

volvimento de novas estratégias terapêuticas e também contribui para a eventual descoberta de ferramentas biológicas para o estudo dos processos fisiológicos com os quais as toxinas interferem. Recentemente, realizou-se clonagem e sequenciamento de cDNAs que codificam toxinas de venenos viperídeos. Dentre elas, as metaloproteinases constituem uma importante família de toxinas, responsáveis pela hemorragia local e sistêmica induzida pelos venenos viperídeos. Paralelamente, as hemorraginas apresentam um grande potencial de interferência na resposta inflamatória, seja por liberação exógena de citocinas ou por inibição da ligação das proteínas de adesão presentes na superfície celular com componentes do endotélio. Este projeto visa principalmente à expressão do cDNA que codifica a metaloproteinase do veneno de *Bothrops jararaca*, sob diferentes condições experimentais, e a caracterização dos alvos fisiológicos desses fatores na resposta inflamatória. Acredita-se que essa abordagem auxiliará na compreensão da ação local dos venenos botrópicos, bem como poderá proporcionar importantes ferramentas, úteis para o estudo de adesão celular por via de integritas.

857

Estudo de diversos aspectos imunológicos envolvidos na vacinação antirrábica no Brasil

Carlos Roberto Zanetti

Instituto Pasteur

Secretaria de Estado da Saúde

Processo 1995/08943-1

Vigência: 1/9/1996 a 28/2/1998

O projeto consiste basicamente em: 1) padronizar uma prova de avaliação de imunidade celular que possa ser utilizada rotineiramente na avaliação da imunidade de pessoas vacinadas; 2) estabelecer um padrão de resposta imune (TH1 ou TH2) protetora, em camundongos vacinados, contra amostras virais selvagens brasileira; 3) avaliar o grau de proteção conferido nas campanhas de vacinação em massa de cães.

MEDICINA

858

Aspectos fisiopatogênicos e terapêuticos da fibrogênese e carcinogênese hepática experimental na doença hepática gordurosa não alcoólica: avaliação do efeito de doadores de óxido nítrico *in vitro*

Cláudia Pinto Marques Souza de Oliveira

Faculdade de Medicina

Universidade de São Paulo (USP)

Processo 2008/56157-7

Vigência: 2001/3/2009 a 29/2/2012

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) é uma importante forma de doença hepática, relacionada ao aumento da obesidade e pode evoluir de esteatose para esteato-hepatite (ENA), fibrose, cirrose e carcinoma hepatocelular (CHC). Embora se conheçam os fatores predisponentes, sua patogênese, terapêutica, assim como sua evolução para formas mais agressivas (cirrose e CHC) permanecem desconhecidas. A hipótese dos múltiplos *hits*, que inclui a resistência insulínica seguida da ativação de vias do estresse oxidativo, ativação de citocinas e estresse do retículo endoplasmático, tem sido proposta para explicar sua patogênese. Trabalhos recentes de nosso grupo demonstraram que a DHGNA pode ser bloqueada e revertida em modelos animais, pela administração oral de S-nitrosotiois (RSNOs), uma classe de doadores de óxido nítrico, abrindo perspectivas para terapêutica futura. Os objetivos deste projeto são: 1) avaliar a eficácia dos RSNOs quanto ao seu efeito antifibrogênico em modelo animal e em cultura de fibroblasto; 2) avaliar a eficácia dos RSNOs quanto ao seu efeito antitumoral em modelo animal e em cultura de células de hepatocarcinoma. Para tal, na primeira etapa serão utilizadas células da linhagem GRX que apresentam características de miofibroblastos e ratos Sprague-Dawley com ENA e fibrose, induzida por meio de dieta associada à administração de solução aquosa de dietilnitrosamina por oito semanas, tratados ou não com os RSNOs. Genes relacionados à fibrogênese na DHGNA serão estudados. Paralelamente, o efeito dos RSNOs será analisado na carcinogênese em células de hepatocarcinoma (Huh7) e em ratos Sprague-Dawley com ENA, cirrose e CHC, induzidos pelo mesmo modelo por um período mais prolongado (12 semanas). Serão estudados tanto no modelo *in vivo* quanto *in vitro* genes relacionados ao desenvolvimento da carcinogênese na DHGNA.

859

Papel dos sistemas cinina e renina-angiotensina na lesão por isquemia e reperfusão de fígados de ratos

Márcia Regina Nagaoka

Universidade Federal de São Paulo (Unifesp)

Campus Baixada Santista

Processo 2008/55928-0

Vigência: 1/3/2009 a 28/2/2013

As ações biológicas e os efeitos farmacológicos da bradicinina (BK) são mediados por dois receptores constitutivos (B2R) e induzido (B1R). No fígado, BK tem papel no controle da microcirculação hepática, já que induz resposta hipertensiva portal (RHP), mediada por B2R, mas não por B1R, tanto em ratos normais quanto naqueles submetidos a diferentes agentes de agressão.

