopamina D1. O tecido utilizado nos experimentos citados acima foi o córtex frontal nas idades de P22 e P30. Os resultados foram analisados por meio de teste t ou análise de variância (ANOVA) de uma ou duas vias seguido de pós-teste Bonferroni e expressos como média \pm erro padrão da média. A significância estatística foi alcançada quando $p < 0,05$. O projeto foi aprovado no comitê de ética em experimentação animal (CEUA/969/2017 - UFF).

Resultados: Foi realizado ensaio de captação de [3H]-Dopamina em P22 (ctrl: 78 ± 4 n=6; NIC: 118 ± 12 fmol/mg/hr; n=6) e P30 (ctrl: 85 ± 5 n=6; NIC: 97 ± 13). Em seguida, foi feito ensaio de AMPc estimulado por dopamina (DA) em P22 (ctrl basal: 25 ± 2 ; ctrl DA: 55 ± 7 ; NIC basal: 25 ± 2 ; NIC DA: 50 ± 3 n=6) e P30 (ctrl basal: 36 ± 2 ; ctrl DA: 87 ± 10 ; NIC basal: 58 ± 3 ; NIC DA: 61 ± 4 n=6). E por fim, realizamos ensaio de western blot para TH em P22 (73% do ctrl) e P30 (118% do ctrl), DAT em P22 (146% do ctrl) e P30 (67% do ctrl) e receptor D1 em P22 (112% do ctrl) e P30 (55% do ctrl), todos com n=2.

Conclusão: Foi observado a exposição à NIC, durante o período da lactação, pode induzir alterações na sinalização dopaminérgica a longo prazo, mesmo após o término da exposição.

Palavras-chave: Nicotina, Dopamina, Córtex, Camundongo.

54. CAFEÍNA AUMENTA A EXPRESSÃO DO RECEPTOR DE ADENOSINA A1 E REGULA O TRANSPORTE DE GABA

1MARTINS, R.S.; 1FERREIRA, M.C.; 1TEIXEIRA, C.H.C.; 2SHATLER, M.F.; 1KUBRUSLY, R.C.C

1Laboratório de Neurofarmacologia, UFF, Niterói, Brasil

2 Departamento de Ciências Biomédicas, Universidade do Colorado, USA

Introdução: A cafeína (CAF) é a substância psicoativa mais consumida no mundo, capaz de bloquear os receptores de adenosina A1 e A2a. Estes receptores ativam vias de sinalização que podem aumentar ou diminuir os níveis de AMPc e ativação da PKA, sendo capazes de regular a atividade e expressão dos transportadores de GABA.

Objetivo: Avaliar a modulação do transporte GABAérgico e expressão dos receptores de adenosina no córtex frontal de camundongos adolescentes após o tratamento subcutâneo com cafeína.

Metodologia: Camundongos suíços de ambos os sexos de 35 a 40 dias pós-natais, foram tratados com veículo ou cafeína 10, 20 ou 40 mg/Kg subcutâneo durante 5 dias, sendo uma injeção por dia às 13h, estando de acordo com o comitê de ética da UFF, nº CEUA 968/2017. O peso dos animais foi avaliado nos dias 1, 3 e 5 de tratamento e o córtex frontal (CF) isolado para os experimentos neuroquímicos (captação e liberação de [3H]-GABA, AMPc e Western Blot para A1R e A2aR) realizados 1h após a última injeção. Os dados foram analisados no programa Prism 6 e são expressos como média ± erro padrão da média (EPM), $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

Resultados: O tratamento com CAF em diferentes doses não alterou o peso dos animais (Dia 1: CTRL: $26,96 \pm 0,73$; CAF 10mg: $26,45 \pm 0,58$; CAF 20 mg: $24,81 \pm 0,90$; CAF 40mg: $24,65 \pm 1,03$; Dia 3: : CTRL: $28,48 \pm 0,88$; CAF 10mg: $28,10 \pm 0,53$; CAF 20 mg: $26,21 \pm 0,93$; CAF 40mg: $25,46 \pm 0,84$; Dia 5: : CTRL: $29,21 \pm 0,87$; CAF 10mg: $28,84 \pm 0,57$; CAF 20 mg: $26,62 \pm 0,91$; CAF 40mg: $26,05 \pm 0,84$; $n=23-41$; peso corporal (g)). A captação de GABA aumentou com as 3 doses de tratamento (CTRL: $100,0 \pm 0,0$; CAF 10mg: $176,0 \pm 13,11$; CAF 20mg: $175,3 \pm 15,41$; CAF 40mg: $175,0 \pm 21,89$; $n=4$; % [3H]-GABA captado), por isso os próximos experimento serão realizados apenas na dose de 10mg/kg. O níveis de liberação também foram aumentados pelo tratamento com CAF 10 mg (CTRL: $100,0 \pm 0,0$; CAF: $134,4 \pm 12,27$; $n=22$; % [3H]-GABA liberado). Os níveis de AMPc foram reduzidos nos animais tratados com CAF 10mg (CTRL: $302,0 \pm 31,24$; $210,9 \pm 16,63$; $n=4-7$; pmol/mg/hora), enquanto que há um aumento na expressão de A1R (CTRL: $1,00 \pm 0,0$; CAF: $2,75 \pm 0,53$; $n=2$; unidades arbitrárias), porém não há alterações na expressão de A2aR (CTRL: $1,00 \pm 0,0$; CAF: $0,87 \pm 0,12$; $n=2$; unidades arbitrárias).

Conclusão: O tratamento de 5 dias aumentou os níveis de captação e liberação de [3H]-GABA e foi capaz de aumentar a expressão do receptor A1, o que pode explicar a redução nos níveis de AMPc.

Apoio financeiro: CAPES, FAPERJ, PROPPI

55. CURSO PREPARATÓRIO PARA A ONRJ: AS POSSIBILIDADES DO FAZER PEDAGÓGICO

Neves,R.C.1, Cardoso,V.V.1, Faria-Melibeu, A.C.1

1Departamento de Neurobiologia, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro.

A Olimpíada de Neurociências do Rio de Janeiro (ONRJ) é, assim como as demais olimpíadas científicas, uma competição voltada para alunos de Ensino Médio, e que atualmente está sendo realizada pelo Núcleo de Pesquisa, Ensino, Divulgação e Extensão em Neurociências da Universidade Federal Fluminense (NuPEDEN-UFF). Por ser uma olimpíada de neurociências, a mesma possui uma demanda de conhecimentos específicos que não é possível suprimir com as bases curriculares de Ciências e Biologia, tanto nas instituições públicas quanto nas privadas. Sendo assim, foi observada a necessidade de criar uma forma de levar os conhecimentos acerca das neurociências para esses alunos, possibilitando que estes discentes consigam um ótimo resultado nas provas, e assim, o Curso Preparatório para a ONRJ foi desenvolvido. Após a primeira edição, diversas questões foram levantadas e refletidas, e observou-se uma oportunidade para aplicar recursos lúdicos, objetivando elevar a qualidade do processo de ensino-aprendizagem, assim como a oportunidade de trazer alunos do Ensino Médio para dentro do espaço universitário, despertando nestes alunos, um sentimento de pertencimento à Universidade. A partir dessas duas observações foi instituído a este trabalho o objetivo de analisar e refletir o Curso Preparatório como um meio de desenvolvimento e de aplicação de recursos lúdicos no auxílio do preparo para a ONRJ. No curso, as aulas são, assim como as atividades da ONRJ, divididas em módulos, que consistem em Neurociências Básicas, Neuroanatomia e Neurohistologia, Neurofisiologia e Neurociências Clínicas. As aulas também são ministradas por professores da UFF e por alunos de graduação e pós-graduação, e estes se utilizam de um acervo bibliográfico específico e acessível aos alunos para embasar as aulas. O perfil dos discentes é bem específico, e cerca de 86% dos alunos são de escola pública. Cada tema é realizado duas vezes em horários diferentes para contemplar melhor as rotinas dos alunos. Por estar no espaço universitário, pensa-se que a aproximação do aluno com a Universidade é apenas física, contudo, ao observar minuciosamente, foi visto que esta aproximação se dá também no sentimento de pertencimento daquele espaço. Na prática, isso foi comprovado quando, ainda na primeira aula, os alunos se mostraram interessados em conhecer melhor a Universidade e refletiram sobre como os seus futuros profissionais estão moldados no espaço universitário. O lúdico possibilita, de forma envolvente, a fixação de conteúdos. Em vista destes resultados, é possível observar como o Curso Preparatório está além de um viés conteudista, e através da reflexão sobre a prática é concebível indagar a importância do caráter pedagógico e como o Curso se apossa disso para alcançar os seus objetivos.

