

CCB Centro de
Ciências
Biológicas



Pró-Reitoria de
Pesquisa e
Pós-Graduação

UEM Universidade
Estadual de
Maringá



Caderno de resumos

**1º CONGRESSO INTERNACIONAL DE
BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR
10º CURSO DE INVERNO DO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

21 a 24 de agosto



**Maringá
2022**

SUMÁRIO

A Comissão Organizadora.....	3
Programação da Semana.....	4
Os Palestrantes Convidados.....	8
Resumos das Palestras.....	12
Resumos das Contribuições Livres.....	24

Universidade Estadual de Maringá
Reitor: Prof. Dr. Júlio Damasceno
Vice-Reitor: Prof. Dr. Ricardo Dias Silva

Centro de Ciências Biológicas
Diretor: Prof. Dr. Luiz Carlos Gomes
Diretora-Adjunta: Profa. Dra. Ana Paula Vidotti

A COMISSÃO ORGANIZADORA

O evento foi organizado por uma comissão de alunos e professores do Curso de Pós-graduação em Ciências Biológicas (área de concentração em Biologia Celular e Molecular), sob a coordenação dos Professores Dr. Max Jean de Ornelas Toledo e Dr. Wanderley Dantas dos Santos.

Professores organizadores

Prof. Dr. Max Jean de Ornelas Toledo (Presidente)
Prof. Dr. Wanderley Dantas dos Santos (Vice-Presidente)
Prof. Dr. Marco Aurélio Schüler de Oliveira
Erica Kamatsuka Nagasava (Secretária)

Alunos

Amanda Ruoso Lazzari Almeida
Ariane Narumi Koga
Bruna Francini Lupepsa
Erika Wakida
Luiz Henryque Escher Grizza
Mariane Carneiro da Silva
Tais Protzek Ferreira
Thais Aparecida dos Santos
Veridiana Lenartovicz Boeira
Wagner Mansano Cavalini

Comitê científico

Rogério Marchiosi (Presidente)
Maria Aparecida Fernandez
Maria Raquel Marçal Natali
Paulo Sergio Alves Bueno
Rafael Castoldi
Rodrigo Polimeni Constantin
Zunilda Canete Duarte de Assunção

PROGRAMAÇÃO DO EVENTO

Dia 21/08/2022 (domingo)

Local do evento: Auditório do bloco B33/UEM

De manhã

- **8:30 h às 12:00 h:** Recepção e inscrições dos participantes com um café de boas-vindas e a distribuição de material de apoio.

- **10:00 h:** Coffee break;

De tarde

-**14:00 h:** Solenidade de abertura.

Apresentação do evento pelo Coordenador do Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (PBC).

- **14:15 h às 15:15 h:** Palestras de abertura:

"O impacto da Covid-19 nas ciências biomédicas, vice-versa e versa-vice" - Dr. Eduardo Colombari, professor Titular da Faculdade de Odontologia da UNESP de Araraquara, Departamento de Fisiologia e Patologia;

"Efeito cardiorrespiratórios da dieta hiperlipídica no adulto e na prole" - Dra. Débora Simões de Almeida Colombari - Professora Associada da Faculdade de Odontologia da UNESP de Araraquara, Departamento de Fisiologia e Patologia;

- **15:15 h:** Coffee break;

-**15:30 h às 16:15 h:** Homenagem aos docentes criadores do Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (PBC).

Dia 22/08/2022 (segunda-feira)

Local: Anfiteatro do Nupélia/UEM (Bloco G90-1º andar)

De manhã

- 8:30 h às 10:15 h: Mesa-redonda:

"Pesquisa & Inovação em Fármacos e Testes de Diagnóstico para a Covid-19". (atividade remota)

Mediador: Prof. Dr. Celso Vataru Nakamura (PBC/UEM)

Participantes:

1 - Dr. Roney Santos Coimbra – Centro de Pesquisas René Rachou, Fiocruz Minas, Belo Horizonte, MG, Brasil: “Abordagens terapêuticas, modulação epigenética da resposta imune e deficiência cognitiva na infecção aguda e longa pelo SARS-CoV-2”.

2 - Prof. Dr. Luciano Fernandes Huergo – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brasil: “Produção de kit diagnóstico para a Covid-19”. Participação remota.

3 - Profa. Zunilda Cañete Duarte - Universidad Católica Nuestra Señora de la Asunción, Paraguay: Experiência do Paraguai no combate à pandemia de Covid-19.

