

Processo 2005/55419-0
Vigência: 1/11/2005 a 31/10/2009

Com o crescimento do número de casos de micoses sistêmicas, estudos sobre a interação entre fungos e o hospedeiro são fundamentais para o esclarecimento da disseminação desses patógenos nos indivíduos infectados. Atualmente, alguns trabalhos mostram que fungos são patógenos intracelulares facultativos. No entanto, os mecanismos envolvidos na adesão e invasão desses microrganismos em células hospedeiras ainda não foram elucidados. Assim como para bactérias, microdomínios da membrana plasmática de células de mamíferos, denominados de *lipid rafts*, podem estar envolvidos nesses processos de adesão/invasão por fungos. Com isso, neste projeto serão analisadas: 1) adesão e/ou invasão de formas de levedura de *Paracoccidioides brasiliensis*, *Histoplasma capsulatum* e *Sporothrix schenckii* em diferentes células epiteliais de mamíferos (por exemplo, Vero, A549, HeLa); 2) a importância dos *lipid rafts* na adesão/invasão; e 3) a modulação das vias de sinalização nas células hospedeiras infectadas por diferentes fungos (serão estudadas: mobilização de actina no citoesqueleto, ativação de Rho GTPases, indução de apoptose, ativação de caspases e expressão gênica de proteínas pró e antiapoptóticas da família Bcl-2).

124 Determinação do papel da proteína quinase C na diferenciação e proliferação

Deborah Schechtman
Instituto de Química
Universidade de São Paulo (USP)
Processo 2005/54188-4
Vigência: 1/11/2005 a 31/10/2010

Perda de cardiomiócitos decorrente de lesões, na maior parte das vezes, é irreparável. Uma alternativa para o reparo do tecido cardíaco é a reposição celular por meio do uso de células-tronco embrionárias (CTE). CTE proliferam indefinidamente e se diferenciam em vários tipos celulares, porém não são claras as vias específicas de sinalização que levam à proliferação e diferenciação das CTE. O conhecimento dessas vias contribuirá para a terapêutica de diversas doenças cardíacas. As proteínas quinases C (PKCs) são enzimas de sinalização envolvidas na proliferação e diferenciação das CTE. Porém o papel exato das PKCs nesses processos ainda não está claro. Esse projeto tem como objetivo identificar: a) as isoenzimas específicas da PKC que estão envolvidas na proliferação e diferenciação das CTE para cardiomiócitos; b) proteínas e substratos que se ligam especificamente às PKCs. E utilizará métodos de proteômica, bem como moduladores específicos para as diferentes isoenzimas de PKC desenvolvidos no laboratório da professora Daria Mochly-Rosen, da Universidade de Stanford.

125 Desenvolvimento de metodologias alternativas no controle de mosquitos (Diptera: Culicidae) de importância epidemiológica: uso do método RIDL (liberação de insetos carregando um gene letal dominante) no controle de *Culex*

Mauro Toledo Marrelli
Faculdade de Saúde Pública
Universidade de São Paulo (USP)
Processo 2005/50225-2
Vigência: 1/10/2005 a 30/9/2009

Este projeto tem como objetivo principal obter linhagens de mosquitos transgênicos *Culex quinquefasciatus* carregando um gene letal dominante (sistema RIDL), que poderão ser utilizadas no controle desses mosquitos no lugar dos métodos convencionais de esterilização (SIT), como estratégia de eliminar ou reduzir a população vetora local. A integração de um gene letal dominante associado a um promotor específico de fêmea dispensa a etapa de esterilização por radiação. Nesse processo os insetos recebem dieta suplementada com um repressor químico (tetraciclina). A expressão do gene letal dominante é mantida desligada enquanto este repressor é adicionado ao meio das larvas. Para as amostras preparadas para liberação, o repressor é retirado e o gene letal dominante é ativado, causando a morte de todas as fêmeas e, consequentemente, deixando somente machos para liberação. Os machos homozigotos para o gene letal seriam liberados para copular com as fêmeas selvagens. As progênes dessas fêmeas selvagens seriam heterozigotas para o gene letal e morreriam; somente os machos heterozigotos sobreviveriam. Desde que a capacidade de acasalamento dos machos transgênicos produzidos pelo método RIDL é pré-requisito importante para o sucesso do programa, será também necessário estudos de aptidão (*fitness*) relacionados aos parâmetros de competitividade, tais como acasalamento e sobrevivência dos machos RIDL comparados aos machos selvagens dessa espécie. Desse modo, vários experimentos analisando esse comportamento serão também conduzidos. Este projeto também propõe analisar a diversidade populacional de *Cx. quinquefasciatus* utilizando DNA mitocondrial e ribossômico como marcadores moleculares.

