

Comite Organizador

Comissão organizadora / Comissão científica:

Karin da Costa Calaza - (Coordenadora do PPGNeurociências e presidente da Comissão organizadora- UFF)

Adriana Ribeiro Silva - FIOCRUZ

Alexandre dos Santos Rodrigues - UFF

Cecilia Hedin-Pereira – FIOCRUZ

Daniel Souza Monteiro de Araujo – UFF

Rafael Brito da Silva – UFF

Roberta Olmo Pinheiro - FIOCRUZ

Wilson Savino - FIOCRUZ

Comissão discente:

Aline Estácio Ribeiro de Mattos - UFF

Daniel Quintanilha - FIOCRUZ

Douglas Penaforte Cruz - UFF

Vladimir Pedro Peralva Borges Martins - FIOCRUZ

Programação

Dia 1 – 25/11

08:00 – 08:30: Credenciamento

09:00 – 09:30: Mesa de Abertura

- **Dra. Karin Calaza – PPGNeuro-UFF**
- **Dra. Cecília Hedin Pereira – FIONEURO**

09:30 – 10:30: Conferência de Abertura: Dra. Tatiana Sampaio (UFRJ)

“Polilaminina: como uma pesquisa de bancada se transforma num medicamento”

Chair: Dr. Wilson Savino (Fiocruz)

10:40 – 12:30: Mesa-Redonda

Direitos trabalhistas dos discentes de pós-graduação

Chair: Dr. Wilson Savino (Fiocruz)

- **Dr. Thiago Signorini Gonçalves (UFRJ) – Representante Regional RJ da SBPC**
- **Msc. Christopher Rocha - Diretor de Direitos Humanos da ANPG**

12:30 – 14:30: Almoço

14:30 – 16:00: Mini-simpósio

Trajetórias em Construção: A Ciência Produzida por Pós-docs

Chair: Dra. Cecília Hedin Pereira (Fiocruz)

- **Dra. SueLEN S. G. Dias (IOC/Fiocruz): "Metabolismo lipídico na infecção pelo vírus Zika: mecanismos e implicações na patogênese."**
- **Dr. Agustin Riquelme (UFRJ/Fiocruz): "Early life stress accelerates myelin development: a role of corticosterone and endocannabinoids."**
- **Dra. Poliana Capucho Sandre (IOC/Fiocruz): "Células T CD4 no neurodesenvolvimento: da imunidade à cognição."**

- **Dr. Marcelo Gomes Granja (IOC/Fiocruz):** "Sepse gestacional é um fator de risco para alterações no desenvolvimento do sistema nervoso central."

16:00 – 17:30: Coffee Break e Sessão de Pôsteres

Dia 2 – 26/11

09:00 – 10:00: Conferência: Dr. Francesco De Logu (Universidade de Florença)

“Schwann Cell Piezo1 mediates pain in cancer Perineural Invasion.”

Chair: Dra. Roberta Olmo (Fiocruz)

10:00 – 12:00: Mini-simpósio

Mecanismos Moleculares da Dor: da Neuroinflamação aos distúrbios do Sono

Chair: Dr. Daniel de Araújo (UFF)

- **Dra. Romina Nassini (UNIFI):** “Schwann Cell C5aR1 co-opts Inflammasome NLRP1 to Sustain Pain in a Mouse Model of Endometriosis”
- **Dra. Gabriela Trevisan (UFSM):** “Advanced oxidation protein products activated TRPA1 in a neuropathic multiple sclerosis model”
- **Dr. Daniel de Araújo (UFF):** “Sleep Deprivation as a Trigger for Pain: Exploring a Potential Inflammatory Mechanism”

12:00 – 14:00: Almoço

14:00 – 16:00 Mini-simpósio & Mesa Redonda

Mulheres, Ciência e Sociedade: Ações que inspiram

Chair: Dra. Valéria de Matos Borges (Fiocruz Bahia)

- **Dra. Luciane Patrício Barbosa Martins (UFF):** “Tecnologias Sociais: ciência e tecnologia implicadas com a sociedade”
- **Dra. Cristina Araripe Ferreira (Fiocruz):** “STEM na Saúde: promoção da equidade de gênero na ciência, tecnologia e inovação.”
- **Dra. Adriana Melibeu (PPGNeuro-UFF):** “Projeto Meninas nas Ciências”

Doutoramento no Exterior e Vivências Acadêmicas

- **Dra. Robertta Martins (Pós-Doc UFRJ)**
- **Dra. Camila Jacob (Pós-Doc Fiocruz Bahia)**
- **Msc. Jéssica Gomes das Mercês (Doutoranda UFF)**

16:00 – 17:30: Coffee Break e Sessão de Pôsteres

Dia 3 – 27/11

09:00 – 10:00: Conferência: Dr. Vinicius Cotta (IOC-Fiocruz)

“Imunoterapia anti-VLA-4: perfil morfológico e funcional das células T e predição de resposta ao tratamento em pacientes com esclerose múltipla.”

Chair: Dra. Adriana Silva (Fiocruz)

10:00 – 12:00: Mini-simpósio

Efeitos do Álcool no Sistema Nervoso

Chair: Dra. Cecília Hedin Pereira (Fiocruz)

- **Dra. Joice Stipursky (UFRJ): “Epigenética e Álcool na reprogramação do desenvolvimento neurovascular”**
- **Dra. Yael Abreu Vilaça (UERJ): “Beber e fumar, que mal há? Explorando os efeitos da coexposição a etanol e nicotina em camundongos adolescentes.”**
- **Dr. Claudio Serfaty (UFF): “Exposição neonatal ao etanol e o desenvolvimento de circuitos neurais: ativação glial e efeitos a longo prazo.”**

12:00 – 14:00: Almoço

14:00 – 16:00: Mini-simpósio

Sistemas Complexos

Chair: Dra. Cecília Hedin Pereira (Fiocruz)

- **Dr. Dimitri Abramov (Fiocruz / Fac. Medicina de Petrópolis): “Complexidade e Psicopatologia”**

- **Dr. Mauro Copelli (UFPE): “Collective neuronal phenomena and the critical brain hypothesis”**
- **Dra. Claudia D. Vargas (IBCCF/UFRJ): “O cérebro estatístico”**

16:00 – 17:00: Conferência de Encerramento: Dr. Wilson Savino (Fiocruz)

“Ciência, Cultura, Arte e Cidadania: Seis décadas de memórias interconectadas”

Chairs: Dra. Cecília Hedin Pereira (Fiocruz) & Dr. Claudio Alberto Serfaty (UFF)

17:00 – 18:00: Exibição de Encerramento

Filme: “Savino: um retrato”

RESUMOS

P-001 - VIAS DE SINALIZAÇÃO ENVOLVIDAS NA NEUROPROTEÇÃO MEDIADA POR ÓXIDO NÍTRICO CONTRA A MORTE INDUZIDA POR ESTRESSE OXIDATIVO

¹Cherem, B.B., ¹Andrade, V., ²Restier, J.G., ¹Vaz, L.C., ¹Haiidamus, A.B., ¹Teixeira, L.F., ³Paes-de-Carvalho, R., ²Brito, R., ¹Pereira, M.R. ¹Laboratório de Sinalização Química do Sistema Nervoso, Programa de Pós-graduação em Neurociências, UFF, Niterói. ²Laboratório de Fisiologia e Patologia Neuronal, Programa de Pós-graduação em Neurociências, UFF, Niterói. ³Laboratório de Neurobiologia Celular, Programa de Pós-graduação em Neurociências, UFF, Niterói.

Introdução: O óxido nítrico (NO) é um neuromodulador sintetizado a partir da L-arginina através da ativação da enzima NO sintase. Trabalhos do nosso grupo mostram que L-arginina regula os níveis de expressão dos receptores de adenosina, diminuindo a expressão dos receptores A2a e aumentando a expressão dos receptores A1 em culturas mistas de retina de embrião de galinha. Este efeito é dependente da produção de NO e ativação da NO sintase neuronal. Outros trabalhos mostram que NO e adenosina são capazes de promover neuroproteção em culturas de neurônio de retina. Neste sentido, a adenosina pode estar envolvida nos mecanismos neuroprotetores mediado por NO na retina.

Objetivos: Avaliar se a neuroproteção mediada por NO em culturas de neurônios de retina é dependente dos receptores de adenosina e analisar as vias de sinalização envolvidas.

Métodos: Culturas purificadas de neurônios de retinas de E8 (CEUA 00146/09) foram tratadas com 1mM de L-arginina por 48h, seguido de tratamento com 200 μ M de H₂O₂ por 2h para indução de morte neuronal. O antagonista do receptor A1 (DPCPX, 100nM) e o inibidor do transportador ENT-1 de adenosina (NBMPR, 5 μ M) foram adicionados 10 minutos antes da L-arginina. Em seguida, as células foram fixadas com paraformaldeído 4% e os núcleos marcados com DAPI para contagem do número de células vivas.

Resultados: Foi observado um bloqueio do efeito neuroprotetor da L-arginina quando as culturas foram tratadas com DPCPX, antagonista de receptor A1 (controle: 100,0 ± 12,1, L-arginina: 94,0 ± 16,0, H₂O₂: 53,7 ± 12,9, DPCPX: 91,0 ± 11,6, L-arginina + H₂O₂: 103,1 ± 19,1, DPCPX + H₂O₂: 49,8 ± 14,1, L-arginina + DPCPX: 91,1 ± 16,4, L-arginina + DPCPX + H₂O₂: 56,3 ± 18,5, n=4, ***p<0,001). O efeito neuroprotetor da L-arginina parece não ser bloqueado por NBMPR, inibidor do transportador ENT-1 (controle: 100,0 ± 18,3, L-arginina: 98,5 ± 15,9, H₂O₂: 51,1 ± 21,4, NBMPR: 112,1 ± 15,2, L-arginina + H₂O₂: 95,2 ± 12,0, NBMPR + H₂O₂: 67,1 ± 13,9, L-arginina + NBMPR: 95,8 ± 16,6, L-arginina + NBMPR + H₂O₂: 86,9 ± 19,7, n=4, ***p<0,001).

Conclusão: A neuroproteção mediada por L-arginina é dependente da ativação do receptor A1 de adenosina, mas parece não ser dependente da liberação de adenosina pelo transportador ENT-1.

Apoio Financeiro: FAPERJ, CNPQ, PROPPI, CAPES.

P-002 - MODULAÇÃO DA RESPOSTA NEUROINFLAMATÓRIA INDUZIDA POR *Pseudomonas aeruginosa* EM CÉLULAS BV2 PELO ÔMEGA 3

^{1,2,3*}Santos, F.S.; ^{1,2,3}Silva, A.R; Ferreira, ^{1,2}A.M.S; ²Bozza, P.T; ²Castro-Faria-Neto, H.C; ²Ferreira, A.M.S; ^{1,2,3}Gonçalves-de-Albuquerque, C.F. ¹Laboratório de Imunofarmacologia, Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO), Rio de Janeiro, Brasil; ²Laboratório de Imunofarmacologia, Instituto Oswaldo Cruz (IOC), FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brasil; ³Programa de Pós-Graduação em Neurociências (PPGNeuro), UFF

Introdução: *Pseudomonas aeruginosa*, uma bactéria gram-negativa facilmente encontrada em infecções hospitalares é o principal patógeno oportunista isolado de pacientes com infecção nosocomial. As doenças associadas à infecção por *Pseudomonas aeruginosa* apresentam altas taxas de mortalidade, principalmente em contextos de neuroinflamação. A micróglia tem se destacado como um proeminente alvo de estudo, revelando que sua ativação excessiva, mediada por essa inflamação e neurotoxicidade está implicado na progressão e danos excessivos. A partir desse contexto, encontrar mecanismos que permitam a modulação equilibrada do perfil inflamatório e da resposta da micróglia torna-se necessário. As diferentes classes de células e sistemas estudados quanto a produção de mediadores anti-inflamatórios e pró-resolutivos, a partir de tratamento ou suplementação com DHA têm se mostrado capaz de reduzir fatores relacionados a neuroinflamação, modulando o perfil celular para uma resposta mais equilibrada em contextos inflamatórios.

Objetivo: Avaliar os efeitos do ômega 3 (DHA) nas células BV2 em cultura, estimuladas por *Pseudomonas aeruginosa*.

Métodos: Células de cultura de BV2 foram tratadas como DHA 100uM e 200uM uma hora antes do estímulo com a bactéria (MOI30). As células foram incubadas com este estímulo por 24h para as análises de citocinas (IL-6 e TNF- α), viabilidade celular (LDH e Resazurina), análises morfológicas por imunocitoquímica utilizando beta actina.

Resultado/discussão: A incubação com *Pseudomonas aeruginosa* por 24h nas células BV2 apresentou expressão aumentada das duas principais citocinas analisadas (IL-6 e TNF- α), juntamente com diferenças na morfologia das células, porém, sem modificação expressiva na viabilidade celular. Quanto as células tratadas com DHA100uM+MOI30 e DHA200uM+MOI30 foi verificado redução de (IL-6 p<0,0001 e p<0,0002) e (TNF- α p<0,0017 e p<0,002), estabilidade na viabilidade celular, melhora na morfologia e prolongamentos nas células BV2 no tempo de 24h. Resultados em triplicata.

Considerações finais: O ômega 3 apresenta capacidade anti-inflamatória neste modelo de neuroinflamação e o próximo passo será entender por qual via esses efeitos estão sendo expressos.

Palavra-Chave: DHA, ômega 3, inflamação, neuroinflamação.

Financiamento e agradecimento: FAPERJ, CNPq, CAPES 001, IOC-FIOCRUZ, UNIRIO.

P-003 - IN VITRO ASSESSMENT OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS (PAHs) EXPOSURE IN NEURAL PROGENITOR AND BRAIN ENDOTHELIAL CELLS

Camargo, G. S., Carmo, F. S., Villarinho, B. G. D., Damasceno, I. A., Monteiro Neto, J. R., Souza, L. R. Q., Feitosa, N. M., Mendez-Otero, R., Stipursky, J., Gubert, F. Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), generated through the combustion of organic matter, are ubiquitous environmental contaminants detected in air, soil, and water. Despite their widespread presence, the potential for PAH exposure to induce neurotoxicity or disrupt the function of nervous system cells—particularly during critical stages of development—remains poorly understood. To this end, we exposed cultures of Human Brain Microvascular Endothelial Cells (HBMECs) and Neural Stem Cells (NSCs) derived from induced pluripotent stem cells (iPSCs) to chrysene, phenanthrene, and a mixture of these compounds. We evaluate the viability, morphology, and function (protein expression and proliferation) of HBMECs and NSCs. Initially, we tested different concentrations of the pollutants, aiming to define those that induce changes in cell viability, which was assessed by the MTT assay. HBMECs were treated with PAHs at concentrations of 0.005, 0.025, 0.05, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 10, 25, and 50 μ M, while NSCs (CEP: 60531516.0.0000.5257/UFRJ) were treated at concentrations of 0.005, 0.05, 0.5, 1, 10, and 25 μ M. After 72 hours, viability assays were performed in both cell types. Our initial results, obtained through the MTT assay, indicate that exposure to chrysene and phenanthrene exerted concentration-dependent effects on cell viability. Overall, in both cell types, higher concentrations (25 μ M and 50 μ M) of both compounds caused a marked reduction in absorbance, consistent with decreased viability. Under lower dose conditions (0.005 to 1 μ M), some variations were observed; however, a trend of preserved or even increased cell viability compared to the control was identified, suggesting proliferative effects or absence of toxicity within these concentration ranges. The combination of the compounds also exhibited this dose-dependent profile, with a significant reduction in viability at the highest tested concentrations. For functional analysis, we investigated immunofluorescence in HBMECs proteins related to their barrier function, as GLUT1 and ZO1. After 72hrs exposed to chrysene (0.5 and 1.0 μ M) resulted in reduced GLUT1 expression in HBMECs. Similarly, phenanthrene treatment also decreased the levels of this protein. The combination of chrysene and phenanthrene showed intermediate expression levels, still lower than those observed in the control group. These preliminary findings demonstrate that chrysene and phenanthrene have cytotoxic potential at high concentrations, whereas lower doses appear not to significantly compromise cell viability. Accordingly, these results underscore the importance of evaluating toxicity across multiple concentrations to establish safe exposure parameters and better understand the underlying cellular mechanisms, reinforcing the need for complementary studies to confirm and deepen these observations, which may contribute to future prevention strategies and potential regulatory policies for PAHs.

This work acknowledges the support of the Serra Pilheira Institute, FAPERJ, and CNPq.

P-004 - IMPACTO NEUROLÓGICO A CURTO E LONGO PRAZO DA INFLAMAÇÃO SISTÊMICA ASSOCIADA À HIPÓXIA EM CAMUNDONGOS

GIULIA DE SOUZA ABREU; RAQUEL MARIA PEREIRA CAMPOS; PEDRO MORENO PIMENTEL COELHO.

Laboratório de Neuropatologia Experimental – Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho –UFRJ, RIO DE JANEIRO, BRASIL.

Introdução: O termo tempestade de citocinas é utilizado para descrever uma resposta imunológica exacerbada e descontrolada em que as células do sistema imune liberam grandes quantidades de citocinas como o Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- α) e a Interleucina 6 (IL-6) na circulação. A inflamação sistêmica e a resposta imune durante uma infecção em diferentes órgãos podem levar à neurodegeneração. Além disso, há evidências que relacionam a hipóxia, um evento patológico presente em diferentes tipos de infecções, a danos neurológicos.

Objetivo: Este trabalho tem como objetivo investigar alterações neurológicas, comportamentais e celulares a curto e longo prazo mediadas por uma tempestade sistêmica de citocinas (pela injeção intraperitoneal de IL-6 e TNF- α , isoladamente ou combinadas) em associação a um quadro de hipóxia sistêmica (exposição a um ambiente com 8% de oxigênio) em camundongos adultos de ambos os sexos da linhagem C57BL/6 (3-4 meses de idade; CEUA-CCS UFRJ #063/22).

Metodologia: Os animais foram divididos em 6 grupos experimentais de acordo com o tratamento recebido: salina (grupo veículo) em condição de normoxia ou hipóxia, 9 µg de TNF- α em normoxia ou hipóxia, e 9µg de IL-6 + 15 µg de TNF- α em normoxia ou hipóxia. Foram realizados os testes comportamentais rotarod e *sickness behavior*, sendo os animais do grupo hipóxia colocados na câmara de hipóxia após os testes por 18 horas e rapidamente retirados para a injeção i.p de citocinas ou salina e retornando por mais 6 horas. Após as 6 horas, foram avaliados através dos testes rotarod, *sickness behavior* e campo aberto. Os animais do grupo normoxia passaram pelos mesmos procedimentos, porém mantidos em ambiente com 21% de oxigênio. A eutanásia foi realizada 24 horas ou 15 dias após a injeção para a coleta dos cérebros.

Resultados: Os dados obtidos até o momento indicam que fêmeas dos grupos TNF- α e IL6+TNF- α em hipóxia, apresentam alterações comportamentais como aumento significativo do *sickness behavior* ($p=0,0005$ e $p=<0,0001$, respectivamente), assim como em machos ($p=0,0050$ e $p=0,009$, respectivamente). Além disso, foram observadas alterações no campo aberto pós-injeção de TNF- α em hipoxia em fêmeas e machos, como na distância percorrida ($p=0,0042$ e $p=0,0127$) e no tempo imóvel em comparação ao grupo controle. Camundongos fêmeas tratadas com TNF- α em exposição a hipóxia apresentaram alterações celulares indicativas de um quadro de neuroinflamação, com aumento da reatividade astrocitária no hipocampo, verificada a partir da marcação da proteína ácida fibrilar glial (GFAP), em comparação com seu grupo controle ($p=0,0184$) e grupo TNF- α em normoxia ($p=0,0072$). Considerando esses resultados, pretendemos avaliar se as consequências neurológicas observadas permanecem a longo prazo e verificar possíveis participações de células imunológicas nestas alterações.

Apoio financeiro: CAPES.

P-005 - RECEPTORES A2a DE ADENOSINA REGULAM A FOSFORILAÇÃO DAS SFKs EM CÉLULAS DA RETINA

¹Oliveira, I. G. S., ¹Silva, P. C. S., 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.

Introdução: As SFKs são proteínas tirosina kinase da família da Src que atuam no crescimento, proliferação, diferenciação e migração celular. A sua ativação ocorre através da autofosforilação na tirosina 416 (Y416) e defosforilação na tirosina 527 (Y527). Sua inativação é mediada pela proteína Csk que culmina na fosforilação da Y527. A Csk é ativada pela via AMPc/PKA e, portanto, pode ter sua atividade modulada por neurotransmissores e neuromoduladores que regulam esta via de sinalização. A adenosina é um neuromodulador que ativa receptores metabotrópicos associados à via do AMPc/PKA: receptores A1 e A3 estão acoplados à proteína Gi, enquanto os receptores A2a e A2b são acoplados à proteína Gs.

Objetivos: Avaliar se a ativação do receptor A2a regula os níveis de fosforilação das SFKs de forma dependente da ativação da Csk.

Métodos: Culturas mistas foram preparadas a partir da retina de embriões de galinha E8 (CEUA 00146/09). Em C3, as culturas foram pré-tratadas com Ro 20-1724 (inibidor da fosfodiesterase de AMPc) por 10 min e estimuladas com CGS21680, agonista do receptor A2a, por 5 min. Foram utilizados os fármacos ZM241385 (antagonista do receptor A2a), SQ22536 (inibidor da adenilil ciclase), KT5720 (inibidor da PKA) e MCD (depleta colesterol de membrana). Retinas intactas de E9 também foram tratadas com Ro 20-1724 e CGS21680. As amostras foram processadas para Western Blot.

Resultados: O CGS21680 reduziu os níveis de p-Y416 e aumentou os níveis de p-Y527 das SFKs, sendo estes efeitos bloqueados por ZM241385 (Y416, Ct:100,0±3,0, CGS: 55,3±14,6, ZM: 94,7±11,5, CGS+ZM: 107,7±23,5, n=3, p<0,05; Y527, Ct:100,0±12,2, CGS: 184,7±24,6, ZM: 121,7±16,3, CGS+Zm: 76,7±30,4, n=3, p<0,01). A redução de p-Y416 também foi bloqueada por SQ22536 (Ct: 99,8±10,3, CGS: 65±20,9, SQ: 98,0±11,8, CGS+SQ: 99,8±14,9, n=4, p<0,05), KT5720 (Ct: 98,7±3,8, CGS: 59,3±15,4, KT: 119,7±5,1, CGS+KT: 98,3±16,9, n=3, p<0,05) e MCD (Ct: 95,3±5,5, CGS: 71,5±11,4, MCD: 109,4±10,2, CGS+MCD: 111,8±29,0, n=3, p<0,05). CGS21680 promoveu aumento nos níveis de p-Csk (Ct: 100,3±31,6, CGS: 181,3±50,4, n=3, p<0,05). Resultados semelhantes foram observados em retinas de E9 em relação aos níveis de fosforilação da Y416 (Ct: 99,7±3,2, CGS: 76,0±9,2, n=3, p<0,05) e p-Csk (Ct: 100,0±14,5, CGS: 133,3±7,5, n=3, p<0,01) após estímulo com CGS21680.

Conclusão: A ativação dos receptores A2a promove ativação da Csk pela via AMPc/PKA, aumentando a fosforilação da Y527 e reduzindo a fosforilação da Y416. Esta regulação diminui a ativação das SFKs que é dependente da integridade de *lipid rafts*.

Apoio Financeiro: FAPERJ, CNPQ, CAPES.

P-006 - AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO AGUDA E CRÔNICA AO GLIFOSATO COMO FATOR DE RISCO PARA ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA

Isabelle de Albuquerque Damasceno¹, Letícia Rocha Quintino Souza¹, José Raphael Monteiro Neto², Pablo Trindade³, Renato Tadeu da Silva Santos³, Bruno Carvalho Gomes³, Rosalia Mendez-Otero¹, Juliana Ferreira Vasques², Fernanda Gubert². 1 Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro. 2 Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro. 3 Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

A esclerose lateral amiotrófica (ELA) é uma doença neurodegenerativa progressiva e fatal que afeta os neurônios motores. Além da degeneração desses neurônios, os astrócitos também parecem desempenhar papéis importantes na fisiopatologia da doença. Sabe-se que aproximadamente 10% dos casos de ELA ocorrem em indivíduos com histórico familiar e são classificados como ELA familiar. Em contraste, 90% dos casos são considerados esporádicos (ELAe). É possível que a ELAe resulte da interação entre a suscetibilidade genética individual e a exposição a fatores ambientais. Embora meta-análises apontem a exposição ocupacional a pesticidas como um fator de risco relevante, ainda não há estudos que investiguem diretamente os efeitos desses compostos sobre os mecanismos celulares e moleculares da ELA. Assim, o principal objetivo deste estudo é investigar se a exposição ao glifosato, o pesticida mais utilizado no Brasil e no mundo, pode atuar como fator de risco para o desenvolvimento da ELA. Para isso, linhagens de células-tronco pluripotentes induzidas (iPSCs) derivadas de pacientes com ELA e de indivíduos saudáveis foram diferenciadas em astrócitos. As culturas de astrócitos foram submetidas a dois paradigmas de exposição ao glifosato: uma exposição aguda de 72 horas e uma exposição crônica de 15 dias. A viabilidade celular foi avaliada por meio do ensaio de MTT. Nossos resultados do protocolo de exposição aguda indicam que astrócitos derivados de iPSCs controles expostos ao glifosato começaram a apresentar redução de viabilidade (40%) a 0,05 mM ($p = 0,001$, $N = 6$), enquanto concentrações a partir de 0,1 mM causaram redução de 70% ($p < 0,0001$, $N = 6$). Um padrão semelhante foi observado em astrócitos derivados de iPSCs-ELA, nos quais a exposição aguda a 0,05 mM de glifosato resultou em redução de cerca de 40% na viabilidade ($p = 0,03$, $N = 3$), enquanto concentrações a partir de 0,1 mM levaram a uma redução de aproximadamente 65% ($p < 0,0052$, $N = 3$). Interessantemente, nossos resultados indicam que a exposição a 10 ng/mL de TNF- α por 72 horas reduziu a viabilidade de astrócitos de ELA em cerca de 50% ($p = 0,03$, $N = 3$), enquanto não foram observadas diferenças em astrócitos controle. No protocolo de exposição crônica, nossos resultados indicam que uma concentração de 0,0005 mM reduziu a viabilidade de astrócitos de ELA em aproximadamente 50% ($p = 0,0234$). Em contraste, efeitos significativos nas linhagens controle foram observados apenas em concentrações 100x maiores (0,05 mM). Mais uma vez, a exposição a 10 ng/mL de TNF- α resultou em redução de 60% na viabilidade de astrócitos de ELA ($p = 0,0016$), enquanto não foram observadas alterações na linhagem controle. Nossos resultados preliminares indicam que o glifosato, em diferentes concentrações, pode reduzir significativamente a viabilidade de astrócitos tanto em condições agudas quanto crônicas, com efeitos mais pronunciados nas linhagens derivadas de pacientes com ELA submetidas à exposição prolongada.

Financiamento: Instituto Serrapilheira, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

P-007 - POTENCIAIS IMPACTOS DA EXPOSIÇÃO PRÉVIA À NICOTINA SOBRE O BALANÇO EXCITATÓRIO/INIBITÓRIO DE CAMUNDONGOS MODELADOS PARA ESQUIZOFRENIA

Cunha, J.A.S.¹, Souza, T.P.¹, Dutra-Tavares, A.C.¹, Faria-Melibeu, A.C.², Abreu-Villaça, Y.¹ ¹Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro ²Departamento de Neurobiologia, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro

Introdução: A dependência à nicotina é prevalente em pacientes com esquizofrenia (ES), porém a etiologia da comorbidade é desconhecida. O tabagismo na ES pode agravar prejuízos cognitivos, mas também já foi associado à atenuação de sintomas negativos e de efeitos colaterais de antipsicóticos. Nosso grupo demonstrou que a exposição à nicotina antes da indução de um modelo de ES pela administração de fenciclidina pode agravar a sensibilização locomotora exibida no modelo. A ES e a nicotina alteram vários sistemas de neurotransmissão no sistema mesocorticolímbico, o que pode embasar a comorbidade.

Objetivos: Investigar as bases neurobiológicas que fundamentam a relação entre ES e tabagismo, como possíveis alterações induzidas pela nicotina e fenciclidina em sistemas de neurotransmissão envolvidos no balanço excitatório/inibitório cerebral.

Métodos: Camundongos C57Bl/6 machos e fêmeas (60 a 75 dias pós-natal) foram utilizados (CEUA033/2018). O protocolo visou mimetizar o tabagismo antes do início da ES. Os animais foram submetidos à administrações subcutâneas (s.c.) de solução salina ou nicotina (0,5 mg/Kg) por 4 dias. Em seguida, por 5 dias, adicionalmente receberam fenciclidina (2,5 mg/Kg, s.c.) ou salina, totalizando 4 grupos: controle (CT), nicotina (NIC), fenciclidina (PCP) e nicotina-fenciclidina (NIC-PCP). Ao final do período de exposição, amostras do córtex pré-frontal (CPF) foram dissecadas para análise por *Western Blotting*. Níveis de sinaptofisina, GluN1, PSD-95 e gefirina foram mensurados.

Resultados: Análises iniciais ($n=4$ por grupo e sexo) não sugerem diferenças significativas. Contudo, em relação aos marcadores glutamatérgicos, os dados sugerem maiores níveis de PSD-95 nas fêmeas NIC que nas fêmeas CT ($CT=0,41\pm0,09$; $NIC=0,64\pm0,16$). No que concerne à subunidade constitutiva do receptor NMDA, os dados sugerem menores níveis de GluN1 nos machos PCP em relação ao CT ($CT=0,83\pm0,09$; $PCP=0,52\pm0,07$), além de maiores níveis nas fêmeas NIC-PCP em relação ao CT ($CT=0,51\pm0,04$; $NIC-PCP=0,83\pm0,09$), sugerindo que a exposição prévia à nicotina pode impactar a transmissão glutamatérgica em um modelo de ES.

Conclusões: Dados iniciais sugerem que a exposição prévia à nicotina pode influenciar a transmissão glutamatérgica no CPF, o que pode afetar o balanço excitatório/inibitório e interferir em efeitos tipo-esquizofrênicos. Contudo, investigações complementares precisam ser executadas.

Apoio Financeiro: Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ); Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

P-008 - AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DE INIBIDORES DO TRPV1 E TRPA1 EM POPULAÇÕES CELULARES DE MODELO MURINO DE RETINOSE PIGMENTAR

1Marinho, J.O., 1Nascimento, T.H.O., 1Araújo, D.S.M., 2Brito, S. 1Calaza, K.C., 1 Departamento de Neurobiologia, 2Departamento de Biologia Celular e Molecular. Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro

Introdução: A degeneração da retina, estrutura responsável pela fototransdução, pode causar perda visual/cegueira, como na retinose pigmentar (RP). A RP é um grupo de doenças genéticas que leva à degeneração progressiva dos bastonetes e cones. O modelo murino rd10, com mutação no gene Pde6b, reproduz essa degeneração e é amplamente usado em estudos que buscam mediadores com potencial neuroprotetor. Canais TRPV1 e TRPA1 destacam-se como alvos relacionados à morte celular. Assim, o bloqueio de TRPV1, por capsazepina, e de TRPA1, por HC-030031, podem apresentar efeito protetor. A dipirona, que inibe TRPA1 além de seus alvos clássicos, pode ter ação semelhante, mas seus efeitos na retina ainda são completamente desconhecidos.

Objetivo: Avaliar o potencial neuroprotetor de colírios de dipirona e capsazepina em camundongos modelo para retinose pigmentar (rd10).

Metodologia: Foram utilizados camundongos rd10 que receberam tratamento de P15 a P19, com administração diária de colírios contendo dipirona ou capsazepina (10 mM em DMSO 4%, Tween 80 4%). Os controles receberam solução veículo. Em P20, os animais foram eutanasiados e os olhos coletados, fixados em paraformaldeído e preparados para criosecção. As amostras foram submetidas à imunohistoquímica. As lâminas foram analisadas por microscopia óptica (40x), e a contagem celular foi feita manualmente, comparando-se os grupos tratados e controle. Os dados foram analisados pelo software GraphPad Prism por One way ANOVA, com p<0,05 como significativo.

Resultados: A capsazepina não protegeu as células fotorreceptoras na periferia (VEI: 100±23,63; CAP: 116,8±20,44, p=0,8509; n=3) e na central (VEI: 100±5,379; CAP: 129,8±23,08, n=3, p=0,8509). DIP induziu um pequeno aumento no número de células horizontais calbindina-positivas por DIP na periferia (VEI: 100±19,66; DIP: 107,5,8±22,35; n=2) e no centro (VEI: 100±26,61; DIP: 115,4,8±7,96; n=2). A DIP promoveu uma tendência de redução do número de células amácrinas calretininas-positivas na periferia (VEI: 100±5,405, DIP: 81,15,8±7,401, n=2) e no centro (VEI: 100±10,71; DIP: 81,71,8±12,95; n=2). Porém, a DIP não teve efeito no número de células ganglionares (Brn3a) na periferia (VEI: 45,09±5,150; DIP: 47,06±7,228, n=3) nem no centro (VEI: 62,10±1,012, n=3; DIP: 59,23±5,983, n=3).

Conclusão: Os receptores TRPV1 não devem estar relacionados com a morte de fotorreceptores no rd10. Os dados indicam que a DIP pode ter um pequeno efeito protetor nas células horizontais, não afetam as células ganglionares e geram uma diminuição na proteína ligadora de cálcio calretinina nas amácrinas, que pode estar relacionada com a necessidade de tamponamento de cálcio nestas células.

Financeiro: FAPERJ; CNPq; INNT; CAPES, PROSSI.

P-009 - MECANISMOS NEUROPROTETORES INDUZIDOS POR BDNF E RECEPTORES A1 DE ADENOSINA CONTRA O ESTRESSE OXIDATIVO EM CÉLULAS DA RETINA

¹Teixeira, L.F.* , ¹Duarte, P.F., ¹Oliveira, I.G.S., ²Duarte-Silva, A.T., 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.

Introdução: O BDNF é uma neurotrofina que regula sobrevivência, diferenciação neuronal e crescimento de neuritos. A adenosina, um neuromodulador, regula a liberação de neurotransmissores e está envolvida em neuroproteção. Dados prévios demonstram que a ativação crônica dos receptores A2a promove neuroproteção contra excitotoxicidade em culturas de neurônios de retina.

Objetivo: Avaliar as vias de sinalização envolvidas na neuroproteção mediada por BDNF e receptores de adenosina contra a morte induzida por estresse oxidativo.

Métodos: Culturas purificadas de neurônios de retina de embrião de galinha (CEUA 00146/09) foram incubadas por 48h com BDNF seguido de tratamento com H₂O₂ por 2h. Antagonista de receptores Trk-B (ANA-12), receptores A1 (DPCPX) ou A2a (ZM241385), inibidor de transportadores de adenosina (NBMPR) ou inibidores da PI3kinase (wortmanina), PKC (cheleritrina), MEK (U0126) e CaMKII (KN-93) foram adicionados 10 min antes do BDNF. Os núcleos foram marcados com DAPI para contagem do número de células.

Resultados: A neuroproteção do BDNF contra a morte por H₂O₂ foi bloqueado por DPCPX (controle: 100±12,4; H₂O₂: 69,7±6,5; BDNF: 104,8±8,1; DPCPX: 102,8±13,0; BDNF+H₂O₂: 102±9,6; DPCPX+H₂O₂: 68,4±12,1; BDNF+DPCPX: 103,7±6,9; BDNF+H₂O₂+DPCPX: 81,9±9,9; n=3; p<0,001) e não por ZM241385 (controle: 100±12,4; H₂O₂: 69,7±6,5; BDNF: 103,7±8,8; ZM: 99,7±7,8; BDNF+H₂O₂: 102±9,6; ZM+H₂O₂: 60±12,9; BDNF+ZM: 99,2±8,9; BDNF+H₂O₂+ZM: 88,3±11,9; n=3; p<0,001). O efeito neuroprotetor de BDNF foi bloqueado por wortmanina (controle: 100±13,2; H₂O₂: 47,8±10,6; BDNF: 98±14,2; wort: 87,8±13,3; BDNF+H₂O₂: 96,3±11,0; wort+H₂O₂: 43,7±14,1; BDNF+wort: 91,4±8,3; BDNF+H₂O₂+wort: 56,9±16,4; n=4; p<0,001), UO126 (controle: 100±13,2; H₂O₂: 47,8±10,6; BDNF: 98±14,2; U0126: 102,8±15,2; BDNF+H₂O₂: 96,3±11,0; U0126+H₂O₂: 50,4±10,1; BDNF+U0126: 85,6±14,0; BDNF+H₂O₂+U0126: 63,0±17,9; n=4; p<0,001), cheleritrina (controle: 100±17,7; H₂O₂: 45,8±15,9; BDNF: 109,8±17,3; che: 103±20,6; BDNF+H₂O₂: 102,6±19,2; che+H₂O₂: 57,8±20,8; BDNF+che: 90,4±20,5; BDNF+H₂O₂+che: 52,9±19,6; n=4; p<0,001), e KN-93 (controle: 100±14,8; H₂O₂: 64,8±13,0; BDNF: 107,4±17,7; KN-93: 101,2±15,2; BDNF+H₂O₂: 110,0±14,4; KN-93+H₂O₂: 67,8±9,8; BDNF+KN-93: 94,4±14,1; BDNF+H₂O₂+KN-93: 76,4±12,8; n=3; p<0,001 e p<0,05).

Conclusão: O efeito neuroprotetor mediado por BDNF contra o estresse oxidativo é dependente da ativação dos receptores Trk-B e A1, dos transportadores de adenosina e das vias de sinalização da Akt, PKC, ERK e CaMKII.

Apoio Financeiro: CNPq, FAPERJ, CAPES.

P-010 - REGULATION OF AKT AND mTORC1 BY CYCLIC AMP IN THE DEVELOPING AVIAN RETINA

Ximenes LGR, Portugal CC, Socodato R, Relvas JB, and Paes-de-Carvalho, R. Neuroscience Program, Institute of Biology, Fluminense Federal University, Niterói, RJ, Brazil, and Institute for Research and Innovation in Health (i3S), University of Porto, Portugal

Introduction: cAMP levels are regulated by dopamine (DA) in early stages of retinal development. AKT, an important kinase involved in cell survival regulates mTORC1 and integrates intracellular signals to control growth, cell division, and stress responses.

Objectives: To investigate the effects of DA and forskolin (FSK), a direct activator of adenylyl cyclase, on AKT phosphorylation and activation of mTORC1 during retina development.

Methods: The study was submitted to the UFF Ethics Committee (CEUA, No. 9883070622). Retinas from day 10 (E10) and E16 chicken embryos were incubated in Hank's with RO20-1724 and adenosine deaminase and stimulated with DA or FSK for 30 min at 37°C. Tissues were then lysed and analyzed by Western blot with anti phospho-AKT (Ser473) and phospho-S6K1. Primary retinal cultures were incubated for 5 days and after 1 h of serum deprivation treated with DA or FSK for different concentrations and times. Cultures were transfected with FRET probes for cAMP (ICUE3), membrane AKT (Lyn-AktAR), cytoplasmic and nuclear AKT (AKTAR2), and mTORC1 (TORCAR), with analysis performed using the “Opera” system (Perkin Elmer). Data were analyzed by t-tests and one-way ANOVA using GraphPad Prism.

Results: FSK and DA induced AKT dephosphorylation at Ser473 in a concentration-dependent manner in E10 and E16 retinas. At E10, FSK (25 µM) reduced phosphorylation to $49.4 \pm 4.3\%$ ($P < 0.0001$; $n = 26$), while DA (10 µM) reduced it to $72.3 \pm 5.1\%$ ($P < 0.0001$; $n = 10$). At E16, FSK to $28.5 \pm 2.6\%$ ($P < 0.001$; $n = 12$) and DA to $32.9 \pm 4.7\%$ ($P < 0.0001$; $n = 6$). Phosphorylation of p70 S6 Kinase, a downstream enzyme of the mTORC1 pathway, was also reduced at E16: FSK to $27.2 \pm 5.9\%$ ($n = 2$) and DA to $40.5 \pm 10.3\%$ ($P < 0.01$; $n = 3$). In 5-day cultures, treatment with FSK (10 µM) for 10 minutes promoted an increase in cAMP sensor activity (CT: 1.4 ± 0.02 , $n = 78$; FSK: 1.3 ± 0.02 ; $P < 0.05$, $n = 66$). FSK also reduced AKT activity at membrane (CT: 1.9 ± 0.04 , $n = 110$; FSK: 2.05 ± 0.04 ; $P < 0.05$, $n = 126$), and at cytoplasmic/nuclear compartment (CT: 1.9 ± 0.05 , $n = 111$; FSK: 2.1 ± 0.06 ; $P < 0.01$, $n = 127$), as well as mTORC1 (CT: 2.06 ± 0.04 , $n = 149$; FSK: 2.21 ± 0.05 ; $P < 0.05$, $n = 145$).

Conclusion: cAMP negatively regulates AKT and mTORC1 signaling pathways at two distinct stages of retinal development (E10 and E16), as well as in retina cultures. Elevated cAMP levels, induced by FSK or DA led to reduced AKT phosphorylation at Ser473 at both stages, FSK also inhibited AKT and mTORC1 activity in retinal cultures. The signaling pathways responsible for this negative regulation are still under investigation.

Financial Support: CNPq, Capes, Faperj, and INNT.

P-011 - EFEITOS DA ROTENONA SOBRE O RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO NO CÉREBRO DAS ASCÍDIAS NO MODELO QUÍMICO DE PARKINSONISMO

Lucas da Silva Feitosa¹, Cíntia Monteiro de Barros², Rodrigo Nunes da Fonseca²

¹Programa de Pós-Graduação em Produtos Bioativos e Biociências – NUPEM/UFRJ, Macaé, RJ.

²Instituto de Biodiversidade e Sustentabilidade – NUPEM/UFRJ, Macaé, RJ.

Introdução: A Doença de Parkinson (DP) é uma enfermidade neurodegenerativa progressiva caracterizada pela perda de neurônios dopamínergicos e pelo acúmulo de proteínas mal dobradas, que induzem estresse do retículo endoplasmático (RE) e ativação da resposta a proteínas desdobradas (UPR). Embora inicialmente protetora, a ativação crônica da UPR agrava a degeneração neuronal e a apoptose. A rotenona, pesticida lipofílico amplamente utilizado como modelo químico de parkinsonismo, inibe o Complexo I mitocondrial e desencadeia disfunção celular. A ascídia *Styela plicata*, devido à sua proximidade filogenética com vertebrados e capacidade regenerativa, constitui um modelo alternativo promissor para estudos de neurodegeneração e regeneração.

Objetivos: Analisar os efeitos da rotenona sobre o retículo endoplasmático do tecido nervoso da ascídia *Styela plicata*.

Métodos: Serão utilizadas ascídiias adultas coletadas na Praia Rasa (Búzios/RJ) e mantidas em aquários com salinidade de 35 ppm, pH 8–8,5 e fotoperíodo 12h luz/12h escuro. Os animais serão divididos em quatro grupos ($n=6$): controle (DMSO 0,1%), controle positivo (tunicamicina) e dois grupos tratados com rotenona (3 e 5 mg/kg). Após 24 e 48h de exposição, será analisado a funcionalidade e atividade motora do sifão inalante, o tecido neural será analisado por microscopia eletrônica de transmissão (MET), expressão gênica por qRT-PCR (ubiquitina, DJ-1 e glucoceramidase), ensaio de glicosilação (HILIC-UPLC/LC-MS) e detecção fluorogênica de agregados proteicos (AggTag).

Aprovação ética: CEUA/UFRJ nº 087/2024.

Resultados: Serão observadas, por meio de eletromicrografias, alterações morfológicas no RE, como dilatação das cisternas no tecido neural exposto à rotenona. Espera-se ainda a formação de agregados proteicos e alterações na expressão de genes e enzimas relacionados à funcionalidade do RE, refletindo estresse celular e comprometimento da homeostase proteica. Os testes de atividade motora do SI poderão indicar comprometimento funcional associado à neurotoxicidade induzida.

Conclusão: Os resultados esperados indicarão que a rotenona causa disfunção do retículo endoplasmático e alterações comportamentais em *Styela plicata*, reforçando seu potencial como modelo alternativo para o estudo dos mecanismos celulares envolvidos na Doença de Parkinson.

Apoio Financeiro: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

P-012 - A PROTEÍNA SPIKE DO SARS-COV-2 COMO INDUTORA DE DESMIELINIZAÇÃO E HIPERALGESIA EM MODELO MURINO

^{1,2}TREFILIO, L.M., ^{1,3}FERNANDES, G.G., ^{1,2}GUIMENES, B.D., ²GONÇALVES, V.M.S., ²REZENDE, B., ²MONTES, G.C., ^{1,2}FONTES-DANTAS, F.L. ¹Laboratório de NeuroFarmacoGenética, Departamento de Farmacologia e Psicobiologia, Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes (IBRAG), Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro 20551-030, Brasil.

²Departamento de Farmacologia e Psicobiologia, Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes (IBRAG), Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro 20551-030, Brasil. ³Departamento de Biofísica e Fisiologia, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora 36036-900, Brasil.

INTRODUÇÃO: A Encefalite Autoimune (EA) é uma doença inflamatória do Sistema Nervoso Central mediada por autoanticorpos, causando alterações comportamentais, motoras, epilépticas e cognitivas. Infecções virais, como o SARS-CoV-2, são reconhecidas como possíveis gatilhos para sua deflagração. Nesse sentido, evidências sugerem que a proteína Spike (SP) pode induzir autoimunidade devido à alta similaridade estrutural com a Glicoproteína Oligodendral da Mielina (MOG).

OBJETIVOS: Avaliar se a exposição à SP ou ao fragmento SP₂₄₉₋₂₇₈ (homólogo ao MOG) induz desmielinização e hiperalgesia.

MÉTODOS: O projeto é aprovado pelo Comitê de Ética (CEUA/UERJ) (Nº 029/2024). Ratos Wistar adultos machos (5 por grupo) foram imunizados por via subcutânea com veículo, MOG₃₅₋₅₅, SP_{Tot} ou SP₂₄₉₋₂₇₈ diluídos em Adjuvante Completo de Freund e reforço imunológico de 200 ng de toxina *pertussis* por via intraperitoneal nos dias 0 e 2 após a imunização. Os animais foram avaliados diariamente para pontuação clínica e pesagem e testes para avaliar hiperalgesia térmica e mecânica foram realizados nos dias 0, 7, 10, 14, 18 e 21 pós-imunização. Aos 21 dias, os grupos experimentais foram submetidos à perfusão e coleta de tecidos para a realização de imunohistoquímica (IBA-1, MBP, GFAP, SYP e TNF α), análise de expressão gênica por qPCR (*TNF α* , *IL6*, *IFN γ* , *CTLA4* e *PDCD1*) e coloração por hematoxilina-eosina (H&E). As análises foram realizadas no GraphPad Prism 8.0 com os testes adequados.