- 10:30 h às 12:00 h: Apresentação oral de trabalhos de Biologia Celular (seis apresentações de 15 min cada)

Moderadora: Profa. Dra. Fernanda Losi Alves de Almeida (PBC/UEM)

De tarde

-13:30 h às 17:30 h: Apresentação dos e-pôsteres de Biologia Celular (atividade remota).

Minicursos presenciais e ministrados de forma remota (online).

Dia 23/08/2022 (terça-feira)

Local: Anfiteatro do Nupélia/UEM (Bloco G90-1º andar)

De manhã

- 8:30 h às 10:15 h: Mesa-redonda:

"Impacto da Covid-19 na síndrome metabólica (DOHaD)". (Atividade híbrida)

Mediador: Prof. Dr. Paulo Cezar de Freitas Mathias (PBC/UEM)

Participantes:

1 – Prof. Dr. Jones Bernardes Graceli - Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, ES, Brasil: “Exposição a tributilestano e metais pesados levam a anormalidades reprodutivas em ratas”.

2 – Prof. Dr. Carlos Alberto Ibáñez Chávez - Instituto Nacional de Ciências Médicas e Nutrição Salvador Zubirán (INCMNSZ), cidade do México, “The careers of young researches in the time of Covid-19”.

3 – Prof. Dr. Didier Vieau - Université des Sciences et Technologies de Lille, Lille, France: “A ligação entre disfunção metabólica e doença de Alzheimer: o tratamento de diabetes, obesidade e hipertensão terá sucesso na diminuição da prevalência de demência senil?”.
Participação remota.

- 10:30 h às 12:00 h: Apresentação oral de trabalhos de Biologia Molecular (seis apresentações de 15 min).

Moderador: Profa. Dra. Maria Aparecida Fernandez (PBC/UEM)

De tarde

- 13:30 h às 17:30 h: Apresentação dos e-pôsteres de Biologia Molecular (atividade remota).

Minicursos presenciais e ministrados de forma remota (online).

Dia 24/08/2022 (quarta-feira)

Local: Anfiteatro do Nupélia/UEM (Bloco G90-1º andar)

De manhã

- 8:30 h às 10:15 h: Mesa-redonda: "Design Racional de Drogas"

Mediador: Prof. Dr. Flavio Augusto Vicente Seixas (PBC/UEM)

Participantes:

1 - Profa. Dra. Carolina Borsoi Moraes - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil: "Triagem fenotípica aplicada a descoberta de fármacos para doenças infecciosas".

2 - Profa. Dra. Érika Seki Kioshima - Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, Brasil: "Pipeline antifúngicos: alvos, moléculas e desenvolvimento".

3 - Prof. Dr. Eduardo Borges de Melo - Centro de Ciências Médicas e Farmacêuticas, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, PR, Brasil: "Planejamento de Fármacos Auxiliado por Computador".

- 10:30 h às 12:00 h: Apresentação oral de trabalhos de Bioquímica (seis apresentações de 15 min cada).

Moderador: Prof. Dr. Rafael Castoldi

De tarde

- 13:30 h às 17:30 h: Apresentação dos e-pôsteres de Bioquímica (atividade remota).

Minicursos presenciais e ministrados de forma remota (online).

- 15:00 h às 17:30 h: Solenidade de encerramento (atividade híbrida)

- 15:00 h às 15:30 h: Café de recepção aos atendentes

- 15:30 h às 16:30 h: Palestra
"SynBioVac, uma plataforma de Biologia Sintética aplicada para o desenvolvimento de vacinas", com o Prof. Dr. Marcelo Muller dos Santos - UFPR. atividade remota).

- 16:30 h às 17:00 h: Palestra da Fortgreen

- 17:00 h às 17:30 h: Premiação
Entrega de certificados e brindes aos melhores trabalhos. Serão selecionados os três melhores trabalhos do evento das áreas de Biologia Celular, Biologia Molecular e Bioquímica, tanto da apresentação oral quanto na forma de pôsteres.

OS PALESTRANTES CONVIDADOS

Carlos Alberto Ibáñez Chávez

Possui doutorado em Ciências Bioquímicas pela Universidad Nacional Autónoma de México onde atua também como professor. É membro da Sociedade Internacional para a Origem Desenvolvimentista da Saúde e da Doença.