56. A INFLUÊNCIA DAS EMOÇÕES POSITIVAS: ESTUDO DE PROCESSAMENTO VISUAL GLOBAL E LOCAL ACERCA DO BROADEN & BUILD THEORY

Ruth Lyra Romero; Paulo Sérgio Boggio

Laboratório de Neurociência Social E Cognitiva, Universidade Presbiteriana Mackenzie, São Paulo, Brasil.

Resumo: As emoções são um campo de interesse desde o princípio do desenvolvimento da ciência, muito se desenvolveu no sentido de compreender emoções como medo, ditas negativas. Entretanto recentemente emoções como alegria e interesse vêm sendo mais estudadas, estas são conhecidas como emoções positivas. Sua importância vem se mostrando cada vez mais, e para compreender seu papel evolutivo teorias como Broaden & Build foram desenvolvidas. Esta postula que emoções positivas tem o papel de prover uma ampliação de consciência, possibilitando o estabelecimento de novos repertórios comportamentais. Diante disso esse trabalho se propôs a investigar o papel da emoção positiva, interesse, no processamento visual e seus impactos no processo de ampliação de processos atencionais. O estudo foi conduzido com 36 estudantes universitários que visualizavam vídeos de indução emocional positiva, negativa ou neutra. Em seguida foram conduzidas duas tarefas clássicas de processamento visual. A primeira era uma tarefa de agrupamento em que os participantes foram orientados a selecionar a figura que não pertencia ao grupo. A segunda tarefa era de movimento congruente, em que os participantes foram orientados a indicar a direção para qual os pontos iam. Os resultados encontrados não apontaram diferenças entre os grupos de indução emocional em nenhuma das duas tarefas. Além disso, observou-se que o priming emocional não teve o efeito de alterar o processamento visual global ou local. Contudo foi encontrada, na tarefa de movimento coerente, correlação positiva entre o autorrelato de desafio e a condição com menor coerência no movimento, a qual indica que quanto mais desafiadora é a tarefa melhor é o desempenho. Neste sentido a avaliação emocional em relação a novidade-desafio e competência, são fatores relacionados à indução de interesse. Outro achado que colabora com essa compreensão foi o de que as emoções de interesse e desafio tiveram correlação positiva. Quanto a ausência de diferença entre os grupos de indução emocional provavelmente se deve a algumas limitações, como o a difícil indução dessa emoção ou efeito ter uma pequena magnitude.

Palavras chaves: interesse, Broaden & build, processamento visual

57. AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA CAFEÍNA NO COMPORTAMENTO E NA EXPRESSÃO DE RECEPTORES NMDA EM RATOS PREVIAMENTE SELECIONADOS PELO CONGELAMENTO

Latgé Tovar, S1.; Nazareth, Y.O1.; Goulart, V. G1.; Maisonnette, S2.; Rosseti, F2.; Pandolfo, P1.; Landeira-Fernandez, J2.; Campello-Costa, P1. 1- Programa de Pós-Graduação em Neurociências, Instituto de Biologia, UFF; 2- Departamento de Psicologia, PUC-RJ.

Introdução: A ansiedade é a disfunção emocional que mais aflige a qualidade de vida humana. A partir disso, modelos animais que mimetizam tal comportamento permitem a investigação dos efeitos de diferentes substâncias no organismo. A cafeína é um dos agentes psicoativos ansiogênicos mais populares, estando empregada em diversos itens do consumo diário, como o café, chás, energéticos e chocolate. Em meio a isso, entende-se a relevância de se compreender melhor a respeito do uso deste psicoativo em quadros de desordens de ansiedade.

Objetivo: Realizar análises comportamentais comparativas em modelos animais com uma base genética de ansiedade, quando submetidos a doses controladas de cafeína e ainda a regulação de receptores NMDA para o glutamato.

Métodos: Ratos Wistar machos com alta (CAC) e baixa (CBC) taxa de congelamento em relação aos animais controles (CTL) foram submetidos a tratamento com cafeína (0.3 mg/mL, oral) ou água por duas semanas. Os animais foram submetidos a testes comportamentais para avaliar locomoção (campo aberto), memória declarativa (reconhecimento de objetos) e de habituação (campo aberto) e a ansiedade (labirinto em cruz elevado e campo aberto). Alguns animais foram perfundidos e tiveram seu hipocampo processado para análise da subunidade GluN1 de receptores glutamatérgicos do tipo NMDA por técnica de imunofluorescência. O presente estudo foi aprovado no comitê de ética da UFF (803/2016).

Resultados: Por meio do teste labirinto em cruz elevado, observamos que os animais CAC ficaram menos tempo nos braços abertos em relação aos demais grupos, porém a cafeína não foi capaz de modificar esta resposta nos diferentes grupos. O teste de campo aberto demonstrou a cafeína como um modulador do fenótipo ansioso nos animais CAC e CBC. O teste de reconhecimento de objeto demonstrou uma melhora na memória de todos os grupos quando submetidos ao tratamento com a cafeína. O conteúdo de GluN1 variou entre os grupos e sofreu uma modulação após tratamento crônico com a cafeína.

Conclusões: Os dados indicam que, na dose utilizada, a cafeína não teve efeito ansiogênico e conseguiu induzir a uma melhora cognitiva nos diferentes grupos, a qual pode estar associada a participação dos receptores glutamatérgicos do tipo NMDA.

58. CARBACHOL MODULATES IL-4, BDNF AND M1 MUSCARINIC RECEPTOR LEVELS IN RETINAL CELL CULTURES.

¹Bitencourt, S.V.; ²Granja, M.G.; ²Gonçalves-de-Albuquerque, C.F.; ²Silva, A.R.; ²Castro-Faria-Neto, H.C.; ¹Araujo, E.G.

1 Department of Neurobiology, Neuroscience Program, UFF-Niterói, RJ, Brazil. 2 Oswaldo Cruz Foundation, Oswaldo Cruz Institute, Department of Physiology and Pharmacodynamics, Rio de Janeiro-RJ, Brazil.

Keywords: Carbachol, IL-4, BDNF, M1, retinal.

