



# I Karyokinesis Symposium

Sharing and multiplying knowledge on cell, molecular and developmental biology

August, 15 and 16 - 2019

Florianópolis - SC





## Organizing Committee

Professor Evelise Maria Nazari, Ph.D.

Laís Andrade Ferreira – Committee President

Alessandra Barauna

Carla Eliana Davico, MSc.

Fabiane Maria Cabral Nascimento

Ísis Shandra Santos

Manuela Nunes Drehmer

Priscilla Barros Delben, MSc.

Talita Ribeiro Gagliardi

Tiago Chaves, MSc.

## Scientific Committee

Alice Prompt, Ph.D.

Aline Guimarães, Ph.D.

Bianca Teixeira, Ph.D.

Professor Evelise Maria Nazari, Ph.D.

Professor Gabriel Leite, Ph.D.

Gabriela Hollmann, Ph.D.

Professor Geison Izídio, Ph.D.

Professor Juliana Lindenau, Ph.D.

Professor Luísa Pitaluga, Ph.D.

Professor Talita Jeremias, Ph.D.

Professor Viviane Glaser, Ph.D.



# Program

08h30 Reception

09h00 **"PPGBCD – A decade of history"**  
Professor Geison Izídio, Ph.D.

09h30 **"The biological areas of CAPES and the interface between academic and professional programs"**  
Professor Yara Muller, Ph.D.

10h00 Coffee break

10h30 **"The role of double-stranded RNA binding proteins during fungal infection in plants"**  
Professor Franceli Kulcheski, Ph.D.

11h00 Oral presentations: **session 1**

12h00 Lunch break

13h30 **"Molecular dynamics simulations of complex biological systems: from computer to experimental validation"**  
Guest speaker professor Guilherme Razzera, Ph.D. (UFSC)

14h30 **"Scientists spreading science: a good or a bad idea?"**  
Professor Ricardo Garcez, Ph.D.

15h00 **"Role of NO derived from NOS-1 during sepsis"**  
Professor Geisson Nardi, Ph.D.

15h30 Coffee break

16h00 **"Stem Cells and Regenerative Medicine"**  
Professor Andréa Trentin, Ph.D.

16h30 **" Y chromosome evolution in 400 Drosophila species"**  
Guest speaker professor Antônio de Carvalho, Ph.D. (UFRJ)

17h30 Poster presentations: **session 1**

**"Evolutionary history analysis of *Plasmodium falciparum* genome reveals high structured loci related to host-parasite interactions"** 09h00  
Professor Luísa Pitaluga, Ph.D.

**"Impact of ultraviolet radiation on algal cell structure and spore germination"** 09h30  
Professor Zenilda Bouzon, Ph.D.

Coffee break 10h00

**"Glyphosate-based herbicide impairs energy metabolism and induces autophagy in a rat astrogloma cell line"** 10h30  
Professor Viviane Glaser, Ph.D.

Oral presentations: **session 2** 11h00

Lunch break 12h00

**"Genetic association between HLA-G polymorphism and diseases"** 13h30  
Professor Yara Muniz, Ph.D.

**"Pharmacogenetics: what can we do with it?"** 14h00  
Professor Juliana Lindenau, Ph.D.

Poster presentations: **session 2** 14h30

**"Identification of small peptides associated to abiotic stresses in plants"** 15h30  
Guest speaker professor Rogério Margis, Ph.D. (UFRGS)

Coffee break 16h30

**Closing ceremony and awards** 17h00  
Professor Evelise Nazari, Ph.D.

August, 15

August, 16



## Author Index

AMMAR, D.	14, 21	DO ESPÍRITO-SANTO, C.C.	31
ANDRIANI, A.L.	11	DO NASCIMENTO, D.F.	9, 20
ANTUNES, C.M.M.	37	DREHMER, M.N.	11
ASCIUTTI, A.C.S.	31	DURANTE, L.S.	35
BENEVENUTTI, F.Z.	29	FERREIRA, L.A.	9, 15, 20
BOEDER, A.M.	8	GARCEZ, R.C.	25, 29
BORSUK, S.	34	GISMONDI, E.	17
CABRAL, S.K.O.	10, 38	GOMES, R.	15
CASTRO, G.V.	11	GRISARD, H.B.S.	30
CURBANI, F.	36	HAUSMANN, L.D.	33
DA CUNHA, J.I.	25	IZÍDIO, G.S.	08, 19, 28
DA FIORIN, F.S.	31	JOAQUIM-JUSTO, C.	17
DA SILVA, K.R.	10, 38	JUSTINO, E.B.	40
DA SILVA, M.R.L.R.	24	KREMER, R.	19
DAVICO, C.E.	18, 30, 39	KRÜGER, N.R.Z.	23
DE ALMEIDA, B.S.	33, 40	KULCHESKI, F.R.	10, 38
DE ARAÚJO, J.F.P.	28	LINDER, A.E.	8
DE BEM, A.	32	LÖFGREN, S.E.	11
DE CASTRO, V.S.	13	MARGIS, R.	10, 38
DE FREITAS, M.B.	10, 38	MARQUES, N.F.	12
DE FREITAS, M.C.	34	MARRERO, A.R.	26, 36
DE MELO, M.S.	13, 17, 18, 30	MENNA, B.L.	18
DE OLIVEIRA, E.S.	25	MÜLLER, Y.M.R.	07, 13, 17, 18, 30, 39
DE SOUZA, I.R.	11, 36	MUNIZ, Y.C.N.	33, 36, 40
DELBEN, P.B.	15, 27	NAZARI, E.M.	14, 17, 18, 21, 23, 24, 30, 35, 37, 39
DIEDRICH, R.	26	NEDEL, C.B.	12, 22



## Author Index

OLESCOWICZ, G.	32	STAFFEN, C.F.	33, 40
PASSAGLIA, P.R.	16	STAFFEN, M.D.	33, 40
PEREIRA, A.G.	18	STRÜCKER, G.K.	14, 21
PEREIRA, I.A.	11, 36	TEIXEIRA, B.L.	20, 25
PEREZ, D.G.	9, 15, 27	TOGNI, A.	22
PESCADOR, G.S.	29	TRENTIN, A.G.	9, 15, 20, 25, 27, 29, 31
PINHEIRO, J.	23	TROPPEMIR, S.	14, 21
PINHO, C.M.	32	VIEIRA, D.S.C.	33
PINTO, J.V.K.	12	VOLZ, L.	8
PREDIGER, R.D.	32	WILLEMANN, M.A.	7
PROMPT, A.H.	22		
QUADROS, T.	21		
RABELO, R.M.	36		
REIS, T.B.	39		
SANTOS, A.R.S.	31		
SANTOS, C.D.	29		
SANTOS, W.	23		
SCHMITT, S.S.	25		
SCHRAMM, H.	14, 21		
SILVA, N.M.	24		
SIMIONI, C.	23		
SIMÕES, R.T.	40		
SINNOTT, F.A.	34		
SPILLER, F.	8		
SPRICIGO, M.	24		
STADNIK, M.J.	10, 38		



## Summary

A escolha certa: um jogo investigativo para abordagem dos métodos contraceptivos.....	07
A influência da microbiota na pressão arterial e comportamento de ratas SHR e SLA16.....	08
A systematic review of the methodologies used to produce mesenchymal stromal cells conditioned medium for neurotherapeutic applications.....	09
Analysis of the double-stranded RNA binding gene expression of <i>Arabidopsis thaliana</i> infected by <i>Colletotrichum higginsianum</i> .....	10
Associação entre variantes nos genes TNFRSF1A e <i>il28<math>\alpha</math></i> com o desenvolvimento de doenças autoimunes e suas manifestações clínicas.....	11
Avaliação dos efeitos da fucoxantina na adesão de células de glioblastoma multiforme humano.....	12
Avaliação morfométrica dos ovócitos pré-vitelogênicos do ovário de <i>Macrobrachium potiuna</i> expostos ao Roundup WG.....	13
Cellular effects of UVB radiation: proliferation and apoptosis in embryos and larvae of freshwater prawn <i>Macrobrachium olfersii</i> .....	14
Células estromais mesenquimais do tecido adiposo abdominal humano apresentam fenótipo senescente após tratamento com alta glicose, <i>in vitro</i> .....	15
Construção de modelos didáticos para o estudo de estruturas da biologia celular e tecidual por alunos do ensino médio.....	16
Crustacean endocrine system as target to glyphosate-based formulations toxicity.....	17
Efeito do herbicida a base de glifosato sobre a morfometria das brânquias do peixe-zebra <i>Danio rerio</i> .....	18
Efeitos do estresse na infância e os efeitos no abuso de drogas nas linhagens SHR e SLA16.....	19
Effect of N-methyl-D-aspartate receptor activation on the modulation of the MAPK/ERK pathway in cortical neurons <i>in vitro</i> .....	20
Effects of exposure to ultraviolet B radiation on the activation of mitochondrial quality control in <i>Macrobrachium olfersii</i> embryos.....	21
Estudo dos efeitos antitumorais de chalconas sintéticas em células de glioblastoma humano.....	22
Evaluation of methylmercury toxicity during heart development, using <i>Gallus domesticus</i> embryos as experimental model.....	23



Exposure to pyriproxyfen induces changes in the thickness of cellular layers in the spinal cord and developing brain.....	<b>24</b>
Fosfoproteína induzida por estresse do tipo 1 (STI1) atua no desenvolvimento inicial da crista neural truncal.....	<b>25</b>
Gamificação no ensino de citologia: uma proposta de ensino utilizando jogos de tabuleiro.....	<b>26</b>
Indução de senescência por estresse oxidativo em células estromais mesenquimais derivadas do tecido adiposo humano.....	<b>27</b>
Influência do cuidado materno nas diferenças comportamentais de SHR e SLA16.....	<b>28</b>
Influência do vírus Zika sobre o desenvolvimento dos ossos da calota craniana e as relações moleculares com o desenvolvimento do córtex cerebral.....	<b>29</b>
Morphology and morphometry of zebrafish oocytes after Roundup WG® low concentration exposure.....	<b>30</b>
Neurotherapeutic effect of human foreskin mesenchymal stromal cells conditioned medium in the treatment of spinal cord injury.....	<b>31</b>
Object recognition and contextual fear memory impairments exhibited by young adult low-density lipoprotein receptor (LDLR) knockout mice are not associated with hippocampal atrophy.....	<b>32</b>
Polimorfismos regulatórios da 5'URR do gene HLA-G associados com câncer de mama.....	<b>33</b>
Produção e avaliação da proteína NcSAG1 como possível alvo para o diagnóstico da neosporose.....	<b>34</b>
Protocol for morphological analysis of <i>Danio rerio</i> embryos and larvae.....	<b>35</b>
Repintando a realidade: dois polimorfismos no gene MTHFR (C677T E A1298C) e sua associação à predisposição à artrite reumatoide na população de Santa Catarina – brasil.....	<b>36</b>
Sequência didática baseada em metodologias ativas: proposta para o ensino de biologia celular.....	<b>37</b>
The gene expression profile of DRBS in <i>Arabidopsis thaliana</i> during necrotrophic fungal infection.....	<b>38</b>
Ultraestrutura do fígado de fêmeas de peixe-zebra, <i>Danio rerio</i> , após exposição ao Roundup WG®.....	<b>39</b>
Variações da região promotora do HLA-G em pacientes com lesões de colo do útero.....	<b>40</b>



## A ESCOLHA CERTA: UM JOGO INVESTIGATIVO PARA ABORDAGEM DOS MÉTODOS CONTRACEPTIVOS

WILLEMANN, MARILETE APARECIDA<sup>1\*</sup>  
MÜLLER, YARA MARIA RAUH<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-graduação - Mestrado Profissional em Ensino de Biologia. \*  
marawillemann@yahoo.com.br.

<sup>2</sup> Mestrado em ensino de Biologia

### RESUMO

A adolescência tem início com a puberdade que é o período em que, pela ação hormonal, acontecem o crescimento expressivo do corpo, o desenvolvimento das características sexuais secundárias e a maturação dos sistemas genitais masculino e feminino. Na adolescência geralmente acontecem as primeiras experiências sexuais, tornando os jovens vulneráveis às infecções sexualmente transmissíveis (IST) e à gravidez não planejada. Considerando este panorama, em relação à adolescência, a escola tem o desafio de abordar a temática da sexualidade. Concordando com uma concepção de ensino e aprendizagem em que o aluno deve ter papel ativo e acreditando que o jovem precisa construir uma visão crítica, bem como desenvolver autonomia para ser promotor de atitudes que visam à boa qualidade de vida individual e coletiva, é que tem sido um desafio para os professores do ensino médio desenvolver materiais para a abordagem deste assunto. Partindo desta premissa, o presente trabalho teve por objetivo elaborar um jogo de tabuleiro com características de ensino por investigação para a abordagem dos métodos contraceptivos. Para a elaboração deste produto de ensino, foram formuladas quatro situações problema integrando o contexto juvenil e a contracepção; foram organizados três setores de cartas com informações sobre a contracepção, direitos sexuais e reprodutivos; foram propostas as regras e a narrativa para o jogo. “A escolha certa”, é um jogo composto por um tabuleiro medindo 120 cm x 63 cm, cento e quarenta e oito (148) Biocoins, dois (2) dados, quatro (4) peões, quinze (15) cartas de pesquisa, vinte e quatro (24) cartas de mito ou verdade, (24) vinte e quatro cartas de sorte ou revés, quatro (4) fichas de registro e quatro (4) casos que apresentam situações problema a serem resolvidas. A partida inicia com a leitura da situação problema de um dos casos e os alunos/jogadores são desafiados a proporem hipóteses de soluções para o problema. Em seguida, cada equipe deve se deslocar no tabuleiro afim de acessar as pistas e as cartas, coletar informações, discutir, analisar e tentar solucionar o caso. A intenção foi que, ao participar desse jogo investigativo, os alunos/jogadores desenvolvam competências que contribuam para a sua sensibilização frente aos comportamentos de prevenção e autocuidado em relação ao sexo.

**Palavras-chave:** Contracepção na adolescência; Ensino por investigação; Jogo de tabuleiro.



## A INFLUÊNCIA DA MICROBIOTA NA PRESSÃO ARTERIAL E COMPORTAMENTO DE RATAS SHR E SLA16

BOEDER, ARIELA MAÍNA<sup>1,2\*</sup>; VOLZ, LUANNA<sup>1,2</sup> LINDER<sup>1,2</sup>, AUREA ELIZABETH<sup>1</sup>, SPILLER, FERNANDO<sup>1,3</sup> IZÍDIO, GEISON SOUZA<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Farmacologia; Centro de Ciências Biológicas/Departamento de Farmacologia– Universidade Federal de Santa Catarina

<sup>2</sup>Laboratório de Genética do Comportamento; Centro de Ciências Biológicas/Departamento de biologia celular, embriologia e genética – Universidade Federal de Santa Catarina

<sup>3</sup>Laboratório de Farmacologia da Inflamação; Centro de Ciências Biológicas/Departamento de Farmacologia– Universidade Federal de Santa Catarina

\*ariela.qs@hotmail.com

### RESUMO

Cada vez mais o microbioma intestinal tem sido sugerido como um fator importante na modulação da pressão arterial, funções cerebrais e saúde mental. A disbiose intestinal tem sido associada à hipertensão na linhagem SHR (Spontaneously Hypertensive Rats), embora não se saiba se as alterações neurobiológicas apresentadas por esta linhagem (hiperatividade/impulsividade, atenção sustentada deficiente) também estão associadas ao seu microbioma. Ratos da linhagem SLA16 (SHR.LEW-Anxrr16) apresentam maior hiperatividade/impulsividade e menor pressão arterial basal, do que a linhagem SHR, embora as diferenças genéticas entre eles estejam apenas no cromossomo 4. Dessa forma, este trabalho teve como objetivo investigar a microbiota e sua participação no desenvolvimento de diferenças comportamentais e fisiológicas entre as linhagens SHR e SLA16. Para tanto, foram utilizadas ratas SHR e SLA16 fêmeas de 4 meses de idade em dois experimentos: tratamento com antibiótico (ATB); antibiótico seguido de transplante de microbiota fecal (TMF); Durante e ao final dos tratamentos, os animais foram submetidos à avaliação da pressão arterial sistólica (PAS), campo aberto (CA), labirinto em cruz elevado (LCE) e caixa atividade (CA<sub>ativ</sub>). Os dados foram avaliados através de ANOVA de duas vias, ou ANOVA com medidas repetidas e, quando necessário, teste post hoc de Duncan. Os experimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Uso de Animais da UFSC sob o número PP00903. O tratamento com ATB levou a diminuição da PAS de SHR [Controle = 178,4 ± 2,5; ATB = 167,8 ± 2,1; post hoc p = 0,037] e aumento sugestivo da PAS no SLA16 [Controle = 163,7 ± 2; ATB = 173,3 ± 2,7; post hoc p = 0,059]. Além de diminuir a locomoção na CA em ambas as linhagens [F (1,33) = 4,1; p = 0,049]. Após o ATB, a microbiota total foi reduzida [F (3,21) = 4,5; p = 0,01] e foi identificada a presença de *Enterococcus faecalis* em ambas as linhagens. Em relação a TMF, apenas houve aumento da PAS do SLA16 [Controle = 160,9 ± 2,7; FMT = 171,7 ± 3,0; post hoc p = 0,033] e nenhum efeito comportamental foi encontrado em ambas as linhagens. Posteriormente, os animais receberam tratamento probiótico com *E. faecalis* buscando ver a influência dessa cepa bacteriana nos fenótipos previamente encontrados. Em conclusão, destacamos a microbiota como um fator importante na regulação da PAS e comportamento nas linhagens SHR e SLA16. Além disso, sugere-se a bactéria *E. faecalis* como importante para as diferenças comportamentais e fisiológicas entre estas linhagens de ratos.