Carolina Borsoi Moraes

Possui graduação em Ciências Biológicas - Mod. Médica pela Universidade Federal de São Paulo (2003) e doutorado em Microbiologia e Imunologia pela Universidade Federal de São Paulo (2009), com período sanduíche no Institut Pasteur Korea (2005 - 2009). Realizou pós-doutorado em Descoberta de Fármacos em doenças negligenciadas no Institut Pasteur Korea (2010 - 2013). Atualmente é pesquisadora associada da Phenotypic Screening Platform do Instituto de Ciências Biomédicas/Universidade de São Paulo. Tem experiência em pesquisa básica e aplicada na área de Biologia Celular, Microbiologia e Farmacologia, com ênfase em triagem fenotípica, desenvolvimento de ensaios celulares, e estudos de mecanismo de ação e resistência de fármacos para doenças infecciosas.

Débora Simões de Almeida Colombari

Débora Simões de Almeida Colombari possui graduação em Farmácia Bioquímica pela Universidade Estadual Paulista Júlio De Mesquita Filho (1992), Mestrado em Farmacologia pela Universidade de São Paulo/Ribeirão Preto (1995) e Mestrado Sandwich - University of Iowa (1995) e Doutorado em Farmacologia/Setor Fisiofarmacologia pela Universidade Federal de São Paulo/Escola Paulista de Medicina (1999). É Professor Associado da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho e Professor credenciado no Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas (PIPGCF) - Associação Ampla Universidade Federal de São Carlos e Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (orientador). Conta com artigos publicados em periódicos especializados como Journal Physiology, Life Sciences, Hypertension, Brain Research, Neuroscience, Appetite entre outros. Atua na área de Fisiologia, com ênfase em fisiologia cardiovascular e do equilíbrio hidroeletrólítico, atuando principalmente nos seguintes temas: participação de áreas prosencefálicas e do tronco encefálico no controle cardiovascular e do equilíbrio hidro-eletrólítico frente a situações fisiopatológicas, tais como hipertensão, obesidade e hiperosmolaridade.

Didier Vieau

Trabalha no Centro de Neurociência (Lille Neuroscience and Cognition, INSERM U1172, equipe Alzheimer & Tauopathie, chefe Dr Luc Buée). Pertence à equipe de David Blum e trabalha nas ligações entre Tauopatias e disfunções metabólicas (diabetes, obesidade) e no papel da nutrição materna na programação de tauopatias na prole.

Eduardo Borges de Melo

Professor Associado C da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), instituição onde é docente e pesquisador desde o ano de 2002, quando foi aprovado em primeiro lugar em seleção pública. Atua no Curso de Graduação em Farmácia e nos Programas de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PCF-UNIOESTE) e Química (PPGQUI-UNIOESTE). Foi o responsável pela elaboração do projeto (aprovado pela CAPES em março/2012) do PCF-UNIOESTE, coordenou sua implantação e, finalmente, foi seu primeiro coordenador (setembro/2012 a abril/2015). Bolsista Produtividade CNPq 2 (período 2019-2022) na área de Ciências Farmacêuticas. Sua principal área de pesquisa é relacionada a estudos in silico visando o planejamento de novos fármacos, com foco principal em estudos de relações estrutura-atividade quantitativas (QSAR) e modelagem molecular. Também já realizou projetos na área de Controle de Qualidade Físico-Químico de Fármacos e Medicamentos, incluindo Validação de Métodos Analíticos, e em Nanotecnologia Farmacêutico (nesta última área, apenas como colaborador). Realizou curso de Pós-Doutorado em Química (2017-2018) pela Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto/USP como bolsista PNP/USP. Doutor em Química (área de concentração: Físico-Química) pelo Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas - IQ/Unicamp (2005-2009). Mestre em Ciências Farmacêuticas (área de concentração: Fármacos e Medicamentos) pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP (1999-2001). Graduação em Farmácia pela Universidade Paulista, Campus de São José do Rio Preto_SP (1995-1998). Atualmente ministra as seguintes disciplinas: 1) Química Farmacêutica Medicinal (graduação); 2) Controle de Qualidade Físico-Químico de Fármacos, Medicamentos e Cosméticos (graduação); 3) Modelagem molecular e QSAR (graduação, disciplina optativa); 4) Modelagem Molecular e Planejamento Racional de Fármacos (pós-graduação, nível Mestrado Acadêmico). Atual líder do Grupo de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos/UNIOESTE. Membro da Associação Brasileira de Ciências Farmacêuticas (ABCF), Sociedade Brasileira de Química (SBQ) e Royal Society of Chemistry (RSC). Ex-editor associado e atual membro do comitê de revisores do International Journal of Quantitative Structure-Property Relationships (IJQSPR).