Introduction: Previous data from our group show that treatment with carbachol (CBO-a non-hydrolysable acetylcholine analog) induces an increase in retinal ganglion cells(RGC) survival in mixed retinal cell cultures. This effect depends on polypeptides release and activation of Trk receptors(neurotrophins receptors including BDNF). Also, this trophic effect depends on M1 muscarinic receptors(M1R) activation. We also demonstrated that IL-4 is able to increase the survival of RGC and its effect depends on the M1R and BDNF. Recently, we demonstrated that neutralization of BDNF and IL-4 inhibited the trophic effect of CBO in RGC. **Objective:** The purpose of this work was to analyze the modulation of IL-4, BDNF and M1R in mixed retinal cells culture following CBO treatment. **Methodology:** Lister Hooded neonatal rats were killed, their retinas dissected, incubated with trypsin and mechanically dissociated through a Pasteur pipette. Cells were plated(105 cell/cm²) in Petri dishes in 199 medium or in medium containing CBO for different time intervals. Western blot was used to analyze the levels of IL-4, BDNF and M1R. ELISA was used to quantify the IL-4 release following CBO treatment. The density of protein bands was analyzed using ImageJ. Statistical analyses were performed using Student's t-test and one-way ANOVA test. Each experiment was performed in triplicate and p<0,05 was considered significant. Experimental procedures were approved by Ethical Commission of Animal Research at UFF(00124/09). **Results:** Our results show that 25 µM CBO treatment increased BDNF levels after 5, 15 and 45min(CT100%, CBO242%±55.9, CBO194.55%±4.8 and CBO172%±43.17, respectively), and decreased its levels after 24h(CT100%,CBO70.47%±5.0) and 48h(CT100%,CBO78.10%±6.5). Also, CBO increased the IL-4 levels after 15min(CT100%,CBO123.98%±3.8), and in 48h(CT100%,CBO121.13%±8.5). However, at 45min a decrease in IL-4 levels was obtained (CT100%,CBO51.52%±12.69). CBO treatment increases the M1R levels at 15 and 45min(CT100%,CBO126.06%±4.9, CBO183.9%±19.3, respectively). CBO stimulates IL-4 release at 15min (CT100%,CBO713,4%±0,55), 24h (CT100%,CBO425,5%±1,71) and in 48h(CT100%,CBO368%±2,26). **Conclusion:** Our data show that CBO modulates the levels of IL-4, BDNF and M1R in retinal cell cultures. Interestingly, we observed a rapid release of IL-4 after 15min of CBO treatment. Taken together, our results suggest an intricate role of CBO regulating RGC survival.

Financial Support: CAPES, FAPERJ, CNPq, INCT-NIM.

59. ANÁLISE DA FAMÍLIA MYC-MAX DE FATORES DE TRANSCRIÇÃO

Vasconcelos, T.1 Linden, R.1 Adesse, D.2 Petrs-Silva, H.1

1Laboratório de Neurogênese, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, UFRJ

2 Laboratório de Biologia Estrutural, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz.

Introdução: Estudos prévios do nosso laboratório vêm utilizando a técnica de terapia gênica com vetores derivados de vírus adeno-associado (rAAV) para promover a superexpressão da proteína MAX, que leva à citoproteção das células ganglionares da retina em modelos de glaucoma agudo. MAX é um fator de transcrição que precisa se dimerizar para atuar no DNA. Estudos mostram que apesar da proteína MAX poder formar homodímeros, há uma preferência para formação de heterodímeros com outros membros da sua família (MYC-MAX). Como parte desse estudo de terapia gênica citoprotetora, é importante entender tanto o papel funcional de MAX na retina, quanto dos outros membros dessa família de fatores de transcrição, que possam atuar em conjunto com Max para promover a neuroproteção das células ganglionares da retina.

Objetivo: Buscar possíveis parceiros funcionais do fator de transcrição Max durante o desenvolvimento e maturação em retinas pós-natal através da análise de expressão de 12 genes da família MYC-MAX.

Matéria e métodos: Inicialmente utilizamos a técnica de PCR em tempo real. Para tal, retinas de ratos nas idades pós-natal de P0, P7, P14, P21, P30 e P60 foram coletadas e tiveram seu RNA extraído para análise do nível de expressão dos 15 genes da família MYC-MAX (c-Myc, n-Myc, Max, Mad1, Mad2, Mad3, Mad4, Miz, Mnt, Mga, Sin3A, Sin3B, Mlx, Mlx-ip e Mlx-ipl). Também foi utilizada a técnica de imunohistoquímica e análise por microscopia confocal para localizar a expressão dessas proteínas nos diferentes tipos celulares da retina e nas diferentes idades pós-natal. Para análise estatística foi utilizado one-way ANOVA e pós teste de Dunnett.

Resultados e conclusão: Como esperado a expressão da proteína MAX permanece aumenta com a maturação da retina (mean 15.43), em comparação aos níveis de c-Myc (mean 0.421; $p < 0.0064$) e n-Myc (mean 1.385; $p < 0,0052$), que diminuem. Dentre os outros membros da família MYC-MAX, análises de expressão indicam que Mad2, Mad4, Mga, Sin3a, Sin3b e Mlx foram encontrados aumentados, em concordância com Max e sem diferença estatística. Também está sendo analisado o padrão de expressão dessas proteínas por imunohistoquímica. Vimos que Mlx e Sin3b se encontram na camada de células ganglionares, da mesma forma que Max. Podemos concluir que outros membros da família MYC-MAX também são expressos na retina, na camada de células ganglionares. Futuras análises são necessárias para mostrar a co-localização com Max.

60. CARBACOL REGULA OS NÍVEIS DA INTERLEUCINA-2 EM CÉLULAS DA RETINA DE RATOS NEONATOS IN VITRO

1,2,4Colares, T.G., 1,3,4Rabelo, A.A.S., 1,2,4Giestal-de-Araujo, E.G.

1Programa de Pós-graduação em Neurociências. Universidade Federal Fluminense - UFF, Niterói - Rio de Janeiro - Brasil.

2Dpto de Neurobiologia, Instituto de Biologia.

3Dpto de Fisiologia e Farmacologia, Instituto Biomédico.

4Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia (INCT) - Neuroimunomodulação.

Nossos resultados anteriores demonstraram que a IL-2 (50U/mL) exerce um papel modulatório no sistema colinérgico. Dados da literatura mostraram que a acetilcolina liberada a partir de células T regula a secreção de IL-2 (Mashimo et al., 2016). O objetivo deste trabalho foi analisar se a ativação do sistema colinérgico também modula os níveis de IL-2 nas culturas de células da retina de ratos neonatos. Retinas de ratos da linhagem Lister Hooded (24 a 72h após o nascimento), foram dissecadas em solução salina sem cálcio e magnésio (CMF). Posteriormente, foi realizado o processo de dissociação química, através do tratamento do tecido retiniano com tripsina 0,1%, por aproximadamente 17min, a 37°C. Em seguida, foi feita uma dissociação mecânica com auxílio de uma pipeta Pasteur de ponta afilada e as células foram plaqueadas na densidade de 105 cel/cm² em placas de Petri, previamente pré-tratadas com poli-L-ornitina (25µg/mL). As culturas foram mantidas em meio de cultura completo (199 acrescido de soro fetal bovino 5%, glutamina e antibióticos), na presença ou não de carbacol (CBO), na concentração de 25 µM, e incubadas em atmosfera controlada com 5% de CO₂ e 95% de ar, por 45min e 24h. Os níveis da IL-2 foram analisados pela técnica de Western Blot, sendo os resultados expressos em porcentagem do controle. Os procedimentos envolvendo os animais foram aprovados pelo Comitê de Ética e Utilização Animal (CEUA) da Universidade Federal Fluminense (CEUA/UFF, projeto nº 294). Nossos resultados demonstram que o tratamento com CBO, por 45min, aumenta os níveis da IL-2 (CT=100%; CBO=163%; EPM=12%; n=2). Entretanto, em 24h, houve uma diminuição nos níveis da IL-2 (CT=100%; CBO=65%; EPM=20%; n=2) nas culturas tratadas com CBO. Podemos sugerir que o CBO é capaz de regular os níveis da IL-2 com possíveis efeitos no processo de diferenciação do tecido retiniano.

Apoio financeiro: CNPq, CAPES, INCT - NIM e PROPPI-UFF.

61. NEUROPROTETORES FAVORECEM A SOBREVIDA DOS MOTONEURÔNIOS DA MEDULA ESPINAL NA ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA (ELA) – METANÁLISE

1Marinho, T.C.P; 2Dutra-Oliveira, A

Centro Universitário IBMR/Rede Laureate, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução: A ELA é uma doença neurodegenerativa que acomete o motoneurônio. Sugere-se que a utilização de neuroprotetores na contenção da degeneração neuronal possua influência positiva na sobrevida dos motoneurônios da medula espinal, colaborando com o prognóstico do paciente.

Objetivo: Revisar a literatura vigente e identificar o mecanismo de ação dos neuroprotetores minimizando a excitotoxicidade do glutamato e sua correlação com o prognóstico da ELA.