**Palavras-chave:** Linhagens isogênicas; microbioma; neurobiologia.



## A SYSTEMATIC REVIEW OF THE METHODOLOGIES USED TO PRODUCE MESENCHYMAL STROMAL CELLS CONDITIONED MEDIUM FOR NEUROTHERAPEUTIC APPLICATIONS

FERREIRA, LAÍS ANDRADE<sup>1,2\*</sup>; NASCIMENTO, DENISE FABIANO DO<sup>2,3</sup>; PEREZ, DANIEL GRILLO<sup>2,3</sup>; TRENTIN, ANDRÉA<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Cell & Developmental Biology Graduate Program; CCB/BEG – Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)

<sup>2</sup>Laboratório de Células-Tronco e Regeneração Tecidual; CCB/BEG – UFSC

<sup>3</sup>Biological Sciences Undergraduate Course; CCB – UFSC

\*laisandrade.biotec@gmail.com

### ABSTRACT

Mesenchymal stromal cells (MSC) are mainly characterized by their self-renewal and differentiation properties, aspects that makes them attractive as a therapeutic approach for functional restoration in several tissues. Exogenous MSC application has been shown to promote the regeneration of injured tissues through various mechanisms, such as replacement of damaged or dysfunctional cells, mobilization of endogenous MSC, modulation of scar formation, immunomodulation and secretion of trophic factors. However, it has been extensively demonstrated that the most significant effects of MSC therapy can be attributed to paracrine modulation in injured tissue, to the detriment of cell differentiation and repopulation itself. In this context, MSC's secretome appears as a therapeutic approach of great potential. The secretome consists of all molecules produced and secreted by cultured cells under specific preconditioning conditions and is then obtained as conditioned medium (CM). Thus, this product obtained from MSC isolated from several anatomic sites has attracted the attention of the scientific community in the context of regenerative medicine, due to its trophic and immunomodulatory action, as well as the possibility of circumventing well-described limitations of cell therapy, such as activation of the immune system, graft rejection and tumorigenesis. It has also been shown that changes in preconditioning conditions for CM collection can have significant effects on its efficiency, considering that differences in culture protocols can lead to changes in the profile of molecules produced and secreted by cells *in vitro*. Therefore, the objective of this work is to systematically review the literature to collect and analyze information about the methodologies that has been used to produce MSC's CM for neurotherapeutic applications, aiming to answer the following question: "the CM of MSC obtained from which cultivation conditions leads to the best results regarding its neurotherapeutic potential?". The electronic search was conducted in PubMed, Scopus and Web of Science databases using the terms "mesenchymal stromal cell" AND secretome OR "conditioned media" AND "central nervous system", and all 1.224 studies published until January 15, 2019 were included for further analysis using the reference manager Zotero, version 5 for iOS. After identification and removal of 126 duplicated entries, 1098 studies were selected for the first screening. From these, 685 were considered eligible for full text analysis, stage in which the studies included for systematic analysis will be selected. For inclusion studies must approach the production of CM from MSCs, and not another cell type, and its neurotherapeutic potential must be assessed, *in vitro* or *in vivo*. Following this screening, all included references will be closely analyzed and every information circa the methodology for CM collection will be extracted aiming to identify a pattern. With this work we hope to identify a methodological standard for CM collection that reflects a better quality product for neurotherapeutic applications.

**Keywords:** regenerative medicine; secretome; stem cells.



## ANALYSIS OF THE DOUBLE-STRANDED RNA BINDING GENE EXPRESSION OF *Arabidopsis thaliana* INFECTED BY *Colletotrichum higginsianum*

CABRAL, SARAH KIRCHHOFER DE OLIVEIRA<sup>1,3\*</sup>; SILVA, KAROLLINE RAIMUNDO DA<sup>2</sup>;  
FREITAS, MATEUS BRUSCO DE<sup>4</sup>; STADNIK, MARCIEL JOÃO<sup>4</sup>; MARGIS, ROGÉRIO<sup>5</sup>;  
KULCHESKI, FRANCELI RODRIGUES<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Graduação em Ciências Biológicas; Centro de Ciências Biológicas – Universidade Federal de Santa Catarina

<sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular, Embriologia e Genética – Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética – Universidade Federal de Santa Catarina

<sup>3</sup>Laboratório de Biologia Molecular Vegetal; Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética – Universidade Federal de Santa Catarina

<sup>4</sup>Laboratório de Fitopatologia; Departamento de Fitotecnia – Universidade Federal de Santa Catarina

<sup>5</sup>Laboratório de Genomas e População de Plantas; Departamento de Biofísica – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

\*sarahkircabral@gmail.com

### ABSTRACT

Pathogen attacks triggers a range of plant responses which drives the expression of several defense-related genes. The control of expression of these genes can occur post-transcriptionally, via small interfering RNAs (siRNA), or transcriptionally via RNA-directed DNA methylation. The Double-stranded RNA binding domain proteins (dsRBPs) are involved in all aspects of RNA biology, including synthesis, transport, processing, translation and degradation. The Double-stranded RNA-Binding (DRBs) proteins are a family of dsRBPs, which five of them are encoded by the *Arabidopsis thaliana* genome, being nominated as DRB1 to DRB5. The DRBs have two double-stranded RNA binding domains at the N-terminal end and are involved in the biogenesis of small RNAs, as well in the pathway of microRNAs (miRNAs) and trans-acting siRNAs (tasiRNAs). Furthermore, those proteins have a role in bacterial and viral infection signaling but their role in fungal infection was not described yet. Fungi pathogens can be divided into biotrophs and necrotrophs. Besides, there are also pathogens called hemibiotrophs, that shows both strategies during the infection. That means they have a biotrophic stage then, by causing host cells death, they switch to the necrotrophic stage. The hemibiotrophic fungus *Colletotrichum higginsianum* is a very important model pathogen as it causes the anthracnose disease in a wide range of plants and is easily cultured. Therefore, we aim to investigate the possible involvement of DRBs in the pathosystem *A. thaliana* x *C. higginsianum*. Thus, we analyzed the DRB gene expression of *A. thaliana* ecotype Col-0 after inoculation with the strain IMI 349063 of *C. higginsianum*. Plants were grown at 23°C under 16h of light and the fungus was grown on oatmeal culture media for conidial suspension preparation. Then, plants of the infected group were pulverized with the concentration of  $1 \times 10^5$  conidia mL<sup>-1</sup> while only water was used on plants of the control group. Total RNA was extracted from leaves of adult plants from three biological replicates of both control and infected groups at 6, 12, 24 and 48 hours after infection, followed by the reverse transcription reaction. We performed quantitative PCR analysis using the reference genes Actin and Ubiquitin. The results show that *DRB4* and *DRB5* were expressed differently between infected and control plants at some evaluation points. *DRB4* was highly induced during the fungus attack and seems to be the best *DRB* candidate to be explored on the next steps. *DRB4* is a known partner of DCL4 protein during tasiRNA biogenesis and recently was observed to interact with *DRB7*, a new *DRB* complex which was pointed to be involved in plant pathogenesis processes. Besides that, although the function of *DRB5* remains unknown, the repression of this protein at the first stages of infection requires further analysis, which will be performed on other plant tissues.

**Key words:** DRB; Fungal infection; plant-pathogen interaction.



## ASSOCIAÇÃO ENTRE VARIANTES NOS GENES *TNFRSF1A* E *IL28Rα* COM O DESENVOLVIMENTO DE DOENÇAS AUTOIMUNES E SUAS MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

DREHMER, MANUELA NUNES<sup>1,2\*</sup>; CASTRO, GABRIEL VAISAM<sup>2,4</sup>; ANDRIANI, ANNA LUIZA<sup>2</sup>; de SOUZA, ILÍADA RAINHA<sup>1,2</sup>; PEREIRA, IVANIO ALVES<sup>3</sup>; LÖFGREN, SARA EMELIE<sup>4</sup>  
6+6++

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento; Centro de Ciências Biológicas/Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética – Universidade Federal de Santa Catarina.

<sup>2</sup>Laboratório de Polimorfismos Genéticos; Centro de Ciências Biológicas/Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética – Universidade Federal de Santa Catarina.

<sup>3</sup>Hospital Universitário Professor Polydoro Ernani de São Thiago (HU-UFSC), Universidade Federal de Santa Catarina.

<sup>4</sup>Biogenetika - Centro de Medicina Individualizada,  
\*manu\_drehmer@hotmail.com

### RESUMO

Artrite Reumatoide (AR), Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) e Psoríase são doenças inflamatórias crônicas, de origem autoimune. As três doenças possuem uma patogênese complexa, etiologia multifatorial e são desencadeadas em indivíduos geneticamente suscetíveis, expostos a determinados fatores ambientais. Vários genes têm sido associados com a suscetibilidade às Doenças Autoimunes (DAs), entre eles os que codificam proteínas envolvidas na imunomodulação. Os genes *TNFRSF1A* e *IL28Rα* têm ganhado destaque na autoimunidade pois codificam receptores que medeiam a ação de citocinas inflamatórias. A presença de polimorfismos nestes genes pode afetar a atividade inflamatória de suas respectivas citocinas, resultando em uma resposta imune anormal e contribuindo com a autoimunidade. Estudos prévios demonstraram associações dos SNPs rs1800693 (gene *TNFRSF1A*) e rs4649203 (gene *IL28Rα*) com algumas DAs, principalmente em populações de origem Europeia e Chinesa. O presente estudo teve como principal objetivo verificar uma possível associação dessas variantes com AR, LES e Psoríase e suas manifestações clínicas na população Brasileira, visando contribuir com a melhor compreensão da patogênese dessas doenças. Através de um estudo caso-controle, um total de 426 pacientes (AR, LES e Psoríase) e 194 indivíduos sem histórico de DAs foram genotipados para os polimorfismos rs1800693 e rs4649203 através do ensaio TaqMan® SNP genotyping por qPCR. As frequências alélicas e genotípicas e as análises de associação foram calculadas e analisadas entre casos e controle através do software *Unphased*. No estudo com *TNFRSF1A*, a presença do alelo rs1800693-C foi associada à suscetibilidade de AR e Psoríase e conferiu proteção para o teste de ESR elevado em AR. Em LES, demonstrou ser um fator de risco para Eritema Malar e casos de DA na família e protetivo para presença do autoanticorpo Anti-Cardiolipina. No estudo com *IL28Rα*, rs4649203-G foi relacionado a proteção de LES e a suscetibilidade de AR no sexo masculino. Conferiu fator protetor para Serosite em LES e para Vasculite Reumatoide, Nódulos Reumatoides, ESR elevado e Proteína C reativa em pacientes com AR. Na Psoríase, foi relacionada ao risco de desenvolver Psoríase Gutata. O rs4649203-AG conferiu risco para o Eritema Malar em LES. Concluímos que as variantes estudadas estão associadas à suscetibilidade de AR, LES e Psoríase, bem como à determinadas manifestações clínicas.

**Palavras-chave:** Polimorfismos genéticos; Lúpus Eritematoso Sistêmico; Artrite Reumatoide.



## AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA FUcoxANTINA NA ADESÃO DE CÉLULAS DE GLIOBLASTOMA MULTIFORME HUMANO

KRÜGER, JOÃO VICTOR<sup>1,2\*</sup>; MARQUES, NAIANI FERREIRA<sup>3,4</sup>; NEDEL, CLÁUDIA BEATRIZ<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento; Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética / Centro de Ciências Biológicas – Universidade Federal de Santa Catarina

<sup>2</sup>Laboratório de Biologia Celular de Gliomas; Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética / Centro de Ciências Biológicas – Universidade Federal de Santa Catarina

<sup>3</sup>Programa de Pós-Graduação em Farmacologia; Departamento de Farmacologia / Centro de Ciências Biológicas – Universidade Federal de Santa Catarina

<sup>4</sup>Laboratório Experimental de Doenças Neurodegenerativas; Departamento de Farmacologia / Centro de Ciências Biológicas – Universidade Federal de Santa Catarina

\*joaovictorkruger@hotmail.com

### RESUMO

Os gliomas são tumores do Sistema Nervoso Central (SNC). Sua origem é de células da glia ou de suas progenitoras. É o tipo de tumor cerebral mais comum, correspondendo a 80% das neoplasias desse local. O glioblastoma multiforme (GBM) é o tipo mais comum e mais agressivo de glioma, com mais de 50% dos casos. Seu tratamento é feito com ressecção cirúrgica e subsequentes rádio e quimioterapia. No entanto, a sobrevivência dos pacientes é baixa, cerca de 14 meses. A temozolomida (TMZ) é o quimioterápico mais utilizado no seu tratamento. Trata-se de um agente alquilante, que leva as células em replicação à apoptose. Porém muitos gliomas apresentam resistência a esse quimioterápico e ele também apresenta alguns efeitos colaterais indesejados. Além da resistência ao tratamento, outra característica que permite a reincidência do tumor, é a sua alta capacidade de invadir os tecidos ao seu redor, o que dificulta a ressecção total. Para isso, é preciso uma série de mudanças de características, como de adesão celular, que é mediada por moléculas da membrana celular e da matriz extracelular. A fucoxantina (Fx) é um carotenoide contido em algas pardas que já demonstrou efeitos anticâncer, inclusive antimigratórios, e foi mostrado que ela altera a matriz extracelular secretadas por células de GBM. Portanto, ela se mostra muito interessante para um futuro uso clínico. Os efeitos da Fx foram vistos sobre a viabilidade celular e na adesão células de células GBM1 humanas. A viabilidade foi testada por meio do ensaio de MTT depois de 24h de tratamento. As células foram divididas em 3 grupos: controle (DMEM-F12), veículo (DMEM-F12 + DMSO) e tratado (DMEM-F12 + Fx 100  $\mu$ M). Como resultado, foi visto que a Fx reduz a viabilidade celular em cerca de 30%. A adesão celular foi observada através do ensaio de adesão, depois de 6h, 12h e 24h de tratamento, com os mesmos três grupos. Foi visto que a Fx não altera a adesão celular depois de 6h e 12h, mas que diminui depois de 24h. A análise estatística foi feita por análise de variância (ANOVA) de uma via seguida pelo teste de Newman-Keuls. Os dados foram expressos como média com erro padrão. O *software* usado foi o GraphPad Prism 5 e os valores  $p < 0,05$  foram considerados significantes. Como perspectivas futuras, queremos ver quais moléculas da membrana celular e da matriz extracelular estão envolvidas nesse processo, como integrinas, laminina, fibronectina e metaloproteinases de matriz (MMPs), quantificando a expressão e a secreção dessas moléculas, bem como a atividade das MMPs.

**Palavras-chave:** Carotenoide; GBM; glioma.



## AVALIAÇÃO MORFOMÉTRICA DOS OVÓCITOS PRÉ-VITELOGÊNICOS DO OVÁRIO DE *MACROBRACHIUM POTIUNA* EXPOSTOS AO ROUNDUP WG

CASTRO, VANESSA S.<sup>1,2\*</sup>; MELO, MADSON S.<sup>1,2</sup>; MÜLLER, YARA M.R.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento; Centro de Ciências Biológicas/Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética – Universidade Federal de Santa Catarina.

<sup>2</sup>Laboratório de Reprodução e Desenvolvimento Animal (LRDA); Centro de Ciências Biológicas/Departamento de Biologia Celular– Universidade Federal de Santa Catarina.