RESULTADOS: Embora não tenha sido detectado alterações clínicas significativas em nenhum dos grupos, os animais imunizados apresentaram hiperalgesia térmica e mecânica ($p < 0,0001$). Curiosamente, os animais que receberam SP_{Tot} ou SP₂₄₉₋₂₇₈ apresentaram hiperalgesia maior quando comparados ao grupo MOG. Ademais, também foi observado um aumento na densidade e alterações morfológicas nas células IBA-1 $^+$ na região do corno dorsal, sendo esses mais expressivos no grupo SP₂₄₉₋₂₇₈ ($p < 0,0001$). A análise de células GFAP $^+$ revelou aumento em todos os grupos quando comparado ao controle ($p < 0,0076$) e a avaliação de MBP revelou que apenas os grupos SP_{Tot} ou SP₂₄₉₋₂₇₈ apresentaram redução dessa proteína quando comparado ao controle ($p < 0,0108$). No baço, a imunização com MOG₃₅₋₅₅ induziu maior expressão esplênica de *IFN γ* ($p < 0,0494$) e *CTLA4* ($p < 0,0286$), indicando ativação imune seguida de regulação adaptativa, enquanto SP_{Tot} e SP₂₄₉₋₂₇₈ promoveram respostas mais discretas. A histopatologia demonstrou vacuolização na substância branca da medula, aumento da densidade celular de leucócitos quando comparados ao grupo controle, e lesão tecidual, indicando resposta inflamatória ativa e possível desmielinização.

CONCLUSÃO: Esses achados sugerem que SP pode induzir desmielinização, neuroinflamação e hiperalgesia, mesmo sem sinais clínicos clássicos. A validação do modelo em questão pode elucidar mecanismos chave da Síndrome Pós-COVID permitindo a caracterização de alvos terapêuticos.

FINANCIAMENTO: FAPERJ e CAPES.

P-013 - A PROTEÍNA PRECURSORA DE AMILOIDE (APP) NA COVID-19: ANÁLISE DOS NÍVEIS DE APP EM CÉLULAS ENDOTELIAIS DA BARREIRA HEMATOENCEFÁLICA APÓS EXPOSIÇÃO À PROTEÍNA SPIKE.

¹Manuela Maria Gaspar Trindade, ¹Fernanda da Silva Carmo, ¹Matheus Ferreira de Barros, ¹Joice Stipursky Silva, ¹Juliana Ferreira Vasques. ¹Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

Introdução: A COVID-19, doença que vitimou aproximadamente 7 milhões de pessoas no mundo todo, é causada pelo vírus SARS-CoV-2 e amplamente reconhecida por seus sintomas respiratórios. No entanto, foram observadas manifestações neurológicas em até 1/3 dos pacientes que podem persistir mesmo após a remissão da infecção. Pouco ainda se sabe sobre o impacto de longo prazo causado pelo vírus durante e após a infecção, mas estudos demonstraram uma possível correlação entre a COVID-19 e marcadores histopatológicos da Doença de Alzheimer (DA), como o acúmulo do peptídeo beta-amiloide (A β). O A β é formado a partir da clivagem da proteína precursora de amiloide (APP), que possui grande relevância no sistema nervoso central (SNC) por estar envolvida em processos como neurogênese e sinaptogênese; além disso, a APP é capaz de gerar fragmentos neurotóxicos quando processada, como o A β , e a formação desse peptídeo somado a falhas na sua eliminação podem levar à neurodegeneração, como na DA. A infecção pelo SARS-CoV-2 pode causar outros danos possivelmente relacionados aos sintomas cognitivos, como o aumento da permeabilidade endotelial cerebral, levando ao comprometimento da barreira hematoencefálica (BHE). A BHE é uma estrutura formada pela vasculatura cerebral associada aos pés dos astrócitos e responsável por regular o transporte de substâncias da corrente sanguínea para o encéfalo, permitindo a entrada de nutrientes e bloqueando a passagem de toxinas e patógenos. O vírus é capaz de alterar a integridade da barreira e assim acelerar o acúmulo de A β , intensificando as manifestações neurológicas. Portanto, o uso de células endoteliais cerebrais para o estudo das consequências cognitivas da COVID-19 fornece informações valiosas acerca da entrada do SARS-CoV-2 no SNC, bem como as alterações na produção de proteínas induzidas pela infecção.

Objetivo: Avaliar a expressão e o processamento da APP em células da BHE a partir da exposição à proteína Spike (S1+S2) do SARS-CoV-2.

Métodos: Cultivamos uma linhagem de células endoteliais microvasculares cerebrais humanas (HBMECs) que foram expostas à proteína Spike por 24h. As células foram fixadas para imunofluorescência ou recolhidas para western blotting imediatamente após a exposição, ou mantidas em meio de cultura não suplementado por mais 24, 48 ou 72 horas e fixadas para análise em diferentes tempos. Analisamos alvos como APP, ADAM10, BACE1 e PSN1.

Resultados: Nossos resultados preliminares apontam para um possível aumento dos níveis de APP nas células expostas à Spike e mantidas por 24h em meio de cultura não suplementado ($n = 1$), em relação às células que não receberam a proteína. Todavia, são necessários mais experimentos para complementar os resultados.

Conclusão: Os resultados apontam para um possível aumento de APP em células endoteliais mesmo após remissão do estímulo com Spike.

Apoio financeiro: CAPES, CNPq, FAPERJ.



P-014 - EFEITOS DA EXPOSIÇÃO AO THC NA ADOLESCÊNCIA EM CAMUNDONGOS MODELO GENÉTICO DE ESQUIZOFRENIA

Melissa Chaves¹, Igor Rangel¹, Iohana Pagnoncelli¹, Isabelle Medeiros¹, Felipe Pinheiro¹, Lorena Fortuna¹, Luiza Castello-Branco¹, Virgínia Martins Carvalho³, Flavia Regina Souza Lima¹, Rogério Panizzutti, Luciana F. Romão². ¹Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio De Janeiro. ²Instituto de Psiquiatria, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio De Janeiro. ³Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio De Janeiro.

Introdução: A exposição à cannabis na adolescência tem sido associada a um risco aumentado de desenvolver esquizofrenia, embora a relação causal entre predisposição genética e exposição ao Δ⁹-tetraidrocanabinol (THC), principal componente psicoativo da planta, permaneça pouco compreendida. O THC modula a comunicação entre neurônios e células gliais, podendo impactar processos inflamatórios e sinápticos. Evidências indicam que alterações em astrócitos e micróglias afetam a neuroinflamação e a disfunção glutamatérgica características da esquizofrenia. Modelos com deficiência da enzima serina racemase (Srr-/-), responsável pela síntese de D-serina — coagonista do receptor N-metil-D-aspartato (NMDAr) —, apresentam hipofunção glutamatérgica e fenótipos semelhantes à esquizofrenia.

Objetivo: Neste projeto, investigamos os efeitos da exposição ao THC durante a adolescência sobre parâmetros comportamentais e morfológicos em camundongos Srr-/- adultos.

Metodologia: Administraramos THC ou veículo (VHC), via oral, em camundongos C57Bl/6J selvagens (Srr+/+) ou Srr-/- nos dias pós-natais P30-P50 em doses crescentes (2,5–10 mg/kg). Foram realizados testes de inibição por pré-pulso (PPI), campo aberto e reconhecimento espacial (TRE) após P120, seguidos de análises morfológicas. Os dados foram analisados por ANOVA de duas vias e pós-teste de Tukey (média de 12 animais/grupo; CEUA 032/20).

Resultados: Os camundongos Srr-/- VHC apresentaram resposta de PPI reduzida em relação aos Srr+/+ VHC ($p<0,05$). Os Srr-/- THC mostraram PPI maior que os Srr-/- VHC nos pré-pulsos de 85 dB (60 e 120 ms; $p<0,05$), sugerindo um efeito restaurador do THC. No teste de campo aberto, tanto Srr+/+ quanto Srr-/- tratados com THC permaneceram mais tempo no centro em comparação aos controles ($p<0,05$). No TRE, os Srr-/- THC exibiram aumento do índice de discriminação espacial em relação aos Srr-/- VHC ($p<0,01$). Nas análises morfológicas, as micróglias do hipocampo dos Srr-/- VHC mostraram menor número e comprimento de ramificações e junções ($p<0,05$). A exposição ao THC restaurou esses parâmetros, aumentando o comprimento médio ($p<0,01$) e total das ramificações ($p<0,001$). Nos astrócitos hipocampais, os Srr-/- VHC apresentaram maior intensidade de GFAP e processos primários mais curtos em comparação aos Srr+/+ VHC ($p<0,001$). Após o tratamento com THC, houve redução da intensidade de GFAP ($p<0,001$), da área ($p<0,05$) e do perímetro celular ($p<0,01$), além de aumento no comprimento dos processos ($p<0,01$). Já os Srr+/+ THC mostraram aumento de GFAP e área celular ($p<0,001$).

Conclusão: Nossos dados mostram que a exposição ao THC durante a adolescência foi capaz de prevenir prejuízos cognitivos e morfológicos ocasionados pela diminuição de D-serina.

Apoio Financeiro: CNPq, FAPERJ

P-015 - AVALIAÇÃO DO EFEITO DA CAFEÍNA NAS ALTERAÇÕES NEURAIS PRECOCES NA RETINA NO MODELO DE RETINOPATIA DIABÉTICA

1Freitas, N., 2 Silva G., 3 Araujo D., 4 Brito R., 5 Calaza K., 1Departamento de Neurobiologia, 4Departamento de Biologia Celular e Molecular, 5Departamento de Neurobiologia, Programa de Pós-graduação em Neurociências, Instituto de Biologia UFF, Rio de Janeiro.

Introdução: A retinopatia diabética é uma das principais causas de cegueira em adultos em idade produtiva, decorrente da hiperglicemia crônica que promove alterações neurais e vasculares na retina. O estresse oxidativo é um dos principais mecanismos envolvidos, resultante do excesso de espécies reativas de oxigênio e da redução das defesas antioxidantes. A cafeína, conhecida por seus efeitos antioxidantes em doenças neurodegenerativas, pode exercer ação semelhante na retina. Estudos prévios do grupo mostraram que o tratamento com cafeína aumenta a resistência retiniana à isquemia aguda. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar seu papel protetor sobre a reatividade glial, o estresse oxidativo e a autofagia no modelo experimental de retinopatia diabética.

Métodos: Foram utilizados ratos Lister Hooded do Biotério Central da UFF (CEUA 7823260420, emenda ID 000319). Os ratos P30 são induzidos à diabetes através de uma injeção intraperitoneal de estreptozotocina (55 mg/kg) e os controles recebem uma injeção de tampão citrato (55 mg/kg). A glicemia é avaliada 4 dias após a injeção. Os animais são tratados por 3 semanas com cafeína (0,3 g/L) e os controles recebem água, depois são eutanasiados por sobredose de isoflurano e as retinas são dissecadas para *Western Blottting*.

Resultados: Avaliamos marcadores de reatividade glial, o GFAP (n=2), marcador de gliose em células de Müller e astrócitos, apresentou aumento de 50% no grupo DB em relação ao controle. O tratamento com cafeína reduziu essa expressão. A IBA1 (n=2), marcador de ativação microglial, também mostrou aumento de 50% no grupo DB, sendo igualmente reduzida pela cafeína. Entre os marcadores de estresse oxidativo, a enzima antioxidante HO-1 (n=1) apresentou redução de 60% no DB, sem recuperação significativa com a cafeína. Por outro lado, a Redd1 (n=1), reguladora da via antioxidante Nrf2, aumentou 20% no DB e cerca de 70% nos animais tratados. Em relação à autofagia, a Beclin1 (n=2) apresentou tendência à redução de sua expressão no grupo DB em comparação ao ND. O SQSTM1/p62 (n=1) mostrou redução de cerca de 90% no grupo DB em relação ao controle, sem modificação significativa com o tratamento com cafeína. Já o LC3 (n=2) apresentou redução de aproximadamente 30% no DB em comparação ao ND, efeito prevenido pelo tratamento no grupo DB+CAF.

Conclusão: Os dados preliminares sugerem um efeito modulatório da cafeína na reatividade glial e estresse oxidativo. Porém, é necessário aumentar o número de experimentos para uma análise mais robusta.

Apoio financeiro: FAPERJ, CNPq, CAPES e UFF.

P-016 - O PAPEL DA INFLAMAÇÃO INDUZIDA PELO SORO DE PACIENTES COM TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA (TEA) NA RETINA EM DESENVOLVIMENTO.

^{1,5}Correa, R.I.; ¹Duarte, P.F.; ^{1,6}Teixeira, L.F.; ^{2,6}Calaza, K.C.; ^{3,5}Alves, G., ^{4,6}Brito, R.; ^{1,5,6}Pereira, M.R.

¹Laboratório de Sinalização Química do Sistema Nervoso, UFF, Niterói. ²Laboratório de Neurobiologia da Retina, UFF, Niterói. ³UPC, HUAP, UFF, Niterói. ⁴Laboratório de Fisiologia e Patologia Neuronal, UFF, Niterói.

⁵Programa de Pós-graduação em Ciências e Biotecnologia, UFF, Niterói. ⁶Programa de Pós-graduação em Neurociências, UFF, Niterói.

Introdução: O TEA é um transtorno do neurodesenvolvimento onde a ativação imune materna destaca-se como fator de risco, elevando citocinas inflamatórias que atravessam a placenta e amplificam a inflamação no SNC em desenvolvimento. A inflamação pode afetar circuitos sensoriais e está associada à maior prevalência de alterações oftalmológicas no TEA. A retina expressa sistemas de neurotransmissores e neuromoduladores como GABA e adenosina e constitui um modelo para investigar como processos inflamatórios modulam os mecanismos celulares subjacentes no TEA, os quais são pouco investigados.

Objetivos: Avaliar como a inflamação associada ao TEA modula a sobrevivência neuronal, bem como os sistemas de neurotransmissores e neuromoduladores como GABA e adenosina na retina.

Metodologia: Soro de paciente com TEA e neurotípico (CEP 91986825.6.0000.8160) tiveram seus mediadores inflamatórios quantificados (Bio-Plex Magpix). Ovos embrionados de galinha E14 (CEUA UFF 5927081024) foram injetados com o soro e após 48h, as retinas foram processadas para Western Blot e imunohistoquímica. A viabilidade celular de culturas mistas de E8 tratadas com diferentes concentrações de soro por 48h foi analisada por MTT.

Resultados: O soro TEA apresenta níveis mais altos de várias proteínas inflamatórias comparado ao neurotípico. Houve redução dos níveis dos receptores A1 (ct: 100, TEA: 69,4, n=1) e A2a de adenosina (ct:100,0±23,8, típico: 101,0, TEA: 46,0±5,7, n=1 e n=2) e aumento do transportador ENT-1 (ct:100, TEA: 135,6, n=1) na retina. Os níveis de p-AKT (ct: 100,0±10,8, TEA: 75,0±19,9, n=2) e de Bcl-2 (ct: 100, típico: 94,5, TEA: 111,6, n=1) parecem não terem sido alterados na retina pelo soro TEA. Houve redução na expressão de GABA nas células horizontais (73,1±18,3), amácrinas (58,5±29,4) e na camada de células ganglionares (73,6±12,7) da retina (n=2) pelo soro TEA. Nas culturas mistas, o soro TEA parece ter um potencial maior de reduzir a viabilidade celular (ct:100,6±9,9, típico 5%:41,4±3,7, TEA 5%: 29,9±5,9, n=3, p<0,001).

Conclusão: Os mediadores inflamatórios no TEA reduzem a expressão dos receptores de adenosina e os níveis de GABA nas células de retina. Os resultados sugerem que o soro do paciente com TEA têm maior potencial em reduzir a viabilidade celular nas células da retina em cultura.

Apoio Financeiro: FAPERJ, Capes, CNPq

P-017 - TRANSACTIVATION OF EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTORS BY ADENOSINE A1 RECEPTORS IN THE DEVELOPING AVIAN RETINA

Guimarães-Souza M, Ximenes LGR, Pereira-de-Lima J, dos-Santos Rodrigues A, Araujo EG and Paes-de-Carvalho R. Department of Neurobiology and Program of Neurosciences, Fluminense Federal University, Niterói, RJ, Brazil

Background: Adenosine receptors regulate cAMP levels during retina development. The transcription factor CREB is controlled by both cAMP-dependent and independent mechanisms.

Objective: Here we investigated how A1 adenosine receptors regulate CREB phosphorylation in the developing retina.

Methods: Retinas of 10-day-old chicken embryos (E10), an early stage of development, and E16, a more developed stage, were dissected, treated with different inhibitors and stimulators, lysed and analyzed by western blot.

Results: The A1 agonist cyclohexyladenosine (CHA, 100nM) stimulates CREB phosphorylation in E10 retinas in a MEK/ERK, PKC and SRC-dependent manner (CT=100%;CHA=130.8% \pm 6.5;n=5;p<0.01;CHA+UO126 (MEK inhibitor)= 61.5% \pm 10.2; n=3;P<0.01;CHA+Chelerytrine (PKC inhibitor)=41.5% \pm 11.4;n=4; p<0.001;CHA+SKI1 (SRC inhibitor)=53.8% \pm 9.9;n=3;p<0.01). Treatment with CHA also stimulates ERK (CT=100%;CHA=134.6% \pm 5.3;n=3;p<0.01), AKT (CT=100%; CHA=116.2% \pm 2.2;n=4;p<0.001) and SRC at Tyr416 (CT=100%; CHA=181.0% \pm 35.7; n=2). Interestingly, CHA inhibits SRC phosphorylation at the PKA/CSK-dependent inhibitory site (CT=100%;CHA=72.0% \pm 5.2;n=3;p<0.01), and the Gi activator Mastoparan (MAST, 50 μ M) also increases CREB phosphorylation (CT=100%;MAST=146.6% \pm 17.5;n=3;p=0.056), as well as ERK (CT=100%;MAST=177.2% \pm 19.9;n=3;p<0.05) and AKT (CT=100%;MAST= 319.2% \pm 97.2;n=3;p=0.087), suggesting that a decrease of cyclic AMP levels plays an important role in this effect. Accordingly, experiments performed in absence of RO20-1724 (a phosphodiesterase inhibitor), revealed a much higher CREB (CT=100%;CHA=239.3% \pm 5.18;n=4;p<0.0001), ERK (CT=100%; CHA= 218.5% \pm 6.5;n=4; p<0.0001) and AKT (CT=100%;CHA=179.2% \pm 6.5;n=3; p<0.001) stimulation, indicating that a decrease of cAMP levels is essential for this effect. In E16 retinas CHA promotes inhibition of CREB (CT=100%;CHA=60.0% \pm 11.8; n=5; p<0.05), ERK (CT=100%;CHA=33.9% \pm 5.13;n=3;p<0,01) and AKT phosphorylation (CT=100%;CHA=72.6% \pm 11.0;n=5;p<0.05). The effect of CHA on CREB activity in E10 is blocked by the A1 antagonist DPCPX (61.7% \pm 11.9;n=3;p<0.01) or by Tyrphostin AG 1478 (65.0% \pm 7.6,n=3;p<0.01), an inhibitor of EGF receptor activity, suggesting a transactivation of this receptor mediated by A1 receptors at this stage of development.

Conclusion: Our findings show that adenosine A1 receptors modulate CREB, ERK, and AKT phosphorylation at various stages of retinal development. In E10 retinas, CREB activity relies on EGF receptor transactivation and a SRC/PKC/ERK pathway. By E16, there is inhibition of CREB, ERK, and AKT, indicating a developmental shift in signaling pathways.

Supported by CNPq, Capes, Faperj, and INNT.

P-018 - MORTE CELULAR INDUZIDA POR 2- ARAQUIDONILGLICEROL EM CÉLULAS DE RETINA EM DESENVOLVIMENTO: PARTICIPAÇÃO DA VIA DO PARTANATO

^{1,4}Fonseca, T.A.B.M; ^{2,3}Brito, R., ³Araújo, D.S.M., ¹Da Silva, T.M., ^{1,3,4}Calaza, K.C. ¹Departamento Neurobiologia, ²Departamento de Biologia Celular e Molecular, ³Programa de Pós-graduação em Neurociências, ⁴Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas. UFF, Rio de Janeiro.

Introdução: O sistema endocanabinoide está presente na retina madura e no desenvolvimento. Classicamente, modula liberação de neurotransmissor, sendo importante para regulação da excitabilidade. No entanto, seu impacto durante o desenvolvimento embrionário da retina permanece pouco explorado.

Objetivo: Investigar os tipos e mecanismos envolvidos na morte celular provocada pela inibição da MAGL, enzima de degradação do 2-araquidonoilglicerol (2-AG), na retina imatura.

Métodos: Utilizamos culturas mistas de células da retina de embriões de galinha (*Gallus gallus*)(CEUA 820), plaqueadas no sétimo dia de desenvolvimento (E7), tratadas 24 horas depois (E7C1) e as amostras coletadas após 24h (E7C2). Utilizamos o Inibidor da MAGL, URB602 (75 µM). A viabilidade celular foi aferida por MTT e marcação para caspase-3 clivada e AIF por imunofluorescência. As imagens foram registradas pelo microscópio confocal Leica SP5 e a análise da colocalização de AIF foi feita com o Plugin “colocalization threshold” do FIJI. Estatística realizada utilizando GraphPad Prism8, Two-way ANOVA - post test bonferroni.

Resultados: URB602 induziu cerca de 40% de morte celular em E7C2, o que se repetiu em culturas de E6C2, E8C2 e E9C2, com o mesmo tempo de tratamento e análise. O tratamento com MbCD (100µM), depletor de colesterol, atenuou a morte celular induzida por URB602 em cerca de 20% nas diversas idades ($p=0,0212$; $n=4$). O tratamento com o inibidor da PARP1, via do partanato, PJ34 reduziu a morte (URB602: $0,66 \pm 0,031$; URB+PJ34 1 µM: $0,84 \pm 0,076$; $p=0,0037$; URB +PJ34 5 µM: $0,88 \pm 0,056$ $p<0,0001$; $n=6$). Houve aumento do número de células marcadas para caspase-3 clivada em E7C2 ($p=0,000$; $n=3$) e de AIF no núcleo, após 6 horas de tratamento com URB602, rcoloc/intensidade fluorescência= -0,0000351115 ($n=1$).

Conclusão: Os resultados sugerem que a morte celular induzida por URB602 está associada à ativação da via do partanato, mas com participação da caspase-3 clivada. No entanto, faz-se necessário ampliar o número de experimentos e realizar testes adicionais para esclarecer de forma mais precisa como ocorre a modulação dessa via.

Apoio financeiro: Faperj, Capes, CNPq/INCT.

P-019 - EFEITOS DA EXPOSIÇÃO AO ETANOL COMO FATOR DE RISCO PARA A DOENÇA DE ALZHEIMER: AVALIAÇÃO DO CONTEÚDO E PROCESSAMENTO DA PROTEÍNA PRECURSORA DO AMILOIDE EM CÉLULAS DA MICROGLIA HUMANA.

Gisbert, B. M.^{1,2}; Vieira, B. E.^{1,2}; Nascimento, L. A. H.¹; Stipursky, J.^{1,2}; Vasques, J. F.^{1,2}

1 - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

2- Programa de Pós - Graduação em Anatomia Patológica, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Introdução: A Doença de Alzheimer (DA) é a forma mais comum de demência, afetando predominantemente idosos, com características de perda progressiva de memória e declínio cognitivo. Devido ao seu potencial citotóxico e indutor da neuroinflamação, estudos sugerem que o consumo de bebidas alcoólicas pode ser um fator de risco importante para a DA, exacerbando problemas neurológicos e alterando os níveis e o processamento de proteínas associadas à doença, como a proteína precursora do amiloide (APP). O processamento amiloidogênico de APP leva à formação de placas β -amiloide ($A\beta$), um dos marcos patológicos da DA. A neuroinflamação e neurodegeneração observadas na DA parecem estar diretamente relacionadas à reatividade de células microgliais em resposta à deposição de peptídeos de $A\beta$. Embora a exposição ao etanol seja capaz de promover a reatividade microglial, não se sabe se esta droga de abuso é capaz de modular os níveis e processamento de APP, e se este evento poderia representar um risco para o estabelecimento da DA.

Objetivos: Avaliar o impacto do etanol sobre o conteúdo e o processamento da APP em células microgliais humanas.

Métodos: Para isso utilizamos células de microglia humana (Thermo Fisher) cultivadas em placas de 24 poços ($2,5 \times 10^4$ células) e em garrafas de 25 cm^2 (3×10^5 células), até a confluência. Após, as células foram tratadas com etanol (Sigma Aldrich) 15mM e 30mM. Células cultivadas em placas foram fixadas e analisadas por imunocitoquímica para APP e IBA1 (marcador microglial). Células cultivadas em garrafas foram processadas para *Western Blotting* para APP.

Resultados: Análises de imunocitoquímica demonstraram que não houve uma mudança do número de total de células, através da contagem de DAPI, em presença de etanol 15mM e 30mM. Com relação aos níveis de IBA1, foi observado através da intensidade da fluorescência uma tendência de diminuição na presença de etanol 15mM e uma tendência de aumento para a concentração de 30mM. Já para os níveis da APP tivemos uma diminuição na presença de etanol 15mM, enquanto nas células expostas ao etanol 30mM tivemos um aumento na intensidade da fluorescência para o APP. A análise de *Western Blotting* para os níveis da proteína APP ainda está sob análise, assim como novos dados de imunocitoquímica estão sendo analisados.

Conclusão: Esses dados preliminares indicam que o etanol parece modular a expressão da APP nas células microgliais, sendo de suma importância realizar mais análises para entender se poderá impactar o perfil do processamento amiloidogênico também. Análises adicionais estão em andamento para confirmar esses dados e para aprofundar o entendimento da correlação entre o alcoolismo e a DA.

Apoio Financeiro: CAPES, CNPq, FAPERJ



P-020 - EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO RESISTIDO CRÔNICO SOBRE A FORÇA MUSCULAR E CAPACIDADE COGNITIVA EM MODELO ANIMAL 5xFAD DE DOENÇA DE ALZHEIMER

Caroline Vieira Azevedo¹, Gabriella de Santana Guerra Pimentel¹, Helena Miranda Melo de Sousa¹, Juliana Ferreira Vasques¹. ¹Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Introdução: A Doença de Alzheimer (DA) é uma desordem neurodegenerativa clinicamente caracterizada pela perda cognitiva progressiva e por alterações comportamentais, resultantes de disfunções neuronais seletivas, perda sináptica e neuroinflamação. Sabe-se que pacientes com DA, mesmo em estágios iniciais, apresentam uma alta prevalência de sarcopenia. Múltiplos estudos sistemáticos recentes demonstram uma forte associação entre a sarcopenia e o déficit cognitivo, com a patologia progredindo rapidamente em indivíduos com maiores prejuízos na força muscular. Diversos estudos demonstram os benefícios do exercício físico, especialmente o aeróbio, como uma estratégia terapêutica não farmacológica para o tratamento da DA e a redução da sarcopenia. No entanto, a literatura é escassa no que se refere aos efeitos do exercício resistido (ER) e seus mecanismos de ação sobre a patologia da DA.

Objetivo: Neste estudo, buscamos analisar os efeitos do ER sobre o ganho de força muscular e os aspectos cognitivos do modelo animal 5xFAD.

Metodologia: Camundongos transgênicos 5xFAD (AD) e seus respectivos controles *wild-type* (WT) (CEUA n.º 044/24), a partir das 12 semanas de idade, de ambos os sexos, foram submetidos ao ER de intensidade moderada, três vezes por semana, durante 16 semanas consecutivas. Ao todo, foram analisados quatro grupos: AD-SED (n=7), WT-SED (n=8), AD-ER (n=5) e WT-ER (n=10). Semanalmente, todos foram pesados e submetidos ao teste de preensão das 4 patas (*grip strength*). Ao final deste período, foram submetidos ao teste comportamental T-maze durante 5 dias consecutivos.

Resultados: Não foram encontradas diferenças no ganho de peso e na força de preensão entre todos os grupos. Na análise comportamental, os grupos sedentários e exercitados apresentaram a mesma taxa de acertos, no entanto, os grupos exercitados apresentaram menor tempo de latência comparados aos seus respectivos grupos-controle ($p=0,0194$). Isto nos permite interpretar que, apesar de a performance cognitiva ser semelhante (mesma taxa de acertos), a eficiência de processamento (indicada pela redução da latência em grupos ER) é diferente em indivíduos submetidos ao ER.

Conclusão: Tais resultados nos levam a crer que devemos investigar áreas cerebrais ou mecanismos neuroquímicos que regulam a velocidade da resposta e a tomada de decisão, em vez de focar apenas na formação e retenção de memória a fim de compreender os mecanismos pelos quais o ER influencia a progressão da neuropatologia de DA.

Apoio Financeiro: Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

P-021 - ESTUDO DO MODELO DE HIPÓXIA QUÍMICA POR CLORETO DE COBALTO EM CULTURA DE CÉLULAS DA RETINA: VIAS DE MORTE E INTERVENÇÕES FARMACOLÓGICAS

Elias Avgerino dos Santos¹, Mariana Renovato Martins², Karin da Costa Calaza³, Rafael Brito¹, 1 Laboratório de Fisiologia e Patologia Neuronal, Departamento de Biologia celular e molecular, Programa de Pós-graduação em Neurociências; 2 Laboratório de inflamação e Metabolismo, Departamento de Biologia celular e molecular, Programa de Pós-graduação em Biociências, Universidade do Estado do Rio de Janeiro; 3 Laboratório de Neurobiologia da Retina, Departamento de Neurobiologia, Programa de Pós-graduação em Neurociências, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro.

Introdução: Patologias como glaucoma, retinopatia diabética e da prematuridade levam à cegueira e comprometem a qualidade de vida, gerando impacto social e econômico. É comum a estas patologias processos de isquemia e hipóxia, o que induz a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e morte por apoptose. Desta forma, o cloreto de cobalto (CoCl_2) é amplamente utilizado como agente mimético de hipóxia, permitindo estudar a morte celular induzida por estresse oxidativo em culturas de células. Por outro lado, compostos naturais como icariin, hesperidina e naringina, com propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, mostram potencial neuroprotector contra danos isquêmicos, embora pouco se saiba sobre seus efeitos em células da retina.

Objetivos: Caracterizar o modelo de morte celular induzida por CoCl_2 em cultura de células da retina de embriões de galinha e avaliar o potencial neuroprotector de diferentes agentes farmacológicos e produtos naturais.

Métodos: Retinas de embriões de galinha (E8) foram dissociadas e cultivadas. Após três dias de cultura (E8C3), as mesmas foram tratadas por 24 horas com CoCl_2 (100–1000 μM) na presença ou ausência de produtos naturais [Icariin (10–100 μM), Hesperidina (1–100 μM), Naringina (25–200 μM)] e inibidores de morte celular [Ferrostatina (5–10 μM), Z-vad (25–50 μM), 3MA (100–300 μM), PJ34 (1–10 μM) e Necrostatina (10–50 μM)]. A viabilidade celular foi avaliada pelo ensaio de MTT. Dados foram analisados por Two-way ANOVA ($p<0,05$) com post test de Bonferroni.

Resultados: O CoCl_2 reduziu a viabilidade de forma dependente da concentração (CTL 100%; 100 μM 90,6%; 200 μM 78,8%; 500 μM 53,6%; 1000 μM 10,6%; $p<0,0001$; $n = 5$). O pré-tratamento por 24 horas com icariin promoveu proteção parcial significativa a 100 μM (80,8% vs. 67,9% CoCl_2 ; $p<0,0001$; $n = 8$), assim como o tratamento com 10 μM hesperidina (91,0%; $p=0,003$; $n = 5$). Por sua vez, a naringina não mostrou efeito relevante. Inibidores de diferentes tipos de morte celular (Ferrostatina, PJ34, 3MA e Necrostatina) não preveniram a redução de viabilidade causada por CoCl_2 . O Z-vad, inibidor da apoptose, previneu a morte por CoCl_2 (25 μM : 92,1%, $p = <0,05$; 50 μM : 87,3%; $n = 4$), indicando envolvimento de mecanismos apoptóticos.

Conclusão: O CoCl_2 induziu morte celular dependente da concentração em cultura de retina. Entre os moduladores testados, apenas Z-vad demonstrou efeito protetor significativo, sugerindo participação da apoptose. Entre os produtos naturais, apenas a Icariina (100 μM) e Hesperidina (10 μM) apresentaram efeito neuroprotector parcial; ao contrário da Naringina, onde não foi observado efeito na viabilidade celular.

Apoio Financeiro: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro - FAPERJ, PROPPI - Pró-reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, CAPES - Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, e INNT - Instituto Nacional de Neurociência Translacional.

P-022 - EXPOSIÇÃO CRÔNICA AO ÁLCOOL COMO FATOR DE RISCO PARA SUSCETIBILIDADE DAS CÉLULAS DA BARREIRA HEMATOENCEFÁLICA À INFECÇÃO POR SARS-COV-2

Fernanda Carmo¹, Mateus Vidigal², Raiane Ferreira², Mayana Zatz², Joice Stipursky¹. ¹Laboratório de Biologia das Interações Neurovasculares, Instituto de Ciências Biomédicas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil. ²Laboratório de Doenças Neuromusculares e Centro de Estudos do Genoma Humano e Células Tronco, Instituto de Biociências, Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil.

Introdução: A COVID-19, causada pelo vírus SARS-CoV-2, caracteriza-se por uma síndrome respiratória aguda grave, que resultou na morte de milhões de pessoas no mundo nos últimos anos. Os sintomas incluem dificuldades respiratórias, febre, disfunções vasculares e sintomas neurológicos, como falhas de memória, tontura, perda de olfato e acidentes vasculares encefálicos. Estudos demonstraram que o aumento do estresse, ansiedade e depressão resultantes do isolamento social, contribuíram para o aumento do consumo de bebidas alcoólicas. O consumo crônico de álcool pode causar graves impactos no sistema nervoso central (SNC), como neuroinflamação e neurodegeneração, eventos associados a disfunções da barreira hematoencefálica (BHE), responsável por proteger o SNC de substâncias nocivas na corrente sanguínea.

Objetivo: O projeto avalia se a exposição prolongada ao etanol afeta os componentes celulares da BHE, predispondo essas células à infecção pelo SARS-CoV-2.

Metodologia: Células endoteliais cerebrais microvasculares humanas (HBMECs) foram tratadas com etanol (50 mM) por 72h (1x/dia) e, no 4º dia, expostas à proteína Spike (1.8 µg/mL), também fizemos tratamento apenas com a Spike por 24h e Controle (meio sem soro).

Resultados: Observamos preliminarmente, por imunofluorescência, que o tratamento apenas com etanol aumentou a expressão de ZO1 e GLUT1 em 8% e 28%, respectivamente, e reduziu a expressão de MRP1 e vWF em 9% e 14%, respectivamente. Além disso, a adição de Spike a células previamente expostas ao etanol resultou na redução das expressões de ZO1, MRP1 e vWF em 70%, 19% e 31%, respectivamente, e no aumento da expressão de GLUT1 em 32%. A desregulação dos níveis dessas proteínas sugere alterações na permeabilidade vascular (ZO1), no transporte de moléculas pela BHE (MRP1), na captação de glicose (GLUT1), e em mecanismos controladores da coagulação sanguínea (vWF). Observamos também que o tratamento agudo (24h) com etanol 50 mM e 100 mM aumenta a expressão de ACE2 em 20% e 10% em relação ao controle. Já a expressão de TMPRSS2 apresentou aumento de 25% e 16% em presença de etanol 50 mM e 100 mM, respectivamente. Além disso, utilizamos células endoteliais derivadas de iPSCs de cinco pacientes que tiveram COVID-19 (CEP IB/USP: 5.218.220). Após o tratamento agudo com etanol (50 mM e 100 mM) por 24h, observou-se que apenas as células derivadas de pacientes do sexo masculino apresentaram alterações nos níveis de vWF, caracterizadas por um aumento em relação ao controle. Já as células derivadas de pacientes do sexo feminino mantiveram níveis de vWF semelhantes aos do Controle. Esses resultados sugerem uma resposta diferencial ao etanol associada ao sexo biológico dos pacientes.

Conclusão: Em conjunto, nossos achados indicam que a exposição ao álcool pode modular a expressão de fatores relacionados à coagulação sanguínea, afetar a integridade endotelial e potencialmente aumentar a vulnerabilidade dessas células à interação com proteínas do SARS-CoV-2.

Apoio Financeiro: FAPERJ; International Society for Neurochemistry.

P-023 - ANALYSIS OF THE ENDOCANNABINOID-INDUCED CELL DEATH IN CHICK EMBRYONIC RETINAL CELL CULTURES

¹DIAS, G. G. L., 1FONSECA, T. A. B. M., 1BOCKMAN, E. C., ²SILVA, R. B., 1CALAZA, K. C. ¹Neurobiology Department, Fluminense Federal University, Niterói-RJ 2 Cell Biology Department, Fluminense Federal University, Niterói-RJ

Background: The retina is a tissue essential for vision since it is responsible for transducing the light signal into a neurochemical signaling which is transmitted to the brain. It has already been shown that the retina expresses the main components of the cannabinoid system, such as one of the predominant endocannabinoids, 2-arachidonoylglycerol (2-AG) and the enzyme responsible for its degradation, monoacylglycerol lipase (MAGL). Data from our group demonstrated that the inhibition of MAGL, responsible for the hydrolysis of 2-AG, in the retinal development of chicken embryo cultures, causes cell death. However the mechanisms involved are yet to be elucidated.

Objective: To evaluate the involvement of autophagy, endoplasmic reticulum stress (ERE) and other death pathways in the cell death induced by the inhibition of the MAGL enzyme by URB602.

Methods: Approved by the CEUA number 820. Mixed cell cultures of the retina were made from 7-day-old chick (*Gallus gallus*) embryos (E7), maintained in MEM. After 24 hours of cell plating (C1), cells were treated with 0.05% DMSO (control group), URB602 (50 µM), MAGL enzyme inhibitor, and evaluated after 24 hours (C2). Western Blotting was used to analyze the levels of proteins involved in the autophagy pathway, by using anti-Beclin-1 (1:1000, n=6) and anti-LC3A/B (1:1000, n=6), as well as ERE, anti-phospho-eif2α (1:1000, n=5), anti-CHOP (1:1000, n=4), anti-HO-1 (1:500, n=4). Anti-α-tubulin (1:100.000) was used as loading control. Viability assay (MTT) was used to test the death pathways, using the inhibitors 3-MA (100 µM, 250 µM, 500 µM, n=6), Ferrostatin-1 (1µM, 5µM, n=3) and Necrostatin (10µM, 50µM; n=3). The data was normalized to control and the statistical analysis used was the One Sample t-test and One-way ANOVA, using GraphPad Prism 8.0.1 considering p < 0.05 and mean ± standard error of mean.

Results: After 24 hours of URB602 treatment, cell cultures showed a significant increase in LC3A/B levels (2.504 ± 0.4619, p<0.0225). However, Beclin-1 content was significantly decreased (0.5899 ± 0.1539, p<0.0446). The analysis of p-eif2α (5.032 ± 2.500, p<0.1821), HO-1 (1.982 ± 0.7001, p<0.2103) and CHOP (1.944 ± 0.6088, p<0.1719) also showed a tendency to increase in comparison to control. After 24h of URB602, MTT showed a significant decrease of cell viability (58.07 ± 6.976, p<0.0097) and 1h pre-treatment with autophagy inhibitor 3-MA 250µM (73.40 ± 11.04, p<0.1995) prior to URB602 had a tendency to increase cell viability. Analysing some death pathways capable of being mediated by autophagy, pre-treatment of 1 h with the necroptosis inhibitor Necrostatin (47.17 ± 2.445, p<0.0001) and the ferroptosis inhibitor Ferrostatin-1 (48.37 ± 4.593, p<0.0001) didn't increase cell viability.

Conclusions: From the observed results, the cell death induced by URB602 could be related to a disbalance in autophagy or/and reticulum stress pathways, and the death pathways involved are still to be confirmed.

Funding: FAPERJ, CNPq, CAPES, FOPESQ/UFF, FEC

P-024 - ALTERAÇÕES DO PROTEOMA CEREBRAL DE CAMUNDONGOS INDUZIDOS A DIETA HIPERCALÓRICA E TRATADOS COM 5-MEO-DMT

Ferraz, Guilherme¹, Martins, Michele¹, Nugue, Guillaume¹, Goto-Silva, Livia², Kastrup², Stevens, Antoniella, Heloísa³, Magalhães³, Kelly, Junqueira, Magno¹. 1. UFRJ, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2. IDOR, Instituto D'Or de Pesquisa e Ensino, 3. UnB, Universidade de Brasília

Introdução: A 5-metoxi-N,N-dimetiltriptamina (5-MeO-DMT) é uma triptamina psicoativa encontrada em plantas nativas da Amazônia e no veneno do sapo *Incilius alvarius*, com potencial terapêutico promissor. Atua como agonista não seletivo de receptores serotoninérgicos, amplamente distribuídos em regiões cerebrais associadas à regulação do apetite, emoção e recompensa. Disfunções desses comportamentos alimentares estão fortemente associadas à obesidade, considerada atualmente uma epidemia global. Diante da baixa eficácia e efeitos colaterais de tratamentos tradicionais, psicodélicos serotoninérgicos surgem como nova abordagem terapêutica para distúrbios alimentares. Nesse cenário, a proteômica se apresenta como uma ferramenta essencial para a investigação das alterações neuronais associadas à dieta e ao tratamento, permitindo uma análise ampla de vias metabólicas.

Objetivo: Investigar os efeitos do psicodélico 5-MeO-DMT em camundongos submetidos a uma dieta rica em gordura e carboidratos que mimetiza a obesidade humana, por meio da análise proteômica.

Metodologia: Foram utilizados camundongos machos C57BL/6 com 5 semanas de vida, divididos em quatro grupos experimentais em triplicata biológica: SFD (dieta padrão) control, CFD (dieta hipercalórica) control, SFD + 5-MeO e CFD + 5-MeO. Os animais receberam dieta rica em gordura e carboidratos por 80 dias, atingindo um peso máximo de 40 gramas e, a partir do 60º dia, foram tratados com 1 mg/kg de 5-MeO-DMT. Após os 80 dias do período experimental, que foi realizado na Universidade de Brasília em colaboração com o Instituto D'Or, os tecidos cerebrais foram coletados integralmente, mas o córtex frontal foi selecionado para análise. Em seguida, foram submetidos à extração proteica utilizando um tampão de lise composto por ureia 7M, tioureia 2M, NaCl 75mM, EDTA 1mM e HEPES 1ml. As proteínas foram reduzidas, alquiladas e digeridas com tripsina. Os peptídeos de cada amostra obtida foram secos em Speedvac, ressuspensos com ácido fórmico e analisados em nano cromatografia acoplada a espectrômetro de massas Q-Exactive plus (nLC-MS/MS).

Resultados: Os dados brutos foram processados pelo software *Proteome Discoverer* 3.2 e a análise dos dados foi feita no software Perseus 3.2. Foram identificadas 4.675 proteínas em todas as condições experimentais. A Análise de Componentes Principais demonstrou bom agrupamento entre os grupos, indicando reprodutibilidade nas amostras. Foi realizado um Heatmap para uma clusterização hierárquica para identificar de maneira mais aprofundada o comparativo do perfil proteico dos grupos de análise. De maneira mais aprofundada, foi realizada análise em comparativos por meio de um Volcano Plot entre os grupos: SFD control e CFD control, SFD + 5-MeO e CFD control e CFD + 5-MeO e CFD control. Assim, foram analisadas proteínas estatisticamente significantes entre as comparações e verificadas as vias de processos biológicos às quais elas estavam correlacionadas, dando uma profundidade fisiológica à análise proteômica.

Conclusão: A análise proteômica revelou alterações importantes. No comparativo SFD control e CFD control, 450 proteínas relacionadas ao grupo controle foram associadas à resposta ao estresse oxidativo, metabolismo da glutatona e resposta à insulina, perfil consistente com consequências da obesidade, como síndrome metabólica, enquanto 122 proteínas relacionadas ao grupo da dieta hipercalórica estavam ligadas a vias de morfogênese de projeções neurais e desenvolvimento do sistema nervoso. Na segunda análise, verificamos que tanto no grupo CFD control quanto no SFD + 5-MeO, as proteínas identificadas (221 e 85 proteínas respectivamente) se relacionaram a vias de neurogênese, aprendizado, memória e morfogênese dendrítica, sugerindo ativação de processos de neuroplasticidade. No último comparativo, CFD + 5-MeO e CFD control, 199 proteínas ligadas ao grupo CFD + 5-MeO destacaram-se em vias de regulação negativa da NF-kappaB, resposta ao estresse oxidativo, desenvolvimento do córtex cerebral e plasticidade sináptica de longo prazo. Esses achados indicam um potencial efeito anti-inflamatório do 5-MeO-DMT em camundongos obesos, associado à modulação de vias de neuroplasticidade.

P-025 - OS EFEITOS DA INIBIÇÃO DO CANAL TRPA1 NO PROCESSO NEUROINFLAMATÓRIO DA RETINOPATIA DIABÉTICA

¹Silva, J.P., ²Silva, G. C, ³Freitas, N.E.P, ⁴Silva, R. B, ⁵Calaza, K.C., Departamento de Neurociências, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro.

Introdução: A retinopatia diabética (RD) é uma doença neurovascular que afeta pessoas diabéticas. Devido a hiperglicemia crônica, ocorre a ativação de vias bioquímicas e aumento de estresse oxidativo, ocasionando em diversas outras alterações neurais. O potencial receptor transitório de anquirina 1 (TRPA1) foi associado recentemente à danos na retina murina isquêmica e em um modelo de glaucoma, possivelmente devido ao aumento de estresse oxidativo. Pretendemos analisar o efeito da inibição do TRPA1 na retina diabética por dois fármacos, o seu inibidor seletivo A967079 (A96) e a dipirona (DIP), um fármaco eficaz, barato que inibe TRPA1, além dos seus alvos clássicos.

Objetivos: Investigar os efeitos de inibição do TRPA1 em modelo de diabetes do tipo I. Além disso, testar os veículos usados na preparação do colírio.