Metodologia: A revisão sistemática foi desenvolvida de acordo com a declaração do PRISMA, com base em artigos pesquisados nos bancos de dados do Pubmed, Lilacs, Scielo, Science Direct e Bireme. As buscas foram realizadas na língua inglesa, sem filtro para data inicial e até julho de 2018. Foi utilizada uma avaliação conjunta dos trabalhos revisados avaliando o tamanho do efeito (g), corrigido pelo viés (g de Hedge) com IC de 95%. As metanálises foram aplicadas usando o modelo de efeito fixo a partir da heterogeneidade dos tamanhos de efeito.

Resultados: Os neuroprotetores utilizados por Tollosa (2011) e Lee (2012) apresentou redução na concentração do glutamato, diminuindo o processo inflamatório e reduzindo os níveis de agentes oxidantes. Nesse contexto, foi avaliado os níveis de THA, NF-KB e TNF para avaliar a possível neuroproteção. A mensuração do THA demonstrou efeito - 5,67. Em relação ao % NF-KB, o mesmo mostrou um efeito 119,19 ($p < 0,0001$). Por último, a avaliação dos níveis de TNF apresentou um efeito 176,78 ($p < 0,0001$).

Conclusão: A análise estatística dos dados demonstrou que houve redução nos níveis extracelulares de TNF e na ativação NF-KB, sugerindo que a utilização dos neuroprotetores minimizou a morte neuronal. Sendo assim, sugere-se que a utilização de neuroprotetores na ELA promove maior sobrevida dos motoneurônios da medula espinal, possibilitando a redução do processo inflamatório e da neurodegeneração. No entanto, esses neuroprotetores agem em diferentes vias, assim a utilização de dois ou mais neuroprotetores em conjunto poderia repercutir em resultados diferentes.

Palavra-chave: Esclerose Lateral Amiotrófica, Neuroinflamação, Excitotoxicidade.

62. OUABAIN TREATMENT MODULATES THE LEVELS OF CD14 AND IBA1 IN RETINAL CELL CULTURES.

Mázala-de-Oliveira, T. 1,3, Almeida, A.T. 1,3, Giestal-de-Araujo, E. 1,2,3.

1Programa de Neurociências, Departamento de Neurobiologia, Universidade Federal Fluminense. Niterói, Rio de Janeiro – Brasil. E-mail: tha.mazala@hotmail.com

2PhD. Professor, Universidade Federal Fluminense. Endereço: Outeiro de São João Batista s/n, Centro, Niterói – Rio de Janeiro, Brasil. CEP 24210-130. E-mail: egiestal@vm.uff.br

3INCT - Neuroimmunomodulação

Introduction: Ouabain (OUA), a well known inhibitor of the Na⁺/K⁺-ATPase pump (μ M concentration), has an analog substance (endobain) found in human plasma (pM-nM). Several studies show that at low concentrations OUA binds to the pump and promotes the activation of signaling pathways. Data from literature show that these intracellular pathways can modulate inflammatory response through regulation of cell migration, vascular permeability, cytokine production and receptors expression. Data from our group show that (3nM OUA) treatment was able to increase axotomized retinal ganglion cells survival in vitro, an effect dependent on low concentration of TNF- α . We also described the modulatory effect of OUA regulating the levels of TRL4 in retinal cell cultures.

Objective: Based in our previous results, in this study we analyzed the effect of ouabain on the levels of CD14 and Iba1 in retinal cell culture because CD14 is a membrane receptor involved in TRL4 response and Iba1 is a microglial marker.

Methodology: Lister Hooded neonatal rats (P0-P2) were killed, their retinas were dissected in saline, incubated with trypsin and mechanically dissociated through a Pasteur pipette. Cells were plated (105 cell/cm²) in 35mm Petri dishes and then maintained in 199 medium with or without 3nM OUA for different time intervals. Western blot was used to analyze the levels of CD14 and Iba1 (microglial cell markers). The density of protein bands was analyzed by densitometry with ImageJ. Statistical analyses were performed using Student's t-test. Each experiment was performed in triplicate and p<0,05 was considered significant. Experimental procedures were approved by Ethical Commission of Animal Research at UFF (00124/09).

Results: Our results show that OUA treatment in retinal cell cultures induces a decrease in CD14 levels after 15min (CT 100% OUA 83.78 \pm 6.83), 45min (CT 100% OUA 66.23* \pm 11.93) and 48h (CT 100% OUA 62.83* \pm 4.86). However, at 24h (CT 100% OUA 157.9* \pm 15.49) an increase was observed. Concerning the levels of Iba1 it was a decrease in all time intervals analyzed: (15min CT 100% OUA 65.69* \pm 1.79; 45min CT 100% OUA 86.06* \pm 5.50; 24h CT 100% OUA 59.76* \pm 8.04; 48h CT 100% OUA 61.2* \pm 9.01).

Conclusion: Our data suggest that OUA treatment modulates the inflammatory response regulating the TNF- α , TLR4, CD14 and Iba1 levels in retinal cell cultures.

Financial Support: CAPES, FAPERJ, CNPq, INCT-NIM.

63. INVOLVEMENT OF INOSINE IN PROLIFERATION OF LATE DEVELOPING RETINAL GLIAL PROGENITORS IN CULTURE.

1Silva, T.M., 1Carvalho, P.S., 1Lopes, C.G., 1Jacques, F.J., 1Ventura, A.L.M., 1Neurobiology Department, Fluminense Federal University, RJ.

Aims: In the present study, we investigated the involvement of adenosine and inosine in the proliferation of glial progenitor cells in chick embryo retina cultures.

Methods: [3H]-thymidine incorporation was performed in retinal cultures obtained from 7-day-old chick embryos cultivated for 2 days. All procedures were approved by the commission of animal care from Fluminense Federal University CEPA/PROPPi-00132/09.

Results: When retinal cell cultures were treated with 100 μ M ATP during 24 h, a significant increase of 83.5% in the [3H]-thymidine incorporation was noticed. Addition of 100 μ M ARL67156, an inhibitor of ectonucleotidase activity, inhibited proliferation in the cultures (in cpm/culture: control = 4334 ± 698 ; ATP = 7952 ± 887 ; ARL = 2227 ± 409 ; ATP + ARL = 4113 ± 353 ; $n \leq 4$), suggesting the involvement of ADP and/or adenosine in the proliferation stimulated by purinergic signaling. While addition of 10 μ M of the adenosine A2b receptor antagonist PSB 1115 to the cultures did not change significantly the incorporation of [3H]-thymidine induced by ADP, their incubation with ADP in the presence of 500 nM of the A2a adenosine antagonist ZM-241385 decreased proliferation by 63.9%, suggesting that activation of A2a, but not A2b, adenosine receptors is required for ADP-induced glial progenitor proliferation. Moreover, treatment of the cultures with 100 μ M ADO induced an increase in [3H]-thymidine incorporation, an effect that was inhibited by the co-incubation of the cultures with 10 μ M EHNA, an inhibitor of adenosine deaminase (ADA) (in cpm/culture: control = 1932 ± 407.1 ; 100 μ M ADP = 8025 ± 1773 ; ADO = 4117 ± 911 ; EHNA + ADP = 9309 ± 1973 ; EHNA + ADO = 3093 ± 1093 , $n = 2$), suggesting the participation of inosine in cell proliferation. Incubation of the cultures with 1 U/mL ADA promoted a significant increase [3H]-thymidine incorporation (in cpm/culture: control = 881.5 ± 158 ; 0,1 U/mL ADA = 1348 ± 151 ; 0,5 U/mL ADA = 2409 ± 480.4 ; 1 U/mL ADA = 3216 ± 536.6 ; $n = 3$). An increase in cell proliferation also was observed, when retinal cultures were incubated with 100 or 300 μ M inosine, (in cpm/culture: control = 861.8 ± 74.61 ; 100 μ M Ino = 3595 ± 482 ; 300 μ M Ino = 3295 ± 335 ; $n = 3$), corroborating that inosine can induce the proliferation of retinal glial progenitors in culture.

