

Um dos principais mecanismos geradores de resistência à insulina é a alteração do transporte de glicose por via da expressão gênica alterada do Glut4 (proteína transportadora de glicose sensível à ação da insulina) em tecidos musculares e adiposos. Em alguns casos, a alteração na expressão de Glut4 pode ser compensada com aumentos na expressão de Glut1 (isoforma transportadora de glicose no estado basal). Vários autores têm encontrado diferenças significativas nos conteúdos de mRNA e de proteína Glut4 em estados de resistência à insulina, sugerindo um mecanismo de regulação pós-transcricional do gene que é estado e tecido-específico. Agudamente, pode-se induzir um quadro de resistência insulínica por meio da imposição de jejum alimentar. Já foi demonstrado em ratos que o jejum de 48 horas está associado a uma rápida e progressiva redução na atividade de transporte de glicose insulino-estimulada em células adiposas, em decorrência de alterações tanto no número de transportadores de glicose como em sua atividade intrínseca. Assim, a primeira questão do projeto concentra-se em avaliar o controle pós-transcricional da expressão de Glut1 e de Glut4 em tecido muscular esquelético de ratos jejuados por 48 horas, constituindo a análise periférica da expressão de Gluts. Sabe-se que o cérebro requer constante transporte de glicose da circulação periférica para as células neuronais. Ele tem uma participação fundamental no monitoramento da glicemia por meio de neurônios glicosensíveis cerebrais, próximos a áreas do terceiro ventrículo e hipotálamo. Nesses neurônios, os transportadores de glicose (Gluts) devem ser importantes para permissão da passagem de glicose para áreas cerebrais envolvidas no controle de ingestão alimentar e, portanto, informando sobre estados glicêmicos e ajudando no manejo da homeostasia glicídica. O segundo objetivo do projeto consiste em avaliar a expressão de Glut1 e de Glut4 em áreas hipotalâmicas envolvidas no controle de ingestão alimentar: núcleo arqueado, área hipotalâmica lateral, área pré-fornicial adjacente ao fórnix, hipotálamo ventromedial de animais jejuados, para melhor compreensão da participação central dessas proteínas transportadoras de glicose na resistência à insulina. Assim, as técnicas utilizadas para os dois propósitos envolverão: 1) quantificação dos conteúdos de mRNA (RT-PCR) e de proteína (*Western blotting*) do Glut1 e do Glut4 em músculo esquelético solear; 2) avaliação da eficiência de tradução (ensaio *in vitro*) dos Gluts; 3) avaliação da estabilidade das moléculas de mRNA dos Gluts (ensaio com RNase H); 4) quantificação do conteúdo de PABP (*Western blotting*); 5) localização da proteína PABP no citoesqueleto da célula (análise por imunistoquímica); 6) avaliação da organização estrutural do citoesqueleto da célula (análise imunistoquímica da actina-F); 7) semi-quantificação do conteúdo de mRNA de Glut1 e de Glut4 (RT-PCR) em áreas encefálicas.

826

### **Caracterização da lesão muscular (apoptose ou necrose) no músculo de ratos frente ao exercício físico intenso e à resposta de defesa e reparo**

Rozangela Verlengia

Faculdade de Ciências da Saúde

Universidade Metodista de Piracicaba (Unimep)

Processo 2004/06643-1

Vigência: 1/11/2004 a 31/12/2008

A apoptose é normalmente observada em células imaturas. Já a necrose tem sido associada ao trauma e à injúria celular. O exercício físico extenuante e/ou agudo promove danos às células. A apoptose tem sido observada após o exercício físico com a presença de DNA fragmento e alterações nos genes e proteínas pró e antiapoptóticas. Por outro lado, o processo de necrose também tem sido descrito estar presente no músculo após o exercício extenuante. Em resposta ao dano muscular, alguns mecanismos são desencadeados, entre eles o aumento na concentração das enzimas antioxidantes, nas enzimas de choque térmico e nas citocinas. Contudo, não é claro se o processo de apoptose ou necrose, quando presentes, ocorrem isoladamente ou se são processos que se alternam em resposta à lesão muscular e se esses processos são restritos aos mecanismos de reparo ou se fazem parte da patogênese do dano muscular. Assim, o presente estudo tem como objetivo investigar a presença de apoptose ou necrose após a lesão do músculo esquelético de rato e humanos sob os aspectos ultraestrutural (microscopia eletrônica) e molecular (proteínas e genes) após exercício extenuante, bem como a presença da resposta de defesa reparo desencadeada (enzimas antioxidantes e enzimas de choque térmico) e uma avaliação do perfil das citocinas correlacionando os seus níveis com a resposta à lesão – estimulando ou inibindo.

