

João Pereira Leite

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto

Universidade de São Paulo (USP)

Processo 1995/09248-5

Vigência: 1/10/1996 a 31/12/1999

A epilepsia do lobo temporal (ELT) é a forma mais frequente de crises de difícil controle e cirurgicamente tratáveis. O perfil característico geralmente consiste em algum tipo de injúria inicial no cérebro durante a infância, seguido de um período latente, antes do início das crises parciais complexas. A esclerose hipocampal é a doença mais frequentemente encontrada em espécimes removidos cirurgicamente de pacientes com ELT. Essa lesão compreende um padrão de perda neuronal que é relativamente específico e que não é reproduzido em outras enfermidades. Vários estudos têm indicado que as áreas de esclerose hipocampal estão associadas à formação anômala de colaterais axônicas das fibras musgosas (FMs) excitatórias e a neossinaptogênese do sistema gabaérgico inibitório, particularmente na região da *fascia dentata* (FD). Esses dados levam à hipótese de que esses circuitos axonais reorganizados são os substratos anômicos responsáveis pela iniciação de crises hipocampais e poderiam explicar por que uma área relativamente pobre em neurônios pode ser capaz de gerar crises. Vários modelos animais reproduzem, de uma forma ou de outra, diversos aspectos da ELT e têm contribuído para o entendimento dos mecanismos envolvidos na epileptogênese. Dentre eles, modelos de *status epilepticus* induzidos por drogas ou pela estimulação mantida da formação hipocampal são particularmente interessantes, pois também apresentam um quadro de injúria inicial, seguido por um período silencioso e pelo aparecimento de crises límbicas espontâneas. O aparecimento das crises está geralmente associado à ocorrência de alterações na reorganização sináptica, semelhante àquelas observadas no tecido humano. Para que a FD se torne funcionalmente hiperexcitável, espera-se que haja alterações na quantidade e tipo de receptores excitatórios (glutamato) e inibitórios (gaba) na área de rearranjo axonal. O objetivo deste estudo consiste em avaliar, no hipocampo de pacientes epiléticos submetidos à lobectomia temporal, as alterações neuropatológicas relativas à densidade neuronal, ao rearranjo de axônios excitatórios e inibitórios e à alteração na distribuição dos receptores, e correlacioná-las com os achados clínicos, eletrencefalográficos e de neuroimagem obtidos dessa população de pacientes. Para a análise desse tecido, serão utilizadas a coloração pelo método de Timm e imunistoquímica para vários substratos antigênicos de proteínas expressas em terminais axônicos, bem como de receptores de membrana. Serão utilizadas as mesmas técnicas histológicas para estudar as alterações no hipocampo de modelos animais e também correlacionar os achados neuropatológicos com os dados eletrencefalográficos e comportamentais.

907

Alterações moleculares das glicoproteínas plaquetárias nas trombotopias hereditárias

Valder Roberval Arruda

Faculdade de Ciências Médicas

Universidade Estadual de Campinas (Unicamp)

Processo 1995/09112-6

Vigência: 1/9/1996 a 31/8/2000

O projeto objetiva a caracterização molecular nas doenças hemorrágicas hereditárias resultantes de alterações nas glicoproteínas plaquetárias utilizando as técnicas de biologia molecular PCR, SSCP, sequenciamento do DNA. Esses dados serão a base para os estudos de expressão gênica a partir do isolamento do material genético mutante e transferência para culturas de células e análise da expressão proteica. A utilização dos métodos de biologia molecular permitirá determinar a frequência dos aloantígenos plaquetários em distintas populações brasileiras com o intuito do reconhecimento da púrpura trombocitopênica autoimune neonatal (PTAN), possibilitando o aconselhamento genético e diagnóstico pré-natal.

MICROBIOLOGIA

908

Modulação do sistema imune por antígenos de parede celular e exoantígenos de *Histoplasma capsulatum* e *Pseudallescheria boydii*

Márcia Ribeiro Pinto da Silva

Instituto de Ciências Biomédicas

Universidade de São Paulo (USP)

Processo 2008/56707-7

Vigência: 1/5/2009 a 30/4/2012

Histoplasma capsulatum var. *capsulatum* é um fungo termodimórfico que se apresenta na forma filamentosa à temperatura ambiente (25 °C) e na forma de levedura a 37 °C. *H. capsulatum* prevalece nas Américas, principalmente no sudoeste dos EUA e em regiões específicas da América Latina. A histoplasmose pode se apresentar como um quadro clínico leve até formas graves e disseminadas. Apesar do uso de antifúngicos de amplo espectro, a taxa de mortalidade da histoplasmose ainda é alta. A incidência de micoses sistêmicas vem aumentando progressivamente e está associada ao aparecimento de isolados resistentes aos atuais antifúngicos, assim como de micoses oportunistas que afetam principalmente os indivíduos imunossuprimidos. Em decorrência desse fato, o fungo de importância clínica *Pseudallescheria boydii* atualmente se encontra incluído na classificação de fungos emergentes. A parede celular fúngica apresenta na sua porção mais externa moléculas