Conclusion: These results suggest that ADP, adenosine and/or inosine are required for the proliferation of retinal glial progenitors in culture.

Financial support: CAPES, CNPq, PROPPi-UFF, FAPERJ.

64. PARTICIPATION OF IL4 AND THE CONVENTIONAL PKC CLASS IN THE MODULATION OF M5 MUSCARINIC RECEPTOR LEVELS IN CULTURES OF RETINAL CELLS OF NEONATAL RATS.

Thaylini Querino dos Santos Conceição², Luís Eduardo Gomes Braga², Elizabeth Giestal de Araujo¹, Aline Araujo dos Santos²

¹Departament de Neurobiology, Instituto de Biology, UFF, Rio de Janeiro

²Departament de Physiology e Pharmacology, Biomedical Institute, UFF, Rio de Janeiro

Introduction: Previous laboratory results have shown that PMA, a PKC activator, modulates the cholinergic phenotype of retinal cells from neonatal rats maintained in culture, including a change in muscarinic receptor expression.

Objective: This study was to analyze M5 muscarinic receptor (M5R) levels during postnatal retinal development and retinal cell cultures treated with 50ng / ml PMA for different time intervals.

Methodology: We performed retinal cell cultures of neonatal rats (P2) of the Lister-Hooded strain. The retinas were plated on 35mm Petri dishes at a density of 105cells / cm². Control cultures and treated with PMA were kept in an oven at 37°C for 45min, 24h or 48h. Retinal tissue samples from postnatal rats at ages 0 to 30 (P0-P30) were also obtained. M5R levels were determined by the Western blot technique. The project was approved by the Research Ethics Committee of UFF (CEUA n° 642/15).

Results: Treatment of cultures with PMA for 45 min (100% CT, PMA 165.1% n = 3), 24h (CT100%, PMA 165.1% n = 3) and 48h (100% CT, 2% n = 3) increases M5R levels. The presence of GO6976 13nM, inhibitor of the PKCs of the conventional class, blocks the increase of M5R levels induced by the treatment with PMA in 24h (100% CT, PMA 154,17%, desviation 16,98%, GO13nM 108,92% desviation 13.13%, PMA + GO 55.03%, desviation 12.48% n: 3). Patellar does not inhibit the effect of PMA under M5 receptor levels in retinal cell cultures of neonatal mice for 48h (100% CT, PMA: 154.16 desviation: 17.85, ROT 121.86% desviation: 9.585, PMA + ROT 153.35 desviation 16.97% n4). Neutralization of IL-4 abrogates the increase of 24-hour PMA mediated M5 receptor levels (100% CT, PMA 208% desviation 59.35%, XIL4 85.7, desviation 22.30%, PMA + 124% XIL4, desviation 5.038).

Conclusions: Activation of PKC decreases M1 receptor levels, increases M3 receptor levels and, as seen in this study, increases M5 receptor levels in rat retinal cell cultures. The increase in M5R levels is dependent on the activation of conventional class isoforms and the release of IL-4. These results indicate that PKC activation is capable of altering the cholinergic phenotype in retinal cells, mimicking what occurs during postnatal tissue development.

65. COMPOSIÇÃO DIFERENCIAL DE RECEPTORES IONOTRÓPICOS DE GLUTAMATO NO HIPOCAMPO VENTRAL MAS NÃO NO DORSAL E SUAS POSSÍVEIS IMPLICAÇÕES NO COMPORTAMENTO RELACIONADO A ANSIEDADE

Goulart, V. G1.; Maisonnette, S2.; Pandolfo, P1.; Landeira-Fernandez, J2.; Campello-Costa, P1. 1- Programa de Pós-graduação em Neurociências, Instituto de Biologia, UFF, RJ; 2- Departamento de Psicologia, PUC, RJ.

Introdução: Os transtornos de ansiedade têm como característica comum o medo e a ansiedade excessivos. O glutamato é o principal neurotransmissor excitatório do cérebro de mamíferos e é implicado em vários tipos destes transtornos. Suas ações são mediadas por diferentes receptores, dentre eles os receptores ionotrópicos do tipo NMDA (NMDAr) e AMPA (AMPAr). **Objetivos:** Realizar análises comportamentais em modelo animal com uma base genética de ansiedade e fazer possíveis correlações com o conteúdo destes receptores no hipocampo ventral e dorsal.

Métodos: Ratos Wistar machos (220-300g) foram previamente selecionados e caracterizados com alto (CAC) e baixo (CBC) grau de congelamento em relação aos controles (CTL). Avaliamos os comportamentos análogos ao tipo ansioso (taxa de congelamento e campo aberto), depressivo (nado forçado), a memória espacial (labirinto em Y) e de habituação (campo aberto), a nocicepção térmica (placa quente) bem como a expressão (western blot) de subunidades de receptores glutamatérgicos. O presente estudo foi submetido ao comitê de ética da UFF sob o protocolo nº 803/2016.

Resultados: O grupo CAC apresentou o fenótipo mais ansioso na resposta de congelamento após o choque, prejuízo na memória espacial e de habituação e um fenótipo depressivo comparada ao grupo CTL. O grupo CBC apresentou fenótipo tipo menos ansioso, maior atividade locomotora e prejuízo na memória de habituação. Nenhuma diferença foi observada no tempo de reação a dor entre os grupos experimentais. As análises bioquímicas, realizadas no hipocampo ventral, mostraram que no grupo CAC houve um aumento significativo do conteúdo da subunidade GluN1 e diminuição da subunidade GluN2A de receptores NMDA. Nenhuma diferença significativa foi observada quanto as subunidades GluA1 e GluA2 de receptores AMPA. O grupo CBC apresentou um aumento do conteúdo da subunidade GluN1 e uma diminuição nos níveis de GluN2B de receptores NMDA. Observamos ainda uma diminuição da subunidade GluA1 e um aumento da subunidade GluA2 de receptores AMPA. Além disso, observamos ainda um aumento da PSD-95 nos grupos CAC e CBC em relação ao grupo CTL. Nenhuma diferença estatística foi observada no conteúdo destas proteínas no hipocampo dorsal entre os grupos avaliados.

Conclusão: Em conjunto, estes resultados suportam a hipótese de que a composição diferencial de subunidades de receptores NMDA e AMPA no hipocampo ventral, mas não no dorsal, participa na regulação do comportamento tipo ansioso nestes animais.

Suporte Financeiro: CNPq, FAPERJ, CAPES.

66. ANÁLISE DE MINI-PROMOTORES PARA EXPRESSÃO EM CÉLULAS GANGLIONARES.

Araujo, V.G¹, Santos, G.N.¹, Leandro, T.G.¹, Dias, M.S.¹, Hauswirth, W.W.², Linden, R.¹ e Petrs-Silva, H.¹

1 Laboratório de Neurogênese, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, UFRJ; 2 Retinal gene therapy lab, Ophthalmology Department, University of Florida

Introdução: Promotores são sequências do DNA que promovem transcrição gênica, estão localizados próximos do códon de iniciação e à jusante a esse. Em tecnologias de DNA recombinante onde há expressão de material genético exógeno, os promotores desempenham um papel importante no direcionamento da transdução. Um promotor geral pode levar à transdução em qualquer tipo celular. Já promotores específicos focalizam a transdução baseado em características de expressão gênica célula específica, de forma que a expressão só ocorra nas células onde tal promotor estará ativo. Dessa forma aumentando a segurança de tratamentos baseado em alterações genéticas em tecidos complexos. No sistema nervoso central, a retina é um tecido formado por múltiplas camadas de células, onde a camada de células ganglionares (CGs) é responsável por levar as informações visuais da retina para o cérebro. Danos nas CGs podem levar a cegueira e está relacionado a diversas patologias como o glaucoma. Dentre várias estratégias terapêuticas para o glaucoma, a terapia gênica tem se mostrado promissora. Alguns promotores já foram descritos direcionarem a expressão para CGs porém, com menor eficiência, além de promovem expressão em outros tipos celulares.

