

de defesa. Um dos seus produtos gênicos, a proteína Nef, tem função crucial nesses processos, reduzindo a expressão de CD4 e MHC-I em células infectadas. O correceptor CD4 é utilizado pelo vírus para invasão celular e acredita-se que sua eliminação da superfície de células hospedeiras previna superinfecção e facilite a liberação de novas partículas virais. A redução dos níveis de MHC-I também beneficia o vírus, por interferir no reconhecimento e destruição de células infectadas por células T citotóxicas. Em ambos os casos, Nef modifica o transporte normal dessas proteínas levando ao redirecionamento destas ao ambiente proteolítico dos lisossomos por mecanismos ainda pouco entendidos. O objetivo geral deste projeto é o de elucidar mecanismos e identificar fatores celulares utilizados por Nef para alterar o tráfego intracelular de proteínas e induzir a degradação de CD4 e MHC-1. Os estudos empregarão ensaios complementares para caracterizar as rotas de transporte utilizadas por essas proteínas rumo aos lisossomos, bem como para investigar a participação de fatores endógenos reguladores do transporte aos lisossomos nesse processo. Especificamente, serão estudados o papel da ubiquitinação de CD4 e MHC-I e o envolvimento dos complexos AP-3, AP-4 e ESCRTs. Serão investigados os efeitos de Nef na biologia de endossomos, uma estratégia de *screening* para identificar proteínas celulares potencialmente envolvidas na ação de Nef. O melhor entendimento de como Nef manipula componentes regulatórios do tráfego intracelular poderia levar a estratégias para interferir na atividade dessa proteína viral.

924

Avaliação da função e da histopatologia pulmonar em modelo experimental de redução da função colinérgica em camundongos geneticamente modificados

Carla Máximo Prado

Universidade Federal de São Paulo (Unifesp)

Campus Diadema

Processo 2008/55359-5

Vigência: 1/5/2009 a 30/4/2013

A doença pulmonar obstrutiva crônica e a asma brônquica são doenças de alta prevalência, alta morbidade e mortalidade e que geram custos significativos ao Sistema Único de Saúde. De forma geral, a fisiopatologia dessas doenças é caracterizada por obstrução ao fluxo aéreo, reversível ou não, e processo inflamatório pulmonar. A persistência da inflamação pode induzir processo de reparo pulmonar associado à redução progressiva da função pulmonar observada nesses pacientes. Embora existam drogas efetivas na redução da inflamação, muitas vezes estas não são eficazes na reversão do remodelamento pulmonar. A recente descrição do sistema colinérgico anti-inflamatório e a detecção de alguns de seus componentes, tais como a acetilcolina, o transportador de alta

afinidade (ChT1), o transportador vesicular de acetilcolina (VACHT) e receptores de acetilcolina, em células de vias aéreas, sugerem uma importante participação desse sistema na fisiopatologia das doenças pulmonares. No entanto, poucos estudos avaliaram os efeitos desse sistema na inflamação e no remodelamento pulmonar. Objetivos: avaliar se a diminuição da atividade colinérgica pode interferir na modulação das alterações morfofuncionais decorrentes do estímulo inflamatório crônico. Este projeto será subdividido em quatro, que apresentam seus objetivos específicos: projeto 1. Avaliar os efeitos da hipofunção colinérgica por redução da proteína transportadora vesicular de acetilcolina na mecânica e na histopatologia pulmonar; projeto 2. Avaliar os efeitos da hipofunção colinérgica por redução da proteína transportadora vesicular de acetilcolina nas alterações pulmonares observadas em modelo experimental de inflamação pulmonar induzidas pela exposição crônica a alérgenos; projeto 3. Avaliar se os efeitos da hipofunção colinérgica por redução da expressão do transportador vesicular de acetilcolina interferem nas alterações pulmonares observadas em modelo experimental de inflamação pulmonar induzida pela elastase em camundongos; projeto 4. Avaliar se a hipofunção colinérgica por redução da atividade dos transportadores vesiculares de acetilcolina interfere nas alterações pulmonares induzidas por instilação crônica de Rofa. Metodologia: para tanto, serão utilizados camundongos geneticamente modificados para uma menor expressão da proteína denominada transportador vesicular de acetilcolina (VACHT), o que se associa à diminuição na liberação de acetilcolina. Serão utilizados animais heterozigotos, homozigotos e sem modificação genética. Nestes, serão avaliadas a mecânica pulmonar, inflamação (H&E, eosinófilos, macrófagos e neutrófilos) e remodelamento pulmonar (coloração de picro-sírius, coloração de resorcina-fucsina oxidada, coloração de PAS+AB) por técnica morfométrica. Possíveis mecanismos envolvidos serão avaliados por imunistoquímica para detecção de nNOS, iNOS, isoprostano e interleucinas. Depois, esses três grupos de animais serão submetidos a protocolos já estabelecidos, a saber: 1) modelo experimental de asma: sensibilização com ovoalbumina por dois meses para indução de inflamação pulmonar alérgica; 2) modelo experimental de enfisema: instilação de elastase intranasal; 3) modelo experimental de inflamação induzida por poluentes atmosféricos: instilação de Rofa durante 15 dias consecutivos intranasal. Serão avaliados os mesmos parâmetros descritos acima nesses grupos experimentais.

925

Impacto da resposta inflamatória sistêmica induzida pela lesão renal aguda no tecido cardíaco

Marcela Sorelli Carneiro Ramos