Eduardo Colombari

Professor Titular em RDIDP da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, a partir de 2011. Membro do Comitê de Assessoramento de Biofísica, Bioquímica, Farmacologia, Fisiologia e Neurociências (CA-BF), com mandato de três anos para o período de 01/10/2018 a 30/06/2021, escolhido pelo Conselho Deliberativo do CNPq, em reunião realizada em 19 de setembro de 2018. Presidente Eleito (2019-2020) da Sociedade Brasileira de Fisiologia - SBFis. Possui graduação em Odontologia pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (1990), doutorado em Ciências (Fisiologia Geral) pela Universidade de São Paulo (1995) e Doutorado Sanduiche - The University of Iowa (1995). Visiting Professor Department of Physiology and Pharmacology, University of Bristol, UK (2007-2009) em colaboração com Prof. Julian Paton e David Murphy. Foi Professor da Universidade Federal de São Paulo (1994 - 2011). Principais Periódicos em que publica: - Brain Research; - American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Phy; - British Journal of Pharmacology; - Brazilian Journal of Medical and Biological Research; - Hypertension (Dallas); - Autonomic Neuroscience; - Brain Research Bulletin; - American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology; - J. Physiol (London); - The Journal of Neuroscience; - Acta Physiologica; - Experimental Physiology; - Plos One; - Cardiovascular Research; -Journal of Applied Physiology; - Pfluegers Archiv; - Respiratory Physiology & Neurobiology; - Journal of Neurophysiology; etc. Tem experiência na área de Fisiologia Integrativa, com ênfase em Fisiologia Cardiovascular e Respiratório, atuando principalmente nos seguintes temas: Controle Neural Cardiovascular e Respiratório; Controle do Equilíbrio Hidroeletrólítico em condições normais ou relacionados com situações fisiopatológicas tais como Hipertensão, Desidratação, Obesidade e Distúrbios Ventilatórios. Coordenador e

Pesquisador Principal de Projetos FAPESP e CNPq. Orientador Permanente no Curso de Fisiologia Farmacologia, UNIFESP-EPM, CAPES Nível 6.

Érika Seki Kioshima Cótica

Possui graduação em Farmácia pela Universidade Estadual de Maringá (2003) e doutorado em Microbiologia e Imunologia pela Universidade Federal de São Paulo (2009). Realizou estágio pós-doutoral na Universidade de Brasília, Departamento de Biologia Celular (2009-2012) atuando nas áreas de biologia molecular de fungos patogênicos e expressão heteróloga de proteínas recombinantes. Em 2012 realizou estágio de pós-doutoramento no LORIA (Laboratoire Lorrain de Recherche en Informatique et ses Applications), na área de modelagem molecular e varredura virtual com foco no desenvolvimento de novos antifúngicos. Desde 2013 é professora adjunta da Universidade Estadual de Maringá, ministrando as disciplinas de biotecnologia aplicada a saúde e Micologia Médica para graduação, atualmente é coordenadora adjunta do Programa de Pós-graduação em Biociências e Fisiopatologia (PBF/UEM). É representante do Centro de Ciências da Saúde no Comitê Assessor de Bolsas de Iniciação Científica - CABIC, membro do Comitê de Ética no Uso de Animais em Pesquisa e coordenadora da Central de tecnologia em Saúde (CTS/COMCAP).

Érika Wakida

Mestranda no Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá, com tese voltada à compreensão do mecanismo de ação de diversos bioestimulantes sobre plântulas de soja, aluna do Grupo de Estudo em Bioquímica de Plantas Daninhas. Graduada em Bioquímica, pela Universidade Estadual de Maringá, com trabalhos voltado à ação de extratos biológicos sobre a germinação e desenvolvimento de plantas daninhas. Analista de Pesquisa na empresa Fortgreen, desenvolvendo trabalhos com foco no entendimento dos efeitos de diferentes produtos e compostos sobre o metabolismo dos cultivos de interesse.

Jones Bernardes Graceli