\*castro.vanessa@posgrad.ufsc.br

O glifosato é um herbicida organofosforado, mundialmente empregado no controle do crescimento de plantas indesejáveis em áreas agrícolas e urbanas. Embora a aplicação deste agroquímico seja mais comum a áreas terrestres, ele pode atingir os ecossistemas aquáticos e comprometer a qualidade da água e os organismos não alvos que ali habitam, como os crustáceos. Dentre os representantes deste subfiló, a espécie *Macrobrachium potiuna* demonstra ser um adequado modelo biológico para estudos de toxicidade de herbicidas à base de glifosato (HBG). *M. potiuna* é um camarão de água doce endêmico da fauna brasileira, que desempenha um importante papel na cadeia alimentar de ecossistemas aquáticos tropicais, participando da ciclagem de energia e no fluxo de nutrientes do ambiente, podendo ser alvo da contaminação dos ecossistemas aquáticos por poluentes. Estudos focando a toxicidade de HBG em crustáceos, principalmente caranguejos, têm demonstrado que o sistema reprodutor feminino é alvo da toxicidade do herbicida, interferindo na maturação ovariana, e conseqüentemente na fertilidade. Dessa forma, considerando que (i) HBG são os mais utilizados no mundo e que lideram o *ranking* de ingrediente ativo (glifosato) mais comercializado no Brasil; (ii) as espécies apresentam sensibilidade diferenciada a um mesmo agente tóxico; (iii) são escassos os estudos avaliando o potencial toxicológico de HBG em representantes endêmicos da carcinofauna brasileira, como *M. potiuna* e que (iv) os ovários de crustáceos decápodes, quando expostos a HBG, apresentam um comprometimento no ciclo reprodutivo e conseqüentemente na maturação ovariana, este estudo tem por objetivo investigar o efeito deste composto sobre a morfometria dos ovócitos pré-vitelogênicos de *M. potiuna*. Assim, fêmeas em estágio intermediário da maturação ovariana foram coletadas na Cachoeira do Poção em Florianópolis/SC e transportadas ao Laboratório de Reprodução e Desenvolvimento Animal e aclimatadas por 7 dias. Após a aclimação, realizou-se um bioensaio subagudo de 14 dias, sendo utilizada as concentrações de 0,065 e 0,28 mg/L de HBG, fêmeas expostas apenas com água declorada foram utilizadas como grupo controle. Após a exposição, os ovários foram dissecados e processados para técnica histológica de coloração com Hematoxilina & Eosina (HE) e o comprimento do maior eixo dos ovócitos pré-vitelogênicos foram medidos no programa *ImageJ*. Os dados são apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média. A análise da morfometria dos ovócitos pré-vitelogênicos demonstrou um aumento significativo no comprimento do maior eixo apenas nos ovócitos das fêmeas expostas a concentração de 0,28mg/L de HBG ( $212,4 \pm 15,3 \mu\text{m}$ ;  $p < 0,05$ ), quando comparados ao grupo controle ( $174,8 \pm 6,78 \mu\text{m}$ ). Por outro lado, o comprimento do maior eixo dos ovócitos pré-vitelogênicos expostos a concentração de 0,065mg/L ( $202,2 \pm 7,26 \mu\text{m}$ ) não demonstraram diferença significativa. Os resultados apresentados, permitem observar uma resposta da maior concentração de HBG sobre a morfometria dos ovócitos pré-vitelogênicos do ovário de *M. potiuna*. Tal resultado sugere que o HBG possui um efeito de disruptor endócrino na maturação ovariana. Neste contexto, o presente estudo ainda tem por perspectiva, investigar o efeito do HBG sobre a morfologia e morfometria das demais células germinativas e somáticas do ovário de *M. potiuna*.

**Palavras-chave:** Crustáceos; reprodução; toxicidade.



## CELLULAR EFFECTS OF UVB RADIATION: PROLIFERATION AND APOPTOSIS IN EMBRYOS AND LARVAE OF FRESHWATER PRAWN *Macrobrachium olfersii*

TROPMAIR, SOFIA<sup>1,2\*</sup>; STRÜCKER, GIULIAM<sup>2,3</sup>; SCHRAMM, HELOÍSA<sup>2,3</sup>; AMMAR, DIB<sup>2</sup>; NAZARI, EVELISE<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Curso de Graduação em Ciências Biológicas; Centro de Ciências Biológicas; Universidade Federal de Santa Catarina

<sup>2</sup>Laboratório de Reprodução e Desenvolvimento Animal; Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética; Centro de Ciências Biológicas; Universidade Federal de Santa Catarina

<sup>3</sup>Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento; Centro de Ciências Biológicas; Universidade Federal de Santa Catarina

\*troppmair.sofia@gmail.com

### ABSTRACT

Solar ultraviolet radiation (UV) is composed by a range of 100 - 400 nm wavelength, subdivided into ultraviolet A (UVA, 400-320 nm), ultraviolet B (UVB, 320-280 nm) and ultraviolet C (UVC, 280-100 nm). UVB radiation is partially attenuated in the atmospheric ozone layer, and the longer wavelengths of this radiation reach the Earth's surface. At higher doses, UVB radiation is capable of promoting cellular and molecular changes in exposed organisms, including those living in aquatic environments, such as the freshwater prawn *Macrobrachium olfersii*. This species lives and reproduces in shallow, translucent water, and then its eggs are also exposed to UVB radiation during all stages of embryonic development, until hatching. The present study aimed to investigate and compare the effects of UVB radiation on the embryonic and larval cells of *M. olfersii*, specifically on molecules involved in cell proliferation and cell death by apoptosis. Females and males of the *M. olfersii* were collected at Parque Municipal da Lagoa do Peri, Florianópolis, Santa Catarina (IBAMA's Permanent Authorization N°. 15294-1/2008), transported to Laboratório de Reprodução e Desenvolvimento Animal (LRDA) and kept in aquaria (1 male: 3 females). Ovigerous females obtained in laboratory were irradiated for 30 minutes (310 mW/cm<sup>2</sup>, 6 W lamp - Vilber Lourmat) to obtain embryos and larvae. Embryos and larvae from non-irradiated ovigerous females were used as controls. Immunohistochemistry using protein specific marker was performed for immunolocalization and quantification of phosphohistone H3 (PHH3), involved in cell proliferation. In irradiated-embryos a significant increase in the number of PHH3-positive cells (4.40 ± 0.21) was observed, when compared to controls (3.45 ± 0.18; p < 0.001). In the larvae, the number of PHH3-positive cells was 5.81 (± 0.50), which did not differ from the controls (7.18 ± 0.54). Additionally, by immunohistochemistry the Bak protein involved in the apoptosis process was immunolocalized and quantified. A significant increase in the number of Bak-positive cells was observed in embryos (13.11 ± 0.61) and larvae (6.70 ± 0.51) when compared to controls (7.51 ± 0.86 for embryos, 2.68 ± 0.33 for larvae). Therefore, the results presented allow us to observe the effect of UVB radiation on *M. olfersii* embryonic and larval cells. These results also showed that the effects observed in embryonic cells may compromise the larval cells viability. New irradiation protocols may help to elucidate the effects of embryonic exposure to UVB radiation on larval cells.

**Keywords:** Cell viability; Crustacean; Embriotoxicity.



## CÉLULAS ESTROMAIS MESENQUIMAIS DO TECIDO ADIPOSEO ABDOMINAL HUMANO APRESENTAM FENÓTIPO SENESCENTE APÓS TRATAMENTO COM ALTA GLICOSE, *IN VITRO*

BARROS-DELBEN, P.<sup>1,2</sup>; PEREZ, D, G.<sup>1,2</sup>; FERREIRA, L. A.<sup>1,2</sup>; GOMES, R.S.<sup>3</sup>; TRENTIN, A. G.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Ciências Biológicas; Centro de Ciências Biológicas/Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética – Universidade Federal de Santa Catarina

<sup>2</sup> Laboratório de Células-Tronco e Regeneração Tecidual; Centro de Ciências Biológicas/Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética – Universidade Federal de Santa Catarina

<sup>3</sup> Hospital e Maternidade Carlos Correia, Santa Catarina

\* priscillabarrosdelben@gmail.com

### RESUMO

O envelhecimento do tecido adiposo subcutâneo abdominal está associado à progressão de patologias típicas da idade avançada, como as síndromes metabólicas, doenças degenerativas e metástases. A senilidade desse tecido é acelerada pelo acúmulo de células-tronco senescentes. Um dos principais processos que geram a senescência celular precoce é o catabolismo da glicose nas mitocôndrias. Nesse processo a glicose é convertida em energia para o metabolismo celular, mas também em espécies reativas que quando em excesso causam danos oxidativos nas células. Esses danos se não corrigidos podem direcionar as células a senescência em resposta ao estresse oxidativo. Uma das estratégias terapêuticas antienvhecimento é aumentar a eficácia das defesas celulares antioxidantes. Para isso, protocolos que visam estabelecer a senescência celular *in vitro* são indispensáveis. O objetivo desse trabalho foi obter o fenótipo senescente em células estromais mesenquimais isoladas do tecido adiposo subcutâneo humano submetida a alta glicose *in vitro*. Primeiramente, buscamos verificar a melhor dose sub letal de glicose para essas células analisando a viabilidade celular pelo ensaio de MTS. Após, as doses mais promissoras foram testadas e seus efeitos analisados na morfologia celular, no potencial proliferativo, na atividade da enzima lisossomal beta galactosidase ácida, no acúmulo de focos de heterocromatina associada a senescência celular e de focos de  $\gamma$ H2AX. Além disso, também analisamos o efeito da glicose no aumento de espécies reativas de oxigênio pelo ensaio de DCFH-DA. Todas essas características celulares analisadas são comuns ao estado senescente. Os resultados demonstraram que nas doses de 25mM e 35mM de glicose as células apresentavam redução de 14% e 20,5% da viabilidade celular 24 horas após o tratamento, respectivamente. Nessas doses as células apresentaram aumento de 341% e 382% de hipertrofia celular e perda de 37,3% e 82,3%, da capacidade de formar colônias, respectivamente, o que demonstra comprometimento no ciclo celular. Essa suposição foi corroborada com o aumento de heterocromatinização do DNA associada à senescência celular já que essa ocorre em resposta à ativação de ciclinas como p14 e p16 que cessam a mitose. Além disso, nessas doses de glicose, as células demonstraram maior instabilidade genética que foi detectada pela imunomarcagem de  $\gamma$ H2AX. Por fim, quando as células foram tratadas com essas doses de glicose houve um aumento de 2,5 vezes e 5,7 vezes do acúmulo de espécies reativas de oxigênio, respectivamente, sugerindo alterações celulares associadas à senescência celular em resposta ao estresse oxidativo gerado pela alta glicose. Em conjunto, esses resultados sugerem que as doses de 25mM ou 35mM de glicose induziram a senescência nas células estromais mesenquimais isoladas do tecido adiposo subcutâneo humano. Portanto, foi estabelecido um protocolo eficiente de indução de senescência celular precoce *in vitro* que pode ser utilizado para análises de terapias antisenescência.

**Palavras-chave:** Estresse oxidativo; Protocolo; Terapias.



## CONSTRUÇÃO DE MODELOS DIDÁTICOS PARA O ESTUDO DE ESTRUTURAS DA BIOLOGIA CELULAR E TECIDUAL POR ALUNOS DO ENSINO MÉDIO

Passaglia, Rubem, Paulo.

Programa de Pós-Graduação; Centro de Ciências Biológicas – Universidade Federal de Santa Catarina.  
prpassaglia@hotmail.com

### RESUMO

O livro didático e o quadro/lousa são os recursos didáticos mais utilizados em grande parte das escolas públicas de Ensino Médio, pois há limitações de espaços apropriados para a realização de atividades de laboratório. Assim, há prioridade das aulas teóricas em detrimento das atividades práticas, o que contribui para a baixa motivação dos alunos com o ambiente escolar. Nesse contexto, a utilização de uma metodologia ativa, incentivando os alunos a estudar e posteriormente construir modelos didáticos que representem estruturas como células e tecidos, em escala aumentada, mostrou-se uma alternativa interessante para amenizar o problema de infraestrutura além de se adequar à realidade da escola. O presente trabalho foi realizado com os alunos do Ensino Médio da Escola Estadual Maria do Carmo Lopes em São José/SC, proporcionando uma atividade prática criativa em relação ao estudo da Biologia Celular e Tecidual. A escola tem limitações de espaço que inviabilizam a realização de aulas práticas e de informática. A atividade foi realizada por alunos das séries dos segundos e terceiros anos do Ensino Médio, com o objetivo de proporcionar uma melhor visualização e entendimento de partes e funções de células e tecidos, tornando as aulas mais atrativas e melhorando o processo ensino e aprendizagem. A partir de ilustrações de livros didáticos, sites didáticos e imagens foram construídos nove modelos didáticos utilizando materiais não perecíveis, como parafusos, peças plásticas, fios elétricos, para que permaneçam como acervo de estudos na escola e possam ser utilizados pelos três níveis do ensino básico. De biologia celular foram construídos modelos didáticos referentes a membrana plasmática, estrutura helicoidal de um fragmento do DNA, um neurônio, uma célula procarionte e uma célula eucarionte. Em relação a biologia tecidual foram elaborados modelos dos tecidos ósseo, muscular, pele humana representando os tecidos epitelial e conjuntivo, vasos sanguíneos e tecido sanguíneo. Posteriormente foi aplicado juntos aos alunos um questionário, com nove questões, de avaliação da atividade proposta, onde foi constatado que com a execução desse projeto, os alunos se sentiram estimulados a participar como protagonistas do processo de construção do conhecimento e avaliaram como sendo importante a realização de atividades como esta para amenizar as dificuldades de aprendizagem mediante as limitações de infraestrutura da instituição de ensino. Constatou-se também que quando o ambiente de trabalho estimula a curiosidade, a participação dos alunos é espontânea, o que facilita o desenvolvimento do processo de ensino.

**Palavras-chaves:** aprendizagem; atividade prática; acervo da escola.



## CRUSTACEAN ENDOCRINE SYSTEM AS TARGET TO GLYPHOSATE-BASED FORMULATIONS TOXICITY

MELO, MADSON SILVEIRA<sup>1\*</sup>; NAZARI, EVELISE MARIA<sup>1</sup>; JOAQUIM-JUSTO, CELIA<sup>2</sup>; MULLER, YARA MARIA RAUH<sup>1</sup>; GISMONDI, ERIC<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento; Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética – Universidade Federal de Santa Catarina

<sup>2</sup>Laboratory of Animal Ecology and Ecotoxicology; Chemistry Institute, Sart-Tilman – University of Liège

\*madsonsilveira@hotmail.com

### ABSTRACT

The endocrine system of crustaceans regulates among other processes, the molting, growth and reproduction. For this to happen, several molecules (e.g. ecdysteroids, neuroendocrine hormones, vitellogenin, and chitinolytic enzymes) are required to a normal functioning of these processes. However, some compounds known as endocrine disruptor compounds (EDC) are capable of disrupting the normal molt/reproduction functioning, causing molting and reproductive impairments. Glyphosate-based herbicides (GBH), which represent one of the most used herbicides worldwide, are usually found in freshwater environments and has been assumed an EDC for vertebrates. Although invertebrates represents almost 95% of the fauna, reports on the effects of GBH on the endocrine system of invertebrates, especially decapod crustaceans are very scarce. Thus, this study aimed to investigate the environmentally relevant GBH concentrations (0.0, 0.0065, 0.065, and 0.28 mg L<sup>-1</sup>) effects on molecules involved in the molting, growth and reproduction processes of the freshwater prawn *Macrobrachium potiuna* exposed for 7 and 14 days. Therefore, after the exposure periods, the relative transcript expression levels of the ecdysteroid receptor (EcR), the molt-inhibiting hormone (MIH), and the vitellogenin (Vg) genes were measured. In addition, the 20-hydroxyecdysone hormone (20-HE) concentration and the chitinase activity were assessed in males and females. The transcript levels results revealed that only males were affected by the GBH exposure, suggesting that males were more sensitive to GBH than females. Males exposed for 7 days at 0.065 mg L<sup>-1</sup> showed overexpression of EcR and MIH, meanwhile, males exposed for 14 days showed overexpression of Vg at the same concentration. On the other hand, the chosen GBH concentrations were able to decrease the 20-HE concentration in males exposed for 7 days and females exposed for 14 days. Moreover, GBH also decreased the chitinase activity in males and females prawns exposed for 14 days. This study highlighted that, in addition to be an EDC in vertebrates, GBH seems to be also an EDC for crustaceans, disturbing the molt/growth and reproduction processes. The results also indicate that the GBH concentrations, considered secure by regulatory agencies, should be reviewed to minimize the effects on non-target organisms.

**Keywords:** *Macrobrachium potiuna*; Molt; Roundup.



## EFEITO DO HERBICIDA A BASE DE GLIFOSATO SOBRE A MORFOMETRIA DAS BRÂNQUIAS DO PEIXE-ZEBRA *Danio rerio*

MENNA, BRUNO L.<sup>\*1,2</sup>; PEREIRA, ALINE G.<sup>2,3</sup>; DAVICO, CARLA E.<sup>2,3</sup>; MELO, MADSON S.<sup>2,3</sup>; MÜLLER, YARA M.R.<sup>2</sup>; NAZARI, EVELISE M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Curso de Graduação em Ciências Biológicas, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina.

<sup>2</sup>Laboratório de Reprodução e Desenvolvimento Animal, Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética, Universidade Federal de Santa Catarina.

<sup>3</sup>Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento; Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética, Universidade Federal de Santa Catarina.