126 Efeitos anti-inflamatórios de metóxi-catecóis e sua metabolização por leucócitos: correlação entre estrutura molecular e inibição da ativação do complexo NADPH-oxidase

Valdecir Farias Ximenes
Faculdade de Ciências de Bauru
Universidade Estadual Paulista (Unesp)
Processo 2004/12860-5
Vigência: 1/8/2005 a 31/7/2009

A apocinina, composto isolado da planta nativa do Himalaia *Picrorhiza kurrooa*, tem sido utilizada como um potente e não tóxico inibidor da ativação do complexo multienzimático NADPH-oxidase em fagócitos e células endoteliais. Recentemente foi reportado que mecanismo de ação da apocinina envolve a metabolização da mesma por meio da ação catalítica da enzima mieloperoxidase e a consequente geração de um produto dimérico. Este último impede a agregação e a translocação para membrana dos componentes citossólicos do complexo NADPH-oxidase. Neste projeto, me proponho a estudar a correlação entre estrutura molecular dos derivados da apocinina (metóxi-catecóis) e a inibição da ativação do sistema NADPH-oxidase em neutrófilos e macrófagos de camundongos. Especificamente, pretendo sintetizar e/ou adquirir metóxi-catecóis nos quais o padrão de substituição no anel benzênico possa alterar seus efeitos no sistema NADPH-oxidase. De fato, há indícios de que a presença de grupos substituintes com características eletrôn-atraente possa influenciar no rendimento e tipo de produtos da oxidação desses compostos por peroxidase, o que poderá influenciar diretamente no efeito biológico. Neste contexto, pretende-se implantar técnicas capazes de acessar a inativação do sistema NADPH-oxidase. Adicionalmente, o efeito dos metóxi-catecóis na geração de ácido hipocloroso, oxigênio singlete, liberação de citocinas pró-inflamatórias e mediadores lipídicos serão estudados. Finalmente, pretende-se identificar e quantificar os produtos de metabolização dos metóxi-catecóis e, assim, traçar uma correlação entre os produtos gerados e os efeitos biológicos acima delineados.

127 Efeitos do alcaloide pirrolizidínico monocrotalina em mitocôndrias e hepatócitos isolados de rato

Fábio Ermínio Mingatto
Universidade Estadual Paulista (Unesp)
Campus Experimental de Dracena
Processo 2004/09882-7
Vigência: 1/5/2005 a 30/4/2009

O número de plantas conhecidas como tóxicas para ruminantes e equinos no Brasil aumenta constantemente. No entanto, a pesquisa sobre plantas tóxicas tem-se limitado, prioritariamente, à identificação das espécies tóxicas e à determinação dos sinais clínicos, da patologia e de alguns aspectos da epidemiologia das intoxicações. Poucos esforços têm sido realizados para determinar os princípios ativos das plantas e seus mecanismos patogênicos. A monocrotalina é um alcaloide pirrolizidínico encontrado em plantas, principalmente naquelas do gênero *Crotalaria*, uma leguminosa comumente utilizada como adubação verde. A hepatotoxicidade está entre os efeitos tóxicos provocados pela ingestão dessa substância por animais e humanos. Estudos recentes têm contribuído para a elu-

cidação dos mecanismos envolvidos na hepatotoxicidade causada por xenobióticos e dentre esses mecanismos destacam-se as disfunções mitocondriais. A elucidação do mecanismo de hepatotoxicidade da monocrotalina em mitocôndrias e em hepatócitos isolados de rato, portanto, seria uma importante contribuição para a descoberta de compostos que possam ser utilizados no tratamento de animais expostos a essa substância.

128 Controle da perda de proteínas musculares em situações catabólicas: um estudo de microdiálise

Luiz Carlos Carvalho Navegantes
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
Universidade de São Paulo (USP)
Processo 2004/02674-0
Vigência: 1/7/2004 a 31/10/2008

Embora grandes avanços no conhecimento dos mecanismos envolvidos com a regulação do metabolismo de proteínas tenham sido obtidos a partir de preparações de músculos isolados de pequenos roedores, ainda há uma grande limitação metodológica na investigação do balanço proteico *in vivo*. Tendo em vista essas dificuldades, propomos neste estudo a utilização de uma nova metodologia, a microdiálise, que possibilite a investigação *in situ* do metabolismo proteico e do fluxo sanguíneo no músculo esquelético de roedores submetidos a três modelos experimentais de catabolismo: a desnervação atrofica, a septicemia e a lesão muscular induzida por peçonha de *Bothrops*. Temos também como objetivo propor tratamentos e descrever os mecanismos envolvidos com a prevenção ou atenuação da perda de proteínas musculares nessas situações patológicas. Após termos demonstrado, em nossos estudos iniciais, que parte do efeito anabólico das catecolaminas em músculos de animais normais é mediado pela ativação de adrenoreceptores beta-2 e produção do AMPc utilizaremos agora a microdiálise para investigar o possível efeito anabólico de agonistas beta-2 adrenérgicos (clenbuterol) e de derivados de xantina (pentoxifilina e isobutilmetilxantina) na musculatura esquelética de ratos adultos desnervados e sépticos. Nessas condições, a prevenção do estado catabólico pode ser resultante da inibição de diferentes vias proteolíticas e/ou da estimulação dos processos de síntese proteica. Para a investigação desses mecanismos, o *turnover* de proteínas *in vitro* será avaliado em preparações de músculos atroficos incubados na presença do clenbuterol ou dos derivados da xantina. A quantificação das proteases intracelulares será realizada por meio da técnica de *Western blot* em músculos previamente incubados ou dialisados. A obtenção desses resultados contribuirá para a melhor compreensão da fisiopatologia de doenças debilitantes, assim como para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas que previnam ou atenuem a depleção de proteínas musculares.