Métodos: Utilizamos ratos Lister Hooded machos a partir de P30 do biotério da UFF, CEUA UFF nº 7823260420. Para induzir a diabetes foram aplicadas duas injeções via intraperitoneal de 65 mg/kg de estreptozotocina diluída em tampão citrato com intervalo de 3 dias entre elas. Os animais com glicemia maior que 300 mg/dL foram considerados diabéticos. O tratamento foi feito usando os inibidores A96 (10mM) e DIP (10mM) em um colírio em dois veículos diferentes: o DMSO 4%+Tween 80 4% ou hipromelose (HPMC) 0,5%. O tratamento dura 3 semanas, com aplicação diária, e amostras são coletadas para Western Blotting. Os grupos foram: controle (CTR), diabético (DB), DB +DIP e DB +A96 para cada veículo testado, menos o A96 que só teve no grupo DMSO. Tamanho da amostra: (n=2) e (n=1)

Resultados: O dado preliminar sugere uma modulação do marcador pró-inflamatório VEGF no DB, com aumento de seus níveis protéicos com DIP e uma diminuição com A96 (n=2) tanto com DMSO quanto com HPMC. Outro marcador pró-inflamatório utilizado foi o IL-1 β , com o DB apresentando aumento de 32,36% no DMSO e 29,64% no HPMC, em que o tratamento com a DIP mostrou redução em 89,52% (n=1). No caso da Arginase-1, um marcador anti-inflamatório, o DB teve uma tendência de aumento em 31,32% com DMSO e redução em 39,01% com HPMC, e com a DIP aumentou 32,58% e reduziu 13,51%, respectivamente, DMSO e HPMC (n=2). Ademais, compararamos os efeitos dos veículos entre si. Nos animais CTR do grupo HPMC é observado uma tendência de aumento dos níveis protéicos de arginase-1 em 66,09% e diminuição de 42,72% do VEGF em relação aos do grupo DMSO (n=2). Nos animais DB, aqueles que receberam HPMC apresentaram uma tendência de redução de 91,78% ao grupo DMSO (n=2).

Conclusão: Os dados preliminares sugerem que a DIP diminui a inflamação presente na DB e que seus efeitos são diferentes do A96 na retina diabética, possivelmente por a DIP também ter outros alvos moleculares. Ambos os veículos se mostraram promissores, mas o HPMC parece ser uma opção ainda melhor nesse modelo. Mais experimentos são necessários para a confirmação desses dados.

Apoio Financeiro: FAPERJ, CNPq, CAPES e UFF.

P-026 - PRIVAÇÃO DE SONO COMO GATILHO PARA DOR E O ENVOLVIMENTO DO RECEPTOR TRPA1

¹Santos, M. L. Q.; ¹Ozório, V. A.; ¹Souza Monteiro de Araújo, D. ¹Labortatório de Neurobiologia da Dor, Departamento de Neurobiologia, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro.

Introdução: A dor neuropática é uma condição crônica associada a lesões ou disfunções do sistema nervoso. O canal TRPA1, sensível a estímulos nociceptivos e ao estresse oxidativo, participa da sensibilização periférica e central. A privação de sono também intensifica a hiperalgesia e alodinia, embora seus mecanismos moleculares ainda não estejam completamente esclarecidos.

Objetivos: Investigar o papel do TRPA1 na alodinia mecânica induzida pela privação de sono.

Métodos: CEUA Nº 9123130924. Camundongos C57BL/6 (5 a 8 semanas, machos e fêmeas) foram divididos em grupos não privados e privados de sono por 4 dias (N=6). A alodinia periorbital e da pata foi avaliada com filamentos de von Frey. Após a privação, os animais receberam o antagonista seletivo do TRPA1 A-967079 (300 nmol periorbital ou 100 mg/kg intraperitoneal), com efeito monitorado por 6 h. Foram analisados quatro grupos (VEH e A96, privados e não privados). A presença de macrófagos e 4-hidroxinonenal (4-HNE) nos nervos trigêmeo (NTG) e ciático (NC) foi avaliada por imunofluorescência. As análises estatísticas foram feitas utilizando two-way ANOVA com pós teste Bonferroni para a alodinia e teste t para fluorescência.

Resultados: O grupo não privado manteve limiares estáveis (periorbital: $\sim 0,61 \pm 0,02$ g; pata: $\sim 1,49 \pm 0,07$ g n=6), enquanto o grupo privado apresentou redução progressiva desses limiares, já perceptível no primeiro dia (face: $0,27 \pm 0,10$ g; pata: $1,06 \pm 0,23$ g, n=6) e atingindo valores mínimos no quarto dia (face: $0,09 \pm 0,02$ g; pata: $0,26 \pm 0,01$ g, n=6). Esses achados indicam que a privação de sono induz cumulativamente alodinia facial e plantar. Nos grupos tratados, os não privados (VEH e A96) mantiveram limiares estáveis (face: VEH: $0,59\text{--}0,61 \pm 0,02$ g; pata: $1,49\text{--}1,56$, n=6). Os privados VEH exibiram limiares reduzidos (face: $0,15\text{--}0,32$ g; pata: $0,25\text{--}0,24$ g, n=6). Já os privados tratados com A96 mostraram recuperação significativa dos limiares aos 30 minutos (face: $0,63 \pm 0,00$ g; pata: $1,51 \pm 0,05$ g, n=6), mantida até 2 h, com redução gradual até 6 h, aproximando-se dos valores basais. O bloqueio de TRPA1 reverte temporariamente a hipersensibilidade induzida pela privação de sono. A imunofluorescência apontou maior densidade de macrófagos nos NTG (não privado: $14,21 \pm 1,22$ n=4; privado: $29,44 \pm 1,52$ n=3) e NC (não privado: $10,50 \pm 0,55$ n=4; privado: $17,83 \pm 1,26$ n=3), além de maior marcação de 4-HNE no NTG (não privado: $3551 \pm 246,8$ n=4; privado: $4172 \pm 256,4$ n=3) e NC (não privado: $3658 \pm 672,1$ n=3; privado: $4526 \pm 741,2$ n=3), indicando componente inflamatório nos tecidos dos animais sob privação de sono.

Conclusão: A privação de sono induz alodinia mecânica progressiva, e o bloqueio do TRPA1 com o A-967079 reverte parcialmente esse efeito, destacando o papel desse canal na dor relacionada ao sono e seu potencial como alvo terapêutico em condições de dor crônica.

Apoio Financeiro: Faperj; CNPq/MCTI/FNDCT nº21/2024 - Processo: 446463/2024-8

P-027 - O ESTUDO DO PROCESSO DE NEURORREGERAÇÃO CENTRAL E PERIFÉRICA EM MODELO DE OBSTRUÇÃO DO SIFÃO INALANTE EM ASCÍDIAS *Styela plicata*

ALINE RAMOS ROCHA¹ e CINTIA MONTEIRO DE BARROS² ¹ Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Ciências Fisiológicas (UFRJ / Macaé) ² Instituto de Biodiversidade e Sustentabilidade – NUPEM (UFRJ)

Introdução: A regeneração é caracterizada por restabelecer as propriedades funcionais e anatômicas do tecido danificado. Entre os vertebrados, a plasticidade regenerativa é limitada. Uma vez que o neurônio é danificado, suas atividades sinápticas são comprometidas podendo levar a condições neuropatológicas. Dessa forma, a utilização de animais modelos com alta capacidade neuroregenerativa se faz importante para compreensão desses processos. As ascídias são exemplos de animais capazes de regenerar órgãos e sistemas, incluindo o sistema nervoso central (SNC) e periférico (SNP). Na literatura, o estudo da neuroregeneração sensorial/motora em ascídias é escasso.

Objetivos: Sendo assim, este projeto tem como objetivo compreender os processos envolvidos na neuroregeneração periférica após obstrução do sifão inalante (SI) em ascídias *S. plicata*. Os animais foram mantidos no biotério aquático, induzidos à regeneração mediante amarração do SI e monitorados.

Metodologia: Serão realizadas análises histoquímicas para avaliar o envolvimento de células-tronco hematopoiéticas e as modificações da rede neuronal durante a regeneração. Para identificação da funcionalidade do SI as amostras de tecido foram analisadas através da Morfometria (quantificação dos órgãos sensoriais), além do Teste de Estimulação do SI. Para avaliar modificação da interação entre neurônio pré-sinaptico e célula muscular foi feito a quantificação da atividade enzimática da Acetilcolinesterase (AChE). Além disso, será feita a marcação para receptor de acetilcolina (AChR) na junção neuromuscular (JNM) utilizando α -bungarotoxina (toxina capaz de ligar-se a subunidade α de AChR). Ademais, afim de avaliar o processo de diferenciação celular, será feito a imunohistoquímica com marcação PIWI (proteínas presentes em células hematopoiéticas que desempenham papel importante na regulação da diferenciação celular e entre outros processos) e β III-tubulina (proteína presente nos microtúbulos de neurônios jovens). Afim de quantificar a expressão gênica, será realizado o RT-qPCR para β III-tubulina, PIWI e enzima colina acetiltransferase (ChAT) (enzima que catalisa a reação de síntese da ACh).

Resultados: Como resultado, as análises morfométricas não apresentaram diferença estatística significativa no comprimento e número dos tentáculos e dos órgãos de pigmento oral. No entanto, no teste de estimulação do SI, a resposta motora apresentou diferença significativa até seis dias após obstrução (atraso no reflexo motor comparado ao controle). Em sete dias, a resposta motora não apresentou diferença estatística indicando regeneração completa do órgão. As análises da atividade enzimática da AChE apresentaram diferença estatística significativa em trinta e seis horas após indução de regeneração.

Conclusão: Estes dados indicam que apesar da regeneração estrutural do órgão em dois dias, as funções motoras ainda estão comprometidas. Por fim, espera-se maior entendimento da regeneração do SNP caracterizando eventos de diferenciação e migração celular além da atividade de neurônios colinérgicos relacionada a função sensorial/motora em ascídias utilizando método não convencional de indução.

P-028 - EFEITOS DO ISOLAMENTO SOCIAL E DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL SOBRE O EIXO INTESTINO-CÉREBRO E SOBRE A MICROBIOTA INTESTINAL

¹Leão, A.C.S., ¹Cunha, J.A.S., ¹Pergentino, C.S., ¹Monteiro, A.C., J.A.S., ¹Tavares Gomes, A.L., ¹Faria-Melibeu, A.C,
¹Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, Campus do Gragoatá, Niterói – RJ, Brasil.

Introdução: A ausência de conexões sociais pode estar associada a efeitos prejudiciais à saúde, como maior risco de morte precoce, enquanto que a exposição a um ambiente enriquecido, mesmo por poucas semanas, pode ser suficiente para aumentar processos cerebrais importantes, como neurogênese e sinaptogênese. Apesar de seus efeitos serem majoritariamente associados ao SNC, a microbiota intestinal tem relação importante com a plasticidade cerebral induzida por um ambiente enriquecido. Modificações na interação recíproca exibida entre o eixo intestino-cérebro podem influenciar distúrbios inflamatórios exacerbados, além de alterações em estados comportamentais e nas respostas ao estresse crônico e agudo. A atividade do circuito hipocampo-côrtex pré-frontal é altamente sensível ao estresse, podendo ser um importante fator para a manifestação de sintomas de depressão e ansiedade. Em relação ao eixo intestino-cérebro, já foi demonstrado que a plasticidade hipocampal está fortemente associada com alterações no intestino.

Objetivo: Neste contexto, este estudo tem por objetivo avaliar os efeitos do isolamento social em ratos adolescentes de ambos os sexos biológicos, com especial interesse nas alterações plásticas e imunológicas no hipocampo e no córtex pré-frontal (áreas sensíveis ao estresse), intestino e na composição da microbiota intestinal.

Metodologia: Foram utilizados ratos Lister Hooded de ambos os性os, com aprovação ética da CEUA-UFF (nº 4901040522). Após o desmame (P21), os animais foram divididos em grupo controle ou isolado, por 4 semanas e, posteriormente mantidos em condições padrão ou expostos ao enriquecimento, por 1 semana, totalizando 4 grupos experimentais: controle, isolado, grupo enriquecido e isolado enriquecido. Os cérebros foram processados para imunofluorescência, onde foram utilizados os anticorpos GFAP e IBA1 e analisados no hipocampo por microscopia de deconvolução. Amostras fecais dos grupos controle e isolado foram coletadas para extração do DNA e PCR convencional com primers 16S rRNA e específicos para os grupos filogenéticos. Os produtos amplificados foram analisados em *pool* por eletroforese em gel de agarose e quantificados pelo software ImageJ.

Resultados: Em análise qualitativa, a imunomarcação para IBA1 em cortes do hipocampo de ratos fêmeas isoladas (N=2) permitiu a visualização de micróglia com morfologia menos ramificada, com processos mais retraídos quando comparados com os cortes de animais do grupo controle que apresentavam micróglia com processos alongados e ramificados. Já nos animais machos, também isolados (N=6), as análises do hipocampo sugerem uma maior densidade de células GFAP positivas em relação aos animais controle, sugerindo um perfil astrocitário reativo. Analizando animais de sexos opostos no grupo controle, observa-se uma possível diferença na proporção Firmicutes/Bacilota entre machos e fêmeas, aparentando ser maior nas fêmeas em relação aos machos. Na comparação entre fêmeas e machos em isolamento, sugere-se uma ligeira diferença entre ambos os sexos.

Apoio Financeiro: CAPES, Faperj - Edital Saúde.

P-029 - ESTUDO DA MICROCIRCULAÇÃO E DO FLUXO SANGUÍNEO CEREBRAL EM CAMUNDONGOS DO MODELO ESPONTÂNEO DE AGRESSIVIDADE.

1 Serra, A.L.S, 1 Melo, R.M.F, 1 Fragoso, V.M.S 1 Laboratório de Inovações em Terapias, Ensinos e Bioproductos, 2 Laboratório de Biologia Celular, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ.

Introdução: O estresse é uma reação natural do organismo diante do perigo. O estresse social crônico consiste na repetição da exposição a agentes estressores em conjunto ao resultado das relações entre os indivíduos e o ambiente, se tornando um grande fator para o desenvolvimento de transtornos psicológicos e comportamentais como a agressividade. O estresse social crônico também pode alterar a microcirculação e o fluxo sanguíneo cerebral. O Modelo Espontâneo de Agressividade (MEA) utiliza o reagrupamento como fator estressor, em que alguns indivíduos começam a apresentar comportamento agressivo, enquanto outros mostram-se resilientes à situação de estresse social crônico a que estão submetidos.

Objetivos: Avaliar o fluxo sanguíneo cerebral, e a microcirculação através da quantificação da densidade capilar cerebral nos animais submetidos ao estresse do reagrupamento do MEA, e controle.

Métodos: (CEUA/IOC L-022/2025) Camundongos machos Swiss Webster (n=30) foram agrupados na 3^a semana de vida (sdv). Na 4^a, 6 e 8^a sdv foram realizados o teste de suspensão da cauda, etograma e padrão de comportamento agressivo (PCA). Na 10^a sdv, os animais foram reagrupados; um grupo não foi reagrupado (NR), e na 12^a, 14^a e 16^a sdv, etograma e PCA foram repetidos. Na 16^a sdv os animais foram categorizados em Harmônicos (Har), Agredidos (AgD) e agressivos (AgR). Para a avaliação do fluxo sanguíneo e da densidade capilar, os animais foram anestesiados (Xilazina 10 mg/kg + Quetamina 75 mg/kg i.p.), seguidos por craniotomia parietal. O fluxo sanguíneo cerebral foi avaliado por Laser Speckle e a densidade capilar por microscopia intravital, com administração de 100 µL de FITC + 5% de dextran intravenosa, para melhor visualização dos vasos sanguíneos. Os dados foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis no software PRISM. Diferenças de p < 0,1 foram consideradas.

Resultados: Os animais AgD e principalmente AgR aumentaram significativamente o fluxo sanguíneo cerebral com $186,1 \pm 8,3$ ($p \leq 0,05$) e $195,1 \pm 9,6$ ($p \leq 0,01$), respectivamente, em relação ao grupo controle negativo (NR: $164,5 \pm 9,0$) e o Har: $139 \pm 4,8$. Os animais AgR apresentaram redução no número de capilares funcionais por mm², com $201,2 \pm 12,86$ ($p \leq 0,05$), em relação ao controle negativo (NR: $287,1 \pm 18,60$); Har: $244,5 \pm 13,98$ e AgD: $208,8 \pm 25,03$. Também houve aumento dos capilares mortos/mm², com $17,40 \pm 3,265$ ($p \leq 0,01$), quando comparado as outras categorias

(NR: $6,000 \pm 1,183$; Har: $3,857 \pm 0,5948$; AgD: $6,167 \pm 1,302$ capilares/mm²)

Conclusão: O estresse social crônico do reagrupamento influencia na microcirculação cerebral, o que pode estar relacionado a capacidade de desenvolvimento de uma boa resposta adaptativa ao estímulo estressor.

Apoio financeiro: CNPq e IOC/FIOCRUZ

P-030 - MUSCARINIC RECEPTORS ARE INVOLVED IN THE ANTINOCICEPTIVE EFFECTS OF VITEX POLYGAMA AND ITS MAIN FLAVONOID ORIENTIN IN A VINCRISTINE-INDUCED NEUROPATHIC PAIN MODEL IN MICE

^{1,2}Ramos, I.F.O., ²Melo, E.D.N b, ¹Mendonça, C.M.E., ²Pinto, S.C., ¹Raimundo J.M., ^{1,2}Carmo, P.L., ²Muzitano, M.F., ^{1,2}Bonavita, A.G.C. ¹Grupo de Pesquisa em Farmacologia de Produtos Bioativos, ²Laboratório de Produtos Bioativos, Universidade Federal do Rio de Janeiro-Centro Multidisciplinar UFRJ-Macaé, RJ, Brazil

Introduction: Neuropathic pain is characterized by hyperalgesia and allodynia and may arise from metabolic disorders, viral infections, cancer, autoimmune diseases, or drug use. It affects a significant portion of the global population and, in chemotherapy-induced peripheral neuropathy, its prevalence can exceed 40%, with substantial impact on quality of life. Plant-derived compounds have historically contributed to pain treatment, but in the context of neuropathic pain the currently available therapies still present modest efficacy and relevant adverse effects. As a result, there is increasing interest in natural metabolites as potential sources of novel analgesic agents. *Vitex polygama* is a Brazilian species traditionally used to treat painful and inflammatory conditions, and previous studies have demonstrated antinociceptive effects of its extracts in inflammatory and neuropathic pain models. In this species, orientin stands out as the major flavonoid, and has been increasingly recognized in the literature for its analgesic potential.

Objectives: Based on this, the present study evaluated the pharmacological mechanisms associated with the antinociceptive effects of the leaf extract of *V. polygama* and its main flavonoid, orientin, in an animal model of neuropathic pain.

Methods: Female Swiss mice (35–40 g) were used in a vincristine-induced neuropathic pain model (0.1 mg/kg, i.p., for 14 days). On day 15, animals were treated with vehicle, *V. polygama* extract (30 mg/kg), orientin (30 mg/kg), or pregabalin (10 mg/kg). Thermal hyperalgesia and mechanical allodynia were assessed by the hot plate (52 °C) and von Frey tests at 1, 3, 5, and 24 h after treatment. To investigate the possible mechanisms, naloxone (1 mg/kg), L-NAME (30 mg/kg), or atropine (2 mg/kg) were administered prior to VPE or orientin. Data were analyzed by one-way ANOVA, followed by Newman–Keuls test ($P < 0.05$).

Results: Antinociceptive effects of VPE were observed at the dose of 30 mg/kg, resulting in an increased paw withdrawal latency of 10.0 ± 1.2 s compared to 3.9 ± 0.3 s in the vincristine group. These effects were reversed by muscarinic receptor antagonism (3.5 ± 0.4 s), opioid receptor antagonism (6.3 ± 0.6 s), and nitric oxide synthase inhibition (6.3 ± 0.6 s), indicating the involvement of multiple pathways, with a predominant contribution from muscarinic receptors. Orientin (30 mg/kg) also produced antinociceptive effects, increasing paw withdrawal latency to 5.9 ± 0.7 s compared to 2.7 ± 0.9 s in the vincristine group, and this effect was inhibited by atropine (2.8 ± 0.4 s), supporting muscarinic receptor involvement. Similar results were observed in the mechanical allodynia test using von Frey filaments.

Conclusions: In summary, orientin reduced vincristine-induced neuropathic pain through a mechanism involving muscarinic receptors, supporting its potential as a natural analgesic strategy.

Financial Support: FAPERJ

P-031 - P2Y₁R inhibition leads to photoreceptor loss without glial reactivity changes in a murine model of retinitis pigmentosa

Douglas Penaforte CRUZ¹, Heitor Roque CRUZ¹, Jean Bezerra SILVA² Alexander Henning ULRICH², Lucianne FRAGEL-MADEIRA¹ ¹Department of Neurobiology, Institute of Biology, Fluminense Federal University
²Department of Biochemistry, Institute of Chemistry, University of São Paulo (IQ-USP)

Retinitis pigmentosa is an inherited disease that causes gradual loss of vision and can lead to blindness. Several therapies have been explored in the treatment of this disease, but results are limited in long term, which motivates search for new therapeutic alternatives. Purinergic signaling is important for development of inflammation associated with neurodegenerative diseases. For this reason, several purinergic receptors have emerged as potential therapeutic targets for diseases of central nervous system, such as retinitis pigmentosa. To explore this potential, it was proposed to verify the role of the purinergic P2Y₁ receptor in the progression of retinitis pigmentosa, using the PDE6 $\beta^{RD10/RD10}$ murine model of this disease. The study was approved by Committee on Animal Research (CEUA-UFF nº 2311120422). C57black/6 (Bl6) and PDE6 $\beta^{rd10/rd10}$ (Rd10) mice at key ages for photoreceptor degeneration (P13, P19, P25) were anesthetized, and retinal samples were collected for RT-qPCR. P2Y₁R expression was higher at P19 in Rd10 when compared to Bl6 (Bl6: P13= 1.036±0.21; P19= 1.002±0.05; P25= 1.035±0.19; Rd10: P13= 0.8603±0.06; P19= 1.540±0.16 p= 0.0328; P25= 0.6827±0.24 a.u; n= 3). An acute intravitreal injection of MRS2179 (P2Y₁R antagonist) at 10, 50, or 100 μ M in Rd10 mice at P18 reduced photoreceptor cell number 24 hours later, with the 50 μ M concentration specifically decreasing recoverin immunostaining in central retina (Control: 297.3±20.87; MRS 10 μ M: 252.1±23.27; MRS 50 μ M: 219.1±15.00 p=0.0398; MRS 100 μ M: 249.1±27.31 recoverin+ cells; n= 5). Accordingly, photoreceptor layer thickness was decreased with MRS2179 50 μ M treatment in the center of retina (Control: 26.98±1.095; MRS 10 μ M: 24.24±1.808; MRS 50 μ M: 20.52±1.680 p=0.0079; MRS 100 μ M: 21.34±1.290 μ m; n= 8). TUNEL assay for analysis of apoptotic cells showed an increased cell death 24 hours after treatment with MRS2179 100 μ M (Control: 21.56±4.302; MRS 50 μ M: 31.76±4.203; MRS 100 μ M: 39.19±3.944 TUNEL+ cells; p=0.0079, n= 4). Finally, GFAP reactivity was measured through immunofluorescence, and showed no difference between groups (control: 53.88±15.39, MRS 10 μ M= 60.44±6.84, MRS 50 μ M= 56.37±6.56; MRS 100 μ M= 67.31±3.97 GFAP intensity, n= 3). In agreement with this, GFAP protein analysis by Western Blot assay did not change when comparing the control group and those treated with MRS2179 50 μ M (Control: 20047310±4560028; MRS 50 μ M: 18346552±904494 GFAP expression; n=3). Our data suggest that P2Y₁R is important for photoreceptor survival at early stages of degeneration in RP murine model. Further studies are needed to understand the molecular changes that result in degeneration caused by P2Y₁R blockade. Financial Support: CAPES, CNPq, FAPERJ and UFF.

P-032 - INVESTIGAÇÃO DO ROLAMENTO E ADESÃO DE LEUCÓCITOS NO CÉREBRO DE CAMUNDONGOS DO MODELO ESPONTÂNEO DE AGRESSIVIDADE.

1Rocha, G.S., 1Melo, R.M.F., 1Fragoso, V.M.S., 1Laboratório de Inovações em Terapias, Ensino e Bioproductos, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ. 2Laboratório de Biologia Celular, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ.

Introdução: O estresse é uma resposta fisiológica essencial para a adaptação do organismo diante de estímulos adversos, como o perigo. A exposição prolongada pode provocar respostas desadaptativas associadas à agressividade. O Modelo Espontâneo de Agressividade (MEA) é dividido em duas etapas, resultando em diferentes perfis comportamentais quando os indivíduos são submetidos ao estresse social crônico, como os harmônicos (resilientes), agredidos e agressores (susceptíveis). O estresse social crônico, caracterizado por conflitos repetidos, está relacionado a alterações na neurotransmissão dopaminérgica e à ativação do sistema imunológico no sistema nervoso central.

Objetivos: Avaliar o rolamento e a adesão de leucócitos no cérebro de camundongos submetidos ao MEA, investigando a influência do estresse social crônico sobre a resposta inflamatória cerebral.

Métodos: Os procedimentos foram aprovados pela CEUA/IOC (L-022/2025). Camundongos machos Swiss Webster (n=30) foram agrupados na 3^a semana de vida (sdv). Na 4^a, 6^a e 8^a sdv foram realizados o teste de suspensão da cauda, etograma e padrão de comportamento agressivo (PCA). Na 10^a sdv, os animais foram reagrupados; um grupo não foi reagrupado (NR), e na 12^a, 14^a e 16^a sdv, etograma e PCA foram repetidos. Na 16^a sdv, os animais foram categorizados em Harmônicos (Har), Agredidos (AgD) e Aggressivos (AgR). Para investigação do rolamento e da adesão de leucócitos no cérebro, os animais foram anestesiados (xilazina 10 mg/kg + cetamina 75 mg/kg, i.p.) e submetidos à craniotomia parietal direita. O leito vascular cerebral foi analisado por microscopia intravital (Axio Scope 5 Vario, Zeiss), conforme protocolo de Gonzaga *et al.* (2022). A visualização dos leucócitos foi realizada após injeção intravenosa de 200 µL de rodamina. Leucócitos aderidos e em rolamento em vênulas < 10 µm foram quantificados no software Zen Blue. Os dados foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis no software PRISM. Diferenças de p < 0,1 foram consideradas.

Resultados: Os animais agredidos (AgD) apresentaram aumento significativo no número de rolamento leucocitário ($9,733 \pm 1,347$ células/min/100 µm) em relação aos AgR ($1,500 \pm 0,4194$ células/min/100 µm) e NR ($0,8095 \pm 0,2608$ células/min/100 µm) ($p \leq 0,05$ e $p \leq 0,001$, respectivamente; Har: $2,310 \pm 0,2424$ células/min/100 µm). Além disso, houve aumento na adesão leucocitária do AgD ($1,533 \pm 0,2261$ células/min/100 µm) em comparação aos Har e AgR (NR: $0,4762 \pm 0,1760$; Har: $0,2917 \pm 0,1327$; AgR: $0,2000 \pm 0,1333$; $p \leq 0,05$).

Conclusão: O estresse social crônico, induzido pelo reagrupamento no MEA, aumenta significativamente o rolamento e a adesão de leucócitos no cérebro de animais suscetíveis à agressividade (AgD), indicando maior ativação inflamatória cerebral associada ao estresse social, comportamento agressivo e recrutamento leucocitário.

Apoio Financeiro: CNPq e IOC/FIOCRUZ.

P-033 - O PAPEL DA ENZIMA CD39 EM ALTERAÇÕES CEREBROVASCULARES INDUZIDAS PELA SEPSE

¹Carvalho, L.A., ¹da Silva, M.S.P., ²de Moraes, B.P.T., ²de Albuquerque, C.F.G., ³Fonseca, R.J.C., ¹Coutinho-Silva, R., ¹Savio, L.E.B. ¹ Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil. ² Instituto Oswaldo Cruz IOC- FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brasil. ³ Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

Introdução: A sepse pode ser definida como uma disfunção orgânica com risco de vida causada por uma resposta desregulada do hospedeiro à infecção. Alterações vasculares e a ativação endotelial são características fundamentais da sepse, que pode ocasionar ruptura da barreira endotelial e inflamação tecidual com infiltração de células imunológicas. No sistema nervoso central (SNC), a disfunção da barreira hematoencefálica (BHE) contribui para a encefalopatia associada à sepse (EAS). As células endoteliais ativadas podem liberar padrões moleculares associados a danos (DAMPs), como o ATP, que pode ativar os receptores purinérgicos, ou pode ser hidrolisado por enzimas ectonucleotidases, como a CD39, regulando respostas inflamatórias induzidas pelo ATP.

Objetivo: O objetivo deste estudo foi investigar o papel da sinalização purinérgica, particularmente da CD39, nas alterações cerebrovasculares associadas à sepse.

Métodos: *In vitro*, células endoteliais de microvasos cerebrais (bEnd.3) foram estimuladas com LPS (100 ou 1000 ng/mL) por 8 h ou 24 h. E, a fim de melhor avaliar o papel da CD39, foram utilizados inibidores dessa enzima: POM-1 (10 µM) e AR67156 (100 µM) por 30 min antes do estímulo com LPS. *In vivo*, a sepse foi induzida por ligadura e punção cecal (CLP) em camundongos da linhagem C57BL/6 selvagens (WT) e com deficiência para a enzima CD39 (CD39^{-/-}). Os experimentos foram aprovados pelo CEUA da UFRJ, com número de protocolo aprovado: 056/24; e realizados seguindo as orientações do COBEA. Após 24 h da indução da sepse, os animais foram eutanasiados e o córtex, o hipocampo e o soro foram recolhidos para a realização das análises. Ademais, também foi realizado experimentos de microscopia intravital para avaliação da adesão leucocitária na microcirculação cerebral e ensaios de recalcificação para avaliação da coagulação nos camundongos após 24 h de sepse.

Resultados: A estimulação com LPS reduziu a expressão da proteína CD39 e a atividade enzimática *in vitro*, sem afetar os níveis proteicos e de RNAm dos receptores purinérgicos. A inibição da CD39 aumentou a expressão de mRNA induzida por LPS de marcadores endoteliais (ICAM-1, VCAM-1, CXCL-1), especialmente VCAM-1 e CXCL-1. A quantificação de CXCL-1 por ELISA também indicou um aumento com LPS, que foi ainda mais aumentado pela inibição de CD39. *In vivo*, camundongos CD39^{-/-} sépticos apresentaram maior expressão de mRNA de ICAM-1 e CXCL-1 no cérebro, bem como níveis elevados de proteína CXCL-1 no cérebro e soro em comparação com camundongos WT sépticos. Além disso, os animais CD39^{-/-} sépticos revelaram aumento da adesão leucocitária e um perfil mais pró-coagulante. Os resultados obtidos foram expressos como média ± erro padrão da média (SEM) e o nível de significância foi de p < 0,05.

Conclusão: Esses achados indicam que a enzima CD39 desempenha um papel protetor na modulação da ativação endotelial, adesão leucocitária e inflamação microvascular cerebral durante a sepse.

Apoio Financeiro: Capes, Cnpq e FAPERJ.

P-034 - EFEITO DO TNF-Α NA MORFOLOGIA NEURONAL E GLIAL EM CULTURA DE CÉLULAS DE RATOS NEONATOS APÓS AXOTOMIA

1Aguiar., M.A., 2 Mázala-de-Oliveira, T., 1,3 Serfaty, C.A., 1,3 Giestal-de Araújo, E., 1,3 Chagas, L.S., 1 Departamento de Neurobiologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, RJ, Brasil; 2 Universidade Souza Marques; 4 Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Neuroimunomodulação, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, RJ, Brasil.

Introdução: A plasticidade neural em resposta a lesões é rápida e promove uma recuperação funcional no cérebro neonatal. O sistema visual de roedores tem sido muito utilizado como modelo experimental para estudo de desenvolvimento sensorial e de respostas adaptativas a lesões. A dinâmica neuroimune entre mecanismos de neuroplasticidade e ativação imunológica já vem sendo explorada em trabalhos anteriores do grupo. O TNF-α, uma citocina classicamente pró-inflamatória, tem sido uma molécula-chave na promoção da neuroplasticidade em modelo de axotomia durante fases precoces do desenvolvimento sensorial (Chagas, LS., et al. 2019).

Objetivos: Neste trabalho, investigamos o efeito direto do TNF-α sobre a neuritogênese celular, através de alterações da complexidade morfológica neuronal e glial 24h após o tratamento de cultura mista de células com diferentes concentrações de TNF-α recombinante (0,25ng/ml; 0,5ng/ml e 1ng/ml). O objetivo principal é evidenciar e validar o modelo para estudar os mecanismos através dos quais a sinalização neuroimune poderia modificar a morfologia celular de maneira a impactar processos de brotamento axonal e neuritogênese.

Métodos: Os protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da UFF(CEUA-UFF, nº 4983140219). Por meio da técnica de imunofluorescência, avaliamos a complexidade das ramificações neuríticas utilizando o marcador neuronal TUJ-1, bem como a presença de células gliais com o marcador GFAP, em culturas de células da retina de ratos Lister Hooded no DPN2.

Resultados: A análise prévia dos dados evidencia alterações estruturais em todas as doses de TNF-α avaliadas, sugerindo aumento da arborização neuronal 24h após o tratamento. Enquanto no grupo controle os neurônios marcados com βIII-tubulina apresentaram corpos celulares bem definidos e ramificações curtas, as culturas tratadas com TNF-α apresentaram marcações pronunciadas das ramificações complexas e extensas nas 3 concentrações analisadas. Uma análise quantitativa da intensidade de fluorescência de 2 experimentos independentes pelo método de “Threshold” destacou aumento de 31%, 51% e 56% nas doses de 0,25 ng/ml, 0,5 ng/ml e 1 ng/ml, respectivamente. Além disso, evidenciamos a presença de células GFAP+ apenas nas culturas tratadas com 1 ng/ml, mas não nas doses mais baixas, o que pode sugerir um efeito de indução da reatividade glial nesta concentração.

Conclusão: Os dados corroboram com antigas evidências sobre a participação do papel do TNF-α sobre a resposta plástica induzida 24h após a lesão (Chagas, LS et al 2019). O modelo de cultura mista de ratos neonatos se apresenta como uma estratégia eficiente para desvendar os mecanismos diretos pelos quais o TNF-α estaria modulando alterações estruturais que podem elucidar a influência das células gliais nesta dinâmica neuroimune sobre mecanismos de neuroplasticidade em estágios iniciais do desenvolvimento pós-natal.

Apoio Financeiro: Suporte financeiro: CAPES, CNPq, FAPERJ, INCT-NIM.

P-035 - INVESTIGAÇÃO DA NEUROBIOLOGIA E DA INTERVENÇÃO NUTRICIONAL EM CAMUNDONGOS SWISS WEBSTER SOB ESTRESSE SOCIAL CRÔNICO DO MODELO ESPONTÂNEO DE AGRESSIVIDADE (MEA).

1Mendonça, P.L.F, 1Barbosa, R.S., 1Mélo, R.M.F., 1Sampaio. L.A., 2Oliveira, G.M., 1Fragoso, V.M.S.

1Laboratório de Inovações em Terapias, Ensino e Bioproductos, Instituto Oswaldo Cruz/ FIOCRUZ, Rio de Janeiro RJ. 2 Laboratório de Biologia Celular, Instituto Oswaldo Cruz/ FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ

Introdução: O estresse é uma resposta fisiológica essencial à sobrevivência, porém, quando crônico, representa um fator de risco para distúrbios emocionais e comportamentais, como a agressividade. Além disso, o estresse crônico pode causar alterações celulares no organismo, comprometendo ainda mais a adaptação do indivíduo à situação. Em estudo anterior, utilizando o Modelo Espontâneo de Agressividade, observou-se que os indivíduos com comportamento agressivo apresentaram aumento na produção de ROS e da proteína c-Fos, indicando que estavam em processo de estresse oxidativo. Estudos recentes apontam a curcumina como um potencial neuroprotetor, com propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias.

Objetivos: Avaliar o impacto da suplementação com curcumina sobre parâmetros neuroendócrinos e oxidativos em camundongos submetidos ao estresse social crônico, incluindo a concentração plasmática de corticosterona, a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e a expressão da proteína c-Fos no córtex pré-frontal.

Métodos: (CEUA/IOC L-032/2019/A2) Camundongos machos Swiss Webster (n=60) foram divididos em dois grupos: controle (n=30) e tratado (n=30), e cada grupo foi agrupado na 3^a semana de vida (sdv). Na 4^a, 6^a e 8^a sdv foram realizados o teste de suspensão da cauda, etograma e padrão de comportamento agressivo (PCA). Na 10^a sdv, os animais foram reagrupados; um grupo não foi reagrupado (NR), e na 12^a, 14^a e 16^a sdv, etograma e PCA foram repetidos. Na 16^a sdv os animais foram categorizados em Harmônicos (Har), Agredidos (AgD) e Agressivos (AgR). Como protocolo terapêutico, o grupo tratado recebeu uma dieta enriquecida com 1,5% de curcumina por 10 dias antes do reagrupamento social. As análises bioquímicas incluíram a dosagem de corticosterona por ELISA, a detecção de ROS no córtex pré-frontal por ensaio de DHE e a quantificação de c-Fos por imunofluorescência.

Resultados: 1) A curcumina aumentou a proporção de animais com mobilidade mediana e reduziu significativamente a extensão das lesões nos AgD ($11,1 \pm 22,1 \text{ cm}^2$ vs $33,2 \pm 66,3$ no controle; $p<0,01$). 2) Contudo, os AgR apresentam aumento no número de ataques ($2,1 \pm 4,2$ vs $1,2 \pm 2,5$; $p<0,05$ ataques/30 min). 3) A corticosterona plasmática elevou-se no período exponencial nos NR suplementados com curcumina e controle respectivamente ($1,19 \pm 0,27$ vs $0,68 \pm 0,16 \text{ ug/dL}$) e reduziu nos AgD tratados ($0,29 \pm 0,15$ vs $0,83 \pm 0,52$; $p<0,05 \text{ ug/dL}$), sem diferenças no período de pico. 4) A produção de ROS no córtex pré-frontal foi significativamente menor nos AgR suplementados (MIF: $47,2 \pm 24,5$ vs $95,6 \pm 8,5$; $p<0,05$).

Conclusão: Os resultados reforçam o potencial da curcumina como agente neuroprotetor frente ao estresse social crônico, contribuindo para a redução do estresse oxidativo e da hiperativação endócrina associada ao MEA.

Apoio Financeiro: CAPES, IOC, FIOCRUZ.

P-036- EXPOSIÇÃO AO ETANOL SUPRIME A RESPOSTA PRÓ-INFLAMATÓRIA MICROGLIAL INDUZIDA PELA PROTEÍNA SPIKE-1 DO SARS-COV-2

Vieira, B.E., Nascimento, L.A.H, Stipursky, J., Laboratório de Pesquisas em NeuroExposoma, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

Introdução: A COVID-19, causada pelo coronavírus, SARS-CoV-2, ocasionou em mais de 700 milhões de casos confirmados de acordo com a Organização Mundial da Saúde. Durante a pandemia, a OMS registrou o aumento do consumo de bebidas alcóolicas em diversos países, como um meio de a população, em isolamento social, lidar com a depressão e ansiedade. Sabe-se que o consumo crônico de álcool altera a resposta imune e promove a neuroinflamação, sendo um fator de risco diversas doenças infecciosas. O SARS-CoV-2 infecta células humanas através da interação de sua proteína de superfície Spike-1 à enzima conversora de angiotensina-2 (ACE-2) e com a participação da proteína TMPRSS2 para promover a internalização viral.

Metodologia: Neste trabalho, culturas de microgliais murinas (BV-2) e humanas foram tratadas com etanol (170mM) de forma crônica (1 tratamento ao dia/72hs), e em seguida expostas à proteína Spike-1 (1mg/ml) por 24h.

Resultados: Observamos por imunofluorescência que o tratamento com etanol diminuiu os níveis de TMPRSS2 entre 11 e 14% nas concentrações utilizadas de etanol, bem como aumentou em quase 30% os níveis de TLR4 na concentração de 340mM, ambos os receptores em comparação ao controle, em células BV-2, enquanto em células microgliais humanas houve um aumento significativo de 74,5% nos níveis de ACE-2 quando comparados ao controle. Ao analisar marcadores de reatividade microglial, culturas BV-2 tratadas com etanol e em seguida expostas à Spike1 não apresentaram modulação nos níveis de C3, mas somente à proteína Spike-1 apresentaram um aumento de 70% e 1,3x nos níveis de intensidade de fluorescência e níveis de RNAm, respectivamente, e aumento de CD-86 em 5x, quando comparados ao controle. Microgliais humanas não apresentaram diferenças estatísticas nos níveis de CD-11b após exposição aguda ao etanol seguido do tratamento com spike-1 em comparação ao controle. Análises morfológicas demonstraram aumento dos números de células com morfologia amebóide na condição spike-1 em 17%. A análise do potencial fagocítico microglial revelou que o tratamento somente com Spike-1 forneceu aumento estatisticamente diferente de 81,3% e células previamente expostas ao etanol aumentaram em 32% em comparação com o controle. *In vivo* (CEUA 145/24), camundongos machos de 10 a 12 semanas que receberam etanol por 4 dias (4g/kg) apresentaram queda nos níveis de RNAm de ACE-2 e TMPRSS2 na região do córtex cerebral. Já camundongos machos de 8 a 12 semanas que receberam etanol por 4 dias (4g/kg) seguido da injeção com a proteína Spike-1 apresentaram diminuição do peso corporal, mas não apresentaram diferenças nos volumes ou medidas dos encéfalos.

Conclusão: Assim, nossos dados sugerem que a exposição crônica da microglia ao etanol é capaz de suprimir a resposta microglial à proteína Spike-1, indicando que essa célula deixe de apresentar respostas pró-inflamatórias típicas observadas em contextos de neuroinflamação.

P-037 - AUTOPHAGIC CHANGES ASSOCIATED WITH ASTROCYTE SENESCENCE AND LAMIN B1 LOSS

Beatriz Martins, João Bastos, Isabella Vivarini, Michele Siqueira, Raffaela Schafbenker, Ana Paula Araújo, Isadora Matias e Flávia C. A. Gomes. Instituto de Ciências Biomédicas (ICB), Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro

Cellular senescence is a physiological process that leads to cell cycle arrest accompanied by morphological and functional changes. In the aged nervous tissue, the accumulation of senescent glial cells represents a risk factor for age-related neurodegenerative disorders. Recently, our group showed that astrocyte senescence is associated with lamin B1 loss — a key component of the nuclear lamina —, nuclear deformations, and functional impairment (*Aging Cell* 21:1, 2022). However, the mechanisms underlying astrocyte senescence remain poorly elucidated. Evidence suggests that autophagy dysregulation contributes to aging by compromising proteostasis, although this pathway is still poorly explored in astrocyte senescence. Thus, this study aimed to investigate the mechanisms involved in lamin B1 loss and autophagic alterations during aging and astrocyte senescence. To this end, we used primary hippocampal astrocyte cultures from C57BL/6 mice with a protocol adapted from (*Aging Cell* 21:1, 2022). After confluence, the cultures were treated with AraC (10 µM/48h) and maintained for approximately 10 days *in vitro* (DIV, control group) and 30–35 DIV (senescent group). The senescent phenotype and autophagy-related proteins were evaluated by immunocytochemistry, qPCR, and ELISA (n=3-10 cultures per experimental group). Double-labeling for autophagy markers and lamin B1 was performed to assess its presence in autophagic vacuoles. For *in vivo* autophagy study, we evaluated the levels and expression of different proteins in hippocampal tissue from young (2–3 months) and aged (18–24 months) C57BL/6 mice (n=4–6 animals per experimental group). The results show a 1.7-fold reduction and a 3.6-fold increase, respectively, in lamin B1 intensity (p=0.0032) and β-galactosidase activity (p=0.0037) in senescent astrocytes. Increased IL-6, TNFα, and DNA damage marker 53BP1 were also detected. Analysis *in vitro* of autophagy-related proteins revealed a 1.4-fold increase in p62 intensity (p=0.0041) and ATG3 (p=0.0585) in astrocyte senescence, although this result was not statistically significant. Lamp2 and LC3B levels remained unchanged. The nuclear-to-cytoplasmic ratio of lamin B1 suggested enhanced cytoplasmic distribution (p=0.093), and double-labeling showed increased colocalization of lamin B1 with Lamp2 (p=0.037) and p62 (p=0.009) in astrocytes with a senescent phenotype. The *in vivo* analyses indicate a 1.8-fold reduction in lamin B1 expression (p=0.002) and a 1.8-fold increase in LC3B (p=0.0532) in aged hippocampi compared to young ones. In aged hippocampal tissue, we observed p62 accumulation (p=0.004), as well as increased Lamp2 intensity (p=0.059) and its colocalization with GFAP (p=0.031). Our data indicates autophagic alterations in senescent hippocampal astrocytes and a possible interaction between these components and the loss of lamin B1. Understanding this relationship may reveal potential therapeutic targets for neurodegenerative and age-related disorders.

Approved by the Animal Ethics Committee (CEUA) of UFRJ: A23/21-006-18.
Funding: CNPq, FAPERJ, Fiocruz-Servier, iGLIA, INCT-INNT, and Ministry of Health.

P-038 - A INTERFACE EXTERNA DA ZONA SUBVENTRICULAR PÓS-NATAL PARA AS CÉLULAS DE MICROGLIA: MURO, CERCA OU PENEIRA?

Velloso, C.S.P.¹; Lima, B.C.C.²; Santos, B.L.³; Furtado, C.M.⁴; Menezes, J.R.L.¹ (Orientador)¹, Instituto de Ciências Biomédicas, Departamento de Anatomia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ.

INTRODUÇÃO: A zona subventricular (ZSV) é um sítio neurogênico embrionário cuja atividade persiste na vida adulta. Distingue-se das áreas vizinhas por maior celularidade, intensa proliferação e ausência quase total de axônios, embora não possua barreira estrutural definida. Caso exista, tal barreira seria funcionalmente seletiva, pois, no período pós-natal, neurônios imaturos e astrócitos a atravessam rumo ao córtex, enquanto neuroblastos destinados ao bulbo olfatório e axônios são repelidos. Essa fronteira é povoadas por corpos e prolongamentos de células gliais radiais (CGR), fortemente acopladas entre si. Entretanto, pouco se sabe sobre a relação das células da microglia (CMig), originárias do sistema imune inato, com essa interface, apesar de sua influência na fisiologia do nicho neurogênico.

OBJETIVOS: Revelar a morfologia das CMig em regiões adjacentes à interface externa da ZSV e definir seus limites e entorno por meio de marcadores celulares e teciduais.

MÉTODOS: Camundongos suíços do 1º ao 8º dia pós-natal (P1, P4 e P7) foram anestesiados com isoflurano e perfundidos com paraformaldeído 4%. Após dissecção, secções sagitais ou coronais de 40–60 µm foram obtidas por vibratomia. Os cortes foram submetidos à imuno-histoquímica free floating com marcadores: Iba1 (CMig), Doublecortin (DCX), Brain Lipid-binding Protein (BLBP), Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP), Myelin Basic Protein (MBP), Laminin e Phalloidin. As imagens confocais foram analisadas no software ImageJ. Todas as etapas foram realizadas pelos autores sob supervisão. COMITÊ DE ÉTICA: A12/24-019-21.

RESULTADOS: Nenhum marcador fenotípico ou de matriz extracelular (ME) evidenciou as bordas da ZSV melhor que a análise citoarquitetônica, embora a confirmasse. Foram analisadas 15 CMigs (n=5 por idade). Como descrito previamente, CMigs na ZSV mostraram morfologia menos arborizada e prolongamentos mais espessos que as externas. Todas as CMigs próximas à borda externa respeitaram seus limites, sem ultrapassá-los, sugerindo que, se há migração, ocorre rapidamente ou por vias alternativas. Por se tratar de estudo predominantemente morfológico e qualitativo, não foram aplicadas análises estatísticas.