\*brunolosimenna@live.com

### RESUMO

O Brasil é o país que mais utiliza agrotóxicos em litros por habitante, sendo que dentre estes, o herbicida glifosato é o mais utilizado, assim como no mundo todo. Seu modo de ação ocorre pela inibição da enzima 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase encontrada em plantas e microrganismos, envolvida na síntese de aminoácidos aromáticos. Ainda que essa enzima não seja encontrada em animais, estudos vêm demonstrando efeitos tóxicos do glifosato em diferentes organismos não-alvo, como abelhas, peixes, anfíbios, entre outros. Embora diante do crescente uso de herbicidas, principalmente de herbicidas a base de glifosato (HBG), poucos estudos têm investigado os efeitos de baixas concentrações de HBG, especificamente a sua toxicidade em organismos não-alvo. Em peixes, a brânquia é um dos principais órgãos afetados por agentes tóxicos em ambientes aquáticos. Sua sensibilidade a tais agentes se deve à extensa superfície de contato direto com a água, sendo um dos primeiros órgãos expostos aos compostos dissolvidos na água. Assim, o objetivo desse estudo foi investigar o efeito do HBG sobre a morfometria das brânquias do peixe-zebra, *Danio rerio*. Exemplares adultos (n = 3) foram expostos por 7 dias a 0,065 mg/L de HBG, e exemplares não expostos ao HBG foram utilizados como grupo controle. As brânquias foram dissecadas, fixadas em solução de glutaraldeído a 1,5% + paraformaldeído a 1,5%, incluídas em parafina e seccionadas a 6  $\mu\text{m}$ , sendo posteriormente coradas com Hematoxilina-Eosina. As brânquias foram analisadas através de parâmetros morfométricos: i) tamanho das lamelas secundárias, ii) distância entre as lamelas secundárias e iii) largura das células cartilagosas das lamelas primárias, com auxílio do software Image J®. Os dados obtidos foram submetidos ao Teste t de *Student* e expressos como média  $\pm$  erro padrão. Não foram observadas diferenças significativas ( $p = 0,7927$ ) no tamanho das lamelas secundárias entre o grupo controle e exposto (56,16  $\mu\text{m} \pm 1,15 \mu\text{m}$ ; 55,42  $\mu\text{m} \pm 2,69 \mu\text{m}$ , respectivamente). Tampouco foram observadas diferenças significativas ( $p = 0,7438$ ), na largura das células cartilagosas entre o grupo controle e exposto (1,02  $\mu\text{m} \pm 0,01 \mu\text{m}$ ; 1,01  $\mu\text{m} \pm 0,03 \mu\text{m}$ , respectivamente). Contudo, a distância entre as lamelas secundárias mostrou uma diminuição significativa ( $p < 0,0001$ ) no grupo exposto (11,78  $\mu\text{m} \pm 0,33 \mu\text{m}$ ), quando comparado ao grupo controle (14,47  $\mu\text{m} \pm 0,26 \mu\text{m}$ ). Diante dos resultados, uma provável explicação para a redução da distância entre as lamelas secundárias pode estar relacionada a uma hipertrofia das lamelas, já que essa alteração foi visualizada nas brânquias dos peixes expostos ao HBG. As alterações morfométricas ainda estão sendo analisadas e classificadas, e poderão explicar os efeitos observados, assim como futuras análises em relação a capacidade do HBG de interferir no ciclo celular das células das brânquias serão realizadas, para uma maior compreensão dos seus efeitos.

**Palavras-chave:** Scout; toxicidade; zebrafish.



## EFEITOS DO ESTRESSE NA INFÂNCIA E OS EFEITOS NO ABUSO DE DROGAS NAS LINHAGENS SHR E SLA16

KREMER, RAFAEL<sup>1,2\*</sup>; IZÍDIO, GEISON SOUZA<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento; Departamento de Farmacologia e Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética – Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

<sup>2</sup>Laboratório de Genética do Comportamento – Universidade Federal de Santa Catarina

\*E-mail: [rafael.kremer@uffs.edu.br](mailto:rafael.kremer@uffs.edu.br)

### RESUMO

A dependência é um distúrbio crônico e recorrente, caracterizado pelo desejo compulsivo e perda do controle sobre a limitação do uso de drogas. Essa vulnerabilidade individual ao vício é um fenômeno complexo influenciado por fatores comportamentais, genéticos, neurobiológicos, bem como é modulada por transtornos psiquiátricos, fatores socioambientais e experiências pregressas em diferentes fases do desenvolvimento. Adicionalmente, experiências adversas na infância, ou seja, no período mais plástico do desenvolvimento biológico, emocional e cognitivo da vida do indivíduo, predis põem ao uso e a dependência de drogas durante a juventude e vida adulta. Embora menos estudado que o comportamento emotivo e a hiperatividade do eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal, o estresse na infância de ratos pode interferir no desenvolvimento da via nervosa mediadora do sistema de recompensa. Existem evidências que o estresse infantil aumenta o consumo voluntário de etanol, exagera o comportamento e a resposta dopaminérgica para psicoestimulantes, e altera a sinalização de dopamina e opióides em regiões de recompensa, como córtex pré-frontal e núcleo acumbens. Para melhor investigar o uso e o abuso de substâncias, estudos pré-clínicos, apontam que a linhagem SHR revela “*background*” genético de elevada sensibilidade a psicoestimulantes, opiáceos e canabinoides, bem como, tem apresentado aumento significativo no consumo espontâneo e sensibilidade aos efeitos estimulantes do etanol. Além disso, o tratamento crônico com o metilfenidato, durante a adolescência, altera a ingestão de etanol e os efeitos comportamentais da cocaína em ratos adultos. Na tentativa de identificar genes, produtos gênicos e mecanismos subjacentes a numerosas características quantitativas, uma nova linhagem denominada SLA16 foi desenvolvida no Laboratório de Genética do Comportamento da UFSC. A linhagem congênica SLA16 apresenta-se como um modelo animal ideal e específico para avaliar a região genômica *Anxrr16* no cromossomo 4 (“*Quantitative Traits Loci*” com forte influência na locomoção central do campo aberto), uma vez que apresenta, nessa região, alelos da linhagem doadora LEW no fundo genético da receptora SHR. Em relação às características comportamentais, a linhagem SLA16 apresenta menores níveis de ansiedade, déficits de aprendizado e maior atividade locomotora em ambientes novos em relação à linhagem SHR. Nesse sentido, cabe ressaltar que a reatividade locomotora a um novo ambiente prediz aspectos de busca e consumo de substâncias psicoativas. Ainda na comparação entre as linhagens, é observado elevada pressão arterial, bem como menor sensibilidade e maior consumo frente ao álcool em fêmeas da linhagem SHR. Nesse contexto, objetiva-se compreender a complexa inter-relação entre o genótipo, os eventos ambientais e a estrutura neurobiológica frente ao uso e dependência de drogas através da investigação do seguinte questionamento científico: O estresse na infância interfere no comportamento e nos mecanismos biológicos de dependência na vida adulta em ratos das linhagens SHR e SLA16? Para tanto, nas diferentes linhagens, será realizada a indução do estresse infantil através da separação materna por 4h diária durante duas semanas e pelo condicionamento em caixas contendo maravalha limitada para confecção do ninho, bem como será avaliada a sensibilidade comportamental, o consumo voluntário de etanol, a dependência à anfetamina e os mecanismos biológicos estabelecidos no sistema de dependência - via mesolímbica.

**Palavras-chave:** Dependência; Álcool; Anfetamina.



## EFFECT OF N-METHYL-D-ASPARTATE RECEPTOR ACTIVATION ON THE MODULATION OF THE MAPK/ERK PATHWAY IN CORTICAL NEURONS *IN VITRO*

NASCIMENTO, DENISE FABIANO DO<sup>1,2\*</sup>; FERREIRA, LAÍS ANDRADE<sup>2,3</sup>; TEIXEIRA, BIANCA<sup>2,3</sup>; TRENTIN, ANDRÉA<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Biological Sciences Undergraduate Course; CCB – Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)

<sup>2</sup>Laboratório de Células-Tronco e Regeneração Tecidual; CCB/BEG – UFSC

<sup>3</sup>Cell & Developmental Biology Graduate Program; CCB/BEG – UFSC

\*denise.fabiano.nascto@gmail.com

### ABSTRACT

Extracellular signal-regulated kinase (ERK) is a member of the mitogen-activated protein kinases (MAPK) family, known for its role in the regulation of cellular processes such as proliferation, gene expression, differentiation, apoptosis, survival and inflammation. When activated through phosphorylation, ERK is translocated to the nucleus and becomes able to phosphorylate nuclear transcription factors. This signaling pathway has a central role in several key cellular activities, therefore its impairment can be related to the development of pathological processes leading to neurodegenerative diseases, for example. It is known that central nervous system (CNS) lesions are characterized by the activation of complex cascades of cellular responses that lead to secondary injuries and consequent successive loss of tissue and functionality, promoting an unfavorable microenvironment for homeostasis and repair. Glutamate-induced excitotoxicity via N-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR) overactivation is a common key point in neurodegeneration, and it has been associated to deactivation of the ERK pathway and, consequently, of its target cAMP response element-binding protein (CREB), a transcription factor associated with synaptic plasticity, neuroprotection, growth and neuronal survival. Thus, we aimed to investigate the effect of NMDAR activation on ERK phosphorylation *in vitro* using cortical neurons of C57BL/6 newborn mice as a model, which use was approved by the Ethics Committee under the protocol 9259120918. Primary cultures were obtained through enzymatic dissociation of cortices with 0,25% trypsin-EDTA and  $1 \times 10^6$  cells were seeded in 6-wells plates coated with poly-L-lysine. Neurons were cultivated in Neurobasal-A medium supplemented with antibiotics, B-27 and glutamine, with an initial inhibitory feeding with cytosine arabinoside and changes of 50% of the medium volume every 3 days until reaching 14 days *in vitro* (DIV). Immunodetection of microtubule-associated protein 2 (MAP-2), a marker for mature neurons, was used to characterize initial cultures and confirm the neuronal phenotype after 5, 7, 10 and 14 DIV. Besides that, ERK phosphorylation was evaluated through western blotting after cells exposure to 0, 20, 30, 40 and 50  $\mu\text{M}$  of N-methyl-D-aspartic acid (NMDA), a known NMDAR agonist, for 30 minutes. Regarding characterization, our results showed that cultures presented between 67,9% and 89% of MAP-2 positive cells, confirming its predominantly neuronal phenotype. Furthermore, relative quantitation of ERK phosphorylation, using  $\alpha$ -tubulin as loading control, demonstrated that NMDAR stimulation is capable of modulate the activation of this signaling pathway. According to information available in scientific literature, excitotoxicity induction with lower NMDA concentrations (20  $\mu\text{M}$ ) induces a neuroprotective response, increasing ERK phosphorylation in 19,1% when compared to the unexposed control. Higher NMDA concentrations, however, can compromise its activation, which was confirmed by a decrease of 45,85%, 79,2% and 72,1% after exposure to 30, 40 and 50  $\mu\text{M}$  of the NMDAR agonist, respectively. Thus, our results verify that excitotoxicity via NMDAR can modulate signaling pathways associated with basic cellular responses and even the activation of transcription factors strongly associated to neuroprotection, confirming its role in the development of neurodegenerative pathologies.

**Keywords:** excitotoxicity; neurodegeneration; neuroprotection.



## EFFECTS OF EXPOSURE TO ULTRAVIOLET B RADIATION ON THE ACTIVATION OF MITCHONDRIAL QUALITY CONTROL IN *Macrobrachium olfersii* EMBRYOS

STRÜCKER, GIULIAM KÁTIA<sup>1,2\*</sup>; SCHRAMM, HELOÍSA<sup>1,2</sup>; QUADROS, THALINE<sup>1,2</sup>; TROPMAIR, SOFIA<sup>2,3</sup>; AMMAR, DIB<sup>2</sup>; NAZARI, EVELISE MARIA<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento; Centro de Ciências Biológicas – Universidade Federal de Santa Catarina

<sup>2</sup>Laboratório de Reprodução e Desenvolvimento Animal (LRDA); Centro de Ciências Biológicas/Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética – Universidade Federal de Santa Catarina

<sup>3</sup>Curso de Graduação em Ciências Biológicas; Centro de Ciências Biológicas – Universidade Federal de Santa Catarina

\*giuliakatia@gmail.com

### ABSTRACT

The high levels of ultraviolet B (UVB) radiation recorded in southern Brazil are related to the ozone layer depletion and elicit attention to the global climate changes. This radiation reaches transparent freshwater environments, where the prawns *Macrobrachium olfersii* live and reproduce. These prawns are essential for maintaining the cycling of organic matter and energy in freshwater ecosystems. Thus, changes caused by UVB radiation in *M. olfersii* populations may compromise the integrity of these natural environments. In addition, it is important to note that UVB radiation also has enough energy to penetrate the tissues and cells of adult animals, larvae and embryos, causing changes in cellular organelles. The mitochondria, responsible for the energy production in animal cells, are an important target of this radiation. Previous studies have shown that the UVB radiation was able to alter the morphology and the functional integrity of this organelle. Mitophagy is a mechanism of mitochondrial quality control, which involves the detection of dysfunctional mitochondria, autophagosome recruitment and degradation by autophagic processes. Thus, the aim of this study was to investigate the effects of UVB radiation on the expression of genes and proteins content related to mitophagy, which contributes to mitochondrial quality control, using *M. olfersii* embryonic cells. Adults of *M. olfersii* were collected in the Lagoa do Peri in the Santa Catarina Island and maintained in aquarium to obtain ovigerous females (IBAMA's permanent approval nº 15294-1/2008). Embryos in the stage of morphogenesis and organogenesis (E7) were irradiated for 30 minutes with irradiance of 310 mW/cm<sup>2</sup>, in order to simulate the natural UVB irradiation. After 6 hours and 12 hours of irradiation procedure, embryos were analyzed. The identification of the genes associated with mitophagy (*PINK1*, *MAP1LC3*) and outer mitochondrial membrane (*TOMM20*) were found in the transcriptome analysis of the *M. olfersii* embryos, and the cDNA synthesis was used to analyze the gene expression through the RT-qPCR, using *Rpl8* as reference gene. In addition, immunohistochemistry for quantification of cells positive for PINK1, TOM20 and LC3B proteins were performed. Data were analyzed by One-way ANOVA and Tukey's Test ( $p \leq 0.05$ ). After 6 hours of exposure to UVB radiation, transcript levels of the genes showed a significant increase. In addition, a significant increase of immunolabeled positive cells was observed after 12 hours of exposure to UVB radiation. Considering these results, we conclude that after the increase of transcript levels of genes 6 hours after UVB exposure, mRNA translation into proteins occurs, which is compatible with the results of the increase in the number of cells positive for the analyzed proteins 12 hours after exposure. This increase of the analyzed genes and proteins indicates the activation of mitophagy, as a form of quality control of damaged mitochondria through their removal by autophagosomes. In addition, this study contributes to the understanding of the molecular responses of mitochondria in embryonic cells of aquatic invertebrates against to UVB exposure.