las glicosiladas que estão envolvidas em importantes funções biológicas relacionadas com a patogenicidade e virulência, além de ser uma fonte significativa de antígenos. Devido às dificuldades no tratamento e resistência das infecções fúngicas, houve, nas últimas décadas, uma intensa busca dos mecanismos de patogênese utilizados por fungos. O projeto direciona-se à análise bioquímica e funcional de antígenos fúngicos envolvidos na patogenicidade. Técnicas modernas cromatográficas, análises de metilação, ressonância nuclear magnética de próton e carbono-13, espectrometria de massa farão parte da caracterização dos antígenos de *H. capsulatum* e *P. boydii*, assim como o envolvimento dessas moléculas na ativação do sistema imune.

909

Expressão dos genes BmeABC de bombas de efluxo de *Bacteroides fragilis* em *Escherichia coli*, caracterização do perfil de substrato das bombas BmeABC e sua relação com a resistência aos antimicrobianos

Viviane Nakano

Instituto de Ciências Biomédicas
Universidade de São Paulo (USP)
Processo 2008/57330-4
Vigência: 1/4/ 2009 a 31/3/2013

Efluxo é o bombeamento de soluto para fora da célula. Genes e proteínas de bombas de efluxo estão presentes em bactérias sensíveis e resistentes a antimicrobianos. Em bactérias gram-negativas, o sistema de efluxo consiste na bomba localizada na membrana interna de uma proteína periplasmática adaptadora e de um canal na membrana externa eficiente para expelir substâncias tóxicas, entre elas antimicrobianos. Bombas de efluxo têm sido muito estudadas em diversos microrganismos, como *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Neisseria sp.*; no entanto, em anaeróbios existem poucos estudos. *Bacteroides fragilis* é um dos mais importantes anaeróbios pertencentes à microbiota intestinal de humanos e animais; está associado a inúmeras enfermidades extraintestinais e, além disso, possui resistência a diversas classes de antimicrobianos. Bombas de efluxo têm sido descritas em *B. fragilis* e é sabido que possuem um sistema de efluxo da família RND (*resistance nodulation division*) composto de 16 bombas denominadas de bmeABC1-16. Neste estudo, serão realizadas a clonagem dos genes bmeABC1, bmeABC3, bmeABC12 e bmeABC15 das bombas de efluxo de *B. fragilis* em hospedeiro suscetível (*E. coli*) e as análises da expressão e da utilização dos substratos por esses sistemas. Os dados obtidos neste estudo servirão para uma melhor compreensão do funcionamento do sistema de bomba de efluxo e sua relação com a resistência aos antimicrobianos.

910

Reconhecimento de patógenos bacterianos por receptores intracelulares e sua importância no controle da infecção microbiana

Dário Simões Zamboni

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
Universidade de São Paulo (USP)
Processo 2006/52867-4
Vigência: 1/8/2006 a 31/7/2010

Bactérias gram-negativas como *Legionella pneumophila* e *Coxiella burnetii* são capazes de se multiplicar no interior de células hospedeiras, pois utilizam tipos especializados de transporte de proteínas (tipo IV) para injetar proteínas bacterianas diretamente no citoplasma celular. Em contrapartida, células hospedeiras desenvolveram estratégias para detectar a presença desses patógenos e controlar sua multiplicação. Fundamental para esse reconhecimento são receptores citoplasmáticos tipo NLR (do inglês Nod-Like Receptors). Dentre os NLRs destaca-se Birc1e, que detecta moléculas de *Legionella* no citoplasma celular e induz ativação de caspase-1, o que resulta em resistência de macrófagos à infecção bacteriana (Zamboni *et al.*, 2006, veja manuscrito anexo). A presente proposta de pesquisa objetiva utilizar uma abordagem integrativa por meio de técnicas modernas de microbiologia celular e molecular para melhor compreender os mecanismos de função de Birc1e e de outros membros dessa emergente família de receptores. Tal abordagem consiste em investigar a interação entre bactéria e célula hospedeira, interferindo tanto em genes celulares quanto em genes bacterianos. Os objetivos específicos incluem: 1) identificação de moléculas microbianas responsáveis pela ativação dos NLR; e 2) determinação da importância e consequências da ativação desses receptores no processo de interação patógeno-célula hospedeira.

911

Construção de clone infeccioso da dengue tipo 3: ferramenta para estudo da patogenia viral

Victor Hugo Aquino Quintana

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
Universidade de São Paulo (USP)
Processo 2005/52364-0
Vigência: 1/8/2005 a 31/7/2010

A infecção do homem com os vírus da dengue (Denv), que pertencem ao gênero *Flavivirus* da família Flaviviridae, pode ser assintomática ou causar doença que pode variar desde uma síndrome semelhante à gripe (febre da dengue [DF]) até a forma mais grave e algumas vezes fatal, caracterizada por derrame capilar, trombocitopenia, e algumas vezes choque hipovolêmico (febre he-