Objetivo: O objetivo desse trabalho é analisar a capacidade de transdução de CGs de 7 diferentes mini-promotores (MiniPS) denominados de Ple (Pleiade Promoter Project) constituídos de sequências promotoras e regulatórias preditas pela ferramenta computacional, Vista enhancer browser, que desenhou os MiniPS com sequências conservadas em cérebro de humanos e camundongos adultos.

Métodos: Os MiniPS estão em vetores de vírus adenoassociado controlando o transgene repórter GFP (Green Fluorescent Protein). Após injeção intravítrea dos vetores em ratos da linhagem Lister Hooded com 30 dias de idade, as retinas foram processadas após 4 semanas para criocortes, seguida de imunofluorescência e analisada por microscopia confocal.

Resultados: Para quantificar o número de CGs expressando GFP em cada grupo experimental utilizamos o marcador de CGs, Brn3a, juntamente com GFP, nossa molécula repórter. Após análise de variância One-way Anova e pós teste Dunnett vimos que 5 dos 7 tiveram mais CGs transduzidas, com $p < 0.0001$: Ple53 (md 94.56); Ple67 (md 128.6); Ple67 FEV-D (md 63.12); Ple25 (md 88.41) e Ple25 0.75Kb (md 78.90).

Conclusão: Concluimos que dos 7 MiniPs testados, 5 apresentam mais CGs, todavia, novas análises precisam ser feitas para verificar se os promotores selecionados também se encontram em outras células da retina além das GCs.

67.MYELIN PROTEIN NOGO-A REGULATES ASTROCYTE-INDUCED SYNAPTOGENESIS

1Coutinho, VG; 1,4Espírito-Santo, SA; 1Dezonne, RS; 1Stipursky, J; 2Rodrigues, A; 1Batista, C; 2Paes-de-Carvalho, R; 3Fuss, B; 1Gomes, FC

1Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil, 2Instituto de Biologia, Programa de Neurociências, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Brasil, 3Department of Anatomy and Neurobiology, Virginia Commonwealth University School of Medicine, Richmond, VA, USA, 4Departamento de Ciências Biológicas, Universidade do Estado de Minas Gerais, Minas Gerais, Brasil.

Abstract: Nogo-A is a protein mostly expressed by oligodendrocytes myelin sheath, which through Nogo-A receptor (NgR1) complex present in neural cells leads to CNS neuronal plasticity limitation. Recently, Nogo-A signaling has been a remarkable topic of investigation for acute injury and multiple sclerosis therapy, where it promotes excitatory-inhibitory imbalance and motor deficits. Among the cells expressing NgR1, astrocytes are of special interest in synapse activity and plasticity regulation of CNS, through glutamate metabolism and synaptogenesis promotion. Naturally, they are seen as new pivotal targets to understand development and counter neurodegenerative processes. However, the biological effects of Nogo-A signaling in these cells are unknown. Therefore, we aimed to study whether Nogo-A can alter astrocytes synaptogenesis function in vitro, as well as investigate the alterations in cortical Nogo-A signaling and astrocyte-related synapse changes in an in vivo acute demyelination model. Our data shows that cultured astrocytes respond to Nogo-A by a RhoA-GTP pathway, inducing actin processes retraction associated to a stressed fibers phenotype. Astrocytes also showed reduced levels of glutamate transporter GLAST and aspartate uptake deficits, after Nogo-A treatment. Synaptogenic capacity was also impaired, as qRT-PCR evidenced reduced transcription of synapse-induction associated genes (Hevin, glypican-4, TGF- β 1 and BDNF), as well as western blot exhibited reduced pro-synaptogenic Hevin protein and increased SPARC protein, its antagonist. As expected, neurons exposed to astrocyte-conditioned medium (ACM), previously treated with Nogo-A, developed fewer synapses, with a reduction of both structured and functional sites, as seen through immunostaining for PSD-95 and synaptophysin and FM1-43 staining, respectively. Interestingly, in cuprizone-induced acute demyelination, reduced expression of cortical Nogo-A was accompanied by upregulated hevin and downregulated SPARC expression, in addition to increased excitatory synapse levels. Hence, we conclude that Nogo-A impairs astrocyte-dependent synaptogenesis directly and may have its regulatory role disrupted by demyelinating processes.

Key-words: Astrocyte, synaptogenesis, Nogo-A, cuprizone.

68. OLIMPÍADA DE NEUROCIÊNCIAS DO RIO DE JANEIRO: HISTÓRICO E PERSPECTIVAS

Cardoso, V.V.1, Neves, R.C.1, Oliveira-Silva, P.1; Faria-Melibeu, A.C.1

1Departamento de Neurobiologia, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro.

A Olimpíada de Neurociências do Rio de Janeiro (ONRJ) é uma prova anual, nos moldes de outras olimpíadas científicas brasileiras para estudantes do ensino médio, que é realizada atualmente pelo Núcleo de Pesquisa, Ensino, Divulgação e Extensão em Neurociências da Universidade Federal Fluminense (NuPEDEN-UFF). Tendo como objetivo despertar o interesse em neurociências, estimulando vocações acadêmicas e científicas, assim como difundir os conhecimentos básicos e aplicados sobre o sistema nervoso promovendo o seu estudo, sua aplicabilidade no dia-a-dia e a troca de idéias e experiências entre os envolvidos. Sua criação foi uma iniciativa da Organização Ciências e Cognição (OCC) que é responsável pela Olimpíada Brasileira em Neurociências (OBN). As provas são compostas por módulos que englobam conhecimentos de neuroanatomia, neurohistologia, neurociências básicas, neurofisiologia e neurociências clínicas e são confeccionadas a partir de um banco de questões criado por especialistas nas áreas das neurociências. Os três primeiros colocados da ONRJ participam, juntamente com os vencedores dos outros comitês locais, da OBN e, seu vencedor, da International Brain Bee Championship. Neste ano, tivemos sua sexta edição onde participaram 16 competidores. Nesses seis anos de Olimpíadas de Neurociências, o vencedor nacional, por cinco edições (2013, 2014, 2016, 2017 e 2018), foi um dos representantes do comitê do Rio de Janeiro. Entretanto, apesar do número crescente de participantes, ainda é tímida a participação de alunos de escolas estaduais e particulares do Estado do Rio de Janeiro e mudar este panorama é um dos nossos objetivos. Estamos trabalhando em diferentes frentes - contactando professores e escolas do Estado; promovendo palestras de divulgação nas escolas; promovendo encontros preparatórios com os futuros candidatos; produzindo materiais para estudo com auxílio de monitores; sensibilizando graduandos e pós-graduandos para o papel de supervisor dos candidatos. O projeto ONRJ alinha ações de aprendizagem e divulgação científica entre a Universidade e a sociedade. A equipe envolvida neste projeto tem ampla experiência na organização, tendo participado do desenvolvimento e realização de outros eventos e cursos visando a divulgação, popularização e difusão de neurociências para todo o tipo de público. As Olimpíadas apresentam forte vínculo com o ensino e a pesquisa, visto pela participação de pesquisadores, docentes e discentes de diferentes cursos de graduação e pós-graduação. Apresentaremos além do histórico das edições da ONRJ, as ações realizadas até o momento com o intuito de difundir e ampliar a ONRJ. Apoio Financeiro: PROEX-UFF, ONG Ciência e Cognição, UFRJ.

69. OUABAIN MODULATE THE LEVELS OF INTERLEUKIN-2 AND INTERLEUKIN-10 IN RETINAL CELLS OF NEWBORN RATS

Camila Saggiaro de Figueiredo, Thalita Mázala de Oliveira, Renan Lyra Miranda, Mariana de Almeida Azevedo, Mariana Gurgel, Leandro Araújo Martins, Elizabeth Giestal de Araújo.