**Key words:** Crustacea; Embriotoxicity; Mitophagy.



## ESTUDO DOS EFEITOS ANTITUMORAIS DE CHALCONAS SINTÉTICAS EM CÉLULAS DE GLIOBLASTOMA HUMANO

TOGNI, ANDERSON<sup>1,2\*</sup>; Prompt, Alice Heidrich<sup>1 2</sup>; Nedel, Cláudia B. <sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação Biologia Celular e do Desenvolvimento; Departamento de Biologia Celular, Genética e Embriologia – Universidade Federal de Santa Catarina

<sup>2</sup>Laboratório de Biologia Celular de Gliomas; Departamento de Biologia Celular, Genética e Embriologia – Universidade Federal de Santa Catarina  
E-mail: tognianderson@gmail.com

### RESUMO

Gliomas são neoplasias do Sistema Nervoso Central (SNC) que podem afetar tanto o cérebro quanto à medula espinhal. Esses tumores são classificados como heterogêneos devido a sua composição celular e histologia. Baseando-se nisso, a Organização Mundial de Saúde classifica os gliomas em diferentes graus (I-IV) sendo o Glioblastoma Multiforme (GBM) a forma mais agressiva e o tumor primário mais comum entre os tumores cerebrais. Pacientes acometidos por GBM possuem uma sobrevida média de aproximadamente 14 meses após o diagnóstico. O tratamento padrão consiste em cirurgia de excisão do tumor, seguida por quimio e/ou radioterapia. Entretanto, esse tratamento não é eficaz na maioria dos casos, devido às altas taxas proliferativas das células de GBM, da capacidade destas células de evadirem a apoptose e invadirem tecidos saudáveis. Desta forma, a busca por tratamentos alternativos para o GBM é de fundamental importância. As chalconas, por exemplo, são compostos fenólicos que fazem parte da via de biossíntese de flavonoides em plantas e apresentam uma estrutura química simples e versátil. Diversas funções biológicas estão descritas na literatura sobre as chalconas como atividade antibacteriana, anti-inflamatória, antitumoral e capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica. Levantou-se a hipótese de que as chalconas sintéticas produzidas no LEAT-UFSC teriam ação antitumoral nas células de GBM. Para isso foram testadas três chalconas sintéticas (Q1VA, Q2VA e Q18VA) em células de GBM provenientes de ressecção cirúrgica de paciente. Os ensaios de citotoxicidade por MTT demonstraram que apenas a chalcona Q1VA apresentou redução da viabilidade celular de forma significativa. A redução na viabilidade celular foi investigada pelo ensaio de Anexina-PI, onde os resultados demonstraram que a morte causada pela Q1VA foi por apoptose e que os níveis de morte por necrose diminuíram, uma importante característica para um composto anti-tumoral. Os ensaios de EROs (DCFDA) e  $\Delta\Psi_m$  (TMRE) identificaram que ocorre um aumento nos níveis de EROs nas primeiras horas em contato com a chalcona Q1VA, diminuindo ao longo do tempo; do mesmo modo que após 24 horas, a membrana mitocondrial encontrava-se despolarizada. A análise do ciclo celular através da incorporação de PI demonstrou a capacidade da chalcona Q1VA em promover um atraso no ciclo celular. Desta forma, a chalcona Q1VA tem ação sobre mecanismos que impedem a proliferação do GBM e a morte celular poderia estar ocorrendo via mitocondrial. Essa perda do  $\Delta\Psi_m$  poderia ser em decorrência do acréscimo nos níveis de EROs que foram observados nas primeiras 6 horas de tratamento. As células que permaneceram viáveis apresentaram atraso no ciclo celular na fase M, principalmente. Os próximos passos serão investigar o efeito da chalcona Q1VA sobre os processos de migração, invasão e angiogênese, características importantes no GBM.

**Palavras-chave:** Apoptose; Citotoxicidade; Mitocôndria;



## EVALUATION OF METHYLMERCURY TOXICITY DURING HEART DEVELOPMENT, USING *Gallus domesticus* EMBRYOS AS EXPERIMENTAL MODEL

KRÜGER, NATHÁLIA R. Z.<sup>1,2\*</sup>; PINHEIRO, JACQUELINE<sup>2,3</sup>; SANTOS, WILLIAM<sup>2,4</sup>; SIMIONI, CARMEM<sup>1</sup>; NAZARI, EVELISE<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento; Centro de Ciências Biológicas – Universidade Federal de Santa Catarina

<sup>2</sup> Laboratório de Reprodução e Desenvolvimento Animal; Centro de Ciências Biológicas/Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética – Universidade Federal de Santa Catarina

<sup>3</sup> Curso de Graduação em Ciências Biológicas; Centro de Ciências Biológicas – Universidade Federal de Santa Catarina

<sup>4</sup> Curso de Graduação em Medicina; Centro de Ciências da Saúde – Universidade Federal de Santa Catarina

\*nathaliarzk@gmail.com

### ABSTRACT

Mercury is a metal present in the forms of metallic mercury (Hg<sup>0</sup>), inorganic ions (Hg<sup>+</sup> and Hg<sup>2+</sup>) and organic mercury (ethylmercury and methylmercury), which differ in toxicokinetics, distribution, accumulation and cycling in the environment. Methylmercury (MeHg) is found in nature through methylation by microorganisms that make it highly available in the environment, allowing accumulation in biological tissues, raising concerns about MeHg contamination and toxicity. MeHg is the most toxic form of organic mercury and may be responsible for morphological, behavioral and metabolic damages in exposed individuals. However, although the toxicity of MeHg is well known, its effect on cardiovascular system development remains poorly explored. Thus, the aim of this study was to investigate the effect of MeHg on heart development, using *Gallus domesticus* embryos as experimental model. Specifically, the content of proteins involved in cell proliferation and apoptosis, as well as the organization of the cardiac ventricular trabeculae and subcellular organization of cardiac ventricular cells were analyzed. Embryos were treated *in ovo* after 33 hours of incubation with 0.1 µg MeHg/50 µL of saline solution and then were analyzed on the 10<sup>th</sup> embryonic day (E10) (Ethics Committee of Federal University of Santa Catarina, CEUA – protocol number 5843231018). For the morphological analyses, the heart was submitted to light microscopy and transmission electron microscopy techniques. Additionally, the content of proteins involved in the cell proliferation (phosphohistone H3) and in the apoptosis (caspase-3) of cardiac cells, was analyzed by immunohistochemistry. After MeHg treatment, there was a significant reduction in the number of phosphohistone H3-positive cells in the left ventricle (15.62 ± 0.75 cells) and in the right ventricle (17.5 ± 0.42) in comparison to controls (19.12 ± 0.39 and 21.12 ± 1.43, for the left and right ventricles, respectively). No changes were observed for the number of caspase-3 positive cells. Regarding subcellular organization, swelling of mitochondrial crest was observed in MeHg-treated embryos. In addition, a significant reduction in heart rate was observed after MeHg-treatment (75.94 ± 27.3 beats/min) in comparison to control (103.66 ± 34.0 beats/min). The results showed that MeHg exposure was able to compromise cell proliferation and mitochondrial integrity, which are extremely necessary for heartbeat. Further studies focusing on the cell cycle and mitochondrial quality control will be welcome.

**Keywords:** Embryotoxicity; MeHg; Heart ventricles



## EXPOSURE TO PYRIPROXYFEN INDUCES CHANGES IN THE THICKNESS OF CELLULAR LAYERS IN THE SPINAL CORD AND DEVELOPING BRAIN

SILVA, MAICO ROBERTO LUCKMANN RODRIGUES<sup>1,2\*</sup>; SPRICIGO, MIRIAN<sup>2,3\*</sup>; SILVA, NORMA MACHADO<sup>4</sup>; NAZARI, EVELISE<sup>1,3</sup>.

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento; Centro de Ciências Biológicas – CCB; Universidade Federal de Santa Catarina.

<sup>2</sup>Laboratório de Reprodução e Desenvolvimento Animal; Centro de Ciências Biológicas/Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética; Universidade Federal de Santa Catarina.

<sup>3</sup>Curso de Graduação em Biologia; Centro de Ciências Biológicas; Universidade Federal de Santa Catarina.

<sup>4</sup>Laboratório de Genética Evolutiva; Centro de Ciências Biológicas/Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética; Universidade Federal de Santa Catarina

\* [maicooroberto@gmail.com](mailto:maicooroberto@gmail.com)<sup>1</sup>; [mirian.spricigo@gmail.com](mailto:mirian.spricigo@gmail.com)<sup>2</sup>.

### ABSTRACT

Pyriproxyfen (PPF) (C<sub>20</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>3</sub>) is a pyridine-based larvicide that acts as an insect growth regulator. Since 2014, due to concerns about the Zika virus epidemic, transmitted by the *Aedes* genus mosquito, the use of 0.01 mg/L PPF in drinking water has been adopted in Brazil. In this same period, there was an increase in cases of microcephaly in newborns in the country and some health institutions published technical notes warning about the possible association between the larvicide applied in water reservoirs and cases of microcephaly. In order to investigate the neurotoxic effects of PPF on the central nervous system, this research aimed to characterize the morphology and cellular mechanisms involved in spinal cord and brain histogenesis after PPF exposure, using *Gallus domesticus* embryos, as model. Then, fertile eggs were incubated at 37,5°C temperature and 65% humidity (CEUA-UFSC protocol No. 5843231018). The sub-lethal concentrations of the PPF (0.01 mg/L, 10 mg/L) were defined by a survival curve. Treatments were performed *in ovo* after 24 hours of incubation, at embryonic age (E1) and analyzed at E10. Non-treated embryos (0.00 mg/L PPF) were used as controls. External cephalic macro-morphometry was conducted before the spinal cord and brain were submitted to histological procedures and micro-morphometry of the cell layers. To investigate the effect of the PPF on the content of proteins involved in neuronal proliferation and differentiation, immunohistochemistry technique was carried out. Regarding the external measurements, a significant reduction in the anterior-posterior cephalic distance was observed in embryos treated with 10 mg/L (13.84 μm ± 0.18; p < 0.05), in comparison to controls (14.45 μm ± 0.14). Micro-morphometric analysis revealed the presence of two layers in the telencephalon, which showed a reduction in thickness (p < 0.05) after exposure to PPF. In the mesencephalon, ten cellular layers were recognized after exposure to PPF and a significant reduction (p < 0.05) in thickness was observed in four of them. In the spinal cord, thickness of the three cellular layers was reduced (p < 0.05) after exposure to PPF. Moreover, immunostaining of cell proliferation and neuronal differentiation was also made. The results showed that the PPF was able to cause morphological changes in the brain and spinal cord cell layers, accompanied by a reduction in head measurement. In addition, further analysis will be needed to better understand PPF neurotoxicity, such as the assessment of neural and glial integrity and viability.

**Keywords:** neurotoxicity; central nervous system; larvicide.



## FOSFOPROTEÍNA INDUZIDA POR ESTRESSE DO TIPO 1 (Sti1) ATUA NO DESENVOLVIMENTO INICIAL DA CRISTA NEURAL TRUNCAL

CUNHA, JAQUELINE ISOPPO DA<sup>1,2,\*</sup>; OLIVEIRA, ELIZA SIMÃO DE<sup>2</sup>, SCHMITT, SUELEN DOS SANTOS<sup>2</sup>; TEIXEIRA, BIANCA LUISE<sup>1,2</sup>; TRENTIN, ANDRÉA GONÇALVES<sup>1,2</sup>; GARCEZ, RICARDO CASTILHO<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento; CCB / UFSC.

<sup>2</sup>Laboratório de Células Tronco e Regeneração Tecidual; BEG - CCB / UFSC.

\*jaquelineisoppo@gmail.com

### RESUMO

**Palavras-chave:** Diferenciação Celular; Fator de transcrição; Sistema Nervoso Periférico

A maior parte do sistema nervoso periférico (SNP) é formado pelas células da crista neural (CCN) que durante a neurulação, sofrem transição epitélio-mesenquimal migrando por rotas específicas e diferenciando em muitos tipos celulares. Essa diferenciação é coordenada por fatores de transcrição que têm sua expressão influenciada pelos fatores solúveis que a célula encontra no microambiente embrionário. Trabalhos anteriores de nosso grupo mostraram que, *in vitro*, durante a fase de migração (primeiras 24h) a proteína Sti1 é expressa pelas CCN e pode atuar como um novo fator solúvel, estimulando a diferenciação das CCN para neurônios e melanócitos em detrimento de células gliais. Para compreender os mecanismos moleculares associados a esse efeito, avaliamos a influência de Sti1 sobre a expressão de Sox10, um fator de transcrição regulador na diferenciação inicial das CCN. Mostramos que Sti1 é capaz de aumentar a expressão de Sox10 em populações específicas de CCN. Durante a diferenciação inicial das CCN, Sox10 induz à expressão de fatores de transcrição que direcionam a diferenciação de neurônios e melanócitos, como Mash1 e Mitf, respectivamente. A baixa expressão de Sox10 está relacionada à expressão de fatores de transcrição que controlam a diferenciação glial, como Krox20. Esses dados reforçam o resultado anterior de que Sti1 estaria estimulando a diferenciação das CCN para neurônios e melanócitos em detrimento de células gliais. Porém, quando analisamos a expressão de Sox10 *in vivo*, não se percebe alteração do tratamento com Sti1 com relação ao controle, provavelmente devido a influência dos tecidos embrionários, ausentes *in vitro*. Além disso, mostramos que Sti1 exerce uma influência no aumento de CCN presente no desenvolvimento dos gânglios de raiz dorsal (GRD) do SNP, *in vivo*. Esses dados sugerem que Sti1 pode estar mediando a escolha do destino celular, pois altera a expressão de Sox10, expressos pelas CCN no início do seu processo de diferenciação e aumenta o número de CCN presente nos GRD. Análises na expressão de outros fatores de transcrição envolvidos no mecanismo molecular de diferenciação das CCN, como Pax3, Pax7 e Sox9, serão realizadas futuramente para entender o efeito de Sti1 sobre a diferenciação das CCN. Compreender esse efeito nos permite avançar no conhecimento sobre os mecanismos que controlam o desenvolvimento do SNP e, possivelmente compreender melhor processos patológicos relacionados a esse sistema.



## GAMIFICAÇÃO NO ENSINO DE CITOLOGIA: UMA PROPOSTA DE ENSINO UTILIZANDO JOGOS DE TABULEIRO

DIEDRICH, RAMON<sup>1\*</sup>; MARRERO, ANDREA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mestrado Profissional de Ensino em Biologia; Centro de Ciências Biológicas – Universidade Federal de Santa Catarina

<sup>2</sup>Laboratório de Polimorfismos Genéticos; Centro de Ciências Biológicas – Universidade Federal de Santa Catarina

\*E-mail: [ramonbio@hotmail.com](mailto:ramonbio@hotmail.com)

A gamificação é a aplicação de elementos de jogos com objetivo de resolver problemas engajando um público específico a um determinado tema que, no caso da educação, o público-alvo é o aluno. Neste contexto, essa metodologia também visa encorajar uma mudança de comportamento dos alunos como a organização lógica na resolução de problemas, empatia através da socialização, motivação e estímulo da criatividade e nesse sentido, alguns trabalhos já demonstram uma melhoria de 40% das habilidades acadêmicas resolvendo parcialmente a falta de interesse no aprendizado e assim, a gamificação na educação oferece uma metodologia alternativa da tradicional reforçando o ambiente de aprendizado. O termo “jogo” não possui um consenso conceitual, mas alguns autores tentaram conceituar como Huizinga que afirma que jogo é uma atividade livre e desprovida de interesse material ao passo que Crawford coloca que jogos são caracterizados por elementos de interação, competição e que possua objetivos e Schell que atribui o jogo com uma forma lúdica de resolução de problemas. Schell dispõe que os jogos possuem quatro elementos que são auto relacionados formando uma tétrede: estética, mecânica, história e tecnologia. A estética está associada aos elementos visuais do jogo, a mecânica corresponderia ao elemento associado ao funcionamento do jogo, a história seria o elemento que fundamenta a motivação do jogo incluindo seus objetivos e, por fim, a tecnologia que são os elementos necessários para a confecção do jogo. Neste sentido, o jogo Cytosis aborda os elementos funcionais de uma célula como secreção, síntese proteínas, produção de ATP e destoxificação celular e, utilizando esse jogo, foi criado um plano de aula. O plano de aula consiste em aplicar o jogo em duas aulas com os alunos e montar uma tabela contendo o nome das organelas celulares e descrever sua função e posição na célula. Durante a partida, o professor pode questionar o por que de uma organela estar próxima da outra e se haveria alguma vantagem nesse posicionamento. Numa terceira e quarta aula, após cada aluno memorizar a função e o posicionamento das estruturas celulares, a sala seria dividida em grupos formando equipes e um quiz seria feito e, de modo competitivo, os questionamentos seriam acerca da função e posição de determinada organela na célula. O questionamento também abordaria as vantagens das proximidades de determinadas organelas. Por fim, em uma quinta aula, o professor aprofundaria o tema através de uma aula expositiva trazendo não apenas as funções celulares já conhecidas, mas também a importância para o metabolismo corpóreo e variação da distribuição entre glândulas.