Há aumento da expressão de B1R com a progressão para a cirrose, sugerindo papel das cininas na fibrogênese. Transplante hepático é terapia bem aceita para hepatopatias em estágio avançado. A incidência de disfunção primária está relacionada à lesão por isquemia-reperusão (IRI), cujo mecanismo ainda é pouco entendido. A IRI em fígados de rato é caracterizada por dois processos de morte celular: necrose das células endoteliais sinusoidais e apoptose dos hepatócitos. Durante isquemia, há perda do equilíbrio entre mediadores vasoativos causando forte alteração na microcirculação hepática. Na reperfusão, há ativação das células de Kupffer e subsequente síntese de citocinas inflamatórias. O papel dos sistemas cinina e renina-angiotensina neste processo ainda não foram estudados e o objetivo deste projeto é: 1) estudar a RHP a BK, bem como caracterizar a expressão ou não de B1R. Estudaremos também o papel do sistema cinina na IRI em camundongos *knockout* de B1R e B2R das cininas; 2) em relação à angiotensina, verificaremos o papel deste sistema utilizando os inibidores da ECA (captopril) e do receptor AT1 (losartan) no líquido de preservação. Será avaliada a liberação de enzimas (LDH, AST, ALT), depuração do BSP e produção de glicose pelo fígado preservado e reperfundido. A expressão do B1R será avaliada por *Western blotting*. A morte celular será avaliada por análise histológica, fragmentação do DNA, Elisa dosagem enzimática da caspase-3 e Tunel. Espera-se com este projeto entender melhor o processo de IRI e com isso melhorar a qualidade do fígado a ser transplantado e consequente sobrevivência do indivíduo receptor.

860 Avaliação bioquímica e genética da angiotensina (1-7) e da enzima conversora de angiotensina 2 e sua eventual associação ao câncer de mama

Silvana Aparecida Alves Correa
Universidade Federal de São Paulo (Unifesp)
Campus São Paulo - Vila Clementino
Processo 2008/54383-0
Vigência: 1/11/2010 a 31/10/2013

Angiotensina (1-7) [Ang-(1-7)], recentemente considerada um hormônio biologicamente ativo do sistema renina-angiotensina (SRA), possui funções opostas às aquelas atribuídas ao principal componente efetor do SRA, a angiotensina II (Ang II). A Ang (1-7) pode ser formada a partir da Ang II ou diretamente da Ang I [(Ang (1-9))]. Outras vias enzimáticas para geração de Ang (1-7) têm sido descritas, e envolvem um novo homólogo da enzima conversora de angiotensina (ECA), a ECA 2. Essa enzima pode formar Ang (1-7) a partir da Ang II ou menos eficientemente a partir da hidrólise de Ang I que subsequentemente forma Ang (1-7). Este hormônio é um peptídeo endógeno

com propriedades vasodilatadoras e antiproliferativas. Ang (1-7) causa uma significativa redução na proliferação estimulada por soro em algumas linhagens celulares de câncer de pulmão. Estes resultados podem representar um novo tratamento quimioterápico e quimiopreventivo para esse tipo de câncer. Assim, é de interesse estudar esses novos componentes quanto a um possível envolvimento com o câncer de mama, avaliando-se: 1) a ação do hormônio Ang (1-7) em linhagens celulares de câncer de mama, de pulmão e em células ovarianas de *hamster* chinês (CHO) como controles em ensaios de ligação e transdução de sinal; 2) a proliferação celular direta por contagem celular e, indiretamente, por meio de incorporação de BrdU, além de estudos de viabilidade celular, apoptose e análise das fases do ciclo celular após estímulo com os peptídeos; 3) a concentração e a atividade enzimática de ECA-2 e ECA em pacientes com e sem câncer de mama; 4) polimorfismos no gene do receptor de Ang (1-7) (Mas), no da ECA-2 e em outros componentes do SRA em pacientes com câncer de mama em estudos caso-controle; e 5) níveis de expressão dos genes do receptor Mas e da ECA-2 em tecido mamário com câncer.

861 Validação de genes relacionados à anidrobiose por meio da interferência por RNA (RNAi)

Tiago Campos Pereira
Faculdade de Ciências Médicas
Universidade Estadual de Campinas (Unicamp)
Processo 2008/54236-7
Vigência: 1/5/2009 a 30/4/2013

A água é considerada a matriz da vida, o meio onde ocorrem todas as reações bioquímicas. Nesse sentido, algumas espécies desenvolveram estratégias para superar situações de estresse hídrico. Um exemplo clássico constitui-se de pequenos animais que vivem em poças de água temporárias. A evaporação das mesmas leva à dessecação destes espécimes, que entram em um estado de animação suspensa conhecido como anidrobiose (do grego, vida sem água), restaurando suas atividades após reidratação. O conhecimento das vias moleculares da anidrobiose permitiria a engenharia anidrobiótica: um campo recente que se destina a tornar células/estruturas biológicas tolerantes ao estresse hídrico. A viabilidade preservada na ausência de água traria um imenso avanço na medicina, transplante de órgãos, manutenção de banco de células e tecidos, transporte de vacinas e muitas outras aplicações na área médica. Recentemente o primeiro painel de cDNAs do verme anidrobiótico *Panagrolaimus superbus* foi construído. Este projeto visa identificar, mediante uma avaliação em larga escala por via de RNAi, o envolvimento de cem cDNAs dessa biblioteca. A nucleação dentro da Unicamp de um grupo voltado para pesquisas na área