827

### **Efeito do treinamento físico na cardiomiopatia induzida por hiperatividade simpática em camundongos *knockout* para os receptores alfa 2a e alfa 2a e alfa 2c adrenérgicos**

Patrícia Chakur Brum

Escola de Educação Física e Esporte

Universidade de São Paulo (USP)

Processo 2002/04588-8

Vigência: 1/2/2003 a 31/5/2007

O coração é muito sensível aos efeitos tóxicos das catecolaminas e o aumento crônico na atividade simpática parece estar envolvido na insuficiência cardíaca em humanos. Recentemente, em pós-doutorado realizado na Universidade de Stanford, CA, EUA, descrevemos que a

deleção dos genes dos receptores alfa2A e alfa2C-adrenérgicos em camundongos *knockout* (a2A/a2Carko) provoca uma cardiomiopatia induzida por hiperatividade do sistema nervoso simpático. Nesse novo modelo genético, a cardiomiopatia é severa, apresentando alterações hemodinâmicas e da ultraestrutura cardíaca. O presente projeto de pesquisa constitui-se de duas partes. Na primeira será estudado o efeito do treinamento físico aeróbio (efeito preventivo e terapêutico), assim como o tratamento farmacológico por meio do bloqueio dos receptores beta-1-adrenérgicos e angiotensinérgicos (AT1) sobre o sistema cardiovascular de camundongos a2A/a2Carko (animal intacto). A segunda parte do projeto unirá os conhecimentos de fisiologia integrada obtidos nesse modelo a mecanismos celulares e moleculares envolvidos nessa manifestação patológica iniciando uma nova linha de pesquisa na EEFÉ-USP. Para isso, será estudado o perfil molecular de expressão de proteínas cardíacas integrantes da via intracelular pós-estimulação dos receptores b1-adrenérgicos, e envolvidas na regulação de cálcio intracelular no coração de camundongos a2A/a2Carko e cardiomiócitos tratados com isoproterenol.

### 828 Expressão gênica dos receptores de glutamato no sistema nervoso central ao longo do desenvolvimento e no envelhecimento

Raquel Simoni Pires  
Universidade Cidade de São Paulo (Unicid)  
Processo 2002/00597-2  
Vigência: 1/1/2003 a 31/3/2007

A comunicação celular é realizada por meio de uma variedade de receptores que interagem com neurotransmissores específicos, transmitindo informações para as células-alvo. O glutamato e os receptores de glutamato (GluRs) mediam a maior parte da neurotransmissão excitatória no sistema nervoso central (SNC). A neurotransmissão glutamatérgica é responsável por uma gama de funções que envolvem a formação de circuitos neuronais durante o desenvolvimento, aprendizado, memória e outros processos neurais. Por outro lado, a excessiva ativação dos GluRs durante a isquemia cerebral, trauma craniano e crises epiléticas podem conduzir para a morte celular neuronal. Além disso, a neurotoxicidade glutamatérgica parece desencadear a instalação de doenças degenerativas. Atualmente, o grande desafio da pesquisa nesse campo se constitui no entendimento dos possíveis mecanismos moleculares envolvidos nas alterações neurodegenerativas do SNC. Considerando esses aspectos, é de grande relevância caracterizar a expressão dos GluRs do tipo AMPA nos sistemas visual e motor de aves e ratos ao longo do desenvolvimento pré e pós-natal, empregando os méto-

dos de imunistoquímica, hibridação *in situ* e *RNase protection*. Espera-se que este projeto possa contribuir para o conhecimento da circuitária glutamatérgica e a regulação da expressão gênica de subunidades que compõem os complexos receptores de glutamato no sistema nervoso durante o desenvolvimento embrionário, pós-natal e no envelhecimento.

### 829 Comunicação celular no sistema nervoso: expressão e regulação dos receptores nicotínicos

Andrea da Silva Torrão  
Instituto de Ciências Biomédicas  
Universidade de São Paulo (USP)  
Processo 2001/12263-9  
Vigência: 1/3/2003 a 30/6/2008

Este projeto visa estudar alguns aspectos ligados à organização funcional do sistema colinérgico no encéfalo de vertebrados, em especial a regulação da expressão das diferentes subunidades dos receptores nicotínicos neuronais da acetilcolina. Lesões e administração crônica de agonistas e antagonistas nicotínicos serão usadas para o estudo das alterações na expressão dos diversos tipos de receptores nicotínicos no sistema nervoso do animal adulto e ao longo do desenvolvimento. Esses procedimentos serão combinados a métodos imunistoquímicos, de hibridação *in situ*, de *immunoblotting* e possivelmente culturas primárias de neurônios, para a detecção de subunidades que compõem os receptores nicotínicos no encéfalo de vertebrados. Espera-se com este projeto que a geração de modelos *in vivo* possa ser útil para o conhecimento da regulação da expressão dos receptores nicotínicos neuronais da acetilcolina. Esses experimentos potencialmente contribuirão também para uma melhor compreensão de mecanismos de sinalização química no sistema nervoso.

### 830 Energética de morcegos: bases estruturais e significado funcional da taxa metabólica basal

Arioaldo Pereira da Cruz Neto  
Instituto de Biociências de Rio Claro  
Universidade Estadual Paulista (Unesp)  
Processo 2000/09968-8  
Vigência: 1/1/2001 a 31/12/2004

A taxa metabólica basal (TMB) é frequentemente utilizada como um parâmetro unificador em estudos sobre energética de endotérmicos. A TMB tem sido correlacionada ou utilizada para prever um grande número de processos biológicos, nos mais variados níveis de organi-