**Palavras-chave:** Cytosis; lúdico; Schell.



## INDUÇÃO DE SENESCÊNCIA POR ESTRESSE OXIDATIVO EM CÉLULAS ESTROMAIS MESENQUIMAIS DERIVADAS DO TECIDO ADIPOSE HUMANO

PEREZ, DANIEL GRILLO<sup>1,3\*</sup>; BARROS-DELBEN, PRISCILLA.<sup>2,3</sup>; TRENTIN, ANDRÉA GONÇALVES<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Curso de Graduação em Ciências Biológicas; Centro de Ciências Biológicas/Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética – Universidade Federal de Santa Catarina

<sup>2</sup> Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento; Centro de Ciências Biológicas/Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética – Universidade Federal de Santa Catarina

<sup>3</sup> Laboratório de Células-Tronco e Regeneração Tecidual; Centro de Ciências Biológicas/Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética – Universidade Federal de Santa Catarina

\* danielgrilloperez@gmail.com

### RESUMO

A senescência celular caracteriza-se pela saída irreversível do ciclo celular associada a mudanças fenotípicas características. No fenótipo senescente, além da perda do potencial proliferativo, também há hipertrofia e achatamento celular. Também ocorrem modificações no DNA, como, por exemplo, os FHAS (Focos de Heterocromatina Associados à Senescência) que promove o silenciamento gênico de regiões importantes para a progressão do ciclo celular. A senescência celular, principalmente quando ocorre em células-tronco, é considerada um dos principais eventos biológicos que geram o envelhecimento tecidual e corpóreo. Danos celulares gerados por agentes oxidativos podem induzir a senescência celular precoce (SCP) e acelerar o envelhecimento. Por este motivo, é importante caracterizar os efeitos de agentes indutores da SCP, para desenvolver terapias que auxiliem a reduzir os seus efeitos deletérios. Um dos agentes indutores da SCP mais bem conhecidos é o estresse oxidativo, caracterizado por um acúmulo desequilibrado de espécies reativas de oxigênio intracelulares que gera danos ao DNA e proteínas. As células estromais mesenquimais derivadas do tecido adiposo (CEM-TA) possuem vantajoso potencial terapêutico, pois seu secretoma (conjunto de fatores secretados) é rico em moléculas com propriedades antioxidantes. Portanto, o secretoma das CEM-TA apresenta um promissor potencial de reduzir os efeitos deletérios associados à SCP induzida por estresse oxidativo. Todavia, antes de se avaliar o possível efeito citoprotetor desse secretoma, necessita-se caracterizar, previamente, um modelo de indução de senescência celular por estresse oxidativo. Em face desta problemática, o presente estudo visa padronizar uma metodologia de indução de SCP por estresse oxidativo em CEM-TA humanos. Para isso foram utilizadas seis concentrações de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> – um agente indutor de estresse oxidativo – (0 µM, 50 µM, 100 µM, 200 µM, 400 µM e 700 µM) em CEM-TA semeadas em placas de 6 poços, em baixa confluência (cerca de 50%). Após 3 horas de tratamento com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, o sobrenadante foi descartado e adicionou-se DMEM suplementado com 10% de SFB. As células foram então mantidas em cultura na estufa por 9 dias, com trocas de meio a cada 2-3 dias. Após, o número de células em cada grupo foi contabilizado em câmara de Neubauer e as mesmas foram semeadas em uma nova placa de 6 poços (500 células/poço) e mantidas em cultura por 5 dias. Em seguida, as culturas foram fixadas com paraformaldeído 4%, analisadas ao microscópio óptico para a avaliação de suas morfologias e identificação de unidades formadoras de colônias e coradas com DAPI para análise da formação de FHAS nos núcleos celulares. Os resultados preliminares indicam que o tratamento com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> entre as dosagens de 100 µM e 400 µM é promissor para induzir o estado senescente nas CEM-TA, por reduzir o potencial proliferativo, gerar alterações morfológicas características de senescência celular e promover o acúmulo de FHAS. Por se tratarem de resultados preliminares, mais experimentos são necessários para confirmar se este método é realmente eficaz para gerar senescência celular por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

**Palavras-chave:** Biologia Celular, Envelhecimento Celular, Ciclo Celular



## INFLUÊNCIA DO CUIDADO MATERNO NAS DIFERENÇAS COMPORTAMENTAIS DE SHR E SLA16

JULIA FERNANDEZ PUÑAL DE ARAÚJO<sup>1,2\*</sup>; GEISON SOUZA IZÍDIO<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento; Centro de Ciências Fisiológicas/Departamento Biologia Celular, Embriologia e Genética – Universidade Federal de Santa Catarina

<sup>2</sup>Laboratório de Genética do Comportamento; Centro de Ciências Fisiológicas/Departamento Biologia Celular, Embriologia e Genética – Universidade Federal de Santa Catarina

\*julia.punal@gmail.com

### RESUMO

O período de lactação e o vínculo mãe-filhote representam uma área de grande interesse para diversas áreas da pesquisa básica e clínica, podendo-se destacar tópicos como comportamento materno, depressão pós-parto e perinatal, fadiga materna e relação materno-infantil. Uma das estratégias para o estudo do cuidado materno é a utilização de roedores, uma vez que já possuem esses comportamentos bem descritos na literatura. Esse tipo interação entre a mãe e filhotes é de extrema importância para o desenvolvimento e o bom estabelecimento da prole, e se mostra como um fator crítico para o crescimento e o desdobramento de uma série de comportamentos, uma vez que é capaz de modular uma vasta gama de circuitarias neurais. Devido a isso, atualmente o estudo do período inicial do desenvolvimento pós-parto tem sido de grande importância para compreender o aparecimento de uma série de transtornos no adulto, como a ansiedade e a hiperatividade, por exemplo. Dos modelos de roedores, os ratos SHR (espontaneamente hipertensos) são utilizados para trabalhos relacionados à hipertensão arterial, além de estudos de emocionalidade, sendo considerado o “padrão ouro” dentre os modelos de Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH). Além destes, ratos da linhagem SLA16 (SHR.LEW-Anxr16), possuem o mesmo perfil genético de SHR, com exceção de uma parte do cromossomo 4, no entanto apresentam menor pressão arterial basal, memória, comportamento relacionado a ansiedade, além de maior hiperatividade. Dessa forma, o presente estudo tem como objetivo avaliar se essas diferenças comportamentais, apresentadas pelas linhagens, são decorrentes, ao menos em parte, do cuidado materno. Para tanto, ratas das linhagens SHR e SLA16 em idade reprodutiva, serão acasaladas e o comportamento de cuidado da prole será avaliado nos dias iniciais, para caracterização do comportamento da mãe SLA16. Após o desmame, será avaliado o desenvolvimento sexual da ninhada, ganho de peso, além dos comportamentos ligados a emocionalidade. Posteriormente, após a caracterização desses parâmetros “basais” da linhagem, será realizado o acasalamento de um novo grupo de ratas e no primeiro dia pós-parto o *cross-fostering*, para determinar a capacidade de adoção dessas ratas e suas consequências para o desenvolvimento dos comportamentos, anteriormente avaliados nas ninhadas. Mais uma vez serão acompanhados o peso e o desenvolvimento sexual dos filhotes. Por fim, serão investigados os níveis hormonais, como ocitocina e hormônios sexuais, investigação do sistema dopaminérgico dos filhotes, além de genes ligados à produção de ocitocina no hipotálamo materno, devido a importância desse hormônio para o estabelecimento desse tipo de interação.

**Palavras-chave:** desenvolvimento; modelos genéticos; relação mãe-filhote.



## INFLUÊNCIA DO VÍRUS ZIKA SOBRE O DESENVOLVIMENTO DOS OSSOS DA CALOTA CRANIANA E AS RELAÇÕES MOLECULARES COM O DESENVOLVIMENTO DO CÓRTEX CEREBRAL

BENEVENUTTI, FELIPE Z.<sup>1,2\*</sup>; PESCADOR, GABRIEL S.<sup>2</sup>; TENTRIN, ANDREA G.<sup>2</sup>; SANTOS, CLÁUDIA D.<sup>3</sup>; GARCEZ, RICARDO C.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina.

<sup>2</sup>Laboratório de Células Tronco e Regeneração Tecidual - Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética - Centro de Ciências Biológicas - Universidade Federal de Santa Catarina

<sup>3</sup>Instituto Carlos Chagas, FIOCRUZ-PR.

\*felipebeneve@gmail.com

### RESUMO

O vírus da ZIKA (ZIKV), pertencente ao gênero *Flavivirus*, pode ser transmitido por mosquitos da espécie *Aedes aegypti*. Estudos clínicos e epidemiológicos recentes demonstraram uma estreita relação entre a infecção de gestantes com ZIKV e o nascimento de crianças com microcefalia. Os ossos do crânio são formados pelas células da Crista Neural (CN) e da mesoderme paraxial. As células da CN migram a partir das bordas dorsais do tubo neural em fechamento, podendo assumir diferentes vias migratórias. Na região cefálica, elas diferenciam em células da glia, neurônios, melanócitos, adipócitos, células musculares lisas, condrócitos, osteoblastos e osteócitos. Nos casos de microcefalia induzida por ZIKV, duas alterações são marcantes: redução do córtex cerebral e ossificação avançada da calota craniana. Durante o desenvolvimento craniofacial inicial, através da expressão de *Noggin*, as células da CN cefálica bloqueiam o *Bmp* ectodermal, permitindo a expressão de *Fgf8*, o principal fator relacionado à expansão inicial do telencéfalo. Em momento específico, as células da CN deixam de expressar *Noggin*, permitindo com que a sinalização *Bmp* bloqueie a atividade de *Fgf8*, induzindo a diferenciação óssea das células da CN cefálica e mesoderme. Considerando essas informações, a microcefalia causada pelo ZIKV poderia influenciar no balanço de expressão *Noggin* / *Bmp* / *Fgf8*? Nesse trabalho estudamos os mecanismos moleculares associados às malformações craniofaciais induzidas pelo ZIKV. Para isso foi utilizado um modelo de infecção *in ovo* em embriões de frango. A abordagem metodológica utilizada seguiu as seguintes etapas: 1) Infecção *in ovo*: inoculação de solução contendo ZIKV na concentração de 5 e 500 PFU; 2) Confirmação da infecção através de RT-PCR; 3) Análise de expressão de *Fgf8* em embriões inteiros por hibridização *in situ*. 4) Análise da morfologia dos ossos da calota craniana. A infecção se mostrou efetiva, mas variável entre os indivíduos. Ao comparar a morfologia externa dos embriões infectados foi possível identificar alterações morfológicas na cabeça e tronco, as quais estão diretamente associadas à maior carga viral. Em média, o grupo infectado com 5 PFU apresentou variações em 31% das características analisadas, já no grupo infectado com 500 PFU, 50% das características analisadas apresentaram variações. Além disso, foi observado que embriões infectados com ZIKV apresentam aumento na expressão de *Fgf8* nos placóides nasais e telencéfalo, já no ístmo a expressão foi menos intensa. A infecção com ZIKV também induziu uma aceleração da ossificação do osso frontal. A influência do ZIKV na expressão de *Fgf8* pode ser um dos fatores responsável pelas alterações no desenvolvimento craniofacial, mas precisa ser melhor caracterizada, utilizando um número maior de replicatas. Os próximos passos a serem seguidos são: 1) Análise de expressão de *Fgf8*, *Noggin* e *Bmp4* em embriões inteiros; 2) Imunomarcação em embriões inteiros para identificar as regiões do embrião infectadas pelo ZIKV; 3) Identificar alterações nas células da CN através da marcação com anti-HNK1; 4) Identificar possíveis alterações na morfologia dos ossos e cartilagens. Esses dados nos permitirão delinear possíveis explicações sobre a influência nos mecanismos moleculares responsáveis pelo crescimento do córtex cerebral e ossificação da calota craniana.

**Palavras-chave:** Desenvolvimento Craniofacial; Infecção com ZIKV; Mecanismos Moleculares.



## MORPHOLOGY AND MORPHOMETRY OF ZEBRAFISH OOCYTES AFTER ROUNDUP WG® LOW CONCENTRATION EXPOSURE.

GRISARD, HENRIQUE<sup>\*1,2</sup>; DAVICO, CARLA E<sup>2,3</sup>; MELO, MADSON S<sup>2,3</sup>; MULLER, YARA M. R<sup>2</sup>; NAZARI, EVELISE M<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Curso de Graduação em Ciências Biológicas, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina.

<sup>2</sup>Laboratório de Reprodução e Desenvolvimento Animal, Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética, Universidade Federal de Santa Catarina.

<sup>3</sup>Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento; Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética, Universidade Federal de Santa Catarina.

\*hgrisard@gmail.com

### ABSTRACT

Herbicides are widely used in the agriculture practice due to the need to avoid undesired weeds. The increasing use of these substances in Brazil is alarming, being the largest consumer of pesticides in the world since 2008. Herbicides can reach and contaminate aquatic ecosystems, a reduction of the environmental quality and effects on the local communities are observed. Most of the herbicides used contain glyphosate as an active ingredient that inhibits the biosynthesis of aromatic amino acids in plants. Although there are several studies on the effects of glyphosate on non-target organisms, only a few have addressed the reproductive effects in *Danio rerio* (zebrafish). Given that glyphosate acts as an endocrine disruptor compound, we hypothesize that it can also induce micromorphological alterations on *D. rerio* oocytes. For that, females of *D. rerio* (n = 3) were exposed to Roundup WG® low concentration of 0.065 mg/L for 15 days (CEUA-UFSC protocol No. 5466040416/2016). After the exposure, the fish were euthanized, ovaries were fixed in 4% formaldehyde, embedded in Paraplast®, sectioned at 8 µm and stained with Hematoxylin and Eosin. The oocytes were classified into three maturation stages, as follows: (i) early oocytes, characterized by a basophilic and non-granular cytoplasm; (ii) intermediate oocytes, with a basophilic and granular cytoplasm; and (iii) late oocytes, identified by an acidophilic and granular cytoplasm. Also, the oocytes number was determined and their diameter (µm) measured using a micrometric eyepiece (Olympus®). The collected data (oocytes number and diameter of the exposed and non-exposed fish) was comparatively analyzed using the Unpaired Student's *t* Test ( $p < 0.05$ ). No significant difference on the number of oocytes between the non-exposed and the exposed groups was observed. However, a significant decrease on the diameter of early oocytes, from non-exposed females (57.2 µm ± 2.3) to exposed females (44.8 µm ± 1.2;  $p < 0.05$ ) was observed. That also was observed in intermediate oocytes (204.2 µm ± 9.2) for non-exposed and (180.1 µm ± 5.9;  $p < 0.05$ ) for the exposed. No significant difference was observed in late oocytes, comparing the non-exposed females (436.0 µm ± 16.3) and exposed females (395.2 µm ± 11.7). These results corroborated our hypothesis that glyphosate-based formulations can induce micromorphological differences in the female reproductive system of non-target organisms. However, further studies are required to address the cellular mechanisms involved on the oocyte's morphological changes.

**Keywords:** oocytes micromorphology; glyphosate; *Danio rerio*.



## NEUROTHERAPEUTIC EFFECT OF HUMAN FORESKIN MESENCHYMAL STROMAL CELLS CONDITIONED MEDIUM IN THE TREATMENT OF SPINAL CORD INJURY

ASCIUTTI, AUGUSTO CÉSAR SPADACCIA<sup>1</sup>; DO ESPÍRITO-SANTO, CAROLINE CUNHA; DA FIORIN, FERNANDO DA SILVA; SANTOS, ADAIR ROBERTO SOARES; TRENTIN, ANDRÉA GONÇALVES

<sup>1</sup>Graduate Program in Translational Neuroscience (PGNET); Department of Cell Biology, Embryology and Genetics – Federal University of Santa Catarina

<sup>2</sup>Laboratory of Neurobiology of Pain and Inflammation (LANDI); Department of Physiological Sciences, Embryology and Genetics – Federal University of Santa Catarina

<sup>3</sup>Laboratory of Stem Cells and Tissue Regeneration (LACERT); Department of Cell Biology, Embryology and Genetics – Federal University of Santa Catarina  
aasciutti@gmail.com

### ABSTRACT

**Introduction:** Spinal cord injury (SCI) leads to paralysis of limbs and organ function, resulting in severe disabilities, with limited functional recovery. In the last two decades, many works showed the neurotherapeutic properties of mesenchymal stromal cells (MSC). However, few explore the potential of the secretome, which is thought to be the main responsible for the beneficial effects of these cells. In fact, mesenchymal cells or probably their secretome are able to promote locomotor and sensorial improvements in animal models of SCI, due to the modulation of immune response and other deleterious reactions induced by the injury. MSC obtained from the human foreskin (hfMSC) have remarkable proliferative capacity in culture and can be a cell source for therapy. The most significant feature of these cells in the donor's age, since the foreskin can be obtained from children between 5 and 13 year old. **Methods:** In the present work, MSC was isolated from a sample of human foreskin and expanded in culture. Cells was cultivated until confluence in DMEM with 10% fetal bovine serum, and the medium was changed to DMEM without serum, for conditioned medium (CM) collection. After 48h hours, the medium was collected, centrifuged to remove debris, and concentrated by ultrafiltration. Ten weeks old Wistar rats were divided in sham group (only thoracic laminectomy), SCI-control and SCI-CM (thoracic laminectomy following clip-compression SCI, treated with DMEM and CM, respectively). Both DMEM or CM was infused via an external infusion pump in the site of injury, 15 minutes after insult (acute phase). The CM was prepared in three concentrations (1x, 10x and 100x). All animals were evaluated by Basso, Beattie and Bresnahan (BBB) motor test. **Results:** In the first experimental set (n=3), the animals treated with 1x and 10x CM showed significant locomotor improvement in comparison to Sham, SCI-control and 100x groups, being the 1x groups score superior to 10, which indicates substantial recovery of weight-bearing stepping. In the second experimental set (n=5), there was no significant difference between the treated groups and the controls, but there was a tendency to improvement similar to the first trial. The 1x and 10x groups showed the higher scores, next to 9. In both sets, the SCI-control scored between 5-7 points, indicating inability to support their own body weights on hindlimbs. **Discussion:** The first round of tests pointed to a neurotherapeutic effect of the CM, being able to partially restore locomotor and weight support capability, but despite the tendency observed, this was not confirmed in the second round. Since the neurotherapeutic effect of MSC CM from different sources had been demonstrated in other works, it was hypothesized that the lost in the effect was due to the degradation of the CM during the course of this experiment. CM are made mostly by proteins, having a short lifespan even in appropriate storage conditions. CM was prepared 5 months before the second round of experiments, and was stored at -20°C. The neurotherapeutic potential of hfMSC CM remains to be confirmed in further experiments.