Departamento de Neurobiologia, Programa de Neurociências, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói – Rio de Janeiro – Brasil

Ouabain (OUA) is a cardiotonic steroid that at high concentrations (μM) acts as a selective Na^+/K^+ pump blocker, whereas, at lower OUA concentrations (nM), leads the pump to behave as a cell growth, proliferation and survival regulating receptor. Our research group demonstrated the trophic effect of 3nM ouabain on retinal ganglion cells; an effect modulated by IL-1 β and TNF- α . Previous data from our group indicate a role of OUA in IL-2 and IL-10 levels in retinal cell cultures (RCC). Our aim is to investigate a temporal effect of OUA on IL-2, IL-2R α and IL-10 levels in RCC and further analyze the role of IL-10 controlling the IL-2 levels of these cells. Animal procedures were performed with the approval of the Animal Care Ethics and Use Committee (CEUA) of Universidade Federal Fluminense (project 00124/09). Neonatal Lister Hooded rats (P2) RCC were used. These cultures were treated with OUA (3nM) for 5, 15, 30, 45min and 24, 48h and with anti-IL-2 antibodies for 15min (0,2 $\mu\text{g}/\text{mL}$) in the neutralization experiments. The interleukins levels were quantified by Western blot. Our results show that OUA increases the IL-2 levels in 15min (CT=24803 \pm 1493; OUA=33875 \pm 2332; N=3) and 24h (CT=20448 \pm 551; OUA=28262 \pm 1472; N=3) and decrease them in 45min (CT=45504 \pm 2014; OUA=37807 \pm 1110; N=4). However, IL-2R α levels decrease in 48h (CT=46192 \pm 1348; OUA=33060 \pm 2946; N=4). Furthermore, this steroid increases the IL-10 levels in 5 (CT=38347 \pm 3801; OUA=61460 \pm 3046; N=3) and 15min (CT=45983 \pm 4357; OUA=57722 \pm 5379; N=4) and decreases them in 30min (CT=54126 \pm 4067; OUA=35522 \pm 5983; N=4) and 48h (CT=44200 \pm 8497; OUA=25729 \pm 5423; N=3). As for the IL-2 neutralization experiments, in 15min (CT=23038 \pm 5356; OUA=27166 \pm 1727; AntiIL-2=35886 \pm 1289; AntiIL-2+OUA=20414 \pm 3571) the IL-10 levels tend to decrease. These results show that OUA modulates the IL-2, IL-2R α and IL-10 levels on rat RCC after different periods. Also suggest an important role of OUA regulating the levels of pro and anti-inflammatory cytokines in RCC.

70. O APRIMORAMENTO DAS CAPACIDADES COGNITIVAS SOCIAIS E ÉTICAS NO DESENVOLVIMENTO DAS HABILIDADES EMOCIONAIS

AZEVEDO CO, OMENA LMC

E- mail omardeazevedo@gmail.com

INTRODUÇÃO: A proposta do trabalho é apresentar conteúdos desenvolvidos em consonância com parâmetros curriculares Nacionais e com todas as diretrizes do MEC, em especial o artigo 32 da NDBD que diz o “Aprimoramento das capacidades cognitivas sociais e éticas no desenvolvimento das habilidades emocionais”. A Neurociência complementa ,o atendimento com diferencial. É vital que o educador utilize ferramentas pedagógicas inovadoras, de qualidade, que fortaleçam as habilidades individualizadas, tendo como princípio contextualizar os jogos, obtendo um melhor fortalecimento cerebral, e desempenho das atividades desenvolvidas na escolas e relacionamentos Inter pessoais .

OJETIVO: Consiste em estimular o cérebro a fim de retirar-lo da zona de conforto seguindo três princípios básicos. Novidade, Variedade, e Grau de dificuldade crescente, utilizando ferramentas que permitam ao aluno treinar habilidades que o capacitem a lidar com desafios crescentes.

METODOLOGIA: O método “Ativamente” utiliza ferramentas como o ábaco, o cálculo mental, os exercícios lógicos, as dinâmicas em grupo, as neuróbicas e as oficinas artesanais. O ábaco estimula cognição, e habilidades intrapessoais. A robótica auxilia na solução problemas promove a socialização. O jogo lúdico facilita o caminho da evolução do pensamento à ação, oportuniza novas vivências e desafios, possibilita através da meta cognição as informações adquiridas e transforma em conhecimento trazendo reflexão em diferentes situações, levando o aluno a analisar, criticar e sistematizar as informações visto que o cérebro se modifica a cada novo aprendizado. Promove a disciplina o autocontrole e a consciência de seus próprios processos mentais possibilitando a interação em grupo e individual. “*A situação de jogo mobiliza os esquemas mentais, integrando as várias dimensões da personalidade afetiva, motora e cognitiva.* ” (Leif,1978) O jogo oferece benefícios para crianças, jovens, adultos e terceira idade interferindo na sua atuação na sociedade. As dinâmicas de grupo tem o objetivo de ampliar a capacidade de compreensão, vivencias simuladas, aumentando a auto estima, aperfeiçoando a capacidade de liderança, a tomada de decisões, e a comunicação entre os pares.

As oficinas artesanais possibilitam a integração, domínio da coordenação motora, a concentração, criatividade, melhora do desempenho e rendimento escolar, criatividade e inovação, melhora do pensamento lateral, competitividade e trabalho em equipe, capacidade de liderança.

CONCLUSÃO: consiste em apresentar um diferencial no mercado educacional trazendo reflexo nos resultados positivos através da fidelização entre pais e alunos.

PALAVRAS_CHAVE: Neuro aprendizagem; Neuroplasticidade; Metacognição.

71.CORTICOSTERONE-INDUCED CHRONIC STRESS LEADS TO GLIAL ALTERATIONS IN THE SUBVENTRICULAR ZONE AND CORPUS CALLOSUM IN A MOUSE DEPRESSION MODEL.

Caio Oliveira de Sá Ferreira 1, Cecilia Hedin Pereira 2,1.

1. Laboratory of Cellular Neuroanatomy, Institute of Biomedical Sciences – ICB, Institute of Biophysics - Carlos Chagas Filho (IBCCF), 2. VPPRL- Fiocruz

Major depression is the most common neuropsychiatric disorder characterized by depressed mood, anhedonia, appetite and sleep disturbances, feelings of low self-esteem, guilt. The etiology of depression is multifactorial, however, unbalance of the HPA axis appears to be an important factor. Previous studies have shown alterations in hippocampal neurogenesis and myelin damage.

The current study aims to evaluate the oligodendrocyte progenitors and microglia population at the subventricular zone (SVZ) and corpus callosum (cc) in a depressive-like model. The paradigm of depression used in this study mimics chronic stress by administering exogenous corticosterone (0,100 mg/mL) in drinking water paired with chronic social isolation for 28 days. Then, the animals were submitted to behavioral tests for evaluation of depressive-like symptoms and cellular analysis of SVZ and corpus callosum were carried out by immunohistochemistry. We hereby demonstrated that CORTICO/ISO group (N=14) exhibited a reduction of body weight and consumption of food and water compared to vehicle (N=11). In behavioral tests, the CORTICO/ISO group showed greater immobility in the forced swim test, tail suspension test, and reduced sucrose preference, which suggests the development of a depressive-like state. In addition, our data revealed an increase in oligodendrocyte lineage cells (Olig2+) in the SVZ concomitant to a reduction of Olig2+ cells in corpus callosum of CORTICO/ISO group. Also, we showed an increased population of microglia (Iba1+ cells) in the CORTICO/ISO group in SVZ and peri-SVZ when compared with control. Hence, we show that this model promotes consistent behavioral depressive-like symptoms. Furthermore, we described for the first time an increase in oligodendrocyte committed cells in SVZ accompanied by a decrease within the corpus callosum. Therefore, our study unveils profound cellular changes in nonneuronal populations in a corticosterone-induced depression model which are promising therapeutic targets for the disorder.