CONCLUSÃO: Marcadores fenotípicos e de ME mostraram marcação de borda inconclusiva, indicando que a composição dessa fronteira se deve majoritariamente às CGRs. A dificuldade em definir a borda da ZSV no período pós-natal precoce relaciona-se à sua irregularidade, decorrente da migração radial de neurônios e macroglia. Ainda assim, essa interface parece limitar também a movimentação das CMig, de modo semelhante ao observado para as CGRs.

APOIO FINANCIERO: Nenhum.

P-039 - Avaliação da dor abdominal e alodinia em modelo experimental da Doença de Parkinson induzido por 6-hidroxidopamina

Cinthia Melo Arêas¹; Isabela Tavares²; Maria Carolina Ricciardi²; Marianna Carvalho²; Josué Santos Smis¹; Rodrigo Sant'Anna¹; Maria Luiza Quadro dos Santos¹; Daniel Souza Monteiro de Araújo²; Ana Lúcia Tavares-Gomes^{1,2}.

¹Departamento de Neurobiologia, Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói-RJ, Brasil; ² Programa de Pós-Graduação em Neurociências, Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói-RJ, Brasil;

Introdução: A Doença de Parkinson (DP) é reconhecida como uma patologia multicêntrica, na qual manifestações não-motoras, incluindo distúrbios gastrointestinais e dor, frequentemente precedem os sintomas motores clássicos. A dor em pacientes com a DP apresenta caráter multifatorial, podendo envolver mecanismos centrais e periféricos de hipersensibilidade nociceptiva. Em particular, a dor visceral e abdominal tem sido relatada como manifestação relevante, associada a disfunções autonômicas. Alterações no eixo intestino-cérebro, como a presença de disbiose e inflamação intestinal, também contribuem para a modulação da sensibilidade a dor. Neste contexto, compreender os mecanismos que modulam a sensibilidade nociceptiva em modelos animais da DP pode auxiliar na identificação de alvos terapêuticos associados à neuroinflamação entérica e à nocicepção alterada.

Objetivos: Avaliar a sensibilidade nociceptiva em animais modelo da DP induzidos por 6-hidroxidopamina (6-OHDA), por meio da análise da dor abdominal e da alodinia mecânica na pata.

Métodos: Foram utilizados camundongos machos C57BL/6, divididos em grupos controle e 6-OHDA, submetidos à cirurgia estereotáxica para administração unilateral da neurotoxina 6-OHDA no estriado. A alodinia mecânica e a dor abdominal foram avaliadas pelo teste de von Frey, aplicado nas patas e abdômen, em três momentos experimentais: antes da indução do modelo (basal), e com 5 e 7 dias após a indução do modelo. A avaliação da dor foi realizada pela quantificação de comportamentos de desconforto após estímulo nociceptivo padronizado. Os dados foram expressos como média ± erro padrão e analisados por ANOVA two-way com pós-teste de Sidak ($p < 0,05$).

Resultados: No momento basal, não foram observadas diferenças entre os grupos. Após 5 dias da lesão 6-OHDA, os animais apresentaram redução significativa do limiar nociceptivo retirando a pata, indicando hipersensibilidade periférica. Há aumento de comportamentos de dor abdominal, caracterizados por elevação da frequência de contrações e de posturas de arqueamento. Após 7 dias, a alodinia manteve-se elevada, enquanto a resposta abdominal mostrou discreta atenuação, mantendo diferença significativa entre dois estímulos avaliados. Esses achados indicam uma hipersensibilidade precoce após a degeneração dopamínérgeca, compatível com o estado de hiperálgesia descrito em pacientes com DP.

Conclusão: Os resultados demonstram que o modelo 6-OHDA reproduz alterações de sensibilidade dolorosa tanto somática (alodinia) quanto visceral (dor abdominal), nos primeiros dias após a indução. Estudos subsequentes do grupo investigarão se intervenções terapêuticas no estado inflamatório do intestino grosso modula a resposta de hipersensibilidade nociceptiva dos animais modelo da doença de Parkinson.

P-040 - AVALIAÇÃO DA AÇÃO DO RESVERATROL EM CÉLULAS DA RETINA EM CONDIÇÕES HOMEOSTÁTICAS E PATOLÓGICAS: ALVOS MOLECULARES

^{1,2}Santos G.F., ²Brito, R., ¹Calaza, K.C., ¹Departamento de Neurobiologia, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro; ²Departamento de Biologia Celular e Molecular Departamento de Neurobiologia, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro.

Introdução: A retina é uma estrutura fundamental para a visão e danos a esse tecido podem levar a cegueira, tornando a busca por alvos neuroprotetores relevantes. O resveratrol (RV), um clássico polifenol, modula vias de sobrevivência e componentes do sistema adenosinérgico em vários modelos de estudo, incluindo condições de estresse oxidativo.

Objetivos: Avaliar o efeito do RV em retinas de embriões de galinha nos componentes do sistema adenosinérgico (A1, A2a e ENT-1), nas vias de sobrevivência (CREB, ERK e AKT), Sirt1, em células ganglionares e na morte em um modelo isquêmico.

Metodologia: Ovos White Leghorn com 14 dias foram injetados com veículo ou com 5, 10, 20 e 30 mg/kg de RV diluído em DMSO (CEUA 2648161020). Após 48 horas, as retinas foram submetidas ao ensaio de privação de oxigênio e glicose (OGD) por 50 minutos ou dissecadas para western blot e imunohistoquímica. Os dados foram analisados pelo software GraphPad Prism por *One way* e *Two way* ANOVA, com p<0,05 como significativo.

Resultados: As retinas tiveram uma proteção parcial contra o dano da OGD com RV 20 (CT: 100±26,1; OGD: 183,7±17,7; RV20: 127±22,5; RV20 OGD: 153,3±19,1, n=9, p=0,3094) e 30 mg/kg (CT: 100±24,8; OGD: 184,6±15,9, n=10; RV30: 97,8±15,03; RV30 OGD: 148,3±16,8, n=7 p= 0,1028), mas não em 5 (CT: 100±25,9; OGD: 193,9±14,4, n=10; RV5: 95,49±22,5, n=7; RV5 OGD: 176,7±23,8 p= 0,0374) e 10 (CT: 100±25,7, n=10; OGD: 184,6±15,9, n=10; RV10: 139,7±38,4, n=10; RV10 OGD: 180±19,3, n=9, p=0,0766). RV diminuiu os níveis de A1 em 20 e 30 mg/kg (CT: 100±17,3, n=8, n=5; RV 20: 53,83±8,08, n=7, p=0,0367; RV 30: 46,4±8,3, n=4, p=0,0394), uma tendência de redução em A2a em 20 mg/kg (CT: 100±24,8, n= 4; RV 20: 78,2±10,5, n=2) e do ENT-1 em 20 e 30 mg/kg (CT: 100±6,7, n=8; RV 20: 68,18±11,4, n=4, p=0,0584; RV 30: 70,65±9,9, n=3, p=0,1367). RV gerou uma tendência de aumento de p-AKT em 20 e 30 mg/kg (CT: 100±20,8, n= 9; RV 20: 135±1, n=5, p=0,7436; RV 30: 141,5±32,2, n=4, p=0,6515), diminuição da fosforilação da CREB em 20 e 30 (CT: 100±24,1, n= 6; RV 20: 61,38±6,8, n=5, p=0,0161; RV 30: 59,37±13,3, n=3, p=0,0079), e da ERK em 20, mas não em 30 mg/kg (CT: 100±17,8, n= 8; RV 20: 39±7, n=8, p=0,0048; RV 30: 114,5±14,7, n=5, p=0,8769). Há tendência de redução em Sirt1 em RV 20 mas não em 30 mg/kg (CT: 100±20,8, n= 7; RV 20: 76,37±6,2, n=3; RV 30: 114±3, n=2). RV não modificou o número de células ganglionares (CT: 84,75±1,7, n=4; RV 20: 85,5±2, n=2; RV 30: 88±1,4, n=3).

Conclusão: O pré-tratamento com RV altera a ativação das vias de sobrevivência clássicas e modula a expressão de componentes do sistema adenosinérgico, sugerindo que sua proteção parcial se deve através da modulação dessas vias.

FINANCIERO: FAPERJ; CNPq; INNT; CAPES.

P-041 - PAPEL DO RECEPTOR TRPA1 NA MODULAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO EM ESTÁGIOS INICIAIS DA RETINOPATIA DIABÉTICA

¹Silva, G. C.; ¹Freitas, N.; ¹Araujo D.; ²Brito R.; ¹Calaza K. C.; ¹Departamento de Neurobiologia, ²Departamento de Biologia Celular e Molecular, Programa de Pós-graduação em Neurociências, Instituto de Biologia UFF, Rio de Janeiro.

Introdução: A retinopatia diabética (RD) é uma complicação da diabetes, com hiperglicemia crônica, que leva à alterações bioquímicas, gerando estresse oxidativo e inflamação. O TRPA1 é um canal permeável a cálcio, multimodal que pode ser ativado por espécies reativas de oxigênio, AGEs e sinais inflamatórios e inibido por dipirona. Sua inibição protege a retina em modelo de glaucoma. No entanto, não há nenhum estudo avaliando seu possível papel na retinopatia diabética. Assim, nosso objetivo é avaliar o potencial da dipirona em modular o estresse oxidativo e autofagia em retinas de animais diabéticos.

Métodos: Foram utilizados ratos Lister Hooded do Biotério Central da UFF (CEUA 7823260420, emenda ID 000319). A indução da diabetes foi realizada em P30, através de uma injeção intraperitoneal de estreptozotocina (55 mg/kg). Os controles (não diabético, NDB) receberam uma injeção do veículo (tampão citrato). A glicemia foi medida 4 dias após a injeção. Os animais foram tratados por 21 dias com o colírio com 10 mM de A96 (antagonista TRPA1) ou dipirona. Após o tratamento, foram eutanasiados por sobredose de isoflurano e as retinas foram dissecadas para *Western Blotting*.

Resultados: Avaliamos marcadores do sistema antioxidante, como a heme oxigenase-1 (HO-1) (n=3). Houve uma redução de 10% no grupo diabético (DB DMSO) em comparação ao grupo controle NDB ($p < 0,05$). A DIP previne a diminuição causada pela diabetes (DB DMSO+DIP) em comparação ao DB DMSO ($p < 0,01; **$). Os mesmos resultados foram encontrados nos diferentes grupos usando o outro veículo HPMC. Também foi avaliado o REDD1 (n=3), houve um aumento de 15% na sua expressão no DB DMSO em comparação ao NDB DMSO ($p < 0,01; **$) e a DIP bloqueia essa resposta no DB tratado ($p < 0,01; **$). A96 também previu o aumento de REDD1 provocado por DB ($p < 0,05$). Nos animais diabéticos tratados com o veículo HPMC (DB HPMC) e HPMC com dipirona (DB HPMC+DIP) foi observado o mesmo padrão de expressão do REDD.

Conclusão: Os dados preliminares sugerem um efeito modulatório da dipirona e do antagonista do TRPA1 no sistema antioxidante da retina do animal diabético. Porém, é necessário avaliar outros agentes da resposta antioxidante.

Apoio financeiro: CNPq, CAPES, FAPERJ e UFF.

P-042 - CROSSTALK BETWEEN MICROGLIA and T lymphocytes in a preclinical model of Alzheimer's disease

Guilherme Augusto Machado Sales¹, Poliana Capucho Sandre¹, Ygor Parlodore Silva¹, Felipe Henrique da Cunha Xavier¹, Pedro Henrique Oliveira Vianna¹, Eriane Cerqueira Santos¹, Rafaela Rodrigues Valerio¹, Áquila Rodrigues Costa Santos¹, Adriana Cesar Bonomo¹, Rudimar Luiz Frozza¹. ¹ Laboratory on Thymus Research, Oswaldo Cruz Institute, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, Brazil

Introduction: Alzheimer's disease (AD) is the most common form of dementia, affecting millions of people worldwide. It is characterized by the accumulation of amyloid- β peptide oligomers (A β Os), synaptic dysfunction, and memory loss. Additionally, it became widely recognized that neuroinflammation is an important early event in the progression of AD. Increasing evidence points to a pivotal role of immune processes in the pathogenesis of AD, with microglia playing a central role. However, is controversial how the adaptive immune system may affect the onset and progression of AD. Therefore, investigating the interactions between microglia and T lymphocytes may open new opportunities for developing effective therapeutic alternatives for AD. To gain insights into how the immune system is involved in the pathogenesis of AD, we aimed to evaluate whether microglia activated by A β Os could interact with lymphocytes in the hippocampus and how this interaction affects microglial morphology and A β O clearance.

Methods: Using the hippocampal organotypic culture model (CEUA L-018/2023A2) exposed to A β Os, we evaluated whether total or CD4 $^{+}$ T lymphocytes derived from deep cervical or inguinal lymph nodes of naïve mice or mice immunized with MOG or OVA would influence microglial activation, morphology and A β O clearance. Immunofluorescence and confocal microscopy were used to evaluate the colocalization of microglia and CD4 $^{+}$ T lymphocytes, microglial morphology and the A β O internalization.

Results: Although our results are preliminary, they suggest that the origin of lymphocytes and their prior exposure to CNS antigens may influence their interaction with microglia following exposure to A β Os.

Conclusion: These findings underscore the potential of the crosstalk between the CNS and the immune system to enhance our understanding of AD's pathophysiology.

Funding: FAPERJ, CNPq, Inova Fiocruz/VPPCB, INCT-NIM, FOCEM

P-043 - PARTICIPAÇÃO DE CÉLULAS IMUNOLÓGICAS PERIFÉRICAS NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO EM MODELO DE ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO POR OCLUSÃO DA ARTÉRIA CEREBRAL MÉDIA

¹Santos, I.F., ¹Campos, R. M. P., ¹Pimentel-Coelho, P. M., ¹Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

Introdução: O acidente vascular encefálico (AVE) isquêmico é caracterizado por uma obstrução de um vaso sanguíneo no encéfalo, e apresenta 3 fases: aguda, subaguda e crônica, de acordo com a progressão da lesão. Com a formação do trombo, há uma cascata de eventos inflamatórios, com a participação de células como a microglia e linfócitos T. Um dos eventos que ocorrem após o AVE isquêmico é a formação de uma cicatriz ao redor da lesão, com deposição de proteínas de matriz extracelular e reatividade de astrócitos. Entretanto, existem lacunas na literatura sobre a relação de células imunológicas circulantes com a formação da cicatriz após um AVE isquêmico.

Objetivo: Desta forma, este trabalho tem como objetivo a avaliação da participação de células imunológicas da periferia na formação e resolução da cicatriz glial em períodos crônicos em modelo de AVE isquêmico. Para este trabalho, utiliza-se o modelo de oclusão da artéria cerebral média induzida por cloreto de ferro.

Metodologia: Camundongos C57Bl6 de idade de 3 a 4 meses, ambos os sexos, são submetidos à cirurgia de AVE isquêmico (CEUA: 143/24) e suas amostras cerebrais são analisadas nas sobrevidas de 4, 8 e 16 semanas após cirurgia. Para caracterização da presença de lesão, é realizada a técnica de coloração de tionina. Para visualização e quantificação de células imunológicas periféricas no local da lesão, são realizadas reações de imunohistoquímica, para marcações de células como astrócitos (GFAP), linfócitos T (CD3) e neutrófilos (Ly6G). Marcação para laminina é utilizada para identificação da cicatriz fibrótica. Para confirmação da infiltração de células imunológicas circulantes na região de lesão, será realizado o procedimento de quimerismo por transferência adotiva de células-tronco progenitoras hematopoiéticas. Para avaliar o papel funcional de linfócitos T e neutrófilos, serão realizados experimentos de modulação farmacológica dessas células e, posteriormente, testes comportamentais dos animais que passaram por tais modulações. Os testes comportamentais serão: teste da haste e rotarod, Von Frey e Hargreaves, marble burying, campo aberto, e labirinto em T.

Resultados: Foi observado, a partir de coloração de tionina, uma desorganização tecidual no córtex cerebral, compatível com uma lesão isquêmica, em animais 4 e 16 semanas após cirurgia do modelo já mencionado. Além disso, foram observados astrócitos reativos (marcação para GFAP), indicando a presença de cicatriz glial ao redor da lesão no córtex cerebral. Também foi vista a presença de cicatriz fibrótica pelo padrão de organização da proteína de matriz extracelular laminina, com neutrófilos na região de fibrose, em cortes histológicos de animais de 4 e 16 semanas pós-AVE isquêmico. Ainda, foram encontrados linfócitos T 4 semanas após o AVE isquêmico, também na região cicatricial.

Conclusão: Os dados observados indicam a presença de células imunológicas no local da cicatriz formada pós-AVE isquêmico.

Apoio Financeiro: CAPES, CNPq e FAPERJ.

P-044 - MEDICINA DE PRECISÃO EM ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA

Loss, João Victor¹; Souza, Letícia¹; Julio, Alison¹; Ferreira, Igor¹; Martins, Robertta¹; Coutinho, Keyla²; Trindade, Pablo³; Gubert, Fernanda⁴; Mendez-Otero, Rosalia¹. ¹Laboratório de Neurobiologia Celular e Molecular, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro. ² Laboratório de Cardiologia Celular e Molecular, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Centro de Pesquisa de Medicina de Precisão, Universidade Federal do Rio de Janeiro. ³ Laboratório de Neuroimunologia e Desenvolvimento, Faculdade de Farmácia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro. ⁴ Laboratório de Pesquisas em NeuroExposoma, Instituto de Ciências Biomédicas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro

Introdução: A esclerose lateral amiotrófica (ELA) é doença neurodegenerativa progressiva e fatal que acomete motoneurônios superiores e inferiores, resultando em fraqueza muscular, atrofia e falência respiratória. Mais de 40 genes com mais de 63 variantes já foram descritas relacionadas à ELA, como variantes na superóxido dismutase 1 (*SOD1*) e a variantes no gene do *Vesicle Associated Protein-B* (*VAPB*). No Brasil, variantes em *VAPB*, em especial p.P56S, são as mais recorrentes e praticamente exclusivas da população, mas seus efeitos funcionais ainda são pouco explorados, ressaltando a importância de estudá-las em diferentes contextos populacionais. Embora a neurodegeneração em ELA afete primariamente os motoneurônios, estudos revelaram que células não neuronais, como astrócitos, desempenham papéis fundamentais na progressão. Os astrócitos participam do ciclo glutamato-glutamina, removendo glutamato da fenda sináptica por meio dos transportadores EAAT1/EAAT2; sua redução leva à excitotoxicidade, um dos principais mecanismos da morte neuronal. O tratamento atual é limitado, sendo o Riluzole o fármaco mais usado, com efeito discreto na sobrevida. Nesse cenário, células-tronco de pluripotência induzida (iPSCs) representam avanço importante, pois permitem diferenciar iMotoneurônios (iMNs) e iAstrócitos tanto de controles quanto de pacientes, carregando o genótipo original e possibilitando investigar mecanismos específicos e testar fármacos de modo mais personalizado.

Objetivo: O Laboratório de Neurobiologia Celular e Molecular do IBCCF possui um biobanco de células de indivíduos controles e de portadores da variante p.P56S em *VAPB*, além de variantes em outros genes como *SOD1* (CEP: 1.763.786). O projeto em questão propõe diferenciar essas iPSCs em iMNs e iAstrócitos, visando investigar como tais variantes afetam fenótipo, funcionalidade e interação celular.

Metodologia: Serão empregados co-cultivos diretos, indiretos (*transwell*) e meio condicionado para distinguir efeitos mediados por contato direto daqueles promovidos por fatores solúveis, como citocinas, exossomos ou agregados proteicos. Serão analisados parâmetros como viabilidade celular (ensaios LIVE/DEAD, *ThermoFisher*; LDH, *Roche*), produção de espécies reativas de oxigênio (H2DCFDA, *ThermoFisher*; MitoSOX™ Red, *ThermoFisher*), perfil secretório de citocinas/quimiocinas (ELISA), captação de 3[H]-D-Aspartato, análogo do glutamato, em iAstrócitos, e resposta a fármacos aprovados pela ANVISA.

Resultados: Espera-se observar maior morte celular em astrócitos derivados de iPSCs com variantes em *VAPB* e *SOD1*. Esses iAstrócitos devem exibir redução significativa na captação de 3[H]-D-Aspartato, indicando prejuízo no transporte de glutamato e contribuindo para excitotoxicidade, levando à morte subsequente de iMNs. Hipotetiza-se ainda que astrócitos disfuncionais liberem fatores solúveis neurotóxicos capazes de comprometer a viabilidade de motoneurônios saudáveis em co-cultura ou expostos ao meio condicionado, reforçando o papel ativo da glia na degeneração. Assim, a caracterização funcional permitirá identificar diferenças entre variantes específicas e estabelecer base para triagens terapêuticas que revertam fenótipos e funcionalidades alteradas.

P-045 - STUDY OF ENTERIC GLIA IN AN ANIMAL MODEL OF PARKINSON'S DISEASE INDUCED BY ALPHA-SYNUCLEIN OLIGOMERS

Josué Santos Smis¹; Lucas Marianno¹; Maria Carolina Ricciardi²; Marianna Carvalho²; Isabela Tavares²; Livia Hayashide³; Luan Diniz³; Ana Lúcia Tavares-Gomes^{1,2}. ¹Department of Neurobiology, Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói-RJ, Brazil; ²Graduate Program in Neuroscience, Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói-RJ, Brazil; ³Institute of Biomedical Sciences, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, Brazil.

Introduction: Parkinson's disease (PD) is currently recognized as a multicentric and progressive condition. In recent years, the gastrointestinal tract has gained prominence in PD research due to functional and inflammatory alterations that often precede the onset of classical motor symptoms. The control of gastrointestinal functions is exerted by the enteric nervous system (ENS), composed of neurons and glial cells. Enteric glial cells play a central role in intestinal homeostasis and in the neuroimmune interface, being implicated in various inflammatory conditions. Previous studies from our group have explored the role of enteric glial cells in a PD model induced by the neurotoxin 6-hydroxydopamine (6-OHDA). However, there are still no reports in the literature on the involvement of enteric glia in the PD model induced by intracerebroventricular administration of alpha-synuclein oligomers (α SO). This model has proven to be a promising approach as it more accurately reproduces the early and spontaneous stages of the disease, promoting the deposition of soluble and toxic species of alpha-synuclein capable of triggering early neuroinflammatory responses in the central nervous system.

Objectives: To characterize enteric glial cells in the colon of animals from a PD model induced by intracerebroventricular administration of alpha-synuclein oligomers.

Methods: Male Balb/c mice (25–30 g) were used. Intracerebroventricular injections were performed using a stereotaxic apparatus for administration of alpha-synuclein oligomers (700 pmol/site) or vehicle (saline). After one week, the animals were euthanized, and the large intestine was photographed for macroscopic morphological analysis and dissected to obtain samples of the mucosal and neuromuscular layers. The content of GFAP (glial fibrillary acidic protein), a glial marker, was evaluated by Western blot. (CEUA-UFRJ no. 119/23).

Results: A significant increase in GFAP was observed in both the mucosal and neuromuscular layers of the colon in animals that received the injection of alpha-synuclein oligomers compared to controls.

Conclusions: Our results indicate that enteric glia represent an important link in the response triggered in the colon of PD model animals through the gut–brain axis. The prominent role of enteric glia opens perspectives for future developments of this project, such as: (1) evaluating whether enteric glial reactivity promotes a neuroglial plastic response in the tissue that could be involved in gastrointestinal dysfunction in PD; (2) studying therapeutic strategies that promote enteric glial inhibition to restore gastrointestinal function; and (3) investigating whether the prominent role of enteric glia is exclusive to PD or also related to other neurodegenerative diseases, such as Alzheimer's disease.

Financial Support: CAPES, CNPq, FAPERJ, PROPPI.

P-046 - Anti-Nociceptive Action of Leonurine Through TRPA1 and TRPV4 Modulation

Matilde Marini¹, Lorenzo Landini¹, Gaetano De Siena¹, Irene Scuffi¹, Romina Nassini¹ and Francesco De Logu¹.

¹Department of Health Science, Clinical Pharmacology and Oncology Section, University of Florence, Florence, Italy

Background & Aims: Leonurine, a pseudoalkaloid derived from *Leonotis leonurus*, has been traditionally used in herbal medicine to alleviate conditions such as headaches and abdominal discomfort. Its therapeutic effects are often attributed to potential antioxidant properties; however, the precise molecular mechanisms remain poorly understood. Transient Receptor Potential (TRP) channels, particularly TRPA1 and TRPV4, serve as critical sensors of reactive oxygen species (ROS). Persistent ROS elevation contribute to pain by activating these channels. Notably, TRPA1 and TRPV4 have been implicated in the development and maintenance of mechanical allodynia within models of chemotherapy-induced peripheral neuropathy (CIPN). Given the established roles of TRPA1 and TRPV4 in detecting ROS and the potential anti-inflammatory effects of leonurine through ROS modulation, here we investigated whether *Leonotis leonurus* extracts could target TRPA1 and TRPV4 to provide pain relief.

Methods: Human and murine cell lines expressing TRPA1 and TRPV4 channels, mouse primary sensory neurons from dorsal root ganglia (DRG), calcium imaging, qRT-PCR, electrophysiology, mouse model of CIPN induced by thalidomide. The research conducted complies with all relevant ethical regulations (research permits #1194/2015PR).

Results: We examined the antinociceptive properties of leonurine and its modulatory effects on TRPA1 and TRPV4 channels after stimulation with selective (allyl isothiocyanate and GSK1016790A, respectively) or non-selective (hydrogen peroxide) agonists. Employing human and murine cell lines expressing TRPA1 and TRPV4, and mouse primary DRG neurons, we observed that leonurine elicited a selective, concentration-dependent increase in intracellular calcium levels, followed by desensitization of both channels. We used a thalidomide CIPN mouse model to assess the efficacy of leonurine to reduce TRPA1 and TRPV4 dependent mechanical allodynia. Our findings indicate that repeated, but not acute, administration of leonurine significantly reduced thalidomide-induced mechanical allodynia, highlighting the crucial role of TRPA1 and TRPV4 desensitization in pain modulation.

Conclusion: Our findings suggest that the effect of *Leounurus* plants in pain sensation may derive from the ability of leonurine to evoke TRPA1 and TRPV4- dependent desensitization of nociceptors, thereby reducing pain perception. These findings establish leonurine as a promising candidate for pain management, highlighting the need for further research into its long-term therapeutic potential and clinical applications.

Financial support: #NEXTGENERATIONEU (NGEU); MNESYS (PE0000006) (DR. 1553 11.10.2022)

P-047 - DESENVOLVIMENTO DE TOLERÂNCIA À MORFINA EM ORGANOIDES HUMANOS IN VITRO

²Puig Pijuan, T., ^{1 2}Abrantes, P. V., ²Trajano, J., ²Marconi, P., ^{1 2}Rehen, S., ^{1 2}Guimarães, M. Z. ¹Instituto de Ciências Biomédicas, UFRJ, RJ; ²Instituto D'Or de Pesquisa e Ensino, RJ.

Introdução: A tolerância à morfina envolve adaptações neurogliais que reduzem a eficácia analgésica após tratamentos crônicos, como a dessensibilização de receptores, aumento compensatório de AMPc, pCREB e da neuroinflamação mediada por TLR4. Modelos tridimensionais humanos derivados de células-tronco pluripotentes induzidas (iPSC) oferecem alternativas translacionais para estudar alterações do sistema nervoso in vitro, como os organoides, que reproduzem aspectos morfológicos e funcionais do tecido neural humano.

Objetivos: Desenvolver um modelo humano in vitro de tolerância à morfina em organoides derivados de iPSC.

Métodos: Organoides cerebrais foram gerados de iPSC e mantidos por 45 dias. Além do controle (veículo), três grupos foram tratados com morfina (10 µM) por 1 dia (1 pulso – Agudo), 15 dias (5 pulsos – Crônico) e 14 dias, com o último dia em veículo (4 pulsos e veículo – Retirada). Avaliou-se a expressão de alvos relevantes por PCR convencional e qPCR. Também se analisou por Western Blotting a expressão de CREB total e fosforilado. Além disso, foi realizada marcação por imunofluorescência de p38, GFAP e Vimentina. Finalmente, os níveis de AMPc foram medidos em organoides dissociados em resposta a exposição à morfina. Dados apresentados com média ± EPM, analisados por ANOVA e pós-teste de Tukey ($p<0,05$). O projeto foi aprovado pelo comitê de ética do Hospital Copa D'Or (CAAE: 60944916.5.0000.5249; nº 1.791.182).

Resultados: O PCR convencional confirmou a expressão de OPRM1 e outros alvos em organoides controles ($n=1$). No Western Blotting, houve aumento na razão pCREB/CREB no grupo crônico em relação ao controle (77,95% e 40,74%; $n=1$). A quantificação de p38 revelou redução na área nuclear marcada no grupo agudo ($8,48\% \pm 4,15$) e aumento no crônico ($90,44\% \pm 6,16$), comparado ao controle ($17,96\% \pm 6,00$; $n=2$). No qPCR, verificou-se aumento na expressão de TH no grupo agudo ($4,30 \pm 0,64$ vezes), no de retirada ($2,73 \pm 1,27$ vezes) e de TLR4 no de retirada ($2,44 \pm 0,80$ vezes). Houve, também, aumento de expressão de IL-1 β no agudo ($2,85 \pm 1,21$ vezes) e de IL-6 no de retirada ($3,58 \pm 2,24$ vezes), em relação ao controle ($n=2$). Os níveis de AMPc reduziram-se no grupo agudo (7,98 nM) comparado ao controle (25,28 nM; $n=1$).

Conclusão: O modelo de organoides reproduziu características associadas ao processo de tolerância, incluindo aumento de pCREB, ativação de p38 e alterações em genes inflamatórios e dopaminérgicos, com tendências que precisam de mais investigação pelo baixo N amostral. Portanto, há um potencial translacional em organoides cerebrais como modelos para investigar a tolerância à morfina e testar estratégias terapêuticas moduladoras do efeito analgésico crônico.

Apoio: CAPES, CNPq e FAPERJ.

P-048 - ANÁLISE COMPORTAMENTAL DAS FUNÇÕES COGNITIVAS NOS CAMUNDONGOS SOB ESTRESSE SOCIAL CRÔNICO

1Mélo, R.M.F., 1Serra, A.L.S., 1Rocha, G.S., 1Mendonça, P.L.F., 2Oliveira, G.M., 1Fragoso, V.M.S.
1Laboratório de Inovações em Terapias, Ensino e Bioproductos, Instituto Oswaldo Cruz/ FIOCRUZ, Rio de Janeiro RJ. 2Laboratório de Biologia Celular, Instituto Oswaldo Cruz/ FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ.

Introdução: O estresse pode ser definido como uma reação fisiológica diante de situações de perigo ou de ameaça. Estresse social crônico é um tipo de estresse que pode estimular o aparecimento de transtornos psicológicos e comportamentais, como a ansiedade, e agressividade. Além disso, o estresse crônico leva a alterações em estruturas cerebrais, como o hipocampo, a amígdala e o córtex pré-frontal, envolvidas nas funções cognitivas de memória, aprendizado e execução. Tornando-se necessários estudos que busquem estratégias para reduzir os danos cognitivos decorrentes da exposição ao estresse crônico. Utilizando o Modelo Espontâneo de Agressividade, os animais resilientes e os agredidos apresentaram aumento da concentração plasmática de corticosterona, enquanto os considerados agressores não elevaram seus níveis.

Objetivo: Investigar a influência do estresse social crônico nas funções cognitivas de animais adultos.

Métodos: (CEUA/IOC L-022/2025) Camundongos machos Swiss Webster (n=30) foram agrupados na 3^a semana de vida (sdv). Na 4^a, 6^a e 8^a sdv foram realizados o teste de suspensão da cauda, etograma e padrão de comportamento agressivo (PCA). Na 10^a sdv, os animais foram reagrupados; um grupo não foi reagrupado (NR), e na 12^a, 14^a e 16^a sdv, etograma e PCA foram repetidos. Na 16^a sdv os animais foram categorizados em Harmônicos (Har), Agredidos (AgD) e Agressivos (AgR). Para avaliação das funções cognitivas de memória espacial, de memória de trabalho e de exploratória, os testes de Objeto em Local Atualizado (Object Update Localization test (OUL)) e de Reconhecimento de um objeto novo (Novel Object Recognition test (NOR)) foram realizados. Os valores foram expressos de acordo com o índice de discriminação, calculado pela razão: para OUL: (Movido (M) – Familiar (F)) / (M+F); para NOR: (Novo (N) – F) / (N+F). Os dados foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis no software PRISM. Diferenças de p < 0,1 foram consideradas.

Resultados: **1)** Os animais harmônicos não alcançaram 50 % do tempo de interação com o objeto movido, com uma média de 27,12 % ($\pm 6,3$), em relação às demais categorias (NR: 66 % ($\pm 3,8$) (p<0,001); AgD: 55,67 % ($\pm 4,7$) (p<0,05); AgR: 60,52 % ($\pm 4,2$) (p<0,01)). **2)** Consequentemente, os animais Har apresentaram redução significativa no índice de discriminação de $-0,21 \pm 0,06$ em relação ao NR (p < 0,01) e ao AgR (p < 0,05) (NR: $0,26 \pm 0,05$; AgD: $0,0005 \pm 0,1$; AgR: $0,21 \pm 0,08$). **3)** Todos os animais passaram mais de 50% do tempo de interação com o objeto novo (NR: $77,50 \pm 4,1$; Har: $85,03 \pm 5,3$; AgD: $86,58 \pm 3,4$; AgR: $75,70 \pm 3,8\%$). **4)** Nenhuma diferença estatística foi observada no índice de discriminação (NR: $0,49 \pm 0,07$; Har: $0,70 \pm 0,1$; AgD: $0,8 \pm 0,07$; AgR: $0,6 \pm 0,06$).

Conclusão: Mesmo com a boa capacidade de se adaptar ao estresse social crônico, os indivíduos resilientes podem apresentar alterações cognitivas, especialmente na memória espacial. **Apoio Financeiro:** CNPq, IOC, FIOCRUZ.

P-049 - FUNCTIONAL MODULATION OF HUMAN ASTROCYTES INDUCED BY GLYCATION OF THE EXTRACELLULAR MATRIX: AN AGING MODEL

Renato Tadeu da Silva Santos¹, Sabrina Cardoso Fernandes Da Cruz¹, Letícia Rocha Quintino Souza², Viviane de Oliveira Freitas Lione³, Juliana Ferreira Vasques⁴, Fernanda de Mello e Souza Valente Gubert⁴, Rosalia Mendez-Otero², Pablo Trindade³. 1: PPGAP, UFRJ; 2: IBCCF, UFRJ; 3: FF,UFRJ; 4: ICB, UFRJ.

By 2060, 25.5% of Brazil's population will be over 60, leading to a rise in chronic diseases, especially neurodegenerative disorders, which impose significant socioeconomic burdens due to their disabling nature and high treatment costs. Aging, at the cellular level, is associated with senescence, a state of irreversible cell cycle arrest marked by morphophysiological changes that increase disease susceptibility. A key driver of senescence is the accumulation of Advanced Glycation End-Products (AGEs), formed by non-enzymatic reactions between sugars and biomolecules, which are implicated in neurodegenerative conditions like Alzheimer's, Parkinson's, and stroke. AGEs contribute to neuroinflammation, reactive astrogliosis, protein misfolding, lipid alterations, and impaired extracellular matrix (ECM) functions. The ECM, a dynamic network of proteins and polysaccharides, is essential for cellular structure, migration, and differentiation, playing a pivotal role in aging. Notably, the ECM composition influences cell health, with young ECMs rejuvenating senescent cells, while AGE accumulation disrupts ECM integrity, adversely affecting neural homeostasis. Astrocytes, key producers of ECM in the nervous system, are central to understanding the interplay between AGEs and ECM in neurodegeneration, yet this relationship remains poorly explored. This study investigates human astrocytes derived from induced pluripotent stem cells (iPSCs) exposed to Geltrex glycated by methylglyoxal and glyoxal. Key parameters, including adhesion, proliferation, morphology, viability, neurotransmitter uptake, and TNF-alpha-induced inflammatory responses, will be assessed. Additionally, markers of cellular senescence, such as lipofuscin and beta-galactosidase, will be analyzed. By elucidating how glycated ECM impacts astrocyte functionality, this research seeks to advance understanding of neurodegenerative mechanisms and identify potential therapeutic targets.

P-050 - O BLOQUEIO DO TRANSPORTADOR EQUILIBRATIVO DE NUCLEOSÍDEOS DO TIPO 1 MELHORA A HIPERATIVIDADE DE UM MODELO ANIMAL DO TDAH

Valladão, S. C.¹; Carvalho, M. de.¹; Ferreira, A. F.¹; Laport, L. M. R.¹; Souza, J. V. de M.¹; Penna, D. B. S.¹; Costa, S. G.¹; dos Santos-Rodrigues, A.² e Pandolfo, P.^{1,2}. ¹PPG em Ciências Biomédicas: Fisiologia e Farmacologia, UFF, Niterói/RJ; ²PPG em Neurociências, UFF, Niterói/RJ.

Introdução: O Transtorno de Déficit de Atenção com Hiperatividade (TDAH) é um distúrbio do desenvolvimento que acomete crianças, adolescentes e adultos. A neurobiologia do TDAH está relacionada com desequilíbrios em sistemas de neurotransmissão de regiões específicas do encéfalo. A adenosina é um importante neuromodulador e seus níveis extracelulares são regulados por transportadores de nucleosídeos, como o transportador de nucleosídeos equilibrativo do tipo 1 (ENT1).

Objetivo: Investigar os níveis de ENT1 no córtex frontal, estriado e hipocampo e como seu bloqueio impacta na hiperatividade, comportamento de risco e cognição de um modelo de TDAH.

Métodos: Ratos Wistar Kyoto (WKY) e Espontaneamente Hipertensos (SHRs) machos (n=6-9) e fêmeas (n=5-9), adolescentes (P45) e adultos (P60), receberam o bloqueador de ENT1 “NBFI” (15 mg/kg, i.p.), 20 min antes de entrarem no teste de campo aberto (CA) e no labirinto em cruz elevado (LCE). Sete dias depois, eles foram novamente tratados com NBFI e submetidos ao teste de alternância espontânea (TAE). As áreas encefálicas foram dissecadas para a preparação de sinaptossomas não-purificados e a densidade de ENT1 foi mensurada pela técnica de *western blot*. CEUA-UFF, nº7023070523. Foi realizada estatística pela ANOVA de 2 vias e teste post-hoc de Tukey quando apropriado.

Resultados: No teste de CA foi observado maior locomoção pelas SHRs fêmeas P45 ($33,87 \pm 1,33$ m, p=0,009) e P60 ($31,99 \pm 1,70$ m, p=0,0043). O tratamento com NBFI diminuiu a hiperatividade apenas de SHRs machos P45 ($15,85 \pm 3,66$ m, p=0,0024), mas não de SHRs fêmeas P45 ($26,99 \pm 3,09$ m, p=0,6235). Já nos P60, o tratamento diminuiu a hiperatividade em SHRs de ambos os sexos (F: $19,47 \pm 2,05$ m, p=0,0082; M: $12,88 \pm 2,53$ m, p=0,0411). No LCE, SHRs (F: $16,22 \pm 1,69\%$, p=0,0026; M: $16,02 \pm 1,18\%$, p=0,0005) passaram mais tempo na plataforma central do que os WKYs, sem efeito do NBFI. Os SHRs P45 (F: $18,50 \pm 2,11$, p=0,0104; M: $18,00 \pm 2,20$, p=0,0384), e P60 (F: $14,80 \pm 3,65$, p=0,0492; M: $13,33 \pm 1,54$, p=0,0202) apresentaram maior quantidade de *head-dippings* em comparação aos WKYs, sendo que o NBFI reduziu significativamente este efeito apenas em SHRs P45 machos ($9,37 \pm 2,18$, p=0,0209). No TAE, não houve diferença na % de alternâncias espontâneas entre SHRs e WKYs, na ausência ou na presença de tratamento, em P45 ou P60. Não houve diferenças nos níveis proteicos de ENT1 em sinaptossomas corticais ou hipocampais dos animais P45. Entretanto, em P60 naïve, fêmeas SHR apresentaram níveis maiores de ENT1 ($1,51 \pm 0,52$, p=0,0358) no hipocampo.

Conclusão: O bloqueio de ENT1 reduziu a hiperatividade e a exploração de ratos SHRs. Os resultados indicam que a expressão de ENT1 está relacionada a fatores ontogenéticos. Mais estudos são importantes para investigar se os níveis do ENT1 e a sinalização adenosinérgica desempenham um papel relevante no dimorfismo sexual observado em adolescentes e adultos, particularmente no contexto do TDAH.

Apoio financeiro: CAPES, CNPq, FAPERJ

P-051 - MODULAÇÃO DA SINAPTOGÊNESE VIA SISTEMA ENDOCANABINOIDE

¹Santiago, A.F., ²Souza Monteiro de Araujo, D., ¹Calaza, K.C. ¹Laboratório de Neurobiologia da Retina, Departamento de Neurobiologia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas, Universidade Federal Fluminense – Niterói-RJ. ²Laboratório de Neurobiologia da Dor, Departamento de Neurobiologia, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro

Introdução: A formação de novas conexões sinápticas são processos essenciais para o desenvolvimento do sistema nervoso central. Esse fenômeno, denominado de sinaptogênese, resulta da interação entre sinal extracelulares e mecanismos intracelulares que regulam a diferenciação e o amadurecimento neuronal. Entre os sistemas moduladores envolvidos, destaca-se o sistema endocanabinoide, composto pelos receptores CB₁ e CB₂, pelos ligantes endógenos AEA e 2-AG, e pelas enzimas de degradação, respectivamente, FAAH e MAGL. A modulação dessas enzimas, por inibidores seletivos, altera os níveis de endocanabinoides.

Objetivo: Investigar o papel dos endocanabinoides AEA e 2-AG na sinaptogênese, modulando farmacologicamente as enzimas FAAH e MAGL em cultura de neurônios de retina de embrião de galinha.

Métodos: Utilizamos cultura Enriquecida de neurônios de retinas de embriões galinha com 8 dias de desenvolvimento (E8), mantidas por cinco dias sem troca de meio (E8C5). As placas foram previamente tratadas com poli-L-ornitina para promover adesão neuronal e reduzir a proliferação glial. Aproximadamente 800 mil neurônios foram semeados por poço e no quarto dia de cultivo, as células foram tratadas com o inibidor da FAAH, URB597 (0,1, 1 e 10 μM), e o inibidor da MAGL, URB602 (10, 50 e 100 μM), em triplicata. A viabilidade celular foi avaliada pelo ensaio de MTT por duas horas, em duplicita para leitura colorimétrica entre 550 e 650 nm. A sinaptogênese foi avaliada por imunocitoquímica, utilizando anticorpos para sinaptofisina, marcador pré-sináptico, e PSD-95, pós-sináptico. As imagens foram adquiridas no microscópio confocal Leica SP5 (63x) e o índice de colocalização analisado pelo Plugin “colocalization threshold” do programa FIJI. A análise estatística foi realizada por Two-way anova.

Resultados: Não houve alteração na viabilidade celular com os tratamentos com URB597 0,1-10 μM (Veh= 0,21±0,02; URB 597 0,1 μM= 0,20±0,02; URB 597 1 μM= 0,20±0,27; URB 597 10 μM= 0,19±0,03; N=4) e URB602 10 e 50 μM (Veh= 0,24±0,02; URB 602 10 μM= 0,20±0,05; URB 602 50 μM= 0,20± 0,05; N=4). Entretanto, URB602 a 100 μM reduziu a viabilidade celular (Veh= 0,24±0,02; URB 602 100 μM= 0,08±0,04; N=4; p<0,001), sendo considerado tóxico nessa concentração. Um aumento na colocalização de Sinaptofisina e PSD95 foi observado em células tratadas com URB602 10 μM (Veh= 0,01518; URB602 10 μM= 0,02808; N=1) e uma diminuição em todas as concentrações de URB 597 (Veh= 0,02678; URB597 0,1 μM= 0,01990; URB597 1 μM= 0,01318; URB597 10 μM= 0; N=1).

Conclusão: A inibição das enzimas FAAH e MAGL, com provável aumento de AEA e 2-AG, respectivamente, pode influenciar a sinaptogênese, em concentrações que não afetam a viabilidade celular. O aumento de AEA levaria a uma diminuição, enquanto 2-AG aumentaria o número de contatos sinápticos, regulando a formação e a manutenção de circuitos sinápticos, reforçando o papel importante do sistema endocanabinoide no desenvolvimento neural.

Apoio Financeiro: FAPERJ; CAPES.

P-052 - CORRELATOS NEUROFISIOLÓGICOS DAS HABILIDADES COGNITIVAS AVALIADOS NO ELETROENCEFALOGRAMA

Daniel de Freitas Quintanilha ^{1,2,3}, Vladimir V. Lazarev ², Rozemeria Pereira Costa ², Carla Kamil Leite ², Cecilia Hedin Pereira ³, Mario Fiorani Junior ¹, Dimitri Marques Abramov ². 1 Laboratório de Fisiologia da Cognição, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro. 2 Laboratório de Neurobiologia e Neurofisiologia Clínica, Instituto Fernandes Figueira, Fundação Oswaldo Cruz. 3 Laboratório de Neuroanatomia Celular, Instituto de Ciências Biomédicas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro

Introdução: Habilidades cognitivas (HCs) são importantes preditores de desfechos de saúde, e suas alterações são indicadores de patologias neurológicas e psiquiátricas. O eletroencefalograma (EEG) é uma ferramenta neurofisiológica que oferece vantagens como alta resolução temporal, ser um método não invasivo e o baixo custo de operação.

Objetivo: Este estudo tem o objetivo de investigar como as habilidades cognitivas se relacionam com medidas do eletroencefalograma.

Metodologia: Foram obtidos os EEGs de 70 indivíduos (CAAE 66854323.4.0000.5269) com idades entre 21 e 87 anos (média = 45,82; 36 mulheres). As gravações foram feitas em aparelho Nihon Kohden NK 1200 com montagem 10-20 (20 eletrodos) em 6 estados: repouso de olhos abertos [1] ou fechados [2], fotoestimulação em baixas [3-low] ou altas frequências [3-high], realizando cálculos [4], tarefa *oddball* [5] e escutando música [6]. Os participantes tiveram suas HCs avaliadas por 13 testes da Escala Wechsler de Inteligência para Adultos (WAIS-III). O desempenho nos testes é ponderado a fim de reduzir o efeito da idade. As medidas neurofisiológicas foram a análise de complexidade e o potencial evocado P300. A complexidade do sinal do EEG é uma medida física relacionada à entropia. Ela emerge das correlações de longa distância que compõem um sistema. Neste estudo, empregamos a q-estatística para sua mensuração. Já o P300 é detectado durante a estimulação *oddball*, na qual apresenta-se ao indivíduo estímulos frequentes e raros aleatoriamente. Uma deflexão positiva no sinal ocorre cerca de 300 milissegundos após os estímulos raros, estando relacionada à alocação da atenção e à atualização da memória. Utilizou-se estimulação auditiva: tons graves frequentes (500hz, 85% dos tons) e agudos raros (1000hz, 15%). O participante foi orientado a pressionar um botão ao ouvir o som agudo. A complexidade dos sinais foi obtida no Python e as medidas do P300 no MatLab. As análises estatísticas foram realizadas no R utilizando correlações de Spearman com correção de Benjamini-Hochberg.

Resultados: Como resultados, foram observadas correlações negativas entre o teste de velocidade de processamento Códigos e a CN total do cérebro. A maior magnitude foi com a CN durante a estimulação *oddball* ($\rho = -0,53$). A análise dos eletrodos mostrou que a correlação era mais forte ($\rho = \text{de } -0,32 \text{ a } -0,47$) nos eletrodos fronto-centrais (Fz, F3, F4, Cz, C3 e C4). Esse resultado indica que maior velocidade visuomotora relaciona-se a sinais mais regulares, sobretudo na região fronto-central. Além disso, foi observada correlação negativa ($\rho = -0,28$) entre a latência do P300 e o teste Dígitos, que avalia memória operacional. A correlação foi maior com a quantidade de dígitos que o indivíduo consegue memorizar ($\rho = -0,45$), sugerindo que maior velocidade na atividade da P300 está relacionada a maior *span* da memória operacional.

Conclusão: Conclui-se que melhores desempenhos em alguns testes de HC estão associados a menor complexidade do sinal do EEG ou menor latência de resposta.

Apoio financeiro: Fiotec.

P-053 - EXPOSIÇÃO AO ETANOL INDUZ REATIVIDADE E PLASTICIDADE DE CÉLULAS GLIAIS: EFEITOS DE CURTA E LONGA DURAÇÃO

Julia Huber Ferreira¹, Mariana Pereira de Freitas¹, Rafaela de Mendonça Farjado¹, Elis Freire Murahovschi¹, Luana da Silva Chagas¹; Paula Campello¹, Claudio A. Serfaty¹. ¹Laboratório de Plasticidade Neural, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Brasil

Introdução: Transtornos do espectro alcoólico fetal, decorrentes da exposição pré-natal ao álcool, estão associados à neuroinflamação e a déficits na plasticidade neural durante o desenvolvimento. A relação do canabidiol (CBD), um fitocanabinoide, com doenças neurodegenerativas e do neurodesenvolvimento têm sido objeto de estudos devido ao seu potencial anti-inflamatório e antioxidante.

Objetivos: Este estudo avalia o impacto a curto e longo prazo da exposição a baixas doses de etanol durante a primeira semana pós-natal em ratos, análogo ao terceiro trimestre gestacional em humanos, e o papel do canabidiol (CBD) como um fitocanabinoide imunomodulador.

Métodos: Ratos Lister Hooded foram tratados com etanol 25% (1g/kg i.p.) nos dias pós-natais (DPN) 4, 6 e 8 e CBD 40% (10 mg/kg, via oral), do DPN4 ao DPN21 (CEUA/UFRJ 4983140219).

Resultados: Os resultados revelaram que a exposição precoce ao etanol promoveu uma redução na capacidade plástica de axônios retinocoliculares intactos após uma lesão de retina unilateral restrita no DPN14 (N=6, p<0,0016). Além disso, observamos no Colículo Superior que o etanol transitoriamente o perfil fenotípico de células microgliais em DPN10, seguido por um aumento na imunorreatividade dos astrócitos no DPN14 (N=4, p<0,0146). Ambos os efeitos foram prevenidos pelo tratamento com CBD. Nos testes comportamentais realizados no DPN100, os animais expostos ao etanol apresentaram déficits significativos nas tarefas de reconhecimento de novos objetos, no teste da caixa clara/escura e no labirinto em cruz elevado (N=11). No entanto, esses prejuízos comportamentais foram atenuados pela coadministração de CBD durante o período crítico de desenvolvimento. Ainda no DPN100, a exposição precoce ao etanol resultou em uma redução da quantidade e espessura dos processos microgliais acompanhado por uma menor intensidade de fluorescência para IBA-1 e de GFAP no hipocampo (N=6). Os efeitos foram sexo dependentes e variam de acordo com a região do hipocampo analisada.

Conclusão: Portanto, a exposição ao álcool durante o desenvolvimento altera o perfil fenotípico das células gliais, o que pode estar associado à redução da capacidade plástica que pode ser prevenida pelo tratamento com CBD. Além de promover alterações de longo prazo no comportamento dos animais e nas células gliais.

Apoio financeiro: CAPES, CNPq, FAPERJ, INCT-NIM

P-054 - ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS E GLIAIS EM UM NOVO MODELO ANIMAL DE TEMPESTADE DE CITOCINAS

Barreto, K.F.*; Souza-Abreu, G¹; Campos, R.M.P.; Pimentel-Coelho, P.M.¹, Laboratório de Neuropatologia Experimental – Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho – UFRJ

Introdução: O termo “tempestade de citocinas” é usado para descrever o mecanismo de resposta imunológica em que há liberação de grandes quantidades de citocinas na circulação sistêmica, como o Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- α) e a Interleucina 6 (IL-6). Em resposta a uma infecção, a tempestade de citocinas mediada pelo sistema imune pode causar danos neurológicos.

Objetivo: O objetivo desse trabalho foi desenvolver um modelo murino para estudo dos efeitos de uma tempestade de citocinas sistêmica.

Metodologia: Para este estudo (CEUA-CCS UFRJ #063/22), foram utilizados camundongos C57BL/6, de ambos os sexos, (3-4 meses de idade), subdivididos em quatro grupos experimentais: grupo veículo, o qual recebeu salina via intraperitoneal (i.p.), grupo IL-6 (15 µg de IL-6 i.p.), grupo TNF- α (9 µg de TNF- α i.p.), e grupo IL-6+TNF- α (9 µg de IL-6 + 15 µg de TNF- α i.p.). Os testes de rotarod e *sickness behaviour* foram realizados antes das injeções. Seis horas após a injeção, os animais foram submetidos a ambos os testes novamente, além do teste de campo aberto. A eutanásia foi feita 24 horas após a injeção, e os cérebros recolhidos para análise imuno-histoquímica, a fim de quantificar a expressão da Proteína Ácida Fibrilar Glial (GFAP), um marcador astrocitário, no hipocampo.

Resultados: A injeção de IL-6+TNF- α aumentou o score de *sickness behavior*, tanto em machos ($p=0,0246$) quanto em fêmeas ($p=0,0054$). Em fêmeas, a injeção de IL-6 e TNF- α isoladamente também causou aumento na pontuação do *sickness behaviour* em comparação a animais controles ($p=0,0276$ e $p=0,0048$, respectivamente). No teste do rotarod, machos apresentaram redução do tempo de permanência ($p=0,0213$) após injeção de TNF- α . No teste de campo aberto, fêmeas do grupo TNF- α apresentaram aumento de tempo imóvel após injeção de TNF- α e IL-6+TNF- α em comparação com o grupo controle ($p=0,450$ e $p=0,247$, respectivamente). Não houve alterações significativas na distância percorrida por fêmeas pós-citocinas. Em machos, apenas o grupo TNF- α apresentou redução da distância total percorrida e aumento no tempo imóvel em comparação com o grupo controle ($p=0,0247$ e $p=0,0298$, respectivamente). A análise de imuno-histoquímica revelou aumento da porcentagem de área GFAP-positiva nas regiões hipocampais CA1, CA3 e giro dentado em fêmeas do grupo IL6+TNF- α ($p=0,0048$; $p=0,0458$; $p=0,0237$, respectivamente). Em machos, a quantificação de GFAP pós-injeção de citocinas não apresentou alteração significativa em nenhum dos grupos.

Conclusão: Em geral, a injeção de citocinas causou comportamentos característicos de animais debilitados, associados à maior reatividade de astrócitos e micróglia, especialmente em fêmeas, em áreas cerebrais relacionadas à cognição e à memória.

Apoio financeiro: CAPES.

P-055 - SENESCÊNCIA ASTROCITÁRIA HUMANA: UM NOVO MODELO PARA COMPREENDER O ENVELHECIMENTO DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

ESTEVES, L. C.¹, SIQUEIRA, M. S.¹, CORRÊA, J. B. L. P 1., ALVES-LEON, S.^{2,3}, MARCONDES, J.^{2,4}, MATIAS, I.¹, GOMES, F. C. A.¹. ¹Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

²Hospital Universitário Clementino Fraga Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

³Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

⁴Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

Introdução: A senescência celular é um programa de resposta ao estresse caracterizada pela suspensão proliferativa irreversível, mediada pelas vias p53/p21^{cip1} e p16^{INK4A}/Rb, acompanhada por alterações transcriptômicas, epigenéticas e morfológicas que comprometem a homeostase tecidual. No envelhecimento do sistema nervoso central, o acúmulo de células gliais senescentes, como os astrócitos, contribui para a disfunção neuroglial e a neuroinflamação por meio do *Senescence-Associated Secretory Phenotype* (SASP), favorecendo o declínio da função neural e constituindo um mecanismo central na fisiopatologia de doenças neurodegenerativas. Apesar de sua relevância, modelos *in vitro* que reproduzam o fenótipo senescente de astrócitos humanos ainda são limitados, dificultando a elucidação dos mecanismos celulares e moleculares subjacentes à senescência astrocitária em humanos.

Objetivo: Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo padronizar um protocolo para a indução do fenótipo de senescência de astrócitos humanos *in vitro*. Para isso, culturas de astrócitos humanos derivados de tecido cortical de pacientes submetidos à cirurgia para epilepsia do lobo temporal com esclerose hipocampal (Hospital Universitário Carlos Chagas Filho; CAAE: 30038520.0.0000.5257; aprovação nº 3.986.070), foram tratadas com 10 µM de citarabina (AraC) por 48 h, seguidas de 8 dias *in vitro* (DIV) até a fixação. Posteriormente, as culturas tratadas e controles foram avaliadas por ensaios bioquímicos, morfológicos e moleculares, com análise estatística realizada no GraphPad Prism (teste t).

Resultados: Astrócitos expostos ao AraC apresentaram alterações em marcadores de senescência celular como aumento da imunomarcação para 53BP1 (1,6 vezes; p=0,017; n=4) e p53 (1,5 vezes; p=0,533; n=4) e aumento na atividade da enzima β-galactosidase (54 vezes; p=0,147 e; n=4). Além disso, apresentaram redução de 30% nos níveis da proteína de filamento intermediário de lâmina nuclear, lamina B1, no grupo senescente (p=0,052; n=4), reforçando o comprometimento da integridade nuclear. A análise morfológica mostrou ainda maior incidência de deformações nucleares nos astrócitos tratados (n=4), compatível com a instabilidade nuclear típica do fenótipo senescente.

Conclusão: Portanto, nossos dados preliminares apontam para a eficácia do protocolo aplicado, consolidando um modelo *in vitro* promissor para investigação dos mecanismos da senescência astrocitária humana e suas repercussões no envelhecimento.

Apoio financeiro: FAPERJ, CNPq, CAPES, Ministério da Saúde e Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia da Glia (iGLIA).

P-056 - CORRELAÇÃO ENTRE A EPILEPTOGÊNESE E ALTERAÇÕES NA ENTRADA SINÁPTICA EM INTERNEURÔNIOS POSITIVOS PARA SOMATOSTATINA APÓS A EXPOSIÇÃO PRÉ-NATAL AO ÁLCOOL EM CAMUNDONGOS

Heringer, L.D.S¹; Pontes T.M¹; Ciríaco P.S¹; Martinez A.M B¹; Mendonça R.H^{1,2}; 1. Programa de Pós-Graduação em Anatomia Patológica - Universidade Federal do Rio de Janeiro; RJ 2. Instituto de Biodiversidade e Sustentabilidade NUPEM; MACAÉ

Introdução: A exposição pré-natal ao álcool (PEA) é considerado um alarmante problema de saúde pública, estando associada a transtorno do espectro alcoólico fetal (FASD) e malformações corticais, sendo responsável por gerar alterações na via GABAérgica e epileptogênese. Interneurônios positivos para somatostatina apresentam aumento da frequência de disparo após malformações corticais epileptogênicas. Contudo, ainda não se sabe se a patogênese das epilepsias em indivíduos acometidos pela FASD envolve alterações na circuitaria de interneurônios positivos para somatostatina.

Objetivo: Avaliar a susceptibilidade a convulsões após a exposição pré-natal ao álcool e a correlação com alterações no número de sinapses excitatórias e inibitórias sobre neurônios positivos para somatostatina.

Metodologia: Camundongos suíços grávidas, com aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA), no 14º dia de gestação (GD14) receberam uma dose diária de etanol de 3,0g/kg a 30% (v/v) por administração oral de gavagem até o GD19, enquanto o grupo veículo recebeu água. No 12ºdia pós-natal (DNP12) foram induzidas convulsões por hipertermia, na qual os animais foram expostos a ar aquecido a 47-48°C até o surgimento de uma convulsão tônico-clônico generalizada, e a latência para o início das crises e a duração foram quantificadas. Crises também foram induzidas por pentilenotetrazol, onde foram avaliadas a duração das fases convulsivas pela escala de racine adaptada. Para quantificação do número de sinapses em neurônios inibitórios ou não, foi feita dupla marcação de imunofluorescência para somatostatina e VgluT1 ou VGAT em fatias corticais. As análises estatísticas foram realizadas através do t test student ou one sample t test, com valor de $p \geq 0,05$.

Resultados: A avaliação da latência para a convulsão por hipertermia, apresentou um aumento significativo no grupo etanol (SEM:292.6±11.87- n=19) quando comparado ao grupo controle (SEM:200.4±9.061- n=15). No entanto, na análise de convulsões pela escala de racine, evidenciou-se no grupo etanol um aumento significativo na duração da convulsão tônica (SEM:319±31.46 - n=8) comparado com o grupo veículo (SEM:106.2±32.93 - n=8). A avaliação da colocalização de células somatostatina positivas com vesículas VGLUT+ ou VGAT+, revelou que o grupo etanol apresenta um aumento significativo da colocalização das células com ambos os marcadores pré-sinápticos excitatórios e inibitórios quando comparadas ao grupo veículo.

Conclusão: Assim, os resultados evidenciam que a PEA compromete o equilíbrio entre os sistemas excitatórios e inibitórios. É possível que a alteração sináptica de entrada em interneurônios positivos para somatostatina sejam um fator-chave na alteração da circuitaria, comprometendo o controle da excitabilidade. Tais alterações sinápticas reforçam o papel da PEA como fator de risco para epileptogênese.

Apoio Financeiro: CAPES, FAPERJ, CNPQ.

P-057 - IMPACTOS DA RESTRIÇÃO NUTRICIONAL DE TRIPTOFANO NO DESENVOLVIMENTO DOS CIRCUITOS VISUAIS E ATIVAÇÃO MICROGLIAL

FREITAS, Mariana. P¹; GONZÁLEZ, Éricka M.C.¹; CHAGAS, Luana. S¹; MURAHOVSKI, Elis.F¹; FAJARDO, Rafaela. M¹; FERREIRA, Julia H.¹; SERFATY, Claudio A.¹Departamento de Neurobiologia, Universidade Federal Fluminense, RJ;

Introdução: O triptofano, aminoácido essencial e precursor da serotonina que atua no Sistema Nervoso Central como neurotransmissor, é fundamental para o desenvolvimento dos sistemas sensoriais e neuroplasticidade. A microglia desempenha um papel fundamental na neuroplasticidade no processo de sinaptogênese e moldando circuitos neurais através da poda sináptica. Alterações na homeostase levam à uma rápida ativação microglial, que modifica o perfil de expressão gênica e secreta moléculas pró inflamatórias. Além disso, a microglia também expressa receptores para serotonina.

Objetivo: Investigar o perfil fenotípico da microglia em condições de restrição nutricional de triptofano e sua possível relação com os déficits no desenvolvimento dos circuitos visuais, estabelecendo um paralelo entre o sistema serotoninérgico, a plasticidade estrutural do sistema visual e a microglia.

Métodos: Ratas Lister Hooded lactantes foram alimentadas com dietas controle ou restrita em triptofano desde o parto até o 21º dia pós-natal (DPN) (CEUA/UFRJ 4987081223). Analisamos o colículo superior através de uma injeção intraocular com um traçador neuroanatômico para marcar as projeções dos axônios retinotectais não cruzados no dia DPN 13 e a imunofluorescência para o marcador microglial IBA1 foi realizada em diferentes idades do desenvolvimento: DPN 7, 14 e 21, com n = 2 por grupo experimental.

Resultados: A dieta restrita em triptofano promoveu uma redução significativa na contagem de células imunorreativas para serotonina nos núcleos da rafe, além de alterar a organização retinotectal e o processo de eliminação axonal na prole no DPN 14. Essas alterações parecem estar associadas a um aumento na intensidade de marcação para IBA1, acompanhado de aparentes mudanças morfológicas na microglia e de maior densidade celular por área no colículo superior. Esse efeito indica uma alteração transitória, uma vez que não foi observado nos períodos correspondentes ao DPN 7 e 21.

Conclusão: Nossos dados indicam que a restrição de triptofano reduz a sinalização serotoninérgica e compromete a organização dos circuitos visuais, possivelmente por meio de alterações na ativação microglial. Esses achados reforçam a importância do equilíbrio nutricional na regulação da plasticidade neural e sugerem a participação da microglia na mediação dos efeitos da deficiência de triptofano sobre o desenvolvimento e a poda sináptica.

Apoio Financeiro: CAPES, CNPQ, FAPERJ, INCT-NIM

P-058 - CANNABINOIDS ACTIVATE ENDOPLASMIC RETICULUM STRESS RESPONSE AND PROMOTE THE DEATH OF AVIAN RETINAL MÜLLER CELLS IN CULTURE

1Silva, T. M., 1Ventura, A. L. M., 2França, G. R., 1Neurobiology Department, Fluminense Federal University, RJ. 2Department of Physiological Sciences, Federal University of the State of Rio de Janeiro, RJ.

Aims: In the developing retina, cannabinoids and nucleotides can control the balance between cell death and survival, proliferation and differentiation. Activation of cannabinoid CB1 or CB2 receptors induces the death of glial progenitors from the chick retina in culture. Here, by using an enriched retinal glial cell culture, we characterized some mechanisms underlying glial death promoted by cannabinoids.

Methods: This work was approved by the ethical committee (CEUA/ 806141221). Retinal cell cultures obtained from chick embryos with 8 days and maintained for 2-15 days were used. Viability of cells was determined by MTT reduction or LDH release. Cell morphology and protein content were accessed by immunofluorescence and western blotting. ROS content was determined using MitoSox and CM-H2DCFDA.

Results: WIN, CBD, and THC reduced cell viability in a dose- and time-dependent manner, with significant effects observed at concentrations $\geq 10 \mu\text{M}$. Treatment with $1 \mu\text{M}$ WIN or $10 \mu\text{M}$ CBD for 24 h significantly reduced MTT reduction and increased LDH release (~6-fold and ~9.5-fold, respectively). The deleterious effect of CBD, but not WIN, was blocked by the CB2 antagonist SR144528, suggesting a receptor-specific mechanism. WIN-treated cells exhibited large cytoplasmic vacuoles, which were absent when PBA was co-administered. WIN, CBD, and THC significantly increased eIF2 α phosphorylation (~2.3, 2.1, and 1.8-fold, respectively), indicating ER stress activation. WIN treatment markedly elevated ROS levels, with $60.8 \pm 6.1\%$ of cells positive for H2DCFDA compared to $11.3 \pm 1.2\%$ in controls ($p < 0.05$), whereas increases induced by CBD and THC ($25.1 \pm 5.6\%$ and $21.8 \pm 5.6\%$, respectively) were not statistically significant. WIN, CBD, and THC enhanced JNK phosphorylation without affecting p38 phosphorylation. WIN-treated cultures showed increased cleaved caspase-3 expression in 2M6+ glial cells. Co-treatment with salubrinal significantly attenuated WIN-induced cell death, LDH release, and cleaved caspase-3 expression.

Conclusion: These findings demonstrate that cannabinoids induce glial apoptosis in chick retinal cultures via mechanisms involving ROS production, ER stress, JNK activation, and caspase-3 processing. Pharmacological inhibition of ER stress with salubrinal or PBA mitigated these effects, suggesting potential therapeutic targets for modulating cannabinoid-induced cytotoxicity in developing neural tissues.

Financial Support: FAPERJ, CNPq, PROPOI-UFF, Capes.

P-059 - EFFECTS OF MATERNAL TOXOPLASMA GONDII INFECTION ON RETINAL ANGIOGENESIS IN MICE

Carolina Moreira dos Santos^{1*}, Gustavo Pinheiro de Araujo¹, Vladimir Pedro Peralva Borges Martins¹, Bárbara Gomes da Rosa¹, Victor L. Perez², Karin da Costa Calaza³, Daniel Adesse^{1,2}. ¹ Laboratório de Biologia Estrutural, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil; ² Laboratory of Ocular Immunology and Transplantation, Department of Ophthalmology, Bascom Palmer Eye Institute, University of Miami, United States of America; ³ Laboratório de Neurobiologia da Retina, Programa de Pós-graduação em Neurociências, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil.

Introduction: Congenital toxoplasmosis (CT) occurs when the parasite *Toxoplasma gondii* is transmitted vertically during pregnancy and is a significant public health concern. CT can lead to severe ocular and neurological malformations, with impacts in neurogenesis and angiogenesis. Herein, we aimed to evaluate the effect of congenital toxoplasmosis on neonatal retinal angiogenesis in mice.

Methods: The use of mice for this work was approved by the Committee for Ethics in the Use of Animals (IOC/Fiocruz, license L-038/2020). Pregnant female C57BL/6 mice were inoculated intragastrically on embryonic day 10 (E10) with two *T. gondii* cysts (ME49 strain). Control animals were inoculated with a brain macerate from an uninfected C57BL/6 mouse. Pups on postnatal day 5 and 14 (P5 and P14) were weighted and retinas were dissected for western blotting, RT-qPCR and immunohistochemistry analysis.

Results: We observed that mice from infected dams had lower weight at P5 (C: 2.938 ± 0.07 , n=52; I: 2.528 ± 0.04 , n=69; p<0.01), altered brain weight at P5 (C: 0.221 ± 0.004 , n=52; I: 0.207 ± 0.004 , n=69; p<0.05) and P14 (C: 0.398 ± 0.009 , n=30; I: 0.451 ± 0.007 , n=13; p<0.0001) and brain width at P5 (C: 0.821 ± 0.008 , n=31; I: 0.779 ± 0.004 , n=38; p<0.05) and P14 (C: 0.897 ± 0.03 , n=21; I: 0.963 ± 0.005 , n=13; p<0.01) when compared to age-matched controls. By confocal microscopy we observed a significant decrease in vessel area (C: 0.042 ± 0.001 , n=5; I: 0.036 ± 0.001 , n=3; p<0.05), number of vascular junctions (C: 177.8 ± 7.9 , n=5; I: 141.1 ± 11.89 , n=3; p<0.05) and total vessel length (C: 6.575 ± 0.2 , n=5; I: 5.583 ± 0.38 , n=3; p<0.05) in infected animals at P5. A significant decrease in the number of ascending sprouts from the deep vascular plexus to form the intermediate vascular plexus was also observed in infected retinas at P14. In addition, infected mouse retinas (P5) had a significant increase protein VEGF receptor 2 levels (C: 1 ± 0.06 , n=6; I: 1.522 ± 0.137 , n=7; p<0.01) and significant decrease in GFAP protein levels (C: 1 ± 0.08 , n=6; I: 0.67 ± 0.07 , n=6; p<0.05).

Conclusions: Our results indicate that the congenital *T. gondii* infection affects mouse development, including brain malformations and an impact on the retinal vasculature maturation and development. These findings recapitulate pathogenic events observed in human congenital toxoplasmosis.

P-060 - TRACE AMINE RECEPTOR 1 (TAAR1) modulates glutamate transport and CREB phosphorylation in mixed avian retinal cell cultures

Gonçalves-da-Silva, I., Paes-de-Carvalho, R., Department of Neurobiology and Neuroscience Program, Institute of Biology, Fluminense Federal University, Niterói, RJ.

Introduction: The interaction between dopaminergic and glutamatergic systems is observed in the central nervous system, including the retina, where dopamine stimulates glutamate release through excitatory amino acid transporters (EAATs). The TAAR1 receptor is an intracellular G protein-coupled receptor activated by trace amines and that can modulate the dopaminergic system.

Objectives: To analyze TAAR1 expression during development and its role in glutamate transport and CREB and AKT phosphorylation in intact retinas and retinal cultures.

Methods: The project is registered with the university ethics committee under number 9883070622. Retinal cultures obtained from 8-day-old (E8) chicken embryos were incubated for 3 days, serum-starved for 24 hours, washed, and treated with the TAAR1 agonist RO5256390 (RO, 1 nM) for 30 minutes. To assess TAAR1 expression as well as CREB and AKT phosphorylation, cells were lysed and subjected to Western blotting using anti-TAAR1, anti-phospho-CREB and anti-phospho-AKT antibodies, and re-stained with anti-total CREB, anti-total AKT, and α -tubulin antibodies, respectively. For glutamate uptake assays, the medium was removed and the plates washed with Hank's solution. A 10-minute preincubation with Hank's solution was followed by treatment for 10 or 30 minutes, with or without RO, and a 30-minute period with [3 H] D-Aspartate. The cells were then lysed with water, and the lysates were collected for radioactivity measurement by liquid scintillation spectroscopy.

Results: TAAR1 was detected in the retinas from E8 to E16, indicating its presence during development. In uptake assays, the TAAR1 agonist reduced D-Aspartate uptake at 10 minutes (CT 100%, RO 89.9 \pm 2.3, P = 0.0082) and 30 minutes (CT 100%, RO 86.6 \pm 3.4, P = 0.0287). The TAAR antagonist EPPTB blocked the decrease in uptake after 10 minutes. Furthermore, preliminary data indicate that RO treatment increased CREB and AKT phosphorylation, peaking at 10 minutes.

Conclusion: TAAR1 modulation by RO reduces D-Aspartate uptake, suggesting a role for these receptors in the regulation of EAATs in the retina. The increase in CREB phosphorylation after RO stimulation indicates the involvement of TAAR1 in modulating intracellular signaling. Finally, its presence throughout development suggests a potential regulatory role during neurogenesis and/or synaptic maturation in the retina.

Financial Support: CNPq, CAPES, Faperj, and INCT.

P-061 - ERK regulation by cyclic AMP is mediated by EPAC 1 and not by the EGFR/SHP2 axis in the developing avian retina

Pereira-de-Lima, J., Ximenes L.G. R., and Paes-de-Carvalho, R. Department of Neurobiology, Institute of Biology, Fluminense Federal University, Niterói, RJ, Brazil.

Background: Extracellular signal-regulated kinase (ERK) integrates multiple signaling pathways and is a key regulator of neuronal differentiation. ERK activation occurs through growth factor receptors including epidermal growth factor receptor (EGFR). This cascade leads to the sequential activation of RAF and MEK, resulting in ERK phosphorylation. Proteins such as SHP2 also modulate ERK in response to EGFR. Another important modulator is cAMP, which can activate PKA and EPAC, leading to ERK activation.

Objective: Here we aimed to study the effects of Forskolin (FSK), a direct adenylyl cyclase stimulator, on ERK and EGFR/SHP2 phosphorylation during chick embryo retina development.

Methods: The project is registered with the university ethics committee under number 9883070622. Retinas from chick embryos were pretreated with Hank's saline and treated or not with FSK for 30 minutes at 37°C. The samples were subjected to 9% SDS-PAGE electrophoresis and western blot using anti-p-SHP2 (Y542), anti-p-Erk1/2 (Thr202/Tyr204) and anti-p-p90RSK (Ser380) antibodies, and respective antibodies against total proteins. Membranes were developed on ChemiDoc (BioRad), quantified with ImageJ and analysed using Graphpad Prism software.

Results: In chicken embryo retinas, ERK phosphorylation was stimulated by FSK (50μM) at developmental stages E10 and E16, with maximum stimulation at 30 minutes. This effect was not inhibited by KT5720, a PKA inhibitor (CT 100%; FSK 170.4±15.7; KT-5720 104.7±8.6; FSK+ KT- 5720 191.6± 38.6; n=4; P<0.05), nor by ESI-05, an EPAC2 inhibitor (CT 100%; FSK 151.6 ±18.1; ESI-05 77.6 ± 23.5; FSK+ESI-05 184.3±36.2; n= 5, P<0.05), but was partially inhibited by the non-selective EPAC inhibitor ESI-09 (CT 100%; FSK 151.4±11.4; ESI-09 63.5± 27.1; FSK+ ESI-09 42.0±2.1;n=4; P<0.01), and blocked by the EPAC1 inhibitor CE3F4 (CT 100%; FSK 164.1±9.3; CE3F4 73.5±15.3; FSK+CE3F4 93.7±11.1;n=2). Accordingly, we also found that FSK stimulated RSK phosphorylation (CT 100%; FSK 199.2±54.1; n=4; P= 0.05), a known ERK downstream effector. On the other hand, FSK decreased SHP2 tyrosine phosphorylation in E13 retinas (CT 100%; FSK 73.9±11.1; n=4; P= 0,05).

Conclusion: Our results showed that increased cyclic AMP levels induced by FSK in chicken embryo retinas resulted in increased ERK and RSK phosphorylation at E10 or E16 and that this effect is mediated by EPAC 1 and not by PKA or EPAC 2. Unlike the activation observed for ERK, FSK exerted an inhibitory effect on SHP2 phosphorylation, indicating that cAMP may act as a negative regulator of the EGFR/SHP2 pathway.

Suppted by CNPq, Faperj, Capes and INNT

P-062 - SEXUAL DIMORPHISM IN ASTROCYTE AGING: MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR INSIGHTS

João Pacca-Correla, Beatriz Martins, Luan Diniz, Isabella V. Damico, Michele Siqueira, Ana Paula B. Araujo, Isadora Matias and Flávia C. A. Gomes. Institute of Biomedical Sciences, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.

Studying aging is essential for addressing health-related issues and promoting a better quality of life for society. Astrocytes are glial cells that play a key role in synapse formation and plasticity on CNS. Astrocyte dysfunctions are associated with several age-related diseases. Despite increasing interest in astrocyte heterogeneity, including sex-related differences, little is known about their phenotype during aging and how it may vary between sexes. Here, we investigated the morphological and molecular profiles of astrocytes in aging experimental models. We analyzed molecules involved in astrocytic activation such as C3, lipocalin 2 (LCN2), GFAP, and S100A10 on hippocampal tissues from young (2–5 months) and aged (18–24 months) C57BL/6 mice. Astrocyte morphology was analyzed by immunostaining for GFAP and LCN2, followed by analysis by fiji-imageJ (by Simple Neurite Tracer plugin). We also used an *in vitro* model of astrocyte senescence, where astrocytes were maintained for 30–35 days *in vitro* (DIV) (senescent astrocytes) or 7–10 DIV (control astrocytes). GFAP immunostaining revealed astrocyte hypertrophy in the dentate gyrus (DG) of aged mice, with male mice exhibiting a ~50% ($p=0,0025$) increase and female mice a ~30% ($p=0,0001$) increase in total process length and total number of processes compared to young astrocytes ($p=0,007$ – males; $p=0,0024$ – females) (young male: n=8; aged male: n=8; young female: n=8; aged female: n=9). Corroborating these findings, Sholl analysis confirmed the greater morphological complexity of DG astrocytes in aged mice compared to young ones, with female astrocytes appearing more hypertrophic than male astrocytes (n=171 analyzed cells; n=103 male cells; n=65 female cells; 2way ANOVA: $p<0,0001$). We also observed increased levels of LCN2 on female aged animals compared to the young ones ($p=0,027$) (young: n=4; aged: n=5). Additionally, senescent astrocyte cultures showed a reactive phenotype, as indicated by increased levels of LCN2, C3, and S100A10 compared to control cultures ($p=0,03$) (control: n=3; senescent: n=3). Our findings suggest that morphological and molecular changes in astrocytes may correlate with a reactive phenotype and cellular dysfunctions observed in the aging brain, potentially indicating sex differences in this context. The protocols of this study were approved by the Research Ethics Committees of UFRJ (CEUA process number: 01200.001568/2013-87; protocol number: 006/18) and University Medical Center Utrecht. Support: CNPq, CAPES, FAPERJ, Ministério da Saúde, Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia da Glia (iGLIA).

P-063 - Ativação do receptor nicotínico alfa 7 controla vias inflamatórias e antioxidantes em células da retina de ratos neonatos

^{1,2}Santos, L.C., ¹Araújo, M. C. R., ^{2,4}Giestal-de-Araujo, E., ³Lyra, R.M, ^{1,2}Santos, A.A., ¹Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Instituto Biomédico, UFF, Niterói, RJ. ²Pós-graduação em Neurociências, UFF. ³Instituto Estadual do Cérebro, RJ. ⁴Departamento de Neurobiologia, Instituto de Biologia, UFF. ⁵INCT-NIM

Introdução: O receptor nicotínico alfa 7 de acetilcolina (α 7nAChR) regula a inflamação modulando fatores antioxidantes e inibindo vias inflamatórias. Sua ativação estimula o fator de transcrição Nrf2, responsável pela expressão de enzimas antioxidantes, e inibe o NFkB, reduzindo a produção de citocinas inflamatórias. Estudos anteriores do grupo mostraram que o agonista do α 7nAChR, PNU282987, aumenta a sobrevivência de células ganglionares da retina de ratos em cultura.

Objetivo: Investigar se a ativação do α 7nAChR modula vias inflamatórias e antioxidantes em culturas de células da retina de ratos neonatos submetidas à axotomia, avaliando o impacto do PNU282987 sobre Nrf2, NFkB, HO-1, SOD, IL-1 β e TNF- α .

Métodos: Culturas de retina foram obtidas de ratos Lister-Hooded neonatos (P2) e mantidas a 37°C, 5% CO₂. As células foram tratadas com PNU282987 (100 nM) por 45 minutos ou 48 horas. Os níveis de Nrf2, NFkB e HO-1 foram avaliados por Western blot, e as expressões de HO-1, SOD, IL-1 β e TNF- α por RT-qPCR, normalizadas por Gapdh e β -actina. Os dados foram analisados no GraphPad Prism 8.0.2 (teste t de Student, $p<0,05$). CEUA/UFF nº 2157110922.

Resultados: O PNU282987 aumentou os níveis de Nrf2 em 45 minutos (CT=0,172 ± 0,034; PNU=0,346 ± 0,029; *p=0,0188; n=3) e após 48 horas (CT=0,033 ± 0,008; PNU=0,178 ± 0,048; *p=0,0422; n=3). Não houve alteração nos níveis de HO-1 em 45 minutos (CT=0,177 ± 0,016; PNU=0,118 ± 0,019; p=0,0794; n=3) ou 48 horas (CT=0,311 ± 0,065; PNU=0,307 ± 0,092; p=0,9504; n=3). Não houve alteração na expressão de HO-1 (CT= 0,0145 ± 0,0022; PNU= 0,0125 ± 0,0032; p< 0,2674; n=4) ou SOD (CT= 0,0545± 0,0110; PNU= 0,0437 ± 0,0070; p< 0,2278; n=4) em 24 horas. No entanto, ocorreu uma redução na expressão de HO-1 em 48 horas (CT= 0,0154± 0,0032; PNU= 0,0116 ± 0,0036; *p< 0,0327; n=4) assim como da SOD (CT= 0,0581± 0,0052; PNU= 0,0339 ± 0,0089; *p< 0,0355; n=4). O PNU282987 diminuiu os níveis de NFkB em 45 minutos (CT=0,349 ± 0,057; PNU=0,141 ± 0,029; p=0,0051; n=3) e 48 horas (CT=1,806 ± 0,319; PNU=0,889 ± 0,363; p=0,0304; n=3), e reduziu a expressão de TNF- α em 24 horas (CT= 0,001± 0,0002; PNU= 0,0009 ± 0,0001; *p< 0,0262; n=4) e 48 horas (CT= 0,002 ± 0,0004; PNU= 0,002 ± 0,0003; *p< 0,0230; n=4), e de IL-1 β em 24 horas (CT= 0,009 ± 0,001; PNU= 0,006 ± 0,001; *p< 0,0449; n=4). Entretanto, este tratamento não alterou a expressão da IL-1 β em 48 horas (CT= 0,013 ± 0,002; PNU= 0,010 ± 0,002; p= 0,091; n=4).

Conclusão: A ativação do α 7nAChR pelo PNU282987 promove efeito neuroprotetor em culturas de retina, aumentando a ativação do Nrf2 e reduzindo a via inflamatória mediada por NFkB e citocinas pró-inflamatórias. Esses resultados sugerem que a modulação das vias antioxidantes e anti-inflamatórias contribui para a sobrevivência neuronal induzida pela ativação do α 7nAChR.

Apoio: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro – FAPERJ; Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES.

P-064 - O RECEPTOR A2A DE ADENOSINA REDUZ A CAPTAÇÃO DE SEROTONINA E REGULA A MORTE CELULAR NA RETINA DE AVES EMBRIONÁRIAS

1 Sousa, L.F., 2 De Moura, P., 3 Pinheiro, L. P., 4 De Melo Reis, R.A., 5 Manhães, A.C., 6 Kubrusly, R.C.C. 1 Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro. 2 Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro. 3 Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro. 4 Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro , Rio de Janeiro. 5 Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 6 Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro.

Introdução: A cafeína, antagonista não seletivo dos receptores de adenosina (A1 e A2A), modula sistemas como o serotoninérgico, mas seus efeitos de interação com a serotonina e em sistemas embrionários são pouco explorados.

Objetivo: Investigar os impactos da cafeína na circuitaria serotoninérgica em retinas de embriões de galinha (E15), focando em A1R e A2AR e na viabilidade celular.

Métodos: Retinas foram tratadas com cafeína ($200 \mu\text{M}$,30 min) e analisadas por ensaios de captação/liberação de [^3H]-5-HT, Western Blot (A1R e A2AR) e análise de Lactato desidrogenase (LDH). Dados expressos como média \pm EPM em CPM/PTN, % ou u.a., sendo $p < 0,05$ significativo. CEUA038/19.

Resultados: A captação de [^3H]-5-HT reduziu sob baixa temperatura (CTRL = $2918 \pm 207,5$; $4^\circ\text{C} = 1719 \pm 227,5$; $n = 8-9$), ausência de Na^+ ($1374 \pm 151,7$; $n = 8$), fluoxetina ($1408 \pm 190,5$; $n = 9$), cafeína ($1621 \pm 162,2$; $n = 9$) e antagonista A2AR (SCH 58261; $1991 \pm 233,4$; $n = 4$), mas não com bloqueio de A1R (DPCPX; $2366 \pm 369,6$; $n = 4$). A cafeína aumentou LDH (CTRL = $57 \pm 2,86$; CAF = $69 \pm 1,47$; $n = 4$), indicando morte celular. A expressão de A1R ($1,06 \pm 0,43$) e A2AR (12653856 ± 3536244 ; $n = 2$) foi confirmada em E15. A liberação de [^3H]-5-HT não foi alterada pela cafeína (CTRL = $11,03 \pm 1,16$; CAF = $11,55 \pm 0,65$; $n = 4$). A inibição da PKA (H-89) reduziu a captação isoladamente ($1465 \pm 258,84$; $n = 7$) e combinada com a cafeína ($1587 \pm 226,47$; $n = 7$).

Conclusão: A cafeína modula o sistema serotoninérgico em retinas embrionárias via antagonismo do A2AR e inibição da PKA, além de induzir morte celular.

Apoio financeiro: CNPq, Capes, PROPPI-PIBIC, FAPERJ.

P-065 - ESTUDO DA ATIVAÇÃO DA VIA DA CSK-C-SRC PELOS 3-O-CAFEOLQUÍNICO E ÁCIDO CAFEICO E SEU PAPEL NA VIABILIDADE DE GLIOBLASTOMAS.

Brandão M.V^{*1}; Coelho, M.E^{*1}, Melo, V.¹; Garcia, C.G.²; Cossenza, M.^{1,3}

¹Laboratório de Farmacologia Molecular, Departamento de Farmacologia e Fisiologia (MFL), Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, ²UNIAN/Niterói-RJ , ³ PPG em Neurociências, *Os autores contribuíram igualmente neste trabalho.

Introdução: Os glioblastomas multiformes (GBMs) são tumores cerebrais agressivos de grau IV com alta taxa de recorrência e prognóstico desfavorável, apresentando média de sobrevida de dois anos. A terapia padrão, que inclui cirurgia, quimioterapia e radioterapia, mostra-se limitada. Estudos indicam que a atividade elevada da proteína Src contribui para a progressão dos GBMs, enquanto a proteína CSK, endógena, atua como inibidora da Src por fosforilar seu resíduo Y530. Pesquisas de nosso laboratório sugerem que a modulação da via CSK-Src, através de polifenóis do café, como ácido cafeico e ácido 3-O-cafeoilquínico, pode ser uma abordagem promissora

Objetivos: Avaliar a relevância da via da CSK/Src para a redução da viabilidade de células de U87 *in vitro* tratadas com CFA (Ácido Cafeico) e 3-CQA (Ácido 3-O-Cafeoilquínico)

Metodos: Células U87 foram cultivadas em meio DMEM F-12 + 10% de soro fetal bovino (SFB) e 1% de antibiótico a 37°C com 5% de CO₂. Para a viabilidade e morte celular, foram semeadas 10.000 células/poço em placa de 24 poços e tratadas com CFA e 3-CQA em diferentes concentrações por 48 horas em meio sem SFB. Após lavagens com Hanks' foram utilizadas as sondas hoechst, calceína e homodímero de etídeo (EthD1) seguido de quantificação das micrografias de fluorescência. Os níveis de pCSK/CSK, pY530Src/Src, pY416Src/Src e pERK/ERK foram analisados por Western blot após 48 horas de tratamento com diferentes concentrações de CFA e/ou 3-CQA com uma densidade celular de 100.000 células/poço. A quantificação foi feita pelo software Image J e análise estatística feita por ANOVA com pós-teste Sidak's. A linhagem comercial U87 foi obtida da American Type Culture Collection – ATCC. N° CEUA: não se aplica.

Resultados: Observou-se um efeito bifásico na viabilidade das células determinado pela marcação de Hoechst com ausência de EthD1, no qual há um aumento entre 20-40% células viáveis até a concentração de 125µM quando tratadas com ambos os polifenóis, seguido de um decaimento dessa viabilidade de forma concentração-dependente (CFA: 5000 ± 1225 EPM/n=2); (3-CQA: 5000 ± 1225/n=1). Ensaios de Western blot revelaram um aumento da fosforilação da Csk (*P=0.0421/n=4) e do resíduo Y530 da Src (**P=0.0060 n=4). A fosforilação do resíduo Y419 da Src (*P=0.0077/n=3) e da ERK (**P=0.0019/n=5) sofreram redução de forma concentração-dependente.

Conclusão: O 3-CQA e o CFA parecem aumentar a inibição da Src e diminuir a viabilidade celular dos glioblastomas a partir da concentração de 125µM.

Apoio financeiro: FAPERJ; CAPES; PROPPI-UFF; CNPq.

P-066 -DISFUNÇÕES NOS TRANSPORTADORES DE GLUTAMATO (EAAT1/EAAT2) E NO PERFIL DE REATIVIDADE ASTROCITÁRIA NA ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA

¹Martins, R.S., ¹Botelho, A.A., ¹Loss, J.V., ¹Souza, L.R.Q., ¹de Carvalho, L.P., ²Silva, S.A.T., ³Kubrusly, R.C.C., ²Trindade, P., ⁴Vasques, J.F., ⁴Gubert, F. ¹Mendez-Otero, R. ¹Laboratório de Neurobiologia Celular e Molecular, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil; ²Laboratório de Neuroimunologia e Desenvolvimento, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil. ³Laboratório de Neurofarmacologia, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Pós-Graduação em Neurociências, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Brasil. ⁴Laboratório Compartilhado 1, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

Introdução: A Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA) é uma doença neurodegenerativa marcada pela perda progressiva de motoneurônios, associada à excitotoxicidade glutamatérgica e à disfunção dos transportadores EAAT1/EAAT2. Além de também está associada à neuroinflamação que induz astrócitos a assumir fenótipos A1 neurotóxico ou A2 neuroprotetor, modulados por citocinas como TNF- α , IL-1 α e IL-1 β .

Objetivo: Investigar as disfunções no EAAT1 e EAAT2 e as alterações no perfil de reatividade astrocitária em astrócitos derivados de iPSCs de pacientes com ELA.

Métodos: Foram utilizadas três linhagens de astrócitos controles (CTRL) derivadas de indivíduos neurotípicos (XY, 62; XY, 37; XY, 31 anos) e duas linhagens de pacientes com ELA: ELAf SOD1 (F21C) (XT, 49 anos) e ELAf VAPB (P56S) (XY, 58 anos). As células foram caracterizadas por imunocitoquímica (GFAP, vimentina, EAAT1/EAAT2) e western blot, e a captação de [³H]-D-Aspartato avaliada com bloqueadores (DL-TBOA, DHK – 10, 25, 50 e 100 μ M) e após tratamento com TNF α (1, 2,5, 5 e 10 ng/ml), IL-1 α e IL-1 β (1, 5, 10 e 50 ng/ml). CEP: 1.763.786.

Resultados: Todas as linhagens apresentaram marcação positiva para GFAP e vimentina. A captação foi menor em astrócitos de pacientes com ELA comparados aos CTRLs ($F(4,128)=13,52; P<0,0001$), com menor captação em SOD1 versus VAPB ($P=0,0190$). O bloqueador DL-TBOA reduziu a captação nos CTRLs (XY,62: $F(4,88)=19,75; P<0,0001$; XY,37: $F(4,106)=4,29; P=0,0029$; XY,35: $F(4,54)=8,03; P<0,0001$), enquanto nas linhagens ELA o efeito ocorreu a partir de 25 μ M em SOD1 ($F(4,38)=4,00; P=0,0083$) e 10 μ M em VAPB ($F(4,85)=11,52; P<0,0001$). O bloqueador DHK reduziu a captação nos CTRL (XY,62: $F(4,83)=5,31; P=0,0007$; XY,37: $F(4,95)=5,06; P=0,0010$) e apresentou efeito parcial na linhagem XY,35 ($F(4,64)=2,29; P=0,0687$), enquanto em SOD1 ($F(4,67)=2,858; P=0,0300$) e VAPB ($F(4,71)=2,201; P=0,0399$) ocorreu apenas em 100 μ M. Astrócitos ELAf SOD1 mostraram redução de EAAT1 ($F(2,7)=18,26; P=0,0017$) e aumento da densidade total do EAAT2 ($t=3,37, df=6; P=0,0149$). O TNF α reduziu a captação em todas as linhagens CTRLs (XY,62: $F(4,25)=5,23; P=0,0033$; XY,37: $F(4,88)=10,66; P<0,0001$; XY,35: $F(4,35)=9,49; P<0,0001$), e na SOD1 ($F(4,65)=5,263; P=0,0010$), porém na VAPB o efeito foi a partir de 2,5 ng/mL ($F(4,49)=3,82; P=0,0087$). A IL-1 α apresentou tendência de reduzir a captação em SOD1 (Basal: $100\pm6,99$; 1ng/ml: $90,87\pm7,19$; 5ng/ml: $87,57\pm6,09$; 10ng/ml: $85,86\pm10,41$; 50ng/ml: $98,41\pm6,10$), e no CTRL houve uma redução ($F(4,21)=165,3; P<0,0001$). A IL-1 β aumentou a captação em 5 ng/mL na CTRL ($F(4,21)=5,27; P=0,0042$), mas em SOD1 houve uma redução ($F(4,22)=11,11; P<0,0001$).

Conclusão: Os resultados destacam o EAAT2 como alvo terapêutico e reforçam o papel das citocinas na regulação do equilíbrio entre respostas astrocitárias neuroprotetoras e neurotóxicas.

Apoio Financeiro: FAPERJ, CNPQ, Capes

P-067 - PARA ALÉM DA DIABETES: EFEITOS DA METFORMINA NA INFECÇÃO POR *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* IN VITRO E IN VIVO

Ferreira, Aléxia Micaella da Silva^{1,2*}; Ferreira-Costa, Marina^{1,2}; Castro, Léo^{1,2}; Santos, Francisco da Silva^{2,3}; Castro-Faria-Neto, Hugo¹; Bozza, Patricia¹; Gonçalves-De-Albuquerque, Cassiano^{1,2,3}; Silva, Adriana Ribeiro^{1,2,3}. ¹Laboratório de Imunofarmacologia e Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, IOC, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brasil; ²Laboratório de Imunofarmacologia e Programa de Pós-Graduação em Biologia Molecular e Celular, UNIRIO, Brasil; ³Programa de Pós-Graduação em Neurociências, UFF, Brasil

Introdução: A *Klebsiella pneumoniae* desempenha um papel importante em casos documentados de pneumonia e foi declarada pela OMS como uma das bactérias resistentes aos antimicrobianos (AMR) que suscitam preocupação. A nível molecular, o aumento da expressão de citocinas pró-inflamatórias, como IL1β e IL-18 são vistos na sepse, e em nível celular, as células da microglia estão fortemente envolvidas na inflamação no cérebro, havendo assim uma neuroinflamação decorrente da sepse. Considerando os medicamentos que já têm eficácia comprovada, a metformina, uma substância usada para tratar diabetes tipo 2, também possui efeito anti-inflamatório e pode atravessar a barreira hematoencefálica.

Objetivos: Estudar a possibilidade de reposicionar a metformina, visando reduzir os marcadores inflamatórios da inflamação da *K. pneumoniae*.

Métodos: Utilizando três concentrações diferentes de metformina (0,5 mM, 1 mM e 2 mM) como pré-tratamento e dois MOI (multiplicidade de infecção) de *K. pneumoniae* (2 e 20) em células BV2, analisamos os níveis de IL1β e IL6 após 24h de infecção. Para verificar os efeitos da metformina *in vivo*, estimulamos camundongos Swiss de 4-5 semanas de idade e aproximadamente 30g, com 5×10^8 bactérias por animal por instilação intratraqueal, tratando os animais com duas doses de metformina (200mg/kg) e analisamos 48h após a infecção (CEUA: L-005/2023).

Resultados: Nossos resultados mostraram um aumento de IL1β e IL6 nos modelos *in vitro* e *in vivo*, indicando que a *K. pneumoniae* induz uma resposta inflamatória em ambos. Com nosso tratamento, obtivemos uma redução desses marcadores inflamatórios em MOI 2 e 20 [IL1β K20 ($p=0,0001$); IL1β K2 ($p<0,0001$) N: 3; IL6 K20 ($p<0,0001$); IL6 K2 ($p<0,0001$) N: 2]. Observando se a *K. pneumoniae* pode alterar o fenótipo da microglia, vimos a diminuição da ramificação microglial com o estímulo da *K. pneumoniae* e o aumento com o pré-tratamento com metformina ($p<0,05$, N:1). *In vivo*, observamos uma diminuição nos níveis de TNFα no hipocampo ($p= 0,0097$, N:4) e uma redução nos níveis de IL1β no córtex ($p= 0,0096$, N:6) com a metformina.

Conclusão: Nossos resultados indicam que a metformina também pode ser usada como um medicamento anti-inflamatório para ajudar na recuperação da inflamação, reduzindo os marcadores inflamatórios moleculares e celulares.

Apoio Financeiro: IOC, FIOCRUZ, FAPERJ, CNPq, CAPES.

P-068 - CARACTERIZAÇÃO DOS EFEITOS INTRACELULARES DO RESVERATROL NA MODULAÇÃO DA MORTE INDUZIDA POR ESTRESSE OXIDATIVO EM NEURÔNIOS DE RETINA DE GALINHA

¹ Vieira, Ana L.F.; ¹ Pereira, R. S.; ¹ Pinto, P.F.S.A.A.; ^{2,3} Brito, R.; ^{1,3} Paes-de-Carvalho, R. e ^{1,3} dos Santos-Rodrigues, A. 1- Departamento de Neurobiologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, RJ. 2- Departamento de Biologia Celular e Molecular, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, RJ. 3- Programa de Pós-graduação em Neurociências, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, RJ.

Introdução: O estresse oxidativo (EO), causado pelo desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e a capacidade antioxidantcelular, resulta em danos ao DNA, peroxidação lipídica e oxidação proteica, podendo levar à morte celular. O tecido nervoso, especialmente os neurônios, é altamente sensível ao EO. O Resveratrol (RV) já demonstrou atividade neuroprotetora em diversos modelos, inclusive em neurônios da retina. Estudos sugerem que esta molécula pode modular diversas vias intracelulares, como a proteína SIRT1, as MAP quinases e o sistema purinérgico, além de estar associada à ativação do fator de transcrição Nrf2, que regula genes antioxidantes.

Objetivos: O objetivo deste trabalho é investigar as vias moduladas pelo resveratrol frente ao EO e a morte celular induzidos por peróxido de hidrogênio em culturas de neurônios da retina de galinha.

Métodos: Todos os procedimentos foram aprovados pelo CEUA-UFF sob protocolo número 3868290921. Culturas primárias de neurônios foram obtidas a partir de retina de galinha. As células foram pré-tratadas com RV (10uM) no segundo dia de cultura. A morte celular foi induzida pelo tratamento com H₂O₂ (10uM) por 24h. A viabilidade celular foi avaliada pelo teste do MTT. A produção de ROS pelas células foi medida por marcação com DHE. A ativação de Nrf2 foi investigada por imunocitoquímica. Para avaliar as vias de sinalização, foram utilizados inibidores e antagonistas: inibidor da SIRT1 (Ex-527 1uM), inibidor da MEK (U0126 10uM), antagonistas de receptores adenosinérgicos A1 (DPCPX 10uM) e A2a (ZM241385 100nM), adicionados 30 minutos antes do RV. Os dados foram analisados por ANOVA de uma via.

Resultados: A exposição ao H₂O₂ causou aumento de ânions superóxido nas primeiras horas (3h: 296,1 ± 178,7%), seguido por morte progressiva dos neurônios (18h: 39,21 ± 14,4%). O pré-tratamento com RV protegeu as células, resultando em menor perda de viabilidade (78,83 ± 26,21%) em comparação ao grupo exposto apenas ao H₂O₂ por 24h (22,98 ± 9,22%). A utilização do inibidor da SIRT1, Ex-527, não previneu o efeito neuroprotetor do RV (102 ± 31,35%). Similarmente, a inibição da MEK não alterou a sobrevivência das células tratadas com RV e H₂O₂ (115,2 ± 16,95%). O bloqueio do receptor A1 com DPCPX (91,13 ± 33,18%) e do receptor A2A com ZM 241385 (64,91 ± 35,22%) também não interferiram na neuroproteção promovida pelo RV. Em relação ao fator de transcrição Nrf2, nossos dados preliminares sugerem a manutenção deste fator no núcleo nas células tratadas com RV.

Conclusão: O resveratrol preserva a viabilidade de neurônios da retina expostos ao EO, mantendo ativa a resposta antioxidantmediada por Nrf2. A neuroproteção observada não depende da modulação de SIRT1, MEK ou dos receptores A1 e A2A. Esses resultados ressaltam o potencial do resveratrol frente a condições de EO e abrem caminho para futuras investigações sobre os mecanismos moleculares subjacentes à sua ação neuroprotetora.

Apoio Financeiro: PROPPI-UFF e CNPq

P-069 - DESENVOLVIMENTO DE UM MODELO IN VITRO DE EPILEPSIA UTILIZANDO CÉLULAS NEURAIS

^{1,2}SANTOS DE BRITO, C., ^{1,2}PALMERO QUINTANA, C.Y., ^{1,2}MENDONÇA, H. R. ¹NÚCLEO DE PESQUISAS ECOLÓGICAS DE MACAÉ, UFRJ, RJ. ²INSTITUTO DE CIÊNCIAS MÉDICAS, UFRJ, RJ.

Introdução: A epilepsia é uma condição neurológica na qual uma rede neural é funcionalmente alterada, criando um estado de hiperexcitabilidade celular que, de forma persistente e crônica, predispõe a crises espontâneas e recorrentes. Ela acarreta consequências neurobiológicas, cognitivas e sociais para os indivíduos diagnosticados. A pesquisa em epilepsia é tradicionalmente baseada em modelos *in vivo*, pois eles replicam com mais precisão a complexidade da atividade neural. No entanto, esses modelos acarretam desafios éticos de bem-estar animal. Modelos *in vitro* que empregam linhagens celulares imortalizadas, visando replicar partes cruciais da epileptogênese, são relevantes, uma vez que podem se tornar ferramentas úteis para a pesquisa na área, sem preocupações éticas e otimizando recursos como o espaço e o tempo.

Objetivos: Este estudo visa desenvolver um modelo *in vitro* para estudos em fase pré-clínica de epilepsia e epileptogênese utilizando células de neuroblastoma murino Neuro-2a (N2A) diferenciadas com ácido retinoico (RA).

Métodos: 5×10^5 células N2A foram cultivadas com *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM), suplementado com 10% de soro fetal bovino em placas de cultura de 24 poços. Para induzir a diferenciação celular, após 24 horas o meio foi substituído por RA (20 mM) em DMSO, que foi trocado diariamente por 3 dias, e a morfologia celular foi monitorada por microscopia de contraste de fase. Células com neuritos duas ou mais vezes o tamanho do soma foram consideradas diferenciadas. Um meio livre de magnésio foi adicionado para induzir a epileptogênese, avaliada pela medição dos níveis de K⁺ no meio e por imunocitoquímica (ICC) para Beta-3 tubulina e Sinaptofisina.

Resultados: O RA foi bem-sucedido na diferenciação de células N2A em células neurais. A ICC demonstrou a presença de terminais pré-sinápticos e citoesqueleto neuronal. Os níveis de K⁺ medidos após a incubação no meio livre de magnésio não foram significativamente alterados.

Conclusão: A diferenciação de células N2A em células neurais é alcançável utilizando RA. A variação na quantidade de potássio no meio isento de magnésio após a diferenciação não foi significativa para afirmar que houve epileptogênese. O protocolo de medição dos níveis de K⁺ requer ajustes para identificar sua relação com a atividade epileptiforme. Como próxima etapa, busca-se testar novos agentes como indutores de epileptogênese, como o glutamato e a glicina, além da análise de novos íons, como o cálcio intracelular. Objetiva-se por fim testar compostos antiepilepticos no modelo estabelecido para verificar sua ação a nível celular e possibilitar estudos sobre seu aprimoramento.

Apoio Financeiro: CNPQ, FAPERJ, PIBIC-UFRJ.

P-070 - CYCLIC AMP REGULATES PROTEIN SYNTHESIS IN CULTURES OF CHICKEN RETINAL CELLS

FARIA J.J., GUIMARÃES-SOUZA M., GONÇALVES-DA-SILVA I. and PAES-DE-CARVALHO R. Neuroscience Program and Department of Neurobiology, Institute of Biology, Fluminense Federal University, Niterói, RJ, Brazil

Introduction: Protein synthesis is fundamental for the regulation of cellular functions. New evidence indicates that local translation of synaptic proteins is crucial for CNS plasticity and formation of memories. Cyclic AMP (cAMP) is a second messenger involved with neuroprotection and differentiation. Forskolin (FSK), a direct stimulator of adenylyl cyclase, was used here to investigate the role of cAMP in the modulation of protein synthesis in the developing chick retina.

Methods: The project is registered with the university ethics committee under number 9883070622. Retina cultures obtained from 8-day-old chick embryos were incubated for 3 days, stimulated with FSK for 30 minutes or 24 hours and assayed for protein synthesis using the SUSET method and puromycin immunocytochemistry. The same samples were used to quantify CREB and AKT phosphorylation and the glutamatergic marker Vglut2 by western blot. Quantification and statistics were performed using ImageJ and GraphPad Prism programs.

Results: Incubation with forskolin (FSK) for 30 min reduced (CT 100%; FSK 84.9% ± 6.4; n= 7), while chronic exposure (24 hours) increased protein synthesis (CT 100%; FSK 132.2% ± 5.9; n= 7). FSK promoted an increase in CREB phosphorylation in 30 minutes (CT 100%; FSK 146.5% ± 10.2; n = 5), but a decrease was observed in 24 hours (CT 100%; FSK 67.81% ± 7.1; n = 5). We also analyzed the phosphorylation of AKT at Ser473 in cultures and observed that FSK promoted a decrease in 30 min (CT100%; FSK 88.8% ± 3.7; n = 3) but increased phosphorylation in 24 hours (CT100%; FSK 133.3% ± 17.3; n= 3). To analyze the effect of cAMP on the glutamatergic system we measured the vesicular transporter Vglut2 and found that this protein also decreased after FSK treatment (CT= CT100%; FSK 82,62% ±2.4; n=7). Immunocytochemistry from puromycin-treated cultures revealed protein synthesis in glial cell bodies and colocalized with TUJ1 in neuronal processes in the cultures.

Conclusion: This study showed that FSK regulates protein synthesis in chicken retina cultures, promoting a decrease in 30 min and increase in 24 hours. We observed a negative temporal correlation between CREB and protein synthesis and a positive correlation between AKT and protein synthesis. Our present hypothesis is that the regulation of protein synthesis by cAMP is linked to the AKT/ mTOR pathway. However, the exact causal mechanisms linking these signaling pathways, especially regarding the role of CREB and AKT/ mTOR in different temporal and functional contexts, remain to be investigated.

Financial Support: CNPq, Capes, Faperj and INNT.

P-071 - CARACTERIZAÇÃO DOS RECEPTORES CB2 DE CANABINOIDES E DO COMPORTAMENTO EM ANIMAIS SUBMETIDOS À INOCULAÇÃO AGUDA DE LPS: EFEITOS MODULATÓRIOS DA INTERLEUCINA-6.

NEVES, L.S.¹, CANTO, F. B.², CAMPELLO-COSTA, P. ¹. ¹Lab de Neuroplasticidade – Programa de Pós-Graduação em Neurociências – Instituto de Biologia – UFF. ² Lab de Tolerância Imunológica e Homeostase Linfocitária - Instituto de Biologia - UFF

Introdução: Os transtornos depressivos são complexos e caracterizados por manifestações emocionais, comportamentais, cognitivas e físicas. De acordo com a Organização Mundial da Saúde, o número de pessoas acometidas é crescente, sendo considerado um problema de saúde pública. Vários mecanismos biológicos vêm sendo associados aos transtornos, dentre os quais destaca-se a inflamação, com a produção e liberação de citocinas, como a interleucina-6 (IL-6), que levam a diversas disfunções no cérebro. A injeção intraperitoneal aguda de lipopolissacarídeos (LPS) desencadeia uma cascata inflamatória periférica que desencadeia uma neuroinflamação, com alteração de células gliais e comportamentos semelhantes aos depressivos. Diante deste cenário, potenciais alvos que possam mediar esses comportamentos e atenuar a inflamação têm emergido como importantes fatores de investigação. Um desses alvos é o sistema canabinoide, que desempenha papéis importantes no SNC, principalmente através de seus receptores clássicos CB1 e CB2.

Objetivos: Avaliar o GFAP, marcador astrocitário, e o receptor CB2 no modelo de comportamento tipo depressivo induzido por LPS e a influência da IL-6 neste cenário.

Métodos: Foram utilizados camundongos C57BL/6 machos wild-type (WT) e IL-6 knockout (KO), que foram submetidos a injeção intraperitoneal única com veículo ou LPS (0,83 mg/kg). O teste de suspensão pela cauda foi realizado a fim de verificar luta ou imobilidade. Posteriormente, o hipocampo dorsal (relacionado à memória espacial) e o ventral (relacionado ao controle emocional) e o córtex pré-frontal foram analisados pela técnica de western blotting.

Resultados: A análise de peso dos animais demonstrou que os grupos submetidos à injeção de LPS, seja WT ou KO, apresentaram perda após 24h e uma leve recuperação em 48h. No teste de suspensão pela cauda, os animais WT-LPS apresentaram um maior tempo de imobilidade quando comparados ao grupo veículo, enquanto no grupo KO a injeção de LPS reduziu o tempo de imobilidade, mostrando papel importante da IL-6. Além disso, a análise bioquímica demonstrou alterações no conteúdo de GFAP e uma possível modulação do receptor canabinoide CB2 pelo estímulo com LPS nos animais selvagens, mas não nos transgênicos. **Conclusão:** Em conjunto, os resultados demonstram que a IL-6 é importante para mediar os efeitos comportamentais induzidos pelo LPS e ainda os astrócitos e os receptores canabinoides como CB2, sendo essencial compreender como esses fatores em conjunto podem representar mecanismo importante nos transtornos depressivos.

Apoio Financeiro: CAPES, FAPERJ.

P-072 - TOXOPLASMA GONDII INDUZ ALTERAÇÕES MICROVASCULARES NA RETINA DE CAMUNDONGOS, COM ATIVAÇÃO ENDOTELIAL, INFLUXO DE CÉLULAS CITOTÓXICAS, MORTE CELULAR E CICATRIZ GLIAL.

1Borges-Martins, V.P.P.B.; 1Santos, C.M.; 1Rosa, B.G.; 1Araujo, G.P.; 1Campos, V.S.; 1,2Zhong, T.; 1,2Connolly, A.; 1Rodrigues, M.C.P.; 3Cascabulho, C.; 3Gonzaga, B.M.S.; 3Castro, L.L.; 4Alba, D.; 4Perez, V.L.; Garzoni, L.R.; 5Calaza, K.C.; 1,4Adesse, D. 1Laboratório de Biologia Estrutural, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, RJ, Brasil; 2Princeton University, Princeton, NJ, EUA; 3Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, RJ, Brasil; 4Bascom Palmer Eye Institute, University of Miami, Miami, FL, EUA; 5Instituto de Biologia, UFF, RJ, Brasil.

Introdução: A toxoplasmose ocular (TO) é uma das principais causas de uveíte infecciosa no mundo, levando à inflamação retiniana e comprometimento microvascular. O *Toxoplasma gondii*, um protozoário intracelular, induz alterações estruturais e inflamatórias na retina que contribuem para disfunção vascular e degeneração neuronal.

Objetivos: Investigar as alterações microvasculares retinianas, o recrutamento de células imunes e o remodelamento tecidual em um modelo murino de toxoplasmose ocular adquirida.

Métodos: Camundongos fêmeas adultas da linhagem C57BL/6 foram infectados por via intragástrica com dois cistos da cepa ME49 de *T. gondii* e avaliados aos 10, 20 e 30 dias pós-infecção (dpi). Os animais foram acompanhados por análises clínicas, moleculares, vasculares e histológicas. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais de Laboratório do Instituto Oswaldo Cruz (CEUA-IOC), sob o número L-038/2020. A análise estatística foi realizada por ANOVA seguida de testes pós-hoc.

Resultados: Os animais infectados apresentaram perda de peso e redução na ingestão alimentar a partir de 10 dpi. Taquizoítas foram detectados aos 10 dpi, e bradizoítas aos 20 e 30 dpi. Observou-se aumento de citocinas pró-inflamatórias aos 10 dpi e de citocinas anti-inflamatórias aos 20 dpi. O fluxo sanguíneo retiniano aumentou progressivamente (C: 10: $51,66 \pm 6,22$; 20: $53,57 \pm 9,89$; 30: $80,01 \pm 7,96$ — Toxo: 10: $77,94 \pm 7,60$; 20: $96,69 \pm 8$; 30: $100,96 \pm 6,98 \mu\text{m/s}$; n = 6-9), assim como a densidade capilar (C: 10: $68 \pm 3,09$; 20: $65,13 \pm 4,39$; 30: $59,56 \pm 3,49$ — Toxo: 10: $94,7 \pm 5,77$; 20: $89,36 \pm 5,39$; 30: $79,72 \pm 7,37 \%$; n = 7-11). A expressão de colágeno IV aumentou concomitantemente à disfunção endotelial, evidenciada pela redução dos níveis de proteínas de junção nas amostras infectadas por *T. gondii*. Os valores do grupo controle foram normalizados para 1 em cada tempo experimental. No grupo Toxo, observaram-se variações nos níveis de ZO-1 (10: $1,26 \pm 0,37$; 20: $1,29 \pm 0,23$; 30: $1,18 \pm 0,19$), occludina (10: $1,13 \pm 0,16$; 20: $2,64 \pm 0,56$; 30: $4,52 \pm 1,02$), claudina-5 (10: $4,10 \pm 0,35$; 20: $0,26 \pm 0,04$; 30: $0,45 \pm 0,10$) e VE-caderina (10: $0,58 \pm 0,10$; 20: $0,59 \pm 0,14$; 30: $0,15 \pm 0,03$; n = 4-10). A população CD3⁺ apresentou aumento significativo de células T CD4⁺ (20 dpi: $51,83 \pm 1,90$; 30 dpi: $58,76 \pm 1,95 \%$), T CD8⁺ (20 dpi: $41,65 \pm 1,79$; 30 dpi: $32,73 \pm 2,37 \%$), T γδ (20 dpi: $1,67 \pm 0,26$; 30 dpi: $0,44 \pm 0,15 \%$), NKT (20 dpi: $2,25 \pm 0,51$; 30 dpi: $4,51 \pm 1,14 \%$) e outras células mieloides (20 dpi: $2,61 \pm 0,58$; 30 dpi: $3,57 \pm 1,10 \%$; n = 10-12). A morte celular aumentou progressivamente, com elevação na razão TUNEL/DAPI (C: 10: $0,02 \pm 0,01$; 20: 0 ± 0 ; 30: $0,03 \pm 0,03$ — Toxo: 10: $0,26 \pm 0,16$; 20: $0,47 \pm 0,07$; 30: $0,44 \pm 0,06$; n = 5-6) e na porcentagem de células ganglionares da retina TUNEL⁺ (Toxo: 10: $24,30 \pm 14,97$; 20: $35,77 \pm 4,06$; 30: $57,19 \pm 3,60 \%$; n = 5-6). O afinamento da camada INL foi evidente (C: 10: $40,14 \pm 3,07$; 20: $38,70 \pm 3,85$; 30: $39,46 \pm 3,22$ — Toxo: 10: $43,06 \pm 3,06$; 20: $30,23 \pm 1,23$; 30: $30,64 \pm 1,18 \mu\text{m}$; n = 4-6), acompanhado por intensa ativação glial, microglial e endotelial aos 20 e 30 dpi.

Conclusão: A infecção por *T. gondii* promove alterações microvasculares significativas, disfunção endotelial, infiltração de células imunes, ativação glial e neurodegeneração progressiva, evidenciando o impacto do processo inflamatório na fisiopatologia da toxoplasmose ocular.

Apoio Financeiro: CNPq, FAPERJ, INOVA-Fiocruz.

P-073 - The kynurines metabolites as a promise Biomarks of Hansen's Neuropathy.

Raíssa Couto Santana¹, Atta Ur Rahman¹, Mylena Masseno De Pinho Pereira¹, Euzenir Nunes Sarno¹, Gilberto Marcelo Sperandio Da Silva⁷, Márcia Rodrigues Jardim^{1, 2-6}, Roberta Olmo Pinheiro^{1, 2-4}. 1.Leprosy Laboratory, Oswaldo Cruz Institute, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, Brazil. 2.Mycobacteria Network, Inova-IOC Program, Oswaldo Cruz Institute, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, Brazil. 3.Rio de Janeiro Research Network on Neuroinflammation, Oswaldo Cruz Institute, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, Brazil. 4.National Institute of Science and Technology on Neuroimmunomodulation, Oswaldo Cruz Institute, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, Brazil. 5.Post-graduate Program in Neurology, Federal University of the State of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil. 6.Department of Neurology, Pedro Ernesto University Hospital, Rio de Janeiro State University, Rio de Janeiro, Brazil. 7. Clinical Research Laboratory in Chagas Disease, National Institute of Infectology Evandro Chagas, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

Introduction: Leprosy or Hansen's disease is an infectious disease that affects the dermal tissue and the peripheral nervous system (PNS). In nerve fibers, the infectious agent *Mycobacterium leprae* colonizes Schwann cells and the inflammatory environment, mostly associated with reactive episodes, resulting in neural damage. There is no gold standard diagnostic test for leprosy neuropathy, and the evaluation of nerve biopsy requires a professional with experience in neuropathology mostly for the Pure Neural form. The delay results in disabilities with a tremendous impact on patient's life. The treatment is effective in preventing physical disabilities but the use depends on an accurate and immediate diagnosis, which is difficult for being clinical and requires additional support tests. The metabolism of tryptophan by the enzyme indoleamine 2,3-dioxygenase 1 (IDO-1) leads to the production of neuromodulators also known as kynurenes, which act in the central nervous system, where their imbalance leads to neurodegenerative diseases. However, there is limited research related to the PNS. Previous work by our group demonstrates that multibacillary patients have high IDO-1 expression in serum and lesions and that mycobacteria and their cellular fractions lead to enzyme activation.

Objectives and Methodology: In this study, we evaluated the production of kynurenine pathway metabolites in serum samples ($n=121$, mean age= 46.8 ± 16.3 years old) from patients' diagnosis with Borderline Tuberculoid (BT; $n=11$); Borderline Lepromatous (BL; $n=10$); Lepromatous Leprosy (LL; $n=14$), Reversal Reaction (RR; $n=19$); Erythema Nodosum Leprosum (ENL; $n=12$); Pure Neural (PN; $n=22$), Other Peripheral Neuropathies (ON; $n=14$) and Health donators (HD; $n=19$) attended at the Souza Araujo Outpatient Unit (Leprosy Laboratory, Fiocruz – RJ) by LC-MS and their relationship with the development of Pure Neural form (CAAE: 61142116.8.0000.5248/protocol aproved: 5809659).

Results and Conclusion: The results of the patients with dermatological Leprosy (BT; BL and LL) and reactive (RR and ENL) showed high expression of Quinolinic Acid (QUIN), Tryptophan, and Xanthurenic Acid while they had lower expression of 2-Oxadipic acid (OXA) compared to patients with neurological alterations (PN and ON). Reactive leprosy patients also had lower expression of Anthranilic Acid. Logistic regression analyses indicated that QUIN (Univariate OR= 0.00000041 with p= 0.0000814014; Multivariate OR= 0.0000014831 with p= 0.00091), OXA (Univariate OR= 2.72 with p= 0.0151) and NAD+ (Univariate OR= 1.54 with p= 0.00142; Multivariate OR= 1.42 with p= 0.03) are related to the development of Pure Neural form, while the ROC curve showed that QUIN had a sensitivity, specificity, and accuracy of 74.8%, 78.5%, and 95.5%, respectively, indicating that this metabolite could be used as a possible biomarker for the Pure neural form.

Funding: CNPq, INOVA-Fiocruz, FAPERJ, INCT-Neuroimunomodulação, Rede Neuroinflamação – FAPERJ.

P-074 - ANÁLISE POR RT-QPCR DE MARCADORES DE REATIVIDADE MICROGLIAL À EXPOSIÇÃO À PROTEINA SPIKE DE SARS-COV2 EM CÉLULAS PREVIAMENTE EXPOSTAS AO ÁLCOOL

Letícia Angelica Nascimento¹, Beatriz Esteves¹, Joice Stipursky¹. Laboratório de Biologia das Interações Neurovasculares, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro

Introdução: A pandemia de COVID-19 causada pelo SARS-CoV-2 ocasionou mais de 700 milhões de casos confirmados de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), e ainda que conhecida por seus sintomas respiratórios, ela pode ocasionar a neuroinflamação e sintomas neurológicos, como perda de olfato e falhas na memória. De acordo com o estudo realizado pela Organização Pan-Americana de Saúde no período de isolamento social, houve um aumento no consumo de bebidas alcoólicas pela população, utilizado como uma forma de lidar com a ansiedade e depressão causadas pelo isolamento. As células microgliais desempenham um papel crucial como mediadoras da resposta imune no sistema nervoso central (SNC), onde atuam na inflamação através do estabelecimento de um perfil reativo com mudanças em sua morfologia, expressão de marcadores específicos e secreção de citocinas pró-inflamatórias em resposta a estímulos lesivos, como, por exemplo, drogas de abuso e infecções. O consumo de álcool é amplamente reconhecido por desencadear a neuroinflamação e neurodegeneração, eventos que poderiam ser intensificados pela infecção por SARS-CoV-2.

Objetivo: investigar se a exposição ao etanol pode modificar a suscetibilidade das células microgliais à resposta inflamatória pelo tratamento com a proteína Spike de SARS-CoV2, visando apontar o consumo de álcool como um potencial fator de risco para a COVID-19.

Metodologia: Células microgliais murinas da linhagem BV-2 foram cultivadas e tratadas com etanol 100mM por 72hs (1 tratamento/dia) seguido da exposição à proteína Spike (full, 1.8µg/mL) por 24h. Posteriormente realizamos a extração do RNA total das células e analisamos a expressão gênica por RT-qPCR dos genes de C3 (sistema complemento C3), IL-1β (interleucina 1b), iNOS (óxido nítrico sintase induzida) e CD86 (cluster of differentiation 86), utilizando GAPDH (gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase) como gene housekeeping, todos experimentos foram realizados com N=4.

Resultados: Nossos dados demonstram que a proteína Spike aumentou significativamente a expressão de CD86 em relação ao controle ($*P=0,0123$), porém este efeito foi perdido pelo pré-tratamento com etanol ($*P=0,0130$ etanol+spike x spike). Padrão similar foi observado para C3, que apresentou modulação significativa apenas nas comparações entre condições específicas ($*P=0,0302$ etanol x Spike; $*P=0,0451$ etanol+Spike x Spike). A expressão de IL-1β permaneceu inalterada em todas as condições experimentais. Observou-se uma redução na expressão de iNOS no grupo tratado com etanol, sugerindo um possível efeito supressor. Já nos grupos expostos à proteína Spike isolada ou combinada com etanol, verificou-se aumento nos níveis de expressão indicando potencial ativação da resposta inflamatória.

Conclusão: Os resultados sugerem que o etanol possa interferir na resposta pro-inflamatória microglial induzida pela proteína, atenuando seus efeitos, o que poderia ocasionar pior resposta destas células na resolução da neuroinflamação no contexto da COVID-19.

Apoio Financeiro: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro – FAPERJ, International Society of Neurochemistry – ISN

P-075 - ESTUDO DA NEUROPROTEÇÃO INDUZIDA POR BLOQUEADORES DO RECEPTOR TRPA1 EM CAMUNDONGOS NO MODELO DE GLAUCOMA

¹COSTA A. G. A., ¹MATTOS, A. C. L., ¹ARAÚJO, D. S. M., ¹CALAZA, K. C. 1Departamento de Neurobiologia, Universidade Federal Fluminense, RJ.

Introdução: O glaucoma é uma retinopatia neurodegenerativa que leva à perda progressiva de células ganglionares da retina, sendo a elevação da pressão intraocular (PIO) um dos principais fatores de risco. O receptor TRPA1, um canal permeável a cátions, amplamente presente na retina, se mostrou interessante como alvo terapêutico. O seu bloqueio impede a degeneração da retina e diminui a morte de diversos tipos celulares em modelo de glaucoma. A dipirona (DIP) é capaz de bloquear o TRPA1 e seu reposicionamento como colírio é uma possibilidade terapêutica inovadora.

Objetivos: Estudar os mecanismos de neuroproteção induzida por bloqueadores de TRPA1 em retina murina em modelo de glaucoma, com foco na reatividade glial, inflamação e estresse oxidativo.

Métodos: Utilizamos animais machos C57BL/6 (6-8 semanas). As retinas foram distribuídas nos grupos controle (CTR) e isquemia/reperfusão (I/R), sendo o segundo grupo submetido ao aumento de PIO/1h. Esses grupos foram tratados com antagonistas do TRPA1 (A96 10 mM ou DIP 10 mM) via colírio ou com DMSO4% (VEH). As análises incluíram imunofluorescência (IF) ($n=3-4$) e Western Blotting (WB) ($n=3-8$) para avaliação da expressão de marcadores de gliose, inflamação e estresse oxidativo (CEUA - 1308050424). Os resultados foram expressos como média \pm EPM e analisados por two-way ANOVA, seguida do teste de Bonferroni. Diferença significativa quando $p<0,05$ (GraphPad Prism 8.0.1).

Resultados: Por contagem de feixes de Müller (X-GFAP 1:400), observamos aumento significativo da gliose na CNE nos grupos I/R VEH ($23,23\pm2,96$; $p=0,0002$) e I/R DIP ($20,47\pm3,27$; $p<0,0001$) em comparação ao controle ($0,00\pm0,00$). Na CPI vimos o mesmo, incluindo, porém o grupo I/R A96 ($26,96\pm2,59$; $p<0,0001$). Observamos na periferia da retina aumento significativo ($p=0,0014$) dos feixes do grupo I/R DIP ($46,21\pm1,85$) comparado com o I/R VEH ($31,39\pm3,61$) na CPI. Analisamos a gliose dos astrócitos e a total por IF e WB (1:5000). Observamos tendência a aumento nos grupos I/R independente de terem sido ou não tratados com bloqueadores de TRPA1. Determinamos por WB a expressão de proteínas relacionadas a respostas inflamatórias e de estresse oxidativo. A expressão de iNOS não alterou nos diferentes grupos. Vimos tendência de aumento na expressão de VEGF nos grupos I/R VEH e I/R DIP. Quanto a ARG1 vimos aumento significativo no I/R VEH ($247,35\pm38,02$; $p=0,005$), e tendência nos outros I/R. Já a HO-1 apresentou tendência no aumento da expressão nos grupos CTR DIP e I/R DIP. GP91 apresentou tendência de aumento em todos os grupos I/R.

Conclusão: Os dados relacionados à reatividade glial demonstram que os bloqueadores de TRPA1 não reduzem esse fenômeno que está aumentado nos grupos I/R, podendo inclusive potencializá-lo, o que sugere um papel citoprotetor da ativação das células gliais. A avaliação de marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo apontam para a participação dessas vias na lesão induzida por I/R.

Apoio Financeiro: CNPq, FAPERJ, e PROGEM/UFF.

P-076 - MÉTRICAS NEUROFISIOLÓGICAS NA INVESTIGAÇÃO DE AMBIÊNCIAS ARQUITETÔNICAS E AFFORDANCES: UMA REVISÃO INTEGRATIVA DA LITERATURA

1Amorim, Ana Luísa Freire de; 2Trapano, Patrizia Di. 1,2 Programa de Pós-Graduação em Arquitetura (PROARQ), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro-Brasil, 2 Escola de Belas Artes, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro-Brasil

A crescente intersecção entre neurociência e arquitetura evidencia a importância de compreender como a construção de ambiências arquitetônicas e intenções sensíveis influenciam respostas sensoriais. Embora técnicas neurofisiológicas como eletroencefalografia (EEG), ressonância magnética funcional (fMRI), rastreamento ocular (*eye-tracking*) tenham avançado significativamente nesse campo, persiste a falta de um *framework* comparativo de pesquisas que articulem esses temas. O objetivo principal do estudo é mapear e identificar as métricas neurofisiológicas na investigação de ambiências arquitetônicas, comparando padrões metodológicos, lacunas e oportunidades de pesquisa, de modo a orientar futuras investigações no tema de ambiências arquitetônicas e a neurociência. Para atender os objetivos da pesquisa, é realizada uma revisão integrativa da literatura a partir da metodologia PRISMA-ScR, utilizando a estratégia PCC (População, Conceito e Contexto) de forma a definir a questão de pesquisa norteadora para a seleção dos estudos. Assim, a partir do seguinte questionamento: “Quais métricas de avaliação neurofisiológicas têm sido utilizadas para investigar as respostas sensoriais humanas às ambiências arquitetônicas, dentro dos seus diferentes contextos espaciais?”, foram incluídos artigos que relacionavam métricas neurofisiológicas em estudos observacionais envolvendo participantes humanos expostos em ambientes arquitetônicos, sejam reais ou simulados por Realidade Virtual (RV). A busca nas bases PubMed, Scopus e Web of Science resultou em 10 artigos elegíveis entre 4.418 triados. Como resultado, observou-se a predominância do uso da eletroencefalografia (EEG) como ferramenta principal na avaliação sensorial nos estudos, além da predominância de ambientes simulados em Realidade Virtual integradas em diversos campos de aplicação, se destacando em ambientes interiores. As respostas mais recorrentes envolveram a atenção, *arousal* (excitação) e *affordances* (possibilidades de ação), indicando que as variações do ambiente modulam a experiência sensorial. Portanto, constata-se que as métricas neurofisiológicas oferecem evidências empíricas relevantes para compreender a experiência sensível e imersiva dos espaços, contribuindo para o avanço metodológico e interdisciplinar entre a neurociência e arquitetura. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Apoio Financeiro: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

P-077 - EFEITOS DO ÁCIDO CLOROGÊNICO NA NEUROPROTEÇÃO E MODULAÇÃO DOS TRANSPORTADORES DO SISTEMA GLUTAMATÉRGICO

SOUZA, Ariel (1)*; TORRES, Mayara. P. (1)*; NUNES, Kimberly A. P. (1); Cossenza, Marcelo (1).

(1) Laboratório de Farmacologia Molecular, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ. *As autoras contribuíram igualmente neste trabalho.

Introdução: O glutamato é o principal neurotransmissor excitatório do sistema nervoso central e desregulações em suas concentrações extracelulares estão associadas a doenças neurodegenerativas. Os ácidos clorogênicos (CGA), compostos presentes no café, têm sido associados à atenuação de danos celulares decorrentes do excesso de glutamato, incluindo a redução do estresse oxidativo. No entanto, a extensão e as condições em que esses efeitos benéficos podem ser observados, assim como sua magnitude, ainda não estão completamente estabelecidas.

Objetivos: Avaliar os efeitos do CGA sobre a homeostase glutamatérgica e suas implicações na viabilidade celular.

Métodos: Como modelos experimentais, foram utilizadas culturas mistas (neurônios e glias), purificadas (neurônios) e retina intacta (*ex vivo*) de embrião de galinha (Aprovação CEUA 1570300921). Foram realizados ensaios de captação/liberação de D-[³H] aspartato, viabilidade celular (MTT) e *Western Blotting* para os transportadores de aminoácidos excitatórios (EAATs). A estatística foi realizada através de análise One-way ANOVA, para os dados de captação, e teste t de Student para as demais comparações.

Resultados: Nos ensaios *ex-vivos*, foi feita curva de concentração de CGA, na qual foi observado aumento da captação com 30µM (10510.333 ± 645.877 ; $p=0,0428$; $n=3$), concentração que apresentou menor erro e que foi selecionada para experimentos posteriores, cuja também levou a um aumento significativo no ensaio de liberação (37.800 ± 0.735 ; $p=0,0022$; $n=5$). A expressão do EAAT1 em 1 hora de tratamento apresentou tendência de aumento (0.754 ± 0.197 ; $p=0,6031$ $n=3$), enquanto que o EAAT2 diminuiu significativamente (1.510 ± 0.244 ; $p=0,0476$ $n=5$) e EAAT3 apresentou uma tendência de diminuição (1.557 ± 0.339 ; $p=0,5400$ $n=7$). Em culturas mistas foi observado aumento da expressão do EAAT3 em 24h (1.107 ± 0.126 ; $p=0,0418$; $n=5$) e não houve alteração significativa no nível de EAAT2 (0.548 ± 0.245 ; $0,9117$; $n=4$). Em culturas purificadas foi observada tendência de aumento da sobrevida celular após tratamento com CGA em 24 horas ($142,116 \pm 13,745$; $p=0,1461$; $n=4$).

Conclusão: Os resultados sugerem um efeito robusto do CGA na modulação dos transportadores e proteção neuronal.

Apoio Financeiro: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro - FAPERJ. Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação da Universidade Federal Fluminense - PROPPI UFF. Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES. Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.

P-078 - INVESTIGAÇÃO DA NEUROQUIMICA DO SISTEMA SEROTONINÉRGICO E DO EFEITO DO USO DO CANABINOIDE SINTÉTICO WIN55,212-2 EM RATOS FÊMEAS CARIOCAS COM ALTO E BAIXO CONGELAMENTO.

1Teixeira-Silva, B., 2Maisonette, S., 2Krahe, T.E., 2Landeira-Fernandez, J. 1Kubrusly, R. 1Laboratório de Neurofarmacologia, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal Fluminense, RJ, 2Laboratório de Neurociência Comportamental, Departamento de Psicologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, RJ.

Introdução: Os transtornos de ansiedade (TA) atingem 300 milhões de pessoas globalmente, com o Brasil liderando a incidência de casos. Os TA são a segunda causa de incapacidade relacionada à saúde mental sendo mais frequente em mulheres e jovens. A serotonina está envolvida, dentre outras funções, na regulação das emoções e ansiedade. O sistema endocanabinoide atua como um modulador fisiológico atuando sobre outros neurotransmissores. Alterações tanto no sistema endocanabinoide quanto no serotoninérgico já foram observadas em modelos de ansiedade, porém seus papéis ainda não estão completamente elucidados.

Objetivos: Investigar o sistema serotoninérgico e os efeitos do uso do canabinoide sintético WIN55,212-2 (antagonista CB1 e CB2) sobre o mesmo em ratas fêmeas selecionadas pelo congelamento.

Métodos: O projeto foi aprovado pela CEUA-UFF (4819141124). Foram utilizados fêmeas das linhagens Carioca com Alto e Baixo Congelamento (CAC e CBC) em P30. O cortex frontal (CF) e mesencéfalo (Mes) dos animais foram dissecados para experimentos de captação e liberação de [³H]-Serotoninina (³H]-Ser) na condição basal e com WIN55,212-2 (100µM) por 15 min. Também foi realizado western blot.

Resultados: As fêmeas CAC apresentaram uma diminuição da captação (-0,3450 ± 0,1103, p=0,0102, n=4) e um aumento na liberação (18,50 ± 4,077, p=0,0020, n=4) de [³H]-Ser no CF comparado ao grupo CBC. No Mes há um aparente aumento na liberação de [³H]-Ser do grupo CAC em relação ao CBC (6,250 ± 3,485, p=0,0615, n=4). A análise independente dos tecidos mostrou uma aparente liberação diminuída de [³H]-Ser no Mês em relação ao CF das fêmeas CAC ($F(1, 11) = 23,98$; p=0,0829, n=4) No CF e M dos animais CBC, o WIN55 aparentemente aumenta a liberação de [³H]-Ser (CF: 4,417 ± 2,763, p=0,0854, n=3CBC; 4CAC; M: 7,500 ± 4,570, p=0,0808, n=4CBC; 4CAC). Não encontramos diferenças na densidade de CB1R.

Conclusão: Há diferenças na captação e liberação de serotonina entre os grupos CAC e CBC. Ainda, a incubação com WIN55 modula a liberação de serotonina nos animais. Podemos concluir que o sistema serotoninérgico está alterado em fêmeas modelo de ansiedade generalizada e que o sistema endocanabinoide modula o sistema serotoninérgico dos animais.

Apoio Financeiro: CNPq, FAPERJ.

P-079 - BOSUTINIBE REDUZ INFLAMAÇÃO SISTÊMICA E CEREBRAL NA SEPSE EXPERIMENTAL

^{1,2,3}Cunha, C.M.C.D., ^{1,3,4}Moraes, B.P.T., ^{1,3}Abreu, V.H.P., ^{1,3}Soares, G.V.M., ^{1,2,3}Moraes-de-Souza, I.M., ¹Almeida, M.A.P., ¹Estate, V., ^{1,3,4}Sayao, P.G.F., ^{1,3}Souto, H.A., ^{1,2}Bozza, P.T., ^{1,2}Castro-Faria-Neto, H.C., ^{1,2}Silva, A.R., ^{1,2,3,4}Gonçalves-de-Albuquerque, C.F. ¹ Laboratório de Imunofarmacologia, IOC-Fiocruz, Rio de Janeiro. ² Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular, IOC-Fiocruz, Rio de Janeiro. ³ Laboratório de Imunofarmacologia, Unirio, Rio de Janeiro. ⁴ Programa de Pós-graduação em Biologia Molecular e Celular, Unirio, Rio de Janeiro.

Introdução: A sepse é uma das principais causas de morte no mundo, envolvendo inflamação desregulada com aumento de mediadores inflamatórios, infiltração leucocitária e alterações vasculares. A encefalopatia causada pela sepse afeta cerca de 70% dos pacientes e piora o prognóstico. As quinases da família Src (SFK) regulam diversas funções celulares, e sua inibição atenua respostas leucocitárias e endoteliais exacerbadas. O bosutinibe, potente inibidor de SFK, é usado no tratamento da leucemia mieloide crônica.

Objetivo: Investigar o potencial do bosutinibe em modelo de sepse experimental.

Métodos: Camundongos Swiss foram divididos em 4 grupos: Sham e CLP ± Bosutinibe. CLP (Ligadura e Punção Cecal) induziu a sepse. O tratamento (bosutinibe 3 mg/kg) foi administrado via oral 30 minutos antes e 6 horas após a cirurgia. A sobrevivência foi monitorada por 7 dias e o escore clínico foi avaliado após 24 horas. Também após 24 horas, foram coletados lavado peritoneal (LP), plasma e cérebro. Microscopia intravital foi realizada para avaliar interação leucócito-endotélio, densidade capilar e perfusão cerebral. Citocinas e quimiocinas foram medidas por ELISA. Nas amostras de LP, foram analisadas o crescimento de unidades formadoras de colônias e a contagem leucocitária total e diferencial. Procedimentos aprovados pelo Comitê de Ética em Uso Animal (IOC-L015/2015, L026/2022; UNIRIO-2019/03). Dados expressos como média ± erro padrão, analisados por ANOVA e Newman-Keuls, $p < 0,05$. Curva de sobrevida: teste log-rank de Mantel-Cox.

Resultados: O bosutinibe melhorou os escores clínicos e a sobrevida de animais sépticos, reduziu citocinas no LP, plasma e tecido cerebral, diminuiu recrutamento de leucócitos e o crescimento bacteriano no LP. Também melhorou a densidade capilar, perfusão sanguínea e reduziu adesão de leucócitos na microcirculação cerebral de camundongos sépticos.

Conclusão: Esses resultados demonstram que o bosutinibe modula a resposta inflamatória na sepse experimental, controlando o recrutamento de leucócitos, o crescimento bacteriano, a inflamação sistêmica e cerebral, e prevenindo as alterações neurovasculares.

Apoio Financeiro: FAPERJ, UNIRIO, CNPq, CAPES, FINEP, IOC, FIOCRUZ, BCM.

P-080 - DHA NANOESTRUTURADO ATENUA EFEITOS INFLAMATÓRIOS EM CÉLULAS MICROGLIAIS BV-2 ESTIMULADAS COM *E.COLI*

¹Gomes-Reis GLS, ²Moraes BPT, ²Saraiva JSG, ¹Bozza PT, ¹Castro-Faria-Neto HC, ³Ferrarini SR, ^{1,2}Gonçalves-de-Albuquerque CF, ¹Silva AR. ¹Lab. de Imunofarmacologia, IOC-Fiocruz, RJ, Brasil. ²Lab. de Imunofarmacologia, Unirio, RJ, Brasil. ³Instituto de Ciências da Saúde, UFMT, MT, Brasil.

Introdução: A microglia reside no sistema nervoso central (SNC) e atua na defesa imunológica, alterando sua morfologia e liberando citocinas como o fator de necrose tumoral- α (TNF- α) em processos neuroinflamatórios, como a sepse, que consiste em uma resposta imune exacerbada do hospedeiro em uma infecção polimicrobiana. Com isso, novos alvos terapêuticos têm sido explorados para reduzir as consequências da neuroinflamação, como o ácido docosahexaenoíco (DHA), um ômega-3 que possui ação neuroprotetora. O DHA é um ligante dos receptores ativados por proliferadores de peroxissomos (PPARs), que suprimem a expressão de citocinas pró-inflamatórias. Quando ativado, o PPAR- γ inibe a via de sinalização do fator nuclear kappa B (NF- κ B) que reduz a translocação nuclear de RelA (p65), suprimindo a transcrição de genes inflamatórios. Para potencializar os efeitos do DHA, nanoestruturas são produzidas devido a farmacocinética melhorada.

Objetivos: Avaliar os efeitos do DHA nanoestruturado em células microgliais BV-2 estimuladas com *E. coli* na produção de citocinas pró-inflamatórias e na translocação nuclear de p65.

Métodos: Células BV-2 (5×10^4) foram plaqueadas em meio RPMI, 10% de soro fetal bovino (SFB) e 1% penicilina/estreptomicina (P/S) por 24h em placas de 24 poços. Em seguida, as células permaneceram por 3h em meio 0% SFB e 1% P/S. O tratamento foi diluído em meio RPMI com 2% SFB e 1% P/S. Foram utilizadas as concentrações 1uM e 10uM de DHA nanoestruturado. Após 1h, BV-2 foram estimuladas com *E.coli* MOI (multiplicidade de infecção) 10. Após 24h foi realizado o ensaio de Resazurina, o sobrenadante foi coletado para avaliação de TNF- α por Elisa ou as células foram fixadas para o ensaio de imunocitoquímica para a avaliação de p65. Todos os grupos em triplicata.

Resultados: O ensaio por Resazurina mostrou que todos os grupos experimentais permaneceram viáveis com porcentagem maior que 90% em relação ao controle (100%), n=1. O estímulo com *E.coli* aumentou a produção de TNF- α ($600,7 \pm 33,8$ pg/mL), enquanto o tratamento com Nano DHA 10uM foi capaz de reduzir o nível de TNF- α ($470 \pm 33,8$ pg/mL; $p < 0,05$; One-way ANOVA, pós-teste de Bonferroni; n=2). No ensaio de imunocitoquímica, o tratamento com Nano DHA 1uM e 10uM reduziu a translocação nuclear de p65, a partir de imagens obtidas por microscópio de fluorescência.

Conclusão: O DHA nanoestruturado atenuou efeitos pró-inflamatórios em células BV-2 estimuladas com *E.coli*, indicando a redução da neuroinflamação pela ativação do fator de transcrição NF- κ B.

Apoio: IOC, FIOCRUZ, REDE NANO SAÚDE, UFMT, UNIRIO.

P-081 - EFEITOS DA EXPOSIÇÃO GESTACIONAL AO ETANOL NA REPROGRAMAÇÃO EPIGENÉTICA DE CÉLULAS DA BARREIRA HEMATOENCEFÁLICA

1 Barros, M., 1Stipursky, J. 1 Laboratório de Biologia das Interações Neurovasculares, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

Introdução: O álcool é uma das drogas de abuso mais consumidas no mundo, e seu consumo durante a gravidez é uma das principais causas de déficits no desenvolvimento, com sequelas de longo prazo, conhecidas como distúrbios do espectro alcoólico fetal (FASD). Esses distúrbios são caracterizados por prejuízos no neurodesenvolvimento, resultando em déficits de memória, aprendizagem e atenção, além de subdesenvolvimento de regiões como corpo caloso, hipocampo, córtex cerebral, entre outras. A exposição pré-natal ao etanol pode afetar as células que compõem a barreira hematoencefálica (BHE), estrutura formada por células endoteliais (CEs), astrócitos e pericitos, essencial para o fornecimento de nutrientes e oxigênio ao sistema nervoso central (SNC) e para a proteção contra moléculas neurotóxicas e patógenos presentes na corrente sanguínea. Nossa grupo já demonstrou que camundongos expostos ao etanol durante a fase pré-natal apresentaram um córtex cerebral hipervascularizado e distribuição aberrante de proteínas de junções ocludentes ao longo dos vasos sanguíneos, associado a maior permeabilidade vascular. Em paralelo, dados recentes sugerem que o etanol pode induzir desregulação epigenética, alterando assim a expressão de genes-chave do neurodesenvolvimento. Disfunções estruturais da BHE podem ser extremamente prejudiciais ao SNC e comprometer o neurodesenvolvimento.

Objetivos: Investigar se as disfunções endoteliais resultantes da exposição pré-natal ao etanol decorrem de mudanças nos perfis de metilação do DNA em cultura primária de CEs neurais.

Métodos: Utilizamos um modelo murino de exposição gestacional ao etanol por gavagem diária de 3 g/kg de etanol a 30% ou água (controle) do 14º ao 19º dia gestacional em camundongos Swiss (CEUA-UFRJ 038/24). Após o nascimento, os córtex cerebrais dos neonatos foram coletados para cultura primária de células endoteliais cerebrais murinas (MBECs), que foram cultivadas em lamínulas para análises de imunofluorescência.

Resultados: Através da quantificação de intensidade de fluorescência, observamos que MBECs isoladas do córtex cerebral de animais expostos ao etanol apresentaram redução de 38% nos níveis de 5mC (marcador de metilação global do DNA) em comparação às MBECs de animais controle. Além disso, observamos a redução de marcadores importantes para a função das CEs, como GLUT1 (transportador de glicose), MMP9 (metaloproteinase-9) e VEGF (fator de crescimento endotelial vascular). Preliminarmente, realizamos um ensaio de migração e as MBECs do grupo controle parecem migrar mais que as MBECs isoladas do grupo do etanol, característica importante para a formação de novos vasos.

Conclusão: A exposição gestacional ao etanol afeta os níveis de moléculas importantes para o funcionamento das CEs da BHE, e hipotetizamos que isso possa estar relacionado a alterações no perfil de metilação do DNA.

Apoio Financeiro: CNPQ, CAPES e FAPERJ.

P-082 - SUSTAINED SYSTEMIC INFLAMMATION, HIPPOCAMPAL GLIAL ACTIVATION AND COGNITIVE DYSFUNCTION IN NON-SEVERE EXPERIMENTAL MALARIA

1Rosa-Gonçalves, P., 1Siqueira-e-Silva, B.N., 2Lima, M.N., 3Chagas, L.S., 1de-Sousa, L.P., 4Caputo, L.F.G., 4Silva, I.J., 4Santos, J.P.R., 1Evaristo, C.C.A., 5Nogueira, M.S., 6,7Werneck, G.L., 1Ribeiro-Gomes, F.L., Totino, P.R.R., Pratt-Riccio, L.R., 2Maron-Gutierrez, T., 8Almeida, R.F., 4Pelajo-Machado, M., 3 Serfaty, C.A., 1,9*Daniel-Ribeiro, C.T., 1Laboratório de Pesquisa em Malária, 2Laboratório de Imunofarmacologia, Instituto Oswaldo Cruz (IOC), Fundação Oswaldo Cruz, Brazil, 3Laboratório de Plasticidade Neural, Programa de Pós-Graduação em Neurociências, Universidade Federal Fluminense, Brazil, 4Laboratório de Medicina Experimental e Saúde, 5Centro de Experimentação Animal, IOC, Fiocruz, Brazil, 6Departamento de Epidemiologia, Instituto de Medicina Social da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Brazil, 7Instituto de Estudos em Saúde Coletiva da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brazil, 8Grupo de Estudos em Bioquímica do Comportamento, Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Brazil, 9Centro de Pesquisa, Diagnóstico e Treinamento em Malária, Fiocruz and Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente, Ministério da Saúde, Brazil. *malaria@fiocruz.br

Introduction: Cognitive-behavioral damages are associated with cerebral malaria (CM) and non-severe malaria (nSM), the predominant clinical form. Plasmodial infection induces systemic inflammation with great potential of immune response dysregulation. Hippocampus plays a pivotal role in memory processes and neuroinflammation has been identified in CM. Understanding of glial cells involvement and hippocampal memory acquisition and consolidation in nSM is mandatory.

Aim: This study investigated hippocampal cellular and molecular neuroimmune aspects in nSM cognitive dysfunction and its relation to peripheral cytokine levels.

Methods: C57BL/6 mice were infected with *Plasmodium berghei* ANKA and treated, for 7 days, with chloroquine (CQ) from 4 days post-infection (pi), before any CM clinical sign (CEUA license number: L-004/2020).

Results: An increase in serum cytokines was evidenced in infected mice, by flow cytometry, such as interleukin (IL) 2, IL-6, IL-10, TNF- α and IFN- γ four days post-infection and there was a decrease in TGF- β 1 levels. At 22 days post-infection, infected and treated mice showed high serum levels of TNF- α , IL-17A and IL-2. The dynamics of cytokine levels evidenced cytokines autoregulation and immune stimulus maintenance post-infection. No hippocampal cytokine level was altered. Nevertheless, alterations in hippocampal GFAP $^+$ and Iba-1 $^+$ cells suggest that astrocytes are responding to systemic infection in CA1 and dentate gyrus regions, and microglia in CA1 region with long-lasting changes. Infected and treated mice exhibited acquisition and consolidation memory deficits in contrast to uninfected and treated mice.

Conclusion: In conclusion, sustained systemic inflammation in non-severe experimental malaria may disrupt glial homeostasis and exacerbate neuroinflammation, contributing to cognitive sequelae following a single episode of non-severe experimental malaria.

Financial support: INCT-NIM/CNPq (465489/2014-1), Redes/Faperj (26010.002418/2019), Fiocruz.

P-083 - A RELAÇÃO ENTRE OS SISTEMAS DE NEUROTRANSMISSORES EXCITATÓRIOS NA MODULAÇÃO DE FENÓTIPOS RELACIONADOS AO TEA EM *C. ELEGANS*: ANÁLISE COMPORTAMENTAL DE SOBREVIVÊNCIA.

Inácio, L. S¹, Silveira, P.H.S¹, Souza, D. F¹, Ribeiro, M.G.L¹ Departamento de Biologia Celular e Molecular, Instituto Federal Fluminense, RJ

Introdução: O transtorno do Espectro Autista (TEA) é um transtorno complexo do neurodesenvolvimento, caracterizado por alterações na comunicação, na interação social e por comportamentos restritivos e repetitivos, sendo influenciado por fatores genéticos e ambientais. Entre os mecanismos neurobiológicos associados ao TEA, destaca-se o desequilíbrio entre os sistemas de neurotransmissores excitatórios. Nesse contexto, as vias glutamatérgicas e colinérgicas, que desempenham um papel fundamental na plasticidade neuronal, mostram-se alteradas em indivíduos com TEA. Em *Caenorhabditis elegans*, o gene *glr-1* codifica um receptor ionotrópico de glutamato análogo ao receptor AMPA, sendo relevante para o estudo dos circuitos neurais. A cepa KP4 Knockout para o gene *glr-1*, é um modelo promissor para investigar como as alterações na sinalização glutamatérgica podem influenciar na interação social.

Objetivos: Investigar o papel do sistema glutamatérgico na interação social, por meio do ensaio comportamental de sobrevivência de *C.elegans* sob diferentes condições sociais, em grupo e em isolamento.

Métodos: Foram utilizados indivíduos da linhagem KP4 (*glr-1*). Esses animais foram mantidos em meio NGM com *E. coli* OP50 em 20°C. Para o ensaio comportamental de sobrevivência sob diferentes condições sociais, os animais foram distribuídos em duas condições experimentais: em grupo e em isolamento.

Resultados: A análise do ensaio comportamental de sobrevivência foi avaliada nos intervalos de 20, 30 e 60 minutos. Aproximadamente dois terços dos indivíduos com uma deleção do gene do receptor de glutamato mantido em grupo (n=12) apresentaram taxas de sobrevivência superiores às observadas nos indivíduos mantidos em isolamento (n=3). Esses dados sugerem que o convívio social é um fator determinante para a viabilidade e o desenvolvimento desses animais.

Conclusão: Com base nos resultados obtidos no ensaio comportamental de sobrevivência, observa-se que a cepa KP4 Knockout para o gene *glr-1* apresenta maior sobrevivência quando mantida em grupo, em comparação ao isolamento. Esses dados sugerem que o convívio social é um fator determinante para a viabilidade e o desenvolvimento desses animais.

Apoio Financeiro: CNPq e FAPERJ.

P-084 - EFFECTS OF MODERATE CAFFEINE EXPOSURE ON ENTERIC NEURONAL AND GLIAL MARKERS IN ANIMAL MODELS OF ANXIETY

¹Tavares, I., ¹Nazareth, Y., ¹Ricciardi, M.C., ¹Carvalho, M., ²Arêas, C.M., ²Smis, J.S., ²Sant'Anna, R.,

³Maisonnette, S., ³Rosseti, F., ³Landeira-Fernandez, J., ^{1,2}Campello-Costa, P., ^{1,2}Tavares-Gomes, A. L.

¹Graduate Program in Neuroscience, Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói-RJ, Brazil;

²Department of Neurobiology, Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói-RJ, Brazil; ³Graduate

Program in Psychology, Pontifícia Universidade Católica (PUC), Rio de Janeiro, Brazil.

Introduction: Caffeine is the most widely consumed psychoactive stimulant worldwide and exhibits a dual effect on anxiety, acting as either anxiogenic or anxiolytic depending on the ingested dose. Anxiety is among the most common psychiatric disorders, and studies indicate a relationship between anxiety and alterations in gut–brain communication. The gut–brain axis is a bidirectional communication network linking the gastrointestinal tract (GI) and the central nervous system. The enteric nervous system (ENS), which is composed of enteric neurons and glial cells controls the functions of the GI tract.

Objectives: This study aimed to evaluate the impact of moderate caffeine consumption on the GI tract and ENS in rats exhibiting anxiety-like behavior.

Methods: Male Wistar rats (300 g), previously selected for high (CAC – Carioca High Freezing) or low (CBC – Carioca Low Freezing) levels of freezing behavior in response to contextual cues, were used and compared with control animals. The rats were exposed to water or to a moderate dose of caffeine diluted in water (0.3 g/L) for 12 days. After euthanasia, the colon was measured, and the number and size of fecal pellets were recorded. Western blot analyses were performed to determine the levels of glial fibrillary acidic protein (GFAP) and β -tubulin III in the neuromuscular layer, assessing enteric neuronal and glial markers. The study was approved by the Animal Ethics Committee of UFF (CEUA protocol 1707150622).

Results: We found a distension along the colon of caffeine-exposed animals in the CAC group compared with the control group. The number of fecal pellets observed in the colonic lumen was higher in the CAC group than in controls. Regarding the average size of the fecal pellets, animals from the CBC group showed a reduction, whereas caffeine-exposed animals from the CAC group exhibited an increase, suggesting impaired intestinal motility leading to the formation of pellets of different sizes compared with controls. CAC animals exposed to caffeine showed a higher percentage of fecal water compared with CAC animals exposed to water. Protein analysis indicated an increase in GFAP content in CAC animals (both water and caffeine) compared with the control group, while caffeine treatment reduced GFAP levels in all groups when compared with their respective water-treated counterparts. A decrease in β -tubulin III was observed in both CBC and CAC groups; following caffeine exposure, β -tubulin III increased in the CAC group and decreased in the CBC group, compared with their respective water-treated groups.

Conclusions: We identified anatomical and functional alterations in the large intestine of both groups of rats exhibiting distinct behavioral responses to anxiogenic stimuli. Caffeine exposure differentially modulated enteric neuronal and glial activity in both groups, suggesting that this communication is essential for understanding mood disorders and their manifestations through the gut–brain axis.

Financial Support: CAPES, CNPq, FAPERJ.



P-085 - ESTUDO DA SINALIZAÇÃO PURINÉRGICA NA RESPOSTA NEUROINFLAMATÓRIA NO CÓLON DE ANIMAIS MODELO DA DOENÇA DE PARKINSON.

Marianna Gonçalves de Carvalho¹, Isabela Nobrega Fialho Tavares¹, Josué Santos Smis², Rodrigo Sant'Anna², Cinthia Melo Arêas², Luisa Ribeiro Figueiredo Valdetaro³, Maria Carolina Garcia Ricciardi¹ e Ana Lúcia Tavares-Gomes^{1,2}. ¹Programa de Pós-graduação em Neurociências, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Rio de Janeiro, Brasil.

²Departamento de Neurobiologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Rio de Janeiro, Brasil. ³ Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Instituto Biomédico, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Rio de Janeiro, Brasil.

Introdução: A Doença de Parkinson (DP) é uma doença neuroinflamatória que afeta também o sistema nervoso entérico. As células gliais entéricas (CGEs) desempenham um papel central na resposta neuroinflamatória.

Estudos prévios do nosso grupo demonstraram que, no modelo animal da DP induzido por 6-hidroxidopamina (6-OHDA), há reatividade das CGEs no cólon 48 horas após a indução da neurodegeneração, persistindo por 1 semana. Em paralelo, a sinalização purinérgica vem sendo descrita como um importante mecanismo na promoção de resposta inflamatória no sistema nervoso central na DP. Somado a este dado, é bem estabelecido na literatura o envolvimento da sinalização purinérgica em quadros de doenças inflamatórias intestinais. Hoje sabemos que pessoas que desenvolvem doenças inflamatórias intestinais fazem parte de grupo de risco para desenvolvimento da DP. Diante disso, torna-se fundamental compreender o envolvimento dessa via no intestino em modelos experimentais da DP.

Objetivos: Investigar o envolvimento da sinalização purinérgica no cólon de animais modelo para a DP.

Métodos: Foram utilizados camundongos machos C57/Bl6 divididos em grupos controle e 6-OHDA com 48 horas e 1 semana de sobrevida. Os animais foram submetidos a cirurgia estereotáxica, para administração de 6-OHDA ou salina. Os animais com 1 semana de sobrevida realizaram avaliação da atividade motora. Nos devidos tempos, as amostras foram coletadas e o conteúdo das proteínas P2X7R e p38MAPK foram avaliados nas camadas neuromuscular e mucosa por Western blotting. Também foram avaliados os parâmetros morfológicos macroscópicos do cólon dos animais. Esse projeto possui aprovação da CEUA-UFF: nº 6095200219.

Resultados: Na avaliação motora, os animais com 1 semana de sobrevida do grupo 6-OHDA apresentaram maior tempo de descida da barra vertical e maior quantidade de quedas por tentativa quando comparado ao controle, confirmando a disfunção motora clássica da DP. A análise por Western blotting revelou que o conteúdo do receptor purinérgicos P2X7 não é alterado na camada mucosa, mas no compartimento neuromuscular encontramos uma redução significativa tanto no tempo de 48h quanto 1 semana no grupo 6-OHDA. Também na camada neuromuscular, a proteína p38MAPK, proteína quinase envolvida na ativação de respostas inflamatórias, apresentou um aumento significativo no tempo de 48h pós indução do modelo da DP, retornando ao nível do controle após 1 semana de sobrevida.

Conclusão: Os resultados sugerem que a proteína p38MAPK possa estar envolvida em uma resposta precoce no cólon mediado pelo eixo intestino-cérebro de animais modelo da DP. Os dados mostram ainda que o receptor purinérgicos P2X7 não estaria envolvido na resposta inflamatória estudada no modelo da DP. Estudos futuros avaliarão outros receptores purinérgicos, considerando o papel do ATP como principal gliotransmissor e o envolvimento da glia entérica na inflamação intestinal na DP.

Apoio Financeiro: FAPERJ, CNPq, CAPES e PROPPI.

P-086 - Efeitos do ácido clorogênico na modulação da atividade neuronal e dos receptores NMDA em modelos in vitro

TORRES, M. P. (1,2)*; DOMITH, I. (3); CABRAL, M.E. (1) KIM, S. (4); PEREIRA, M. (2) COSENZA, M. (1,2) (1) Laboratório de Farmacologia Molecular, Departamento de Farmacologia e Fisiologia (MFL), Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro. (2) Programa de Pós Graduação em Neurociências. (3) Instituto D'Or de Pesquisa e Ensino (IDOR). (4) Department of Biomedical Sciences, Colorado State University, Fort Collins.

Introdução: Em doenças neurodegenerativas, como a Doença de Alzheimer (DA), a sinalização glutamatérgica encontra-se alterada devido à capacidade dos oligômeros de A β em aumentar a liberação de glutamato e interagir diretamente com os receptores NMDA, levando à sua hiperativação. Esse fenômeno, conhecido como excitotoxicidade, resulta em influxo excessivo de cálcio, perda progressiva das funções sinápticas e morte neuronal, contribuindo para o comprometimento cognitivo característico da DA. Receptores NMDA extrassinápticos contendo a subunidade GluN2B estão associados à excitotoxicidade, e antagonistas seletivos para essa subunidade têm sido considerados potenciais estratégias neuroprotetoras. O ácido clorogênico (CGA), composto fenólico abundante no café, apresenta atividades neuroprotetoras por diversos mecanismos. Estudos demonstraram que o CGA pode modular canais de potássio dependentes de voltagem, prevenir o influxo exacerbado de Ca $^{2+}$ mediado por glutamato, reduzindo a excitotoxicidade.

Objetivos: Investigar os efeitos do CGA na neuroproteção e modulação da excitabilidade neuronal em modelos in vitro.

Resultados: A atividade espontânea de neurônios hipocampais cultivados foi significativamente reduzida nas condições tratadas agudamente com CGA (30 μ M) ($p = 0,0125$) e seu metabólito, CFA (30 μ M) ($p < 0,0001$). Esse efeito também foi observado nas culturas expostas por 24h ao CGA (30 μ M) ($p = 0,0098$), avaliadas por imageamento de cálcio (GCaMP). Em culturas mistas de retina de embrião de galinha, o tratamento com CGA (100 μ M) durante 24h reduziu levemente a atividade basal dos receptores NMDA ($p=0,0387$) enquanto o glutamato isoladamente promoveu um aumento expressivo ($p= 0,0115$). Notavelmente, nas culturas pré-tratadas com CGA (100 μ M) e posteriormente expostas ao glutamato, o CGA foi capaz de prevenir o aumento da atividade do receptor NMDA induzida por glutamato (3-CQA + GLU vs. GLU $p=0,0120$), mantendo próximo ao nível do controle (CT vs. 3-CQA 24h + GLU, $p>0,9999$), sugerindo que o CGA pode prevenir a hiperativação induzida por glutamato. Corroborando esses achados, análises de RT-PCR mostraram redução significativa na expressão da subunidade GluN2B em culturas tratadas com CGA por 24h ($p=0,0423$). Além disso, análises morfológicas por imunofluorescência em culturas purificadas de neurônios da retina demonstraram aumento no número e comprimento de neuritos após o tratamento com CGA ($p=0,0002$).

Conclusão: Em conjunto, os resultados indicam que o ácido clorogênico modula a atividade neuronal e os receptores NMDA, reduzindo a excitabilidade e promovendo maior sobrevida celular. Esses achados sugerem um potencial efeito neuroprotetor do CGA, possivelmente mediado pela regulação da sinalização glutamatérgica e pela prevenção da excitotoxicidade.

Apoio Financeiro: CAPES, CNPq, FAPERJ, CSU.

P-087 - IMPACTO DA EXPOSIÇÃO À VAPOR DE NICOTINA NA ADOLESCÊNCIA EM UMA SEGUNDA EXPOSIÇÃO A CETAMINA

1 RODRIGUES, Maysa N., 2 RODRIGUES MENDES, W. W., 3 Souza, G.S.M., 4 BRAGA, F.U., 5 Duarte Pinheiro, V.H.S, 6 BRANDÃO, C.K.G., 7 Manhães, A.C., 8 Dutra-Tavares, A.C., 9 Abreu-Villaça, Y. 1, 2, 3, 4, 6, 7, 9, Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, 5 Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-RIO), Rio de Janeiro, 8, Departamento de Ciências Biomédicas e Saúde, UERJ, Cabo Frio.

Introdução: Observa-se um aumento do uso de cigarros eletrônicos (CEs) em adolescentes e adultos jovens. A nicotina nessa fase causa alterações cerebrais, aumentando a vulnerabilidade e o risco de CEs atuarem como "porta de entrada" para outras substâncias, como a cetamina. Esta última é um antagonista não competitivo do receptor NMDA e uma droga de abuso que altera os sistemas de dopamina, serotonina e GABA.

Objetivos: Investigar se a exposição precoce de camundongos adolescentes ao vapor de nicotina (VAPE) influencia as respostas comportamentais à cetamina (CET) na fase adulta jovem. Para isso, o estudo avaliou a atividade locomotora e exploratória sob efeito da cetamina, considerando a exposição prévia à nicotina.

Métodos: Camundongos Suiços (CEUA032/2023) adolescentes (dias pós-natal (PN)30-PN45), sendo 43 machos e 46 fêmeas, foram expostos diariamente a vapor de nicotina (48 mg/ml) via sistema de exposição (La Jolla Alcohol Research Inc., EUA) em ciclos de 4 horas/dia, visando modelar o consumo de CEs, ou a ar corrente. A partir de PN60, formaram-se 4 grupos (ARSAL, ARCET, VAPESAL, VAPECET), com metade dos animais recebendo injeção diária de cetamina (10mg/Kg, s.c.) ou solução salina imediatamente antes dos testes comportamentais. Foram realizados os testes de Campo Aberto que avaliou a atividade locomotora (distância percorrida, por 3 dias consecutivos) e o Campo Vazado que mediu a busca por novidade (número de orifícios explorados). Os dados foram analisados utilizando o software IBM SPSS Statistics for Windows, versão 21.0. Empregaram-se Análises de Variância (ANOVAs), com Grupo e Sexo como fatores. Para o Campo Aberto Dia foi o fator de repetição. As ANOVAs foram seguidas por testes *posthoc* (Fisher Protected Least Significance Difference, FPLSD).

Resultados: A exposição às drogas afetou a atividade locomotora. Em machos, a cetamina causou hiperlocomoção nos 3 dias de teste (ARCET>ARSAL: +67,2% a +97,7%; ARCET>VAPESAL: +76,3% a +65,0%). Em fêmeas as diferenças entre os grupos experimentais variou ao longo dos dias. O efeito isolado da cetamina embora evidente no Dia1 (ARCET>ARSAL, +59,9%), não persistiu nos dias subsequentes. A exposição ao VAPE, por sua vez, não causou alterações significativas (VAPESAL=ARSAL), mas potencializou o efeito subsequente da cetamina, de forma que o grupo VAPECET foi hiperativo nos 3 dias quando comparado aos grupos ARSAL (+47,2 a +76,5%) e VAPESAL (+37,3 a +64,8%;). No dia 3, adicionalmente, o grupo VAPECET foi mais ativo que o grupo ARCET (+41,2%). Quanto à busca por novidade, também foi aumentada pela cetamina, mas somente quando precedida pela exposição ao VAPE (VAPECET>ARSAL 16,9%; VAPECET>VAPESAL +17,3%)

Conclusão: O estudo demonstra que a exposição a CEs na adolescência aumenta a suscetibilidade à hiperlocomoção e busca por novidade induzida pela cetamina nas fêmeas adultas. Este resultado sugere que o uso precoce de nicotina, através de CEs, potencializa os efeitos comportamentais de abuso da cetamina.

Apoio Financeiro: CNPq, FAPERJ e CAPES.

P-088 - MATURATION, PHENOTYPE, AND RECRUITMENT OF INFLAMMATORY MONOCYTES DURING EXPERIMENTAL CEREBRAL MALARIA

MÔNICA L. RIBEIRO-ALMEIDA¹; LUCAS FREIRE-ANTUNES¹; VITÓRIA MONTEIRO DE AZEVEDO¹; UYLA ORNELLAS-GARCIA¹; MARCOS VINICIUS RANGEL-FERREIRA¹; ANA CLARA DA SILVA POEYS¹; LUAN MATHEUS DE ASSIS¹; CLÁUDIO TADEU DANIEL-RIBEIRO¹; FLÁVIA LIMA RIBEIRO GOMES¹. Laboratório de Pesquisa em Malária, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.

Malaria remains a major public health issue, with 263 million cases and 597 thousand deaths related to *Plasmodium* spp. infection in 2023. If not promptly diagnosed and treated, the disease can progress to severe forms, such as cerebral malaria (CM). Exacerbated immune activation has been recognized as a key factor in CM pathogenesis, with inflammatory monocytes (iMONs) considered potential drivers of disease progression. iMONs are produced in the bone marrow (BM), where their development and release into circulation are tightly regulated by CXCR4 expression. This study investigated the dynamics of iMON production, migration, and polarization during *Plasmodium berghei* ANKA infection in C57BL/6 (ECM-susceptible) and BALB/c (ECM-resistant) mice. Mice were inoculated intraperitoneally with 1×10^6 infected erythrocytes. Splenic, BM, and brain cells were collected and processed on days 4 and 6 post-infection. Cells were stained with viability dye and monoclonal antibodies for surface and intracellular markers. Thirteen-color flow cytometry was used to analyze iMON subpopulations and phenotypic profiles. Experiments were performed under license L-029/2020 (CEUA-IOC). Two-way ANOVA with Tukey's post hoc test was used for comparisons between strains, and an unpaired t-test was applied for within-strain comparisons. C57BL/6 mice showed a marked increase in BM iMONs ($12,43 \pm 6,175 \times 25,33 \pm 4,163$), especially the immature CXCR4^{hi} ($8,318 \pm 5,062 \times 105,7 \pm 76,80$) subset. BALB/c mice also showed CXCR4^{hi} expansion ($6,562 \pm 3,228 \times 35,74 \pm 12,74$), but with lower magnitude and a concurrent decrease in CXCR4^{low} cells ($42,95 \pm 16,41 \times 17,12 \pm 8,092$), suggesting more controlled maturation. In the spleen, BALB/c mice displayed progressive iMON accumulation ($10,71 \pm 5,089 \times 67,41 \pm 14,75$) with sustained CD62L ($42,14 \pm 16,99 \times 32,94 \pm 7,043$) and increased CD206 expression ($3,868 \pm 1,718 \times 5,970 \pm 1,190$), while C57BL/6 mice showed transient iMON expansion ($41,07 \pm 21,89 \times 18,49 \pm 5,695$) with reduced CD62L ($49,71 \pm 23,85 \times 31,00 \pm 11,20$) and elevated IL-1 β ($1,594 \pm 0,7245 \times 8,808 \pm 0,2428$). Both strains recruited similar numbers of iMONs to the brain (BALB/c $7941 \pm 1548 \times C57BL/6 7264 \pm 3836$). Data are expressed as mean \pm standard error of the mean (SEM) from 2 independent experiments with 5 animals per group. These findings suggest that iMON phenotype, rather than presence alone, may be critical in CM development, highlighting their dual role in either exacerbating inflammation or promoting resolution depending on activation state and microenvironment.

Funding: Pós-Graduação *Stricto sensu* em Biologia Celular e Molecular, FAPERJ, CAPES, CNPq, INOVA.

P-89 - MODULATION OF PD-L1 EXPRESSION IN NEUTROPHILS FOLLOWING *PLASMODIUM BERGHEI ANKA* INFECTION AND SECONDARY INFLAMMATORY CHALLENGE

¹VITÓRIA MONTEIRO-AZEVEDO, ¹MÔNICA L. RIBEIRO-ALMEIDA, ¹ANA CLARA DA SILVA POYES, ¹BARBARA JOSÉ BAPTISTA, ¹LUAN MATHEUS DE ASSIS, ¹UYLA ORNELLAS-GARCIA, ¹LUCAS FREIRE-ANTUNES, ¹CLÁUDIO T. DANIEL-RIBEIRO, ¹FLÁVIA L. RIBEIRO-GOMES. Laboratório de Pesquisa em Malária, Instituto Oswaldo Cruz (IOC), Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil.

Malaria is a disease caused by protozoan parasites of the *Plasmodium* genus, responsible for thousands of deaths annually. While the innate immune system limits parasite growth, an unbalanced inflammatory response contributes to severe manifestations, such as cerebral malaria (CM). Neutrophils, key players in the host defense, produce inflammatory mediators that amplify inflammation and shape adaptive immunity. Recent studies have revealed phenotypic and functional diversity among neutrophil. Moreover, innate immune cells are now understood to exhibit a form of memory, whereby previous exposures to infections or vaccines can modulate their responses, upon encountering subsequent stimuli. This study aimed to assess whether *P. berghei* ANKA infection in C57BL/6 mice, a model for CM, induces immune memory in neutrophils. Mice were intraperitoneally infected with 10^6 *P. berghei* ANKA GFP-infected erythrocytes. On day 5 post-infection, phenotypic analyses of spleen and bone marrow neutrophils were performed. Naive and infected mice were treated with chloroquine for 7 days. On day 27, a subset of mice from both the PBS+CQ and PbA+CQ groups were challenged with LPS intraperitoneally. After 24 hours, neutrophils from spleen, bone marrow, and peritoneal cavity were analyzed for inhibitory receptor expression. The tissues were collected and manually processed, and the cells were incubated with a viability dye and stained with antibodies for neutrophil identification as well as inhibition markers, followed by analysis using flow cytometry. Experiments were performed under license L-022/2021-A3 (CEUA-IOC). Data analyses were performed using GraphPad Prism® 8.0 software. Two-way ANOVA was used to assess differences between groups, followed by Tukey's post hoc test when applicable, and within-group comparisons were conducted using an unpaired Student's t-test. In this study, approximately 65 animals were used. Our data revealed that, during active infection, the expression of PD-L1, a co-inhibitory molecule associated with immune regulation, increased significantly in splenic ($6,844 \pm 3,546 \times 70,96 \pm 15,15$) and bone marrow-derived ($2,224 \pm 0,8270 \times 28,25 \pm 9,247$) neutrophils. Following treatment, at a later stage, neutrophils from previously infected animals exhibited a considerable reduction in PD-L1 expression ($6,783 \pm 0,6667 \times 16,00 \pm 2,509$). However, upon secondary LPS challenge, PD-L1 levels increased again but remained significantly lower than those in LPS-challenged, non-infected controls ($30,63 \pm 2,744 \times 61,18 \pm 10,33$; $9,160 \pm 2,056 \times 13,58 \pm 2,250$). This modulation was observed in both spleen and bone marrow compartments, respectively. These findings suggest that prior plasmodial infection altered the capacity of neutrophils to respond to inflammatory stimuli. While reduced PD-L1 expression may reflect altered regulatory potential, further investigation is needed to determine whether this represents the development of innate immune memory.

Financial Support: CAPES, CNPq, Faperj, Pós-Graduação *Stricto sensu* em Biologia Celular e Molecular.

P-090 - IMPACTOS ASSOCIADOS À INFECÇÃO PELO NOVO REARRANJO DO VIRUS OROPOUCHE EM CÉLULAS-TRONCO NEURAIS, ASTRÓCITOS E NEURÔNIOS HUMANOS DERIVADOS DE iPSC.

Gomes, B.C.¹, Souza, L.R.Q.², Limongi, L.P.³, Santos, R.T.S.¹, Damasceno, I.A.⁴, de Oliveira, J.E.⁵, Machado, S.L.⁶, Lione, V.O.F.⁶, Mendez-Otero, R.², Clarke, J.H.R.⁴, Miranda, I.A.³, Trindade, P.^{1, 5, 6}. 1 Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil. 2 Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil. 3 Instituto de Microbiologia Paulo Góes, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil. 4 Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil. 5 Instituto Biomédico, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil. 6 Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

Introdução: O vírus Oropouche (OROV) é um arbovírus historicamente endêmico na Bacia Amazônica. Desde 2023, está em curso uma grande epidemia associada ao OROV, onde foram confirmados mais de 28.000 casos nas Américas e Europa, sobretudo no Brasil. Dados divulgados pelo Ministério da Saúde sinalizam a disseminação do OROV para todas as regiões do país, sobretudo para a região sudeste, que concentra o maior contingente de casos reportados atualmente. Apesar da importância clínica, não há vacinas ou antivirais licenciados contra o OROV e a literatura sobre esse vírus é bastante limitada. OROV geralmente está associado a quadros de síndrome febril autolimitada, porém, manifestações clínicas mais severas foram reportadas na epidemia atual, como complicações na gravidez, doenças neurológicas e óbitos. Estudos recentes apontam que a epidemia atual está correlacionada com a emergência de um novo rearranjo do OROV, o qual demonstrou aumento da virulência e escape da imunidade *in vitro*. Além disso, evidências clínicas sugerem um potencial neurotrópico do OROV em humanos. Contudo, os impactos do novo rearranjo do OROV no sistema nervoso central (SNC) humano permanecem desconhecidos.

Objetivo: Neste trabalho, nós investigamos a suscetibilidade, permissividade e potenciais danos associados a uma nova variante do OROV sobre células neurais humanas derivadas de células-tronco de pluripotência induzida (iPSC).

Metodologia: A partir de ensaios de imunocitoquímica, nós detectamos que o OROV é capaz de infectar neurônios, astrócitos e células-tronco neurais (NSC). No período de 3 dias pós-infecção (dpi), astrócitos e NSC exibiram um percentual de células infectadas de 98,53% e 71,9%, respectivamente. A titulação viral demonstrou que a infecção foi produtiva em NSC ($4 \log_{10}$ PFU/mL) e astrócitos ($5 \log_{10}$ PFU/mL) em 2 dpi. Somado a isso, através do ensaio colorimétrico de MTT, nós identificamos que o OROV prejudica a viabilidade celular dos astrócitos ($72,23\% \pm 4,04$), neurônios ($56,09\% \pm 2,59$) e NSC ($44,51\% \pm 7,19$) em 3 dpi.

Conclusão: Portanto, nossos resultados fornecem evidências de que o novo rearranjo do OROV pode afetar a homeostase em vários estágios de maturação do SNC e potencialmente prejudicar a neurogênese, o que pode estar associado a complicações cerebrais em adultos e anomalias congênitas graves, como microcefalia.

Apoio Financeiro: FAPERJ, CAPES e CNPq

P-091 - A INIBIÇÃO DA ENZIMA DE DEGRADAÇÃO DA ANANDAMIDA (FAAH) PRESERVOU FOTORRECEPTORES POR MEIO DOS RECEPTORES CB1 E CB2 EM CAMUNDONGOS RD10.

MATTOS, Aline E. R. (1); MAGALHÃES, Camila. F. (2); PETRS-SILVA, Hilda. (3); FRAGEL-MADEIRA, Lucianne. (4). (1) Universidade Federal Fluminense. Doutoranda. (2) Hemorio. Doutora. (3) Universidade Federal do Rio de Janeiro. Doutora. (4) Universidade Federal Fluminense. Doutora.

Introdução: A retinite pigmentosa (RP) leva à perda progressiva de células fotorreceptoras da retina e perda da visão. Este estudo investigou se os receptores canabinóides CB1 ou CB2 mediam a neuroproteção dos fotorreceptores após injeções intraperitoneais (IP) diárias de URB597, um inibidor da FAAH, em um modelo murino de RP.

Objetivo: Analisar qual receptor endocanabinoide CB1 ou CB2 está envolvido no efeito protetor dos fotorreceptores, após inibição da enzima FAAH em camundongos rd10.

Métodos: Aprovados pelo Comitê de Pesquisa Animal (CEUA-UFF 1464280219), camundongos Pde6 β rd10/rd10 (rd10) receberam injeções IP de P14 a P18 com antagonistas CB1 (SR141716) ou CB2 (AM630) (1 mg/kg) isoladamente ou combinados 30 minutos depois com URB597 (0,3 mg/kg). Os animais controle (CTR) receberam 0,1% de DMSO em 0,01 M de PBS. As retinas foram coletadas 24h depois para imunocoloração para Recoverina (fotorreceptores) e GFAP (gliose reativa). Análises Estatísticas One-way ANOVA.

Resultados: O número de células fotorreceptoras não foi alterado em toda a retina após tratamentos com antagonistas ou URB597 (CTR: $229,1 \pm 10,54$; URB597: $271,9 \pm 15,94$; SR141617: $211,4 \pm 20,35$; SR141617 + URB597: $233,2 \pm 29,41$; AM630: $210,3 \pm 18,02$; AM630 + URB597: $219,6 \pm 24,23$). Entretanto, na retina periférica, o URB597 aumentou a sobrevivência dos fotorreceptores, um efeito bloqueado pelos antagonistas CB1 ou CB2 (CTR: $243,9 \pm 13,45$ vs. URB597: $319,1 \pm 21,05$; p= 0,0072; SR141617+URB597: $218,0 \pm 10,76$ p= 0,0061; AM630+URB597: $222,7 \pm 11,48$; p= 0,0044). Na retina central não foram observadas alterações significativas (CTR: $214,2 \pm 11,65$; URB597: $224,3 \pm 12,31$; SR141617: $207,8 \pm 20,38$; SR141617+URB597: $228,3 \pm 31,71$; AM630: $207,3 \pm 18,88$; AM630+URB597: $213,6 \pm 26,25$). A expressão de GFAP também não apresentou alterações em nenhuma das áreas da retina (CTR Periférica: $63,88 \pm 10,80$; URB597: $60,59 \pm 11,94$; SR141617: $79,40 \pm 31,51$; SR141617+URB597: $59,73 \pm 15,13$; AM630: $58,52 \pm 17,71$; AM630+URB597: $67,64 \pm 23,83$; CTR Central: $60,53 \pm 9,830$; $61,33 \pm 11,33$; AM630: $60,54 \pm 14,44$; AM630+URB597: $60,24 \pm 15,17$).

Conclusão: Essas descobertas indicam que o sistema endocanabinoide desempenha um papel neuroprotetor em um modelo murino de RP, ressaltando seu potencial como alvo para estratégias terapêuticas na degeneração da retina.

Apoio financeiro: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro - FAPERJ.

P-092 - TARGETING PROSTAGLANDIN E2 RECEPTOR 2 IN SCHWANN CELLS INHIBITS INFLAMMATORY PAIN BUT NOT INFLAMMATION

1De Siena, G., 1Nassini, R., 1Landini, L., 1Marini, M., 1Chieca, M., 1Souza Monteiro de Araújo, D., 2Montini, M., 1Abruzzese, V.D., 3,4Zhang, J., 1Bellantoni, E., 5De Giorgi,V., 7,8,9Tonello, R., 7,8,9Peach, C.J., 1Scuffi, I., 7Jensen, D.D., 7,8,9,10Schmidt, B.L., 7,8,9Bunnett, N.W., 1De Logu, F., & 1Geppetti, P., 1Department of Health Sciences, Clinical Pharmacology and Oncology Section, University of Florence, Italy, 2Department of Experimental and Clinical Biomedical Sciences "Mario Serio", Medical Genetics Unit, University of Florence, Italy. 3Department of Pharmacology, University of California, San Diego, La Jolla, CA, USA. 4Department of Chemistry and Biochemistry, University of California, San Diego, La Jolla, CA, USA. 5Department of Health Sciences, Dermatology Section, University of Florence, Italy. 6FloNext srl, Florence, Italy. 7Department of Molecular Pathobiology, College of Dentistry, New York University, NY, USA. 8Department of Neuroscience, New York University, NY, USA. 9Pain Research Center, College of Dentistry, New York University, NY, USA. 10Translational Research Center, College of Dentistry, New York University, NY, USA.

Introduction: Analgesia by non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) is ascribed to inhibition of prostaglandin (PG) biosynthesis and ensuing inflammation. However, NSAIDs have life-threatening side effects, and inhibition of inflammation delays pain resolution.

Aim: Decoupling the mechanisms underlying PG evoked pain vs. protective inflammation would facilitate pain treatment. Herein, we reveal that selective silencing of the PGE2 receptor 2 (EP2) in Schwann cells via adeno-associated viral vectors abrogates the indomethacin sensitive component of pain-like responses in mice elicited by inflammatory stimuli without affecting inflammation.

Methods: Animal experiments and sample collections were carried out according to the European Union (EU) guidelines for animal care procedures and Italian legislation (DL.gs 26/2014). All animal studies were approved by the Animal Ethics Committee of the University of Florence and the Italian Ministry of Health (permits no. 765/2019-PR, 288/2021-PR). Male and female mice C57BL/6J were used throughout (25–30 g, 6–8 weeks old). The mechanical paw-withdrawal threshold was measured using von Frey filaments according to the up-and-down paradigm. Mechanical paw-withdrawal threshold was measured at baseline and at time different following treatments. Heat hypersensitivity, mice were placed on a hot plate set at 50 ± 0.1 °C. The latency to the first hind paw licking/withdrawal was taken as an index of the nociceptive threshold and detected before (basal) and after treatments. Cutoff time was set at 30 s. Paw thickness was measured using 0-12mm stainless digital thickness gauge. Paw thickness was measured at baseline, and at time different following i.pl. Cg, CFA or vehicle and indomethacin or vehicle. Respectively, eight mice to group were used per experimental and the results are expressed as the mean \pm SEM. For multiple comparisons, a one-way ANOVA followed by a post-hoc Bonferroni's test was used. Statistical analyses were performed on raw data using GraphPad Prism 8. P values less than 0.05 ($P < 0.05$) were considered significant.

Results: EP2 receptor activation in Schwann cells mediates PGE2-evoked sustained hindpaw mechanical allodynia. Dose-dependent non-evoked nociception and dose time-dependent allodynia after intraplantar injection (i.pl.) of PGE2, L-902,688 (L-902), butaprost (Buta) or vehicle (Veh) in C57BL/6 J mice. Non-evoked nociception and allodynia after i.pl. PGE2 (1.5 nmol) or Veh in B6 pretreated with PF-04448948 (PF, 5nmol), BGC 20-1531 (BGC, 5 nmol) or Veh. Non-evoked nociception and allodynia after i.pl. PGE2 or Veh in Plp-Cre, Adv-Cre or Control mice infected with AAV for selective silencing of EP4.

Conclusion: Our results obtained with a series of different selective antagonists, including three EP4 and two EP2 antagonists, exclude the involvement of neuronal EP4 in mechanical hypersensitivity and grimace behavior at the site of inflammation.

Supported by grants from: European Research Council (ERC) under the European Union's Horizon 2020 research and innovation program (grant agreement No. 835286 SCOPE, P.G. and grant agreement No. 101113466 PAIN-CARE, P.G.).

P-093 - INDOLEAMINE 2,3 DIOXYGENASE IS IMPORTANT FOR THE MAINTENANCE OF CELL METABOLIC ACTIVITY IN SCHWANN CELLS STIMULATED WITH MYCOBACTERIUM LEPRAE.

Moura, C.L.S.¹, Rahman, A.U.¹, Athaide, M.M.¹, Silva, D.S.², Menna-Barreto, R.F.S.³, Lara, F.A.², Pinheiro, R.O.¹ ¹Leprosy Laboratory, Oswaldo Cruz Institute, Fiocruz-RJ. ²Cellular Microbiology Laboratory, Oswaldo Cruz Institute, Fiocruz-RJ. ³Cellular Biology Laboratory, Oswaldo Cruz Institute, Fiocruz-RJ.

INTRODUCTION: Leprosy is an infectious disease caused by *Mycobacterium leprae* that affect Schwann Cells in peripheral nervous system(PNS) and macrophages in skin. It has been found that pro-inflammatory cytokines may be associated with neural damage by inducing enzyme indoleamine 2,3-dioxygenase(IDO) expression, that mediates catabolism along with the kynurenine pathway (KP). KP exhibits neurotoxic or neuroprotective activity in the central nervous system, but little is known of the effect of these metabolites in the PNS. **HYPOTHESIS:** Thus, we hypothesized an association between increased IDO activity and its metabolites with neural damage in peripheral neuropathy.

OBJECTIVES: Therefore, the main objective of this study is to evaluate the role of neuroinflammation markers as part of the immunopathological mechanisms that trigger leprosy neuropathy. **METHODOLOGY:** Schwann cell line of ST88-14 was treated with various concentrations of kynurenes, dead and live *M. leprae* for 24 hours. After stimulation, the metabolic activity and viability of ST88-14 was determined by 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide(MTT) assay and differential nuclear staining(DNS) assay respectively. Transmission electron microscopy was used to study the ultrastructure of ST88-14 treated with 1-MT (1-methy-D-tryptophan) and *M. leprae*.

RESULTS: In current study, the treatment with the KP metabolites: kynurenic acid (KA), quinolinic acid(QUIN) and picolinic acid(PA) did not affect Schwann cell metabolic cell activity; however, metabolic cell activity decrease in ST88-14 treated with 3-hydroxyanthranilic acid(3-HAA)(N=5). Live *M. leprae* was able to rescue the metabolic activity in 3-HAA-treated Schwann cells, but not dead *M. leprae*(N=3). Furthermore, the treatment of cells with IDO inhibitor 1-MT, along with dead *M. leprae*, inhibited metabolic activity in ST88-14(N=5). The quantification of viable cell nucleus showed that viability of ST88-14 decreases by increasing the kynurenes concentration and by 1-MT(N=3).

CONCLUSION: Our results suggest that metabolites of kynurenine pathway may differentially modulate the ST88-14 metabolic viability and that IDO maintains cell metabolic activity in Schwann cells stimulated *M. leprae*.

Funding agency: FIOCRUZ, CNPq, CAPES ,FAPERJ.

P-094 - ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA DO RESVERATROL E AGK-2 EM MODELO *IN VIVO* E *IN VITRO* INDUZIDOS POR *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

Ferreira-Costa M^{1,3}, Thiele E¹, Almeida MAP^{1,2} Bozza PT¹, Castro-Faria-Neto HC¹, Gonçalves-de-Albuquerque CF^{1,2,3}, Silva AR^{1,3} ¹Laboratório de Imunofarmacologia e Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brasil. ²Programa de Pós-Graduação em Neurociência, Universidade Federal Fluminense. ³Laboratório de Imunofarmacologia e Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

Introdução: A micróglia contribui para homeostase cerebral. Em doenças neurodegenerativas, elas se tornam ativadas, apresentando alterações morfológicas e funcionais, e liberam citocinas como TNF- α e IL-6 (1). A sepse induz a ativação glial (2) e é caracterizada por uma produção exarcebada de citocinas, levando a disfunções hemodinâmicas e metabólicas que podem evoluir para choque séptico, falência múltipla de órgãos e morte (3). A ativação da micróglia e a inflamação também são descritas na sepse e na encefalopatia associada à sepse (4). A *Klebsiella pneumoniae* (*KP*) pode causar sepse. A *KP* uma bactéria oportunista, Gram-negativa, produtora de beta-lactamases de espectro estendido e carbapenemases, que conferem a ela resistência à antibióticos (5). As sirtuínas são histonas desacetilases de classe III, são dependentes de NAD⁺. A SIRT1 exerce funções neuroprotetoras, enquanto a SIRT2 está associada à neurodegeneração (6). O resveratrol (RSV) é um ativador farmacológico da SIRT1 (7), enquanto o AGK-2 é um inibidor seletivo da SIRT2 antagoniza a neuroinflamação e a neurodegeneração (8).

Métodos: Células microgliais murinas (BV-2) foram pré-tratadas com RSV (100 μ M) ou AGK-2 (20 μ M) e, em seguida, expostas à *KP* (MOI 2). Após 1h foi coletado para avaliação da ativação do NF- κ B (pP-65) e 24h o sobrenadante foi coletado para análise de IL-6 e TNF- α . Camundongos foram submetidos à instilação intratraqueal com 5×10^8 UFC de *KP* e tratados com AGK-2 (10 mg/kg) por via intraperitoneal às 5 e 24h após a instilação. Após 48h os cérebros foram coletados para quantificação de citocinas e avaliação da ativação do NF- κ B (pP-65).

Resultados: A estimulação das células BV-2 com *KP* aumentou significativamente a produção de IL-6 e TNF- α após 24h. O pré-tratamento com RSV ou AGK-2 reduziu os níveis de citocinas em comparação ao grupo estimulado apenas com *KP*. A fosforilação do NF- κ B (pP-65) foi aumentada nas células BV-2 com a estimuladas, o RSV e o AGK-2 reduziram sua ativação. *In vivo*, a instilação de *KP* elevou os níveis de IL-6 e TNF- α no tecido cerebral após 48h, e o tratamento com AGK-2 reduziu significativamente essas citocinas. O tratamento com AGK-2 reduziu a ativação do NF- κ B em camundongos instilados com *KP*.

Conclusão: RSV e AGK-2 demonstraram efeitos anti-inflamatórios significativos *in vitro*, com a redução de mediadores inflamatórios. *In vivo*, o AGK-2 reduziu esses marcadores inflamatórios no córtex de camundongos instilados com *KP*. Esses achados destacam o potencial terapêutico da ativação da SIRT1 e da inibição da SIRT2 na modulação da neuroinflamação associada a infecções bacterianas.

Apoio Financeiro: FAPERJ, CNPq, CAPES, IOC-FIOCRUZ/RJ, UNIRIO

P-095 - A *Alpinia zerumbet* REVERTE E PREVINE OS DÉFICITS COGNITIVOS E DE MEMÓRIA INDUZIDOS PELA ADMINISTRAÇÃO DE ESCOPOLAMINA

Mattos, Juliana A. (1); Ferreira, Flávia S. (1); Lopes, Camilla F. O. (1); Soares, Letícia N. (1); Caetano, Ângelo C. (1); Moreira, Milena L. (1); Rodrigues, Marta Cristina C. (1); Filgueiras, Cláudio C. (2); da Costa, Cristiane A. (1); Ognibene, Dayane T. (1); Resende, Ângela C. (1), de Bem, Grazielle F. (1) (1) - Departamento de Farmacologia e Psicobiologia, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes (IBRAG), Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ). (2) - Departamento de Ciências Fisiológicas, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes (IBRAG), Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ).

Introdução: A doença de Alzheimer (DA) representa 60–80% dos casos de demência, para a qual não existe cura. Portanto, novas abordagens farmacológicas são necessárias, para impedir e prevenir sua progressão. Dessa forma, a *Alpinia zerumbet*, é uma planta medicinal presente na RENISUS, que possui ação neuroprotetora.

Objetivo: Estudar os efeitos preventivos e terapêuticos do extrato hidroalcoólico das folhas frescas de *Alpinia zerumbet* (ALE) sobre os déficits cognitivos e a neurodegeneração em camundongos submetidos à escopolamina (SCOP).

Métodos: Foram utilizados 58 camundongos C57BL/6 machos com 13 semanas (CEUA/044/2023), divididos em: Controle; SCOP (1mg/kg/dia, 6 semanas, intraperitoneal); SCOP+ALE/Preventivo (SCOP 1mg/kg/dia e ALE 50mg/kg/dia, 6 semanas, na água de beber); SCOP+ALE/Tratamento (SCOP 1mg/kg/dia, 6 semanas, e ALE 50mg/kg/dia nas últimas 3 semanas); SCOP/3 Semanas (1mg/kg/dia, 3 semanas). No final do protocolo realizaram o teste do campo aberto (CA) e de reconhecimento de objetos (RO), sendo posteriormente eutanasiados, com a perfusão do encéfalo para análises histológicas, com avaliação por One-way ANOVA e Tukey. CEUA/CEP: CEUA/044/2023.

Resultados e discussão: No RO, o índice de discriminação do objeto e o tempo de exploração do objeto novo foram menores ($p<0,05$) no grupo SCOP comparado ao Controle. Notavelmente, os grupos SCOP+ALE/Preventivo e SCOP+ALE/Tratamento aprimoraram a cognição ($p<0,05$), quando comparados aos grupos SCOP e SCOP/3 Semanas. Não houve diferença estatística no comportamento do tipo ansioso e na locomoção no CA. A análise histológica qualitativa demonstrou desorganização neuronal no hipocampo do grupo SCOP em relação ao controle. A prevenção e o tratamento com ALE restauraram o arranjo neuronal. Por fim, houve aumento da expressão de beta-amiloide no grupo SCOP em comparação ao Controle, e o tratamento e a prevenção com ALE reduziram essa expressão em comparação ao grupo SCOP. **Conclusão:** Nossos resultados sugerem, que o ALE possui efeitos benéficos contra os déficits cognitivos, o acúmulo de beta-amiloide e a neurodegeneração induzidos pela SCOP.

Financiamento: CNPq, FAPERJ e CAPES.

P-096 -EFFECTS OF GH HYPERSECRETION ON MICE FERTILITY

Paola Pamela ALMEIDA, Guilherme Andrade ALVES, Renata FRAZÃO.

University of São Paulo, Institute of Biomedical Sciences III, Department of Anatomy, Laboratory of Neurophysiology of Reproduction Thematic axis: Neuroendocrinology and Reproductive Physiology

The regulation of fertility in mammals is a highly sophisticated process, mediated by complex interactions between sex hormones and neurotransmitters. We have previously demonstrated that disruption of growth hormone (GH) and insulin-like growth factor (IGF-1) secretion impairs reproduction.

In this study, we investigated Albumin Δ GHR (Δ GHR) mice, which have a specific deletion of the GH receptor in hepatocytes, resulting in increased GH secretion despite low IGF-1 levels, to determine if GH hypersecretion alone affects the onset of puberty or fertility of female and male mice. The animals were maintained in a controlled environment and assessed for body weight gain during development, sexual maturation, and fertility rate.

Preliminary results indicate that male and female Δ GHR mice exhibit lower body weight gain during development compared to control animals ($P < 0.05$). Despite lower body weight gain, the onset of puberty was not affected in Δ GHR mice. Female and male mice exhibited vaginal opening or testicular descent at similar ages compared to the control animals (female, control, 32.0 ± 2.6 (n= 6), Δ GHR, 33.6 ± 1.3 days of age at vaginal opening (n= 17), $P = 0.6$; male mice, control, 33.5 ± 2.4 (n= 6), Δ GHR, 34.7 ± 1.3 days of age at testicular descent (n= 20), $P = 0.6$). Both male and female animals were fertile and produced a similar number of pups per litter compared to the control mice (n= 5/8 female or male mice per group, $P > 0.05$).

Our results demonstrate that reproduction is maintained in the face of GH hypersecretion when IGF-1 levels are suppressed, a finding that contrasts with the existing literature, as the effects of GH secretion disruption on reproduction cannot be dissociated from possible IGF-1 effects. This understanding can inform further strategies to prevent reproductive disorders. The study was approved by the Ethics Committee on Animal Use (CEUA), protocol No. 7681180521

P-097 - AGING DRIVES STRUCTURAL AND MOLECULAR DISRUPTION OF ASTROCYTE-ENDOTHELIAL CELL COUPLING IN MURINE AND HUMAN HIPPOCAMPUS

Raffaela Schafbenker¹, Ana Paula B. Araujo¹, Beatriz Martins¹, Felipe Cabral-Miranda¹, Isadora Matias¹, Isabella V. Damico¹, Renata E. P. Leite², Cláudia K. Suemoto², Michele Siqueira¹ & Flávia Gomes¹. ¹Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ; ²Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

Introduction: Astrocytes are glial cells that extend specialized processes covering almost 99% of the cerebral vascular endothelium. This interaction is crucial for maintaining homeostasis and integrity of the blood-brain barrier (BBB), including control of blood flow and metabolite uptake, required to meet the high energy demand of the central nervous system. Perivascular astrocytic endfeet interact with brain endothelial cells (ECs) via the dystrophin–dystroglycan complex (DGC), which anchors astrocytic processes to the basal lamina enveloping the cerebral blood vessels. Although BBB dysfunctions have been observed in age-related neurodegenerative diseases, little is known about its integrity during physiological aging.

Objective: Here, we investigated morphological and molecular changes in astrocyte–endothelial cell interactions during aging.

Methods: To do this, we used hippocampal tissues from young (2-3 months) and old (>18 months) C57BL/6 mice (CEUA: A23/21-006/18 and 122/22), and *post-mortem* human hippocampal tissue from non-demented middle-aged (39-48 years) and elderly (81-97 years) donors (CAAE: 300038520.0.0000.5257; Protocol: 3.986.070). For *in vitro* assays, we used a model of cortical astrocyte senescence with long-term cultures (30–35 DIV) and control cultures (7–10 DIV) from neonatal C57BL/6 mice.

Results: We observed a decrease in the expression of DGC-associated genes such as dystrophin [N=7; p=0.0014], agrin [N=5; p=0.0012], and laminin α 2 [N=8; p=0.0001]. Supporting these findings, perivascular coverage by astrocytic endfeet was reduced in the aged murine hippocampus, as evidenced by a 47% decrease [N=5-8; p=0.0205] in laminin/GFAP immunofluorescence colocalization, and a 43% reduction [N=5-8; p=0.0043] in dystrophin/GFAP colocalization. Senescent astrocyte cultures also showed a reduction in the gene expression of laminin α 2 [N=3; p=0.0027] and dystroglycan [N=3; p=0.0334], as well as a decrease in dystrophin intensity [N=3; p=0.0308], compared to control cultures. In line with these data, we found a 35% reduction in β -dystroglycan levels in hippocampal samples from elderly human donors [N=6-7; p=0.0224]. Moreover, using a previously published single-cell RNA-seq database (*Ximerakis et al. Nature Neuroscience, 2019*) from the brains of young and old mice, we identified changes in the gene expression of molecules involved in astrocyte–ECs interactions. Importantly, we identified a decrease in gene expression of the endothelial receptor Transferrin (TFRc) [N=7; p=0.0132] and its astrocytic ligand, Clusterin (CLU) [N=7; p=0.0099], consistently observed in the RNA database and further validated by gene expression analyses of aged murine hippocampal tissue.

Conclusion: Together, our findings indicate that aging leads to both morphological and molecular alterations in astrocyte–vascular coupling, potentially contributing to reduced blood–brain barrier integrity in the hippocampus.

Support: CAPES, CNPq, FAPERJ, INCT-INNT, Ministério da Saúde and Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia da Glia (iGLIA)

P-098 - ANÁLISE FUNCIONAL, MORFOLÓGICA E FENOTÍPICA DA REGENERAÇÃO DO NERVO ISQUIÁTICO APÓS LESÃO COMPRESSIVA E TRATAMENTO COM ÁCIDO VALPRÓICO

Introdução: A lesão de nervo periférico, como o esmagamento do nervo isquiático, desencadeia um processo degenerativo e inflamatório que compromete a condução nervosa e a funcionalidade do membro. O ácido valproico (VPA), usado no tratamento da epilepsia, tem demonstrado efeito neuroprotetor e regenerativo por inibir histonas desacetilases (HDACs) e induzir alterações epigenéticas benéficas. Contudo, os mecanismos morfológicos e celulares associados ainda não são totalmente compreendidos.

Objetivo: Avaliar o efeito do VPA sobre a recuperação funcional, morfológica e imunofenotípica em modelo experimental de lesão compressiva do nervo isquiático em camundongos.

Metodologia: Este trabalho foi autorizado pelo Comitê de Ética do Uso de Animais (CEUA) do Centro de Ciências da Saúde/UFRJ, protocolo nº 057/19, onde camundongos C57BL/6 machos foram distribuídos em quatro grupos: sham (nervo exposto), lesão (nervo esmagado), PBS (lesão + salina) e VPA (lesão + ácido valproico 300 mg/kg, i.p., 14 dias). A lesão foi induzida com pinça Dumont #5 por 1 minuto a 2 mm do forame isquiático maior. As funções motora e sensitiva foram avaliadas, respectivamente, pelo Índice de Função do Isquiático (IFI) e pinprick test nos dias 7, 14 e 21 pós-cirúrgicos. Aos 14 dias, realizou-se análise histológica e morfométrica da porção tibial distal (número de fibras mielinizadas, área axonal, espessura da mielina e G-ratio) e citometria de fluxo no líquido peritoneal para avaliar neutrófilos CD11b⁺/Ly6G⁺ e monócitos CD11b⁺/Ly6G⁻. O estudo foi aprovado pelo CEUA nº 057/19.

Resultados: O tratamento com VPA promoveu recuperação funcional significativa ao longo do tempo. No IFI, os animais tratados apresentaram melhor desempenho ($-15,54 \pm 3,77$; $p<0,0001$) em comparação aos grupos lesão ($-32,83 \pm 5,15$) e PBS ($-35,04 \pm 7,57$) na segunda semana. No pinprick test, o grupo VPA apresentou melhora sensitiva precoce, atingindo valores próximos ao sham na segunda semana ($4,875 \pm 0,125$). Morfometricamente, o VPA aumentou o número de fibras mielinizadas ($2344 \pm 20,09$) em relação a lesão ($1541 \pm 15,70$) e PBS ($1543 \pm 7,77$) ($p<0,001$) e manteve o G-ratio ($0,524 \pm 0,032$) dentro da faixa ideal de regeneração (0,55–0,68), indicando preservação da mielina e reorganização estrutural. A imunofenotipagem revelou aumento expressivo de neutrófilos CD11b⁺/Ly6G⁺ no grupo VPA (33,7%) frente a sham (1,02%), lesão (0,74%) e PBS (5,64%) ($p<0,01$ – $0,001$), sem alteração em monócitos, sugerindo modulação seletiva da resposta inflamatória.

Conclusão: O ácido valproico favoreceu a recuperação motora, sensitiva e estrutural após lesão compressiva do nervo isquiático, promovendo aumento de fibras mielinizadas, preservação da mielina e resposta imune modulada, compatíveis com um microambiente pró-regenerativo. Evidenciando assim o potencial terapêutico do VPA como agente epigenético modulador da regeneração nervosa, possibilitando novos estudos para elucidar as vias moleculares e epigenéticas envolvidas nesse processo.

P-099 - REGULAÇÃO DA EXPRESSÃO DE RECEPTORES A1 E A2A DE ADENOSINA POR ÓXIDO NÍTRICO EM CULTURAS DE CÉLULAS DA RETINA

1Moreira, L. N. S., 1Andrade, V. 2 Restier, J.G., 1Vaz, L.C., 1Haiidamus, A.B., 1Teixeira, L.F., 3Paes-de-Carvalho, R., 2Brito, R., 1Pereira, M.R. 1Laboratório de Sinalização Química do Sistema Nervoso, Programa de Pós-graduação em Neurociências, UFF, Niterói. 2Laboratório de Fisiologia e Patologia Neuronal, Programa de Pós-graduação em Neurociências, UFF, Niterói. 3Laboratório de Neurobiologia Celular, Programa de Pós-graduação em Neurociências, UFF, Niterói.

Introdução: Adenosina é um neuromodulador que cujas ações são mediadas pelos receptores A1, A2a, A2b e A3 através da modulação da atividade da adenilil ciclase. O óxido nítrico (NO) é um neuromodulador sintetizado a partir da L-arginina através da enzima NO sintase. Trabalhos da literatura mostram que NO pode regular a expressão do receptor A1 de adenosina. Além disso, trabalhos anteriores do nosso grupo mostram que tanto adenosina quanto NO estão envolvidos em neuroproteção em culturas de neurônios da retina.

Objetivo: Avaliar se NO regula a expressão dos receptores A1 e A2a em culturas de células da retina e as vias de sinalização envolvidas.

Métodos: Culturas mistas de retina de embrião de galinha (CEUA 00146/09) foram tratadas em C1 com L-arginina por 48h e processadas para Western Blot ou RT-PCR em tempo real. O inibidor da NO sintase neuronal, 7-NI, e o scavenger de NO, cPTIO, foram adicionados 10 min antes da L-arginina. Ovos contendo E8 foram injetados com SNAP, doador de NO, por 48h e as retinas processadas para Western Blot.

Resultados: L-arginina reduziu os níveis do receptor A2a, sendo bloqueado por 7-NI (ctr:100±11.0%; L-arginina:51.8±7.5%; 7-NI:119.7±13.3; L-arginina+7-NI:131±11.5, n=3; p<0.05). SNAP também reduziu o receptor A2a (ctr:100±8.1%; SNAP:49±7.6, n=3; p<0.05). L-arginina aumentou o receptor A1 (ctr:100±8.1, L-arginina:137.0±5.2, 7-NI:93.3±19.4, L-arginina+7-NI:97.7±13.3, n=3; p<0.05) e seu RNAm (ctr:1.0±0.1, L-arginina:3.5±0.8, n=2). cPTIO bloqueia o aumento do receptor A1 por L-arginina (ctr: 99,7±43,4, L-arginina: 171,7±33,0, cPTIO: 81,0±13,5, L-arginina+cPTIO: 113,0±62,23, n=2). Efeitos similares foram observados em retinas de E8 injetadas com SNAP (A2aR, ctr:100.0±19,7; SNAP:36,6±4,5, n=3; p<0.01; A1R, ctr:100.0±14,6; SNAP:29,1±3,1, n=3; p<0.01).

Conclusões: L-arginina é convertida em NO através da enzima NO sintase neuronal e aumenta a expressão dos receptores A1 e diminui a dos receptores A2a. Efeito semelhante é observado no tecido intacto da retina.

Apoio financeiro: FAPERJ, CNPQ, CAPES.

P-0100 - TWELVE DAYS OF SODIUM BUTYRATE TREATMENT MODULATE GUT-BRAIN INTERACTION IN A 6-OHDA-INDUCED MOUSE MODEL OF PARKINSON'S DISEASE

Sant'Anna¹, Rodrigo de Farias; RICCIARDI², Maria Carolina; CARVALHO², Marianna; TAVARES², Isabela; SMIS¹, Josué Santos; ARÉAS¹, Cínthia Melo; VALDETARO³, Luisa Ribeiro Figueiredo; TAVARES-GOMES^{1,2}, Ana Lúcia. ¹Neurobiology Departament, Fluminense Federal University (UFF), Niterói-RJ, Brazil; ²Postgraduate Program in Neurosciences, Fluminense Federal University (UFF), Niterói-RJ, Brazil; ³Postgraduate Program in Physiology and Pharmacology, Fluminense Federal University (UFF), Niterói-RJ, Brazil

Introduction: Parkinson's disease (PD) is a neurodegenerative and neuroinflammatory disorder that disrupts gut–brain axis communication. Microbiota-derived metabolites, such as short-chain fatty acids, are key regulators of this pathway. Dysregulation of these metabolites has been implicated in PD progression. Our previous findings showed that a 5-day treatment with sodium butyrate (NaB, 100 mg/kg) improved motor performance and intestinal motility in a PD mouse model. Although it was insufficient to restore Occludin and GFAP expression in colonic tissues. To further explore the gut–brain modulatory effects of NaB, we evaluated the outcomes of a prolonged 12-days treatment in a 6-hydroxydopamine (6-OHDA) mouse model of PD.

Objective: To assess the impact of 12-days oral NaB treatment on motor behavior, gastrointestinal function, and molecular markers of the gut–brain axis in 6-OHDA-induced mouse model of PD.

Methods: Male C57BL/6 mice (25–30 g) were divided into three groups: Sham+Saline, subjected to stereotaxic surgery and intrastratal injection of saline containing ascorbic acid; 6-OHDA+Saline; and 6-OHDA+NaB, both 6-OHDA groups received an intrastratal injection of 6-OHDA to induce dopaminergic neurodegeneration. The 6-OHDA+NaB group received NaB (100 mg/kg) by oral gavage for 12 consecutive days, starting 48 hours after surgery (CEUA-UFF: no. 6139030622). Motor performance was assessed using the pole test, measuring the turn time. Intestinal motility was evaluated by analyzing fecal water content, gastrointestinal transit time, and fecal pellet output. Western blotting assay was performed to assess Occludin and GFAP expression in the colonic mucosal and neuromuscular layers.

Results: 6-OHDA+Saline mice showed impaired motor performance, with increased turn time versus controls ($p=0.0116$). NaB treatment improved this parameter ($p=0.0583$) and reduced fall and slide frequencies during the pole test. Fecal water content increased in NaB-treated mice compared to Sham+Saline ($p=0.0063$), whereas colon length, pellet parameters, and whole-gut transit time showed no significant changes after 12 days. After 12 days of treatment, whole-gut transit time showed no significant group differences ($p>0.05$), contrasting with our 5-day data, where 6-OHDA prolonged transit and NaB significantly reversed this effect. Western blot analysis revealed increased Occludin in 6-OHDA+Saline mice compared to both control and NaB-treated groups, while GFAP expression tended to decrease with 6-OHDA and normalize with NaB.

Conclusions: Prolonged oral sodium butyrate treatment mitigates motor deficits in the PD model, supporting its neuroprotective potential. Although molecular and gastrointestinal suggest beneficial modulation of the gut– effects remain preliminary, observed trends brain axis. Further studies with larger cohorts and expanded molecular analyses are warranted to clarify the mechanisms underlying NaB's impact on neuroinflammation and gut homeostasis in PD.

Funding: CAPES, CNPq, FAPERJ.

P-101 - EVALUATION OF THE BLOOD-RETINAL BARRIER COMPONENTS IN A MURINE MODEL OF CONGENITAL TOXOPLASMOSIS

Gustavo Pinheiro de Araujo^{1*}, Carolina Moreira dos Santos¹, Vladimir Pedro Peralva Borges Martins¹, Karin da Costa Calaza², Daniel Adesse^{1,3} ¹Laboratório de Biologia Estrutural, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil; ² Laboratório de Neurobiologia da Retina, Programa de Pós-graduação em Neurociências, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil ³Laboratory of Ocular Immunology and Transplantation, Department of Ophthalmology, Bascom Palmer Eye Institute, Miller School of Medicine, University of Miami, United States of America.

Toxoplasmosis is a protozoan disease caused by the etiological agent *Toxoplasma gondii*. It is currently known that congenital infection is the most severe form of toxoplasmosis and can cause serious harm to the fetus, such as spontaneous abortion, intracranial calcification, hydrocephalus, and ocular toxoplasmosis, which involves infection and damage to structures of the visual system, such as the retina. During retinal development, angiogenesis is essential for the formation of a structure that is a specialized extension of the blood-brain barrier (BRB), which regulates the exchange of nutrients and metabolites between the blood circulation and neural tissue. Our aim is to evaluate BRB components in a congenital toxoplasmosis model. Pregnant C57BL/6 mice received an intragastric inoculation of two *T. gondii* cysts on embryonic day 10 (E10); the control group received an injection of brain macerate from an uninfected mouse. Animals were euthanized on postnatal day 5 (P5), and the retinas and brain were dissected for immunohistochemistry, RT-qPCR, and Western blotting analyses. We detected bradyzoite RNA in the retinas and brains of mice from infected dams at P5, confirming the vertical transmission. Higher bradyzoite signal was found in the brains than in the retinas. Infected mice retinas had a significant decrease in content of glial fibrillary acidic protein (GFAP), an astrocyte marker, in addition to a decrease on its immunoreactivity observed by confocal microscopy. Levels of tight junction proteins claudin 5 were decreased, whereas occludin had a trend to increase. Our data points to a possible influence of congenital *T. gondii* infection on retinal components, which are important for the angiogenesis and blood-retinal barrier development, including astrocytes and tight junctions' integrity.

P-102 - O PAPEL DOS ANTAGONISTAS DO CANAL TRPA1 NA RETINOSE PIGMENTAR

1Nascimento, T.H.O., 2Marinho, J., 3Fragel-Madeira, L., 4Calaza, C. K. 1Departamento de Neurobiologia, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro.

Introdução: O sistema visual é fundamental para os vertebrados e a retina, parte neural, possui uma organização laminar complexa. As retinopatias hereditárias, como a retinose pigmentar (RP), causam neurodegeneração e cegueira, afetando milhões de pessoas mundialmente. A RP provoca morte de fotorreceptores por mecanismos como estresse oxidativo e inflamação. O canal iônico TRPA1, já foi localizado na retina de humanos e camundongos, surge como um potencial alvo terapêutico.

Objetivos: Este estudo investigou o efeito protetor de inibidores farmacológicos de TRPA1 na progressão da morte celular em um modelo murino de RP (rd10).

Métodos: Camundongos rd10 foram tratados dos dias P15 a P19 ou P15 a P24 com colírio feito a partir do antagonista seletivo de TRPA1 HC-030031 (2, 5, 10 mM) ou dipirona (2, 5, 10 mM), diluídos em veículo. Os protocolos de eutanásia foram aprovados pelo CEUA (nº 4020290520). As retinas foram analisadas por imuno-histoquímica (anti-recoverina) e imunofluorescência (GFAP, Iba-1, NeuN, 4-HNE) para avaliar a sobrevivência de fotorreceptores, reatividade glial e integridade neuronal. Os dados foram normalizados em relação ao grupo CTRL e analisados por one-way ANOVA (GraphPad Prism 8.0.1), considerando $P>0,05$ e o teste poshoc Bonferroni foi utilizado. Os resultados são expressos como média \pm EPM.

Resultados: O tratamento com dipirona (10 mM) por 5 dias (180.7 ± 33.60 ; $p=0,0268$ vs 100 ± 14.13 ; $p=>0,9$) protegeu os fotorreceptores na retina periférica, mas não na central (107.4 ± 6.0 ; $p=0.75$ vs 99.95 ± 3.53 ; $p=>0,9$). Intrigantemente, o HC-030031 não conferiu proteção em nenhuma área. A análise da glia (GFAP) mostrou que o HC-030031 (10 mM) aumentou sua reatividade na retina central (152.2 ± 14.03 ; $p=0,0349$ vs 100 ± 14.13 ; $p=>0,9$), enquanto a dipirona não modulou a ativação das células de Müller. A dipirona (10 mM) também não alterou o número de microglias (Iba-1), embora o HC-030031 (10 mM) tenha sugerido uma redução (dado preliminar, $n=1$). O número total de neurônios da retina (NeuN) no mudaram quando tratados com HC-030031, INL, na retina periférica, foram (37.07 ± 4.44 ; $p=0,59$ vs 25.87 ± 3.80 ; $p=>0,9$) e para GCL (29.23 ± 6.41 $p=0,15$ vs 18.58 ± 1.690 ; $p=>0,9$), na retina central, em INL, (41.73 ± 6.29 $p=0,9$ vs 32.20 ± 4.94 ; $p=>0,9$) e em GCL (20 ± 3.5 $p=0,9$ vs 25.95 ± 2.93 ; $p=>0,9$).

Conclusão: Conclui-se que a dipirona tem um efeito protetor regional sobre os fotorreceptores no modelo rd10. A ausência de efeito do HC-030031 sugere que este mecanismo é independente da inibição do canal TRPA1. O efeito protetor também não parece estar diretamente relacionado à modulação da reatividade glial, embora a manutenção de uma resposta glial resolutiva seja uma hipótese a ser explorada. Novos experimentos são necessários para elucidar os mecanismos de ação da dipirona.

Apoio Financeiro: CNPq, Faperj, PROGEM, CAPES

P-103 - INVESTIGAÇÃO DO ENVOLVIMENTO DA MICROGLIA NO EFEITO PROTETOR DA DIPIRONA EM CAMUNDONGOS NO MODELO DE GLAUCOMA

MATTOS, A. C. L., COSTA, A. G. A., NASCIMENTO, C.O., SILVA, R. B., DE ARAÚJO, D. S. M., CALAZA, K. C.
Departamento de Neurobiologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói - RJ

Introdução: O glaucoma compreende um grupo heterogêneo de doenças neurodegenerativas e é uma das principais causas de cegueira. Embora o controle do aumento da pressão intraocular (IOP) seja o principal alvo terapêutico, a morte neuronal persiste, destacando a necessidade de novas terapias protetoras. Nossa equipe identificou canais TRPA1 na retina de diferentes espécies e demonstrou que sua inibição ou ausência reduz a morte celular em modelos de isquemia aguda e isquemia/reperfusão (I/R). Considerando que a ativação dos canais TRPA1 pode modular respostas inflamatórias mediadas pela microglia, e que a dipirona apresenta potencial para inibir seletivamente correntes de Ca²⁺ ativadas por agonistas de TRPA1, este fármaco surge como um candidato promissor para estudo e possível reposicionamento como agente neuroprotector.

Objetivos: Investigar o efeito neuroprotector da dipirona por meio da modulação do TRPA1 e da reatividade microglial em modelo de I/R de glaucoma.

Metodologia: Camundongos machos C57BL/6 (CEUA nº 1308050424), de 6 a 8 semanas, foram submetidos ao modelo de glaucoma por I/R induzida pelo IOP (1 h). Os grupos controle (CTR) e I/R receberam tratamento por 7 dias com colírios de dipirona diluída em veículo (DMSO + Tween 4%) ou apenas veículo. A imunofluorescência (IF) avaliou a expressão de IBA1 (1:400, n = 3) em diferentes camadas da retina. O *Western blotting* (WB) analisou níveis totais de proteína na retina, com foco na expressão de CD68 (1:1000, n = 3-5), marcador de ativação microglial. Os dados foram normalizados em relação ao grupo CTR e analisados por two-way ANOVA (GraphPad Prism 8.0.1), considerando p<0,05. Resultados expressos como média ± EPM.

Resultados: Foi avaliada por IF a quantidade e migração de células IBA1⁺ (microglias e macrófagos) em diferentes camadas da retina. Observou-se aumento significativo no número de células IBA1⁺ nos grupos I/R (I/R VEH e I/R DIP) em comparação ao CTR, mesmo no grupo tratado com dipirona. Esse aumento foi evidente na CPI ($7,07 \pm 0,694$; p=0,0018 e $7,51 \pm 0,459$; p=0,0009 vs. $2,89 \pm 0,390$), CPE ($4,63 \pm 0,460$; p=0,0071 e $4,24 \pm 0,129$; p=0,0289 vs. $2,83 \pm 0,167$), CCG ($6,37 \pm 0,989$; p=0,0032 e $6,63 \pm 0,478$; p=0,0022 vs. $1,86 \pm 0,283$) e na retina total ($18,06 \pm 1,305$; p=0,0002 e $18,39 \pm 0,983$; p=0,0001 vs. $7,59 \pm 0,498$). Foi vista maior concentração destas células nas camadas mais internas da retina. O WB mostrou tendência de aumento na expressão de CD68 (p=0,065) no grupo I/R DIP ($783,35 \pm 178,74$) em relação ao I/R VEH ($330,57 \pm 141,37$), indicando maior reatividade microglial.

Conclusões: Os achados mostram que a dipirona não previne o aumento da quantidade e migração microglial induzidos pela I/R, sugerindo que o efeito neuroprotector desse fármaco pode estar relacionado à modulação microglial. Assim, é importante realizar uma análise temporal, avaliar marcadores de proliferação microglial e o perfil inflamatório, correlacionando-os com o bloqueio do TRPA1.

Apoio: FAPERJ, CNPq, CAPES.

P-104 - IMPACTO DA COMORBIDADE DE DOENÇA DE ALZHEIMER E HIPOPERFUSÃO CEREBRAL NA NEUROINFLAMAÇÃO EM CAMUNDONGOS MACHOS

A Doença de Alzheimer (DA) é uma doença neurodegenerativa multifatorial na qual emaranhados neurofibrilares de proteínas TAU hiperfosforiladas e placas beta-amiloïdes são características centrais de sua fisiopatologia¹. A neuroinflamação, que inclui o aumento da expressão de citocinas pró-inflamatórias como fator de necrose tumoral (TNF)-alfa e interleucina (IL)-6, bem como alterações no padrão celular microglial em diferentes regiões do cérebro, também são características da doença². Atualmente, a comprovação da associação entre DA e disfunções cerebrovasculares abre um novo horizonte científico, em que a hipoperfusão cerebral³ pode contribuir com o início e a gravidade da DA. O presente estudo investiga possíveis alterações comportamentais e reatividade das células microgliais em camundongos submetidos a um novo modelo de hipoperfusão cerebral associado à DA, esperando que o desenvolvimento de um modelo animal que se aproxime experimentalmente da comorbidade que pacientes apresentam auxilie em diversas investigações. Para tal, os procedimentos realizados foram autorizados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais do CCS (#048/20). Foram utilizados camundongos C57BL/6 machos de 3 a 4 meses de idade. Três grupos foram submetidos à cirurgia de hipoperfusão unilateral com oclusão da artéria carótida comum direita (I). Outros três grupos passaram pela cirurgia SHAM (S), sem oclusão da artéria. No dia seguinte à cirurgia, foram injetados, por via intracerebroventricular, veículo (tampão fosfato salino) ou oligômeros beta amilóide nas doses de 5 pMol (S.5 e I.5) ou 10 pMol (S.10 e I.10) - totalizando seis grupos experimentais. Quatro e cinco dias após a cirurgia inicial, os animais passaram pelo teste comportamental da esquiva inibitória e 10 dias depois foram perfundidos com salina 0,9% e paraformaldeído 4% para o processamento histológico dos cérebros e imuno-histoquímica para Iba-1, um marcador microglial. Foram adquiridas fotos em Z stack em um microscópio Apotome, quantificadas quanto ao números de células Iba-1 positivas e à porcentagem de área marcada no córtex e em três áreas do hipocampo: o giro denteadoo (DG), CA1 e CA3. Para dosagem de citocinas por ELISA, foi feita a perfusão apenas com salina 0,9% 48h após a cirurgia. O hipocampo ipsilateral à hipoperfusão e à injeção intracerebroventricular foi dissecado e processado. No teste de esquiva inibitória a comparação entre o tempo de latência no treino e no teste foram significativamente diferentes nos grupos S.5, S.10 e I.V e I.5 ($p=0,0113$, $p=0,0018$, $p=0,026$ e $p=0,04$). Nos grupos S.V e I.10 não houve diferença estatística entre a latência no treino e no teste. Em relação à dosagem de citocinas, nos diferentes grupos experimentais a expressão de TNF-alfa no hipocampo não se mostrou estatisticamente alterada. Já a expressão de IL-6 apresentou um aumento significativo entre os grupos I.10 e I.V ($p=0,0034$) e entre I.10 e S.10 ($p=0,0139$). Na quantificação de microglia por imunomarcação para Iba-1 não obtivemos alterações relevantes entre nenhum grupo. Portanto, o estado de comorbidade agravou à neuroinflamação no grupo I.10, associado ao declínio na memória aversiva, porém sem alterações no número de células microgliais.

IDENTIFICATION OF NEURAL POPULATIONS IN THE SUBICULAR-HYPOTHALAMIC PATHWAYS

P-105 - IDENTIFICATION OF NEURONAL POPULATIONS IN THE SUBICULAR-HYPOTHALAMIC PATHWAYS INVOLVED IN CONTEXTUAL FEAR TO AVERSIVE ENVIRONMENTS AND IN SOCIAL DEFEAT

1Nascimento, M.C., 1Jorge, R. S., 1Canteras, N. S., 1Department of Neuroanatomy, Institute of Biomedical Sciences, University of Sao Paulo - Sao Paulo, Brazil.

Introduction: Previous studies from our laboratory showed that subicular (SUB) projections to the hypothalamus are engaged both in contextual fear to aversive environments associated with footshock and in defensive behaviors during social defeat. Here, we investigated how SUB > hypothalamic pathways are differentially recruited by these two aversive conditions. We used FosTRAP/eGFP transgenic mice, in which tamoxifen drives Cre-dependent GFP expression in neurons activated by a given stimulus. Thus, GFP marks neurons activated by the first experience, while exposure to a second stimulus allows detection of newly activated cells via Fos immunofluorescence.

Objectives: To establish a method to identify distinct neuronal populations engaged by different aversive experiences within the same animal, focusing on SUB–hypothalamic circuits recruited during contextual fear and social defeat.

Methods: CEUA: 8930240322. FosTRAP mice were crossed with Ai6-eGFP animals to generate the FosTRAP/eGFP line. Swiss males served as aggressors in the social defeat test. Mice were habituated for 10 days before aversive conditioning (five footshocks, 0.9 mA, 1 s each). The next day, they were re-exposed to the context and received 4-hydroxytamoxifen (4-OHT) to induce GFP in c-Fos-positive neurons. Fourteen days later, they underwent social defeat and were perfused 90 min later for Fos immunofluorescence with Alexa 594. Groups included aversive context–social defeat, aversive context–aversive context, neutral context–aversive context, and aversive context–neutral context (n=5 each). GFP-labeled cells appeared green, while Fos-positive ones appeared red. Statistical analyses are ongoing.

Results: Given that the stimuli were distinct (aversive context and social defeat), activation overlap between GFP- and Fos-labeled neurons was minimal across hippocampal, amygdalar, and hypothalamic regions. However, a notable convergence occurred in the parvocellular part of the paraventricular hypothalamic nucleus (PVH), a major hub for stress integration. The number of Fos-positive cells consistently exceeded that of GFP-positive ones, indicating that GFP labeling captures only a subset of Fos-expressing neurons. Experimental adjustments are being tested to enhance GFP detection.

Conclusion: The combination of FosTRAP/eGFP labeling and Fos immunofluorescence allowed identification of distinct and overlapping neural populations activated by contextual and social aversive experiences within the same animal. Preliminary data reveal limited overlap between stimuli, except in the PVH, a critical site responsive to stress.

Acknowledgements: PUB Fellowship - USP; FAPESP (#22/14359-0)

P-106 - Alterações nos receptores dopaminérgicos associados a respostas comportamentais ao estresse social crônico.

1Fragoso, V.M.S, 1Melo, R.M.F, 1Mendonça, P.L.F., 1Barbosa, R.B., 1Ozório, V.L, 1Sampaio, L.A, 2Oliveira, G.M., 1Araújo-Jorge T.C., 1Fragoso, V.M.S, 1Laboratório de Inovações em Terapias, Ensino e Bioproductos, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, RJ, 2 Laboratório de Biologia Celular, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, RJ.

Introdução: O estresse crônico ocorre quando um indivíduo é repetidamente exposto a agentes estressores por um período prolongado. O estresse social resulta das relações entre os indivíduos e o ambiente. Quando ocorre de forma crônica, pode desencadear transtornos psicológicos, nos quais a agressividade pode ser um dos sintomas. O estresse e a agressividade podem modular a neurotransmissão dopaminérgica por meio de alterações nos receptores de dopamina. Utilizando o Modelo de Agressividade Espontânea, observou-se que alguns animais submetidos a condições de estresse social crônico desenvolveram comportamento agressivo e alterações dopaminérgicas nas regiões cerebrais do córtex pré-frontal e frontal. Portanto, os mecanismos neurobiológicos subjacentes às respostas comportamentais de indivíduos sob estresse requerem investigação mais aprofundada.

Objetivos: Investigar a relação entre o estresse social crônico, as alterações na modulação dopaminérgica cerebral e as mudanças comportamentais, por meio da análise da expressão dos receptores de dopamina D1R e D2R em diferentes regiões cerebrais de camundongos submetidos ao estresse social crônico.

Métodos: Camundongos machos Swiss Webster ($n=30$) foram mantidos sob condições controladas e submetidos ao teste de suspensão pela cauda, etograma e padrão de comportamento agressivo. Na 10^a semana, foram reagrupados conforme a mobilidade, e na semana 12, 14 e 16 avaliados quanto à agressividade. Animais foram classificados como harmônicos (resilientes), agredidos ou agressivos. Após a categorização, todos foram eutanasiados e os tecidos cerebrais coletados para análise. Todos os procedimentos foram aprovados pelo CEUA/IOC (licença L-032/2019-A2). Dados como média \pm SD/SE; normalidade testada com D'Agostino-Pearson; grupos comparados via Kruskal-Wallis e Dunn; $p \leq 0,1$.

Resultados: Observou-se que 13,30% dos animais eram hiperativos, 34,66% apresentaram mobilidade mediana e 52,04% eram hipoativos. O etograma revelou que os animais AgR aumentaram o número de ataques para $3,5 \pm 3,3$ ataques/30 min ($p < 0,0001$) em comparação com outras categorias (NR: $0,0 \pm 0,0$; Har: $0,0 \pm 0,0$; AgD: $0,0 \pm 0,0$). Os animais AgD apresentaram aumento significativo da extensão das lesões para $4,7 \pm 1,1 \text{ cm}^2$ ($p < 0,0001$). A análise da expressão proteica dos receptores dopaminérgicos mostrou que os AgR reduziram a expressão de D1R na amígdala para $0,6 \pm 0,07$ ($p < 0,01$) e os AgD diminuíram D1R no córtex pré-frontal para $0,8 \pm 0,07$ ($p < 0,01$). Alterações na expressão de D2R foram observadas apenas na amígdala, com aumento em AgD ($1,4 \pm 0,06$) e Har ($1,6 \pm 0,11$) em relação ao grupo NR ($1,0 \pm 0,07$; $p < 0,01$).

Conclusão: O estresse por reagrupamento altera a neurotransmissão dopaminérgica, na amígdala e córtex pré-frontal. Animais agressivos apresentaram redução de D1R e tendência de aumento de D2R na amígdala, afetando respostas pós-sinápticas, interação social e comportamento impulsivo.

Apoio Financeiro: CNPq e IOC/FIOCRUZ.