**Keywords:** Secretome; neuroregeneration, mesenchymal stem cells



## OBJECT RECOGNITION AND CONTEXTUAL FEAR MEMORY IMPAIRMENTS EXHIBITED BY YOUNG ADULT LOW-DENSITY LIPOPROTEIN RECEPTOR (LDLR) KNOCKOUT MICE ARE NOT ASSOCIATED WITH HIPPOCAMPAL ATROPHY

PINHO, CIBELE<sup>1</sup>, OLESCOWICZ, GISLAINE<sup>1</sup>, DE BEM, ANDREZA<sup>2</sup>, PREDIGER, RUI DANIEL<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Farmacologia, Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC, Florianópolis, Brazil.

<sup>2</sup>Instituto de Ciências Biológicas - Universidade de Brasília- UnB, Brasília, Brazil.

\*cibelemartinsp@gmail.com

### ABSTRACT

Familial hypercholesterolemia is caused by mutations in the low-density lipoprotein receptor (LDLr) gene, causing loss of function of the LDLr and increased plasma cholesterol levels [1]. Previous studies using LDLr knockout (LDLr<sup>-/-</sup>) mice have demonstrated learning and memory impairments accompanied by neurochemical and neuromorphological changes in the hippocampus [2,3]. In this study we further investigated alterations in the performance of LDLr<sup>-/-</sup> mice in hippocampal-dependent memory tasks and putative changes in hippocampal volume. Male C57BL/6 and LDLr<sup>-/-</sup> young adult mice (3-4 months) were used. The experiments were performed after approval of the protocol by the Ethics Committee of the Institution (PP00948). To ensure the model validity, the serum cholesterol concentration was evaluated. The locomotor activity was addressed in the open field. To evaluate memory parameters, the short-term recognition and long-term contextual fear memories were addressed in the object recognition and fear conditioning tasks, respectively (N=8-10). The hippocampal volume was determined after hematoxylin eosin staining by the Cavalieri's principle. A three-fold increase in serum cholesterol concentration was observed in LDLr<sup>-/-</sup> animals (80 mg/dL to 234 mg/dL). An increase in locomotor activity in LDLr<sup>-/-</sup> females when compared to WT females [One-way ANOVA, F(1, 40)=7.4668, p=0.00931] or males [One-way ANOVA, F(1, 40)=21.131, p=0.00004] in the open field apparatus. In the object recognition task, it was observed a memory deficit of short-term recognition memory [T-Test, t= 1.050, p= 0.328, in relation to 50%] in LDLr<sup>-/-</sup> mice. Likewise, in the fear conditioning tasks LDLr<sup>-/-</sup> mice presented long-term contextual fear memory impairments [One-way ANOVA, F (1, 20) =11.316, p=0.00309]. Although, the cognitive impairment no significant differences were showed in the hippocampal volume between genotypes [T-Test, t= 1.288, p= 0.287, between groups]. These findings reinforce the notion of the development of learning and memory impairments in hippocampal-dependent tasks. More importantly, this study provides the pioneering evidence that, at least in young adult mice, these cognitive impairments are not associated to hippocampal atrophy.

**Keywords:** Hypercholesterolemia, LDL receptor, memory, hippocampus.

**Acknowledgments:** UFSC, CAPES e CNPq



## POLIMORFISMOS REGULATÓRIOS DA 5'URR DO GENE *HLA-G* ASSOCIADOS COM CÂNCER DE MAMA

STAFFEN, MARI DALVA<sup>1,2\*</sup>; STAFFEN, CLISTEN FÁTIMA<sup>1,2</sup>; HAUSMANN, LEILI DAIANE<sup>1,2</sup>; DE ALMEIDA, BIBIANA SGORLA<sup>3,4</sup>; VIEIRA, DANIELLA SERAFIN COUTO<sup>5</sup>; MUNIZ, YARA COSTA NETTO<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento; Centro de Ciências Biológicas/Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética – Universidade Federal de Santa Catarina.

<sup>2</sup>Laboratório de Polimorfismos Genéticos (LAPOGE); Centro de Ciências Biológicas/Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética – Universidade Federal de Santa Catarina.

<sup>3</sup>Universidade de São Paulo - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP, Brasil.

<sup>4</sup>Laboratório Multiusuários de Estudos em Biologia (LAMEB) Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas.

<sup>5</sup>Hospital Universitário Professor Polydoro Ernani de São Thiago (HU-UFSC), Universidade Federal de Santa Catarina.

\*E-mail: maristaffen@yahoo.com.br

### RESUMO

Câncer é o resultado do acúmulo de alterações genéticas, hereditárias ou adquiridas através da exposição a fatores de risco ambientais ou fisiológicos, que levam ao acúmulo progressivo de mutações celulares. A capacidade distintiva que possibilita o crescimento tumoral e a disseminação metastática são os mecanismos de escape de supressores de crescimento e manutenção de sinais proliferativos. Bem como, a ativação de mecanismos de invasão e metástase, indução da angiogênese, imortalidade replicativa e resistência à morte celular. O câncer de mama é o câncer mais comum entre as mulheres, com aproximadamente 1,7 milhões de casos diagnosticados anualmente em todo o mundo. Os fatores genéticos, estilo de vida e moléculas com propriedades imunoregulatórias estão implicados na etiologia da doença. O antígeno leucocitário humano (*HLA-G*) possui função imunomoduladora negativa e sua expressão tem sido associada ao câncer de mama. Vários sítios polimórficos foram descritos na região promotora 5' (5'URR) do gene *HLA-G*, que podem afetar a afinidade dos fatores de transcrição e, portanto, influenciar diretamente a expressão da proteína. Assim, o objetivo deste estudo foi analisar a associação de variações de nucleotídeo único (SNVs) da 5'URR do *HLA-G* com susceptibilidade ao desenvolvimento do câncer de mama. Um total de 103 pacientes com câncer de mama e 103 controles foram genotipados para 21 SNVs 5'URR *HLA-G*. Dos vinte e um polimorfismos analisados neste estudo, doze (nomeados -762C/T CC; -725G/C/T G e CC; -716T/G TT; -689A/G G, GG e GA; -646A/G G, GG e GA; -486A/C A, AA e CA; -483A/G A; -443G/A A e AA; -400G/A A e AA; -399G/A A e AA; -391G/A A e AA; -297G/A A e AA, alelos e genótipos respectivamente) apresentaram associação em um ou mais modelos de análises de associação de risco de desenvolvimento de câncer de mama. Os resultados do presente estudo apontam que há SNVs na região promotora, que participam na ligação dos fatores de transcrição aos elementos regulatórios, estão associados ao risco de desenvolvimento do câncer de mama. Entretanto, novas análises, como a análise de haplótipos, podem auxiliar no entendimento mais profundo sobre a ação dos SNVs na ligação dos fatores de transcrição sobre essa região. Assim como, estudos futuros relacionando os polimorfismos e hapótipos das regiões reguladoras do gene *HLA-G*, 5'URR e 3'UTR, poderão gerar informações que levem a uma melhor compreensão da ação destas regiões na afinidade por elementos regulatórios, como os fatores de transcrição e microRNAs respectivamente, entendendo a influência conjunta dessas regiões reguladoras e a quantidade do produto final da molécula *HLA-G*.

**Palavras-chave:** Fatores transcricionais; Molécula imunomoduladora; Variações de nucleotídeo único.



## PRODUÇÃO E AVALIAÇÃO DA PROTEÍNA NcSAG1 COMO POSSÍVEL ALVO PARA O DIAGNÓSTICO DA NEOSPOROSE

FREITAS, MARINA CARDOSO<sup>1\*</sup>; SINNOTT, FRANCINE ALVES<sup>2</sup>; BORSUK, SIBELE<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Reprodução e Desenvolvimento Animal - Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento - Universidade Federal de Santa Catarina

<sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Parasitologia - Universidade Federal de Pelotas

<sup>3</sup>Centro de Desenvolvimento Tecnológico (CDTec) – Universidade Federal de Pelotas

\*[marinacardosofreitas@gmail.com](mailto:marinacardosofreitas@gmail.com)

### RESUMO

*Neospora caninum*, agente causador da neosporose, é um protozoário intracelular obrigatório, pertencente ao filo Apicomplexa. A parasitose é reconhecida mundialmente por causar um grande número de abortos e mortalidade neonatal em bovinos, gerando perdas econômicas globais, tanto para criações de gado de leite, quanto para criações de gado de corte. O parasito possui como hospedeiros definitivos os canídeos, e vários animais podem atuar como hospedeiros intermediários, principalmente, bovinos e ovinos. Na busca por alvos promissores para o desenvolvimento de um teste diagnóstico específico, as proteínas de superfície demonstram ser de grande importância, pois são os primeiros antígenos a serem apresentados aos anticorpos. A NcSAG1 é um antígeno de superfície celular que possui epítomos exclusivamente associados aos taquizoítos do parasito, possuindo alta imunogenicidade, características que a torna interessante como alvo para testes de diagnóstico, bem como sua utilização em formulações vacinais. O presente estudo buscou produzir e avaliar a proteína recombinante NcSAG1 como potencial alvo para o diagnóstico da neosporose bovina e ovina, através de um ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA). Para isso, o gene sintético *sag1* foi inserido no plasmídeo de expressão pAE, e esse foi transformado por choque térmico na cepa *Escherichia coli* BL21-CodonPlus (DE3)-RP. Para caracterização da proteína rNcSAG1, primeiramente foi avaliado se esta continha a cauda de poli-histidina, utilizando-se anticorpo anti-6x-histidina, e posteriormente avaliou-se a antigenicidade da proteína recombinante, a qual foi submetida a um *pool* de 10 soros bovinos, previamente caracterizados por Imunofluorescência Indireta (IFI), positivos e negativos para neosporose, ambos os testes foram feitos através de *Western blotting*. Para o ELISA indireto, as placas de poliestireno com 96 poços foram sensibilizadas com a proteína rNcSAG1 na concentração de 100 ng por cavidade, foram utilizados *pool* (n=10) de soros bovinos e ovinos, positivos e negativos para neosporose, como controles foram utilizados soro normal de terneiro (SNT) e soro de suíno positivo para *Toxoplasma gondii*, todos os soros foram caracterizados previamente por IFI. Como resultados, quanto a identificação da proteína, evidenciou-se que esta continha cauda de poli-histidina, demonstrando reação positiva para rNcSAG1 com tamanho aproximado de 30 kDa. Na avaliação da antigenicidade, foi observada uma banda reativa apenas na coluna que foi testada com o *pool* de soros positivos para neosporose, indicando que a proteína apresenta epítomos similares aos da proteína nativa. No ELISA indireto observou-se, que o soro suíno positivo para *T. gondii* não foi capaz de reconhecer a proteína rNcSAG1, indicando que esta pode ser um bom alvo para o diagnóstico, a fim de se minimizar reações cruzadas com outro parasito similar, e quando analisados os *pools* de soros bovinos e ovinos, observou-se uma diferença estatística significativa entre os positivos e negativos ( $p > 0.005$ ). Esses dados conferem uma base para estudos posteriores, que busquem desenvolver testes diagnósticos mais sensíveis e específicos, buscando uma maior aplicabilidade, dentro do cenário rural, facilitando a vida de muitos produtores, com isso sugere-se que a proteína rNcSAG1 pode ser utilizada como alvo para o diagnóstico da neosporose.

**Palavras-chave:** *Neospora caninum*; imunodiagnóstico; proteína de superfície.



## PROTOCOL FOR MORPHOLOGICAL ANALYSIS OF *Danio rerio* EMBRYOS AND LARVAE

DURANTE, LAÍSE DA SILVA<sup>1,2\*</sup>; NAZARI, EVELISE<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento; Centro de Ciências Biológicas – Universidade Federal de Santa Catarina

<sup>2</sup> Laboratório de Reprodução e Desenvolvimento Animal; Centro de Ciências Biológicas/Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética – Universidade Federal de Santa Catarina

\*laise.durante@posgrad.ufsc.br

### ABSTRACT

Histological techniques are important tools for cell and tissue analyses in morphological studies. Therefore, it is necessary to develop appropriated routine protocols for different biological tissues, including steps such as fixation, embedded in different media, staining and immunohistochemistry. Thus, the aim of this work was to develop protocols for fixation, paraffin-embedding, staining and immunostaining for embryos and larvae of the zebrafish, *Danio rerio*. Embryos were obtained from the breeding colony of the Laboratório de Reprodução e Desenvolvimento Animal, through adult reproduction (5 - 7 months), kept in 10 L aquaria with dechlorinated tap water, constant aeration, 26°C (± 2) temperature, 14 h light/10 h dark photoperiod and fed three times daily with commercial flake fish diet (Alcon colors®) supplemented with brine shrimp (*Artemia* sp.). After breeding, fertilized eggs were collected, carefully rinsed with dechlorinated tap water and kept in a 48-well plate (one embryo per well) with 500 µL of dechlorinated tap water (renewed daily) at 28°C (± 1). Embryos at 48 hours post-fertilization (hpf) and larvae at 96 hpf were used for the experiments. The best fixative solution was alcoholic Bouin, and the fixation time for embryos was 3 hours and for larvae was 5 hours. After fixation, the samples were kept in 70% alcohol until the inclusion embedding, which started with serial dehydration of 70% to 100% ethanol for 5 minutes each; the diaphanization was performed with two xylol baths for 10 minutes each; the paraffin impregnation was performed in 3 25-minute baths at 56-58°C. The samples were sectioned at 5 µm thickness in a rotary microtome. For staining, slides were deparaffinized in two xylol baths (5 minutes each), hydrated in 100% - 70% ethanol (5 minutes each), stained in hematoxylin for 3 minutes and eosin for 45 seconds, followed by serial dehydration at 70% - 100% ethanol (2 minutes each) and two xylol baths (2 minutes each); slides were mounted with Entellan® mounting medium. The embedding protocol was valid for the preservation of cells and tissues and, from the staining protocol, it was possible to recognize the yolk mass and the basic and acid cell compartments in embryonic and larval tissues.

**Keywords:** routine protocol; embryonic and larval tissues; zebrafish



## REPINTANDO A REALIDADE: DOIS POLIMORFISMOS NO GENE *MTHFR* (C677T E A1298C) E SUA ASSOCIAÇÃO À PREDISPOSIÇÃO À ARTRITE REUMATOIDE NA POPULAÇÃO DE SANTA CATARINA - BRASIL

RABELO, RENAN MANTOVANI<sup>1,2\*</sup>; CURBANI, FERNANDO<sup>1,2</sup>; PEREIRA, IVÂNIO ALVES<sup>3</sup>; MARRERO, ANDREA RITA<sup>2</sup>; MUNIZ, YARA COSTA NETTO<sup>2</sup>; SOUZA, ILÍADA RAINHA DE<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Curso de Graduação em Ciências Biológicas; Centro de Ciências Biológicas – Universidade Federal de Santa Catarina

<sup>2</sup>Laboratório de Polimorfismos Genéticos; Centro de Ciências Biológicas/Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética – Universidade Federal de Santa Catarina

<sup>3</sup>Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago, Centro de Ciências da Saúde – Universidade Federal de Santa Catarina

\*renanmantovanirabelo@gmail.com

### RESUMO

A artrite reumatoide (AR) é uma doença autoimune sistêmica e inflamatória crônica de etiologia multifatorial que visa principalmente as articulações. Ademais, é uma enfermidade com consequências biopsicossociais que apresenta dificuldade diagnóstica e alto índice de morbidade. Por conseguinte, o presente estudo tem como objetivo investigar a associação de dois polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) do gene *MTHFR* (C677T e A1298C) à predisposição à AR, por meio de um estudo de caso-controle (ECC) na população de Santa Catarina (SC), Brasil. O grupo caso constitui-se por 161 pacientes com AR atendidos no Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago da Universidade Federal de Santa Catarina (HU-UFSC), enquanto o grupo controle conta com 161 voluntários hígidos sem relação conhecida com a doença. Mediante o uso de questionários foram levantadas informações epidemiológicas, características terapêuticas e parâmetros clínicos dos integrantes dos grupos caso e controle, que também forneceram sob consentimento amostras de sangue periférico. A partir dessas amostras foi possível extrair e genotipar os DNA para os SNP C677T e A1298C por reação em cadeia da polimerase para o marcador polimórfico no comprimento de fragmentos de restrição (PCR-RFLP). A estimativa das frequências alélicas nas populações amostrais permitiu verificar que elas encontram-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW), considerando um intervalo de confiança (IC) de 95% e valor de  $p < 0,05$ . As frequências para o alelo C677T\*T foram de 0,287 e 0,345 para os grupos caso e controle e do alelo A1298C\*C foram de 0,346 e 0,431, respectivamente. Em seguida, foi confirmado que os SNP estudados estão em desequilíbrio de ligação, logo, são herdados em bloco ( $p = 0,017$ ). A análise de associação estatística para o polimorfismo C677T demonstrou que a presença do alelo selvagem \*C (OR = 2,374; IC 95% = 1,027–5,592;  $p = 0,042$ ) provavelmente é um fator de risco para o desenvolvimento da AR. Pelo modelo de herança recessivo comum foi possível corroborar a conferência de proteção pelo alelo \*T, porém apenas quando em duplicidade, caracterizando o genótipo \*TT (OR = 0,421; IC 95% = 0,179–0,974;  $p = 0,042$ ). Com relação ao polimorfismo A1298C, a análise de associação de alelos e genótipos demonstrou que não há relação significativa entre esse SNP e a propensão à AR. Para além, o haplótipo 'T/C' (OR = 0,358; IC 95% = 0,125–0,996;  $p = 0,049$ ) e a combinação haplotípica 'TA/TC' (OR = 0,050; IC 95% = 0,000–0,716;  $p = 0,016$ ) foram identificados como passíveis de assinalar proteção para AR naqueles que o possuem. Assim sendo, este estudo foi capaz de prover informações pioneiras referentes à associação dos SNP C677T e A1298C do gene *MTHFR* à predisposição à AR na população de SC. Além disso, forneceu subsídios para uma melhor compreensão da etiologia da AR. Num futuro próximo se espera que tais informações sejam aplicadas de modo a compor marcadores genéticos de suscetibilidade que facilitem o processo de diagnóstico da doença.