CNPq, FOCEM, Pronex-FAPERJ, INCT-NIM

72. COMPARISON BETWEEN THE CANNABINOID PEPTIDES AND A CLASSICAL LIPID CANNABINOID ON THE MODULATION OF THE SUBVENTRICULAR ZONE NEUROGENESIS.

Riquelme-Sandoval A1., Hedin-Pereira C1,3.

Laboratório de Neuroanatomia Celular¹, Lab. Neuroquímica², Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, VPPLR3-Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil

Neural stem cells present in the embryonic brain persist in the subventricular zone of postnatal brain and continue to generate neurons and glial cells. Evidence indicates that endocannabinoid system (ECS) plays a role in the modulation of neurogenesis. The ECS consists of endogenous lipids like anandamide and 2-AG, their specific receptors and the enzyme machinery for synthesis/degradation. Recently, it has been shown that the ECS can be modulated by hemoglobin derived peptides: the Hemopressins (Hp), a nine residue peptide, acts as an antagonist of CB1R, while the hemopressins with additional N-terminal amino acids RVD (RVD-Hp) and VD (VD-Hp) hemopressins were found as agonists of these receptors. Little is known about the role of these peptides in neurogenesis. We aimed to study their effect on proliferation and differentiation in neonatal mouse neurosphere cultures derived from SVZ stem/progenitor cells. To investigate the effects of hemopressin peptides on cell proliferation, neurosphere cultures were exposed to BrdU for 4 hours prior to the end of the 48 hour treatment with cannabinoid peptides. Our data indicate that hemopressin peptides have no effect in the number of BrdU positive cells. Also they don't have effect in the number and diameter of secondary neurosphere. The effects of these peptides on cell differentiation was assessed in cultures exposed to these peptides for 8 days, demonstrating that hemopressin peptides increased the number of O4 positive cells and anandamide increased the number of neuronal cells. In order to evaluate neuronal functionality, intracellular Ca variations were monitored upon KCl, histamine and thrombin stimulation. Former protocols show that KCl promotes Ca influx in neuronal cells while histamine increase Ca in immature cells and thrombin stimulate oligodendrocytes. Single cell calcium imaging assays showed that the endocannabinoids peptides increase the number of and oligodendrocyte and anandamide the number of neuronal cells. Also intracerebralventricular injection of hemopressin peptides increased the number of oligodendrocytes lineage cells. In conclusion, our results highlight a role for these peptides in the regulation of NSC differentiation and cell fate suggesting that may represent a possible future strategy for CNS repair.

Support: CNPq, Capes-FAPERJ, Faperj

73. RADIAL GLIA CELLS INFECTION BY TOXOPLASMA GONDII DISRUPTS BRAIN MICROVASCULAR ENDOTHELIAL CELLS INTEGRITY

Daniel Adesse¹, Anne Caroline Marcos^{1, 2}, Michele Siqueira², Cynthia M. Cascabulho³, Mariana Caldas Waghbi⁴, Helene Santos Barbosa¹, Joice Stipursky²

1) Laboratório de Biologia Estrutural, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz; 2) Laboratório de Neurobiologia Celular, ICB, UFRJ; 3) Laboratório de Inovação em Terapias, Ensino e Bioprodutos, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz; 4) Laboratório de Genômica Funcional e Bioinformática, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz.

BACKGROUND: Congenital toxoplasmosis is a parasitic disease that occurs due vertical transmission of the protozoan *Toxoplasma gondii* during pregnancy. The parasite crosses the placental barrier and reaches the developing brain, infecting progenitor, glial, neuronal and vascular cell types. Although the role of Radial glia (RG) neural stem cells in the development of the brain vasculature have been recently investigated, the impact of *T. gondii* infection in these events is not known. Here we studied the role of *T. gondii* infection on RG cells function and its interaction with endothelial cells.

METHODS: Isolated RG cells were infected with *T. gondii* tachyzoites for 24 h. Cells were fixed and conditioned medium (CM) was collected for treatments and cytokine analyses. Cells were immunostained for specific neural markers and proliferation; CM was used on mouse brain microvascular endothelial cell line (bEnd.3). Alternatively, CM was used for TGF- β ELISA and cytokine profiling with cytokine bead array (CBA). bEnd.3 cells were plated on coverslips for ZO-1 immunostaining or transwell inserts for transendothelial electrical resistance (TEER) measurements. After 24 h of treatment with CM or infection with *T. gondii* cells were analyzed.

RESULTS: We observed reduced cell proliferation and neurogenesis without affecting gliogenesis levels. CM from RG control cultures increased ZO-1 and b-catenin protein levels and organization on endothelial bEnd.3 cells membranes, which was completely impaired by CM from infected RG or by direct infection. These events were followed by altered TEER. CBA and ELISA assays revealed increased levels of the pro-inflammatory cytokine IL-6 and reduced levels of anti-inflammatory cytokine TGF- β 1 in CM from *T. gondii*-infected RG cells.

CONCLUSIONS: Our results suggest that infection of RG cells by *T. gondii* modulate the secretion of cytokines that might contribute to endothelial loss of barrier properties, thus contributing to impairment of neurovascular interactions establishment.

74.OUABAIN PROMOTES THE SURVIVAL OF RETINAL GANGLION CELLS THROUGH THE MODULATION OF THE MICROGLIA ACTIVATION PROFILE

Amanda Candida da Rocha Oliveira, Erica Camila Ferreira, Claudio Alberto Serfaty, Elizabeth Giestal-de-Araujo

Departamento de Neurobiologia, Programa de Neurociências

INTRODUCTION: The development of the central nervous system (CNS) involves progressive and regressive phenomena such as programmed cell death (PCD). Trophic factors are released, neurons that capturing these factors survive while those that can not die. During retinal development, retinal ganglion cells (RGCs) are the first to leave the cell cycle and have a well-established PCD period. On the 16th embryonic day (E16) microglia cells are already observed on the surface of the retina of rats, demonstrating that these cells enter this tissue before the PCD. During development these cells are amoeboid, that is, activated. This is related to the phagocytic functions they perform. Ouabain (OUA) is able to maintain 100% survival of axotomized RGCs derived from neonatal rats at two days age (P2), this effect is mediated by IL-1 beta.

OBJECTIVE: The aim of this work is to investigate if the OUA promotes the survival of RGCs by regulating the microglia activation profile, as well to evaluate if the IL-1 beta required by its effect comes from these cells.

METHODOLOGY: Rats Lister Hooded (P2) were killed, their retinas dissected, cells were dissociated and plated at 105 cells / cm² density in Petri dishes. Cultures were maintained in 199 medium (CT) or medium and OUA (3nM) in atmosphere of 5% CO₂ / 95% air at 37 ° C. IL1-β and CD11b were determined by the Western Blot technique and its co-localization identified in tissue by Immunohistochemistry and cultures by immunocytochemistry. Experimental procedures with animals were approved by the UFF Ethics Committee on Animal Use (00294/12).

RESULTS: We evaluated the levels of microglia (CD11b) and IL-1 beta at different stages of development (P0, P7, P14, P30). CD11b: (P0 = 100%, P2 = 117, P7 = 127, P14 = 69, P30 = 62). IL-1 beta: P30 (P0 = 100%, P2 = 117, P7 = 156, P14 = 171, P30 = 69). OUA modulates the production of IL1-β: 15min (100% OUA 168.46 ± 2.7 n = 4 p = 0.008), 45min (100% OUA 101.16 ± 2.18 n = 3 p = 0.008), 7h, 24h (100% OUA 40.87 ± 1.37 n = 4 p = 0.0001), 48h (100% OUA 38 ± 2.7 n = 3 p = 0.9). Immunohistochemistry demonstrated co-localization of the microglia and IL-1 beta in GCL. Immunocytochemistry revealed that OUA promotes morphological changes in the microglia, and co-localization with IL-1 beta.

CONCLUSION: Our results demonstrate that the treatment modulates the microglial activation, promoting the survival of RGCs through the regulation of the microglia and the molecules produced by it.

Funding: CAPES, CNPq, FAPERJ, PRONEX, PROAP, PROPPI-UFF.