**Palavras-chave:** Doenças autoimunes; rs1801131; rs1801133.



## SEQUÊNCIA DIDÁTICA BASEADA EM METODOLOGIAS ATIVAS: PROPOSTA PARA O ENSINO DE BIOLOGIA CELULAR

ANTUNES, CAMILA MUNIZ MELO<sup>1</sup>; NAZARI, EVELISE MARIA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação Mestrado Profissional em Ensino de Biologia; Departamento de Ciências Biológicas – Universidade Federal de Santa Catarina

<sup>2</sup>Presidente do Laboratório Multiusuário de Estudos em Biologia - LAMEB

Laboratório de Reprodução e Desenvolvimento Animal - LRDA

Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética - Centro de Ciências Biológicas - Universidade Federal de Santa Catarina

\*mila2223@hotmail.com

### RESUMO

O ensino tradicional, está centrado na transmissão dos conteúdos, sem propiciar a interação entre professores e estudantes e entre os próprios estudantes. Muitas vezes é orientado pela memorização de conceitos e pela reprodução de regras e processos, podendo causar o desinteresse do estudante e contribuir para o fracasso escolar. Este trabalho buscou num primeiro momento, realizar uma análise de documentos da Escola de Educação Básica Professor José Arantes no município de Camboriú-SC no período de 2008 a 2017, visando verificar o número de reprovações na disciplina de Biologia e o número de reprovações em geral, nos três anos do Ensino Médio, a fim de analisar se as reprovações na disciplina de Biologia foram mais frequentes no 1º ano do Ensino Médio e se as mesmas interferiram no número de reprovações em geral. Após essa constatação, levando em conta a necessidade de inovação nas formas de abordagens no processo de ensino-aprendizagem de Biologia e visando a superação de desafios como, o ensino mecânico e tradicional, o desinteresse dos estudantes pelas aulas, a abstração de conceitos, o presente trabalho teve por objetivo a elaboração e aplicação de uma sequência didática referente ao conteúdo de Biologia Celular em duas turmas de 1º ano do Ensino Médio, sendo uma no período matutino e outra no vespertino. A sequência didática teve como referências, a aprendizagem significativa e as metodologias ativas de ensino. Possibilitar que o estudante seja um indivíduo ativo e responsável pelo próprio conhecimento é fundamental para a formação crítica e cidadã dos estudantes para a atuação na sociedade. Partindo desta premissa, a sequência didática aplicada teve como enfoque abordar e contextualizar os conceitos das estruturas celulares, a fim de que os estudantes compreendessem os processos e não apenas decorassem nomes científicos e o par organela-função, podendo assim despertar maior interesse e participação nas aulas. Conforme esperado, obteve-se uma maior participação dos estudantes na sequência didática pautada em metodologias ativas. Os resultados desta pesquisa podem contribuir como base para outros professores e possibilitar a elaboração de outras propostas de educação e de metodologias que oportunizem a alfabetização científica e a melhoria no processo ensino-aprendizagem de Biologia.

**PALAVRAS-CHAVE:** aprendizagem significativa; célula; desafios de aprendizagem.



## THE GENE EXPRESSION PROFILE OF DRBS IN *Arabidopsis thaliana* DURING NECROTROPHIC FUNGAL INFECTION

SILVA, KAROLLINE RAIMUNDO DA<sup>1,2</sup>; CABRAL, SARAH KIRCHHOFER DE OLIVEIRA<sup>2</sup>; FREITAS, MATEUS BRUSCO DE<sup>3</sup>; STADNIK, MARCIEL JOÃO<sup>3</sup>; MARGIS, ROGÉRIO<sup>4</sup>; KULCHESKI, FRANCELI RODRIGUES<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento; Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética – Universidade Federal de Santa Catarina

<sup>2</sup>Laboratório de Biologia Molecular Vegetal; Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética – Universidade Federal de Santa Catarina

<sup>3</sup>Laboratório de Fitopatologia; Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Santa Catarina

<sup>4</sup>Laboratório de Genomas e População de Plantas; Departamento de Biofísica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

\*karollraimundo@gmail.com

### ABSTRACT

Plants are often challenged by biotic stresses caused by potentially pathogenic organisms. In the course of evolution, plants have developed several defense mechanisms against a variety of pathogens. One example of plant response to pathogen attack include Double-stranded RNA binding (DRB) proteins, which are involved in the biogenesis of small RNAs (sRNAs). The *Arabidopsis thaliana* DRB proteins consists of five members, denominated from DRB1 to DRB5. Of these, two proteins have already been related in the signaling pathway during viral and bacterial infection. DRB3 participates in methylation-mediated defense against DNA viruses, while DRB4 alters its subcellular location to interact with viral RNA, controlling infection. Besides that, DRB4 is also required by resistance mechanisms during bacterial disease. However, the DRBs were not explored during fungal diseases. Fungi play a dominant role among phytopathogens causing devastating epidemics for plant species and are classified by their lifestyle as necrotrophic, biotrophic and hemibiotrophic. Among the necrotrophic fungi, *Alternaria brassicicola* is a model specie used to study signaling pattern during plant pathogen interaction. This fungus utilizes several pathogenicity factors and kills host tissue as it colonizes and develops in dead cell content, causing black spot disease in a wide range of Brassicaceae species, including *A. thaliana*. To further understand the possible involvement of DRBs in plant defense during fungal infection, we employed the model pathosystem *A. thaliana* x *A. brassicicola*. We analyzed DRBs gene expression of *A. thaliana* ecotype Col-0 after the inoculation with the *A. brassicicola* strain CBS 125088. Plants were cultivated in growth chambers at 23°C with 16h of light. The *A. brassicicola* were grown on V8 meal culture media for conidial suspension preparation. The concentration of  $1 \times 10^5$  conidia mL<sup>-1</sup> was sprayed on the infected group plants, while the control group was sprayed with water. Leaves of adult plants from three biological replicates were collected from infected and control groups after 6, 12, 24 and 48 hours of the inoculation. Total RNA was extracted and the reverse transcription was carried out subsequently. The quantitative PCR was performed and for the relative expression analysis we employed the Actin and the Ubiquitin as reference genes. We observed that, *DRB1*, *DRB3* and *DRB5* were differentially expressed between infected and control plants in some evaluation points. *DRB1* was induced at the beginning of the infection, but did not vary between groups at subsequent points. *DRB5* was strongly repressed 12 hours after inoculation. Interestingly, *DRB3* was induced by fungal infection during all analyzed points. The highest gene expression induction occurred 12 hours after inoculation. Our results suggest that *DRB3* is a good candidate to be explored in the next steps of the research, since it has already been demonstrated to be involved in plant defense. Further analyzes will be performed with DRB4. In addition, analyzes of DRBs proteins will also be performed in other plant tissues.

**Key words:** *Alternaria brassicicola*; dsRNA binding proteins; Fungal infection.



## ULTRAESTRUTURA DO FÍGADO DE FÊMEAS DE PEIXE-ZEBRA, *Danio rerio*, APÓS EXPOSIÇÃO AO ROUNDUP WG®.

Davico, Carla E.<sup>1,3\*</sup>; Reis, Thalia B.<sup>2,3</sup>; Nazari, Evelise M.<sup>1,2,3</sup>; Muller, Yara M. R.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento; Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética, Universidade Federal de Santa Catarina.

<sup>2</sup>Curso de Graduação em Ciências Biológicas, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina.

<sup>3</sup>Laboratório de Reprodução e Desenvolvimento Animal, Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética, Universidade Federal de Santa Catarina.

\*biodacael@gmail.com

### RESUMO

Os pesticidas como ingredientes ativos são combinados com outras substâncias para disponibilizar ao mercado diferentes fórmulas comerciais. Dentre estes, os herbicidas a base de glifosato são vendidos mundialmente sob uma variedade de nomes comerciais, sendo a marca Roundup a mais conhecida e a mais utilizada no mundo, incluído o Brasil. Os herbicidas a base de glifosato são eficazes para matar uma variedade de ervas daninhas terrestres e aquáticas e também são populares para uso doméstico, como em gramados e jardins. Devido a sua alta solubilidade em água, quando aplicado nas plantações por pulverização, grande parte dele chega ao solo, onde ocorre rápida e alta taxa de adsorção pelos sedimentos e partículas do solo. Desta forma, o herbicida pode infiltrar e alcançar os corpos da água, atingindo assim diferentes organismos aquáticos não-alvos, como os peixes. Como o glifosato não é aplicado no campo como um ingrediente ativo puro, a toxicidade da fórmula comercial deve ser testada em organismos não-alvos. O uso de peixes como bioindicadores de efeitos de contaminantes, está sendo cada vez mais utilizado, uma vez que pode ajudar a detectar possíveis impactos ambientais. Particularmente, o peixe-zebra, *Danio rerio*, é bastante valorizado nas pesquisas de doenças hepáticas, devido a que os principais processos fisiológicos são semelhantes aos observados nos seres humanos, como na função e composição celular, sinalização e resposta à lesão e metabolismo de drogas, sugerindo assim o peixe-zebra como um bom modelo para estudar a toxicidade do Roundup. Além disso, o fígado desempenha um importante papel na biotransformação de contaminantes, na excreção de alguns xenobiontes bem como na estocagem de carboidratos. Para isso, fêmeas adultas (n=4/grupo) de *D. rerio* foram divididos em três grupos experimentais: controle, 65µg/L e 6,5µg/L expostos ao Roundup por 7 dias, sendo 65µg/L a concentração máxima permitida pelo CONAMA. Os fígados foram fixados em glutaraldeído a 2,5% e paraformaldeído a 2,5%, diluídos em cacodilato de sódio 0,1 M. As amostras foram pós-fixadas com tetróxido de ósmio a 1%, desidratadas em acetona e embebidas em resina Spurr. Secções ultrafinas foram coradas com acetato de urânio seguido de citrato de chumbo e examinadas ao Microscópio eletrônico de transmissão (JEM-1011). Cada alteração foi categorizada segundo o componente subcelular: núcleo, citoplasma, mitocôndria e retículo, e o grau de severidade foi estabelecido por escores: ausente, baixa frequência, moderada frequência, frequente e alta frequência. As principais alterações observadas foram nos perfis mitocondriais, evidenciadas pela perda de cristas mitocondriais e rompimento da membrana externa da mitocôndria nos fígados fêmeas expostas. Além disso, foram evidenciadas as cisternas dilatadas do retículo endoplasmático rugoso, bem como dilatação do espaço perinuclear. Também os hepatócitos das fêmeas expostas apresentaram formações de membranas concêntricas, vacuolização, bem como desorganização do citoplasma. Nossos resultados demonstraram claramente que a formulação de Roundup WG® induziu uma citotoxicidade na ultraestrutura do fígado das fêmeas expostas. Esta toxicidade nem sempre é reconhecida em estudos toxicológicos, devido a que é difícil que ocorra a morte dos organismos pelo fato de que esse composto está presente em baixas concentrações no meio ambiente.

**Palavras-chave:** glifosato; mitocôndria; zebrafish.



## VARIAÇÕES DA REGIÃO PROMOTORA DO *HLA-G* EM PACIENTES COM LESÕES DE COLO DO ÚTERO

STAFFEN, CLISTEN FÁTIMA<sup>1,2\*</sup>; STAFFEN, MARI DALVA<sup>1,2</sup>; JUSTINO, EMILY BRUNA<sup>1,2</sup>; DE ALMEIDA, BIBIANA SGORLA<sup>3,4</sup>; SIMÕES, RENATA TOSCANO<sup>5</sup>; MUNIZ, YARA COSTA NETTO<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento; Centro de Ciências Biológicas/Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética – Universidade Federal de Santa Catarina.

<sup>2</sup>Laboratório de Polimorfismos Genéticos (LAPOGE); Centro de Ciências Biológicas/Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética – Universidade Federal de Santa Catarina.

<sup>3</sup>Universidade de São Paulo - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP, Brasil.

<sup>4</sup>Laboratório Multiusuários de Estudos em Biologia (LAMEB) Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas.

<sup>5</sup>Instituto de Ensino e Pesquisa – IEP, Núcleo de Pós-Graduação e Pesquisa da Santa Casa de Belo Horizonte, Brasil.

\*E-mail: clistenfs@yahoo.com.br

### RESUMO

Considerado um problema emergencial mundial, o câncer apresenta alto custo, tanto financeiro como humano e está entre as principais causas de óbito. O Câncer do Colo do Útero (CCU), também chamado de Câncer Cervical é o quarto tipo de câncer mais comum na população feminina mundial, e segunda causa de incidência e mortalidade por câncer nos países com baixo índice de desenvolvimento humano (IDH), sendo estimada a morte de uma mulher em cada cinco por câncer, devido principalmente ao diagnóstico em fases tardias da doença. O CCU é uma proliferação desordenada do epitélio de revestimento do órgão, que pode levar ao comprometimento do tecido subjacente (estroma), atingindo outras estruturas e órgãos. O principal fator de risco é a infecção persistente com certos tipos oncogênicos de papilomavírus humano (HPV), que podem induzir neoplasias intraepiteliais cervicais (NIC) graus 1, 2 e 3. Não tratadas, essas lesões podem progredir para o câncer de colo do útero. O desenvolvimento de tumores depende de diferentes estratégias de escape do reconhecimento por células imunes. O gene *HLA-G* expressa moléculas de mesmo nome, com papel de regulação da imunotolerância, envolvidas na inibição de respostas imunes. Sua expressão, em condições patológicas, pode permitir o desenvolvimento da infecção do HPV no trato cervical feminino e desenvolvimento de células tumorais. É proposto que variações de nucleotídeo único (SNVs) presente na região promotora 5' (5'URR) do gene podem influenciar os níveis de *HLA-G*, modificando a afinidade com fatores de transcrição. O objetivo deste estudo foi verificar a influência de vinte e um SNVs, localizados na 5'URR do *HLA-G* sobre a suscetibilidade à lesões de colo do útero. As amostras do estudo foram compostas por 83 pacientes e 83 mulheres saudáveis. A genotipagem foi realizada por sequenciamento e 14 SNVs (-725G/C/T G e CC; -689A/G G, GG e GA; -646A/G G, GG e GA; -539A/G A e AA; -509C/G G, GG e CG; -486A/C CA; -483A/G A e AA; -477C/G G e GG; -443G/A A e AA; -400G/A A e AA; -399G/A A e AA; -391G/A A e AA; -369C/A A e AA; -284G/A A e AA) foram associados ao risco de desenvolvimento de câncer. Considerando que a expressão de *HLA-G* está relacionada ao escape da imunovigilância em diversos tumores e infecções virais, e que polimorfismos influenciam a expressão do gene, torna-se interessante a compreensão do papel dos polimorfismos das regiões regulatórias junto à identificação dos fatores de transcrição e elementos pós-transcricionais, que possam atuar na regulação da expressão da molécula, desenvolvimento de NIC e CCU, podendo estar associados aos diferentes polimorfismos descritos. Desta forma, a partir de um determinado polimorfismo nas regiões regulatórias do gene, pode-se



# I Karyokinesis Symposium

sharing and multiplying knowledge on cell, molecular and developmental biology



fazer uma predição sobre a permanência da infecção viral, assim como, análises mais profundas, principalmente dos subgrupos de casos, poderão trazer resultados interessantes.

**Palavras-chave:** Câncer; Fatores de risco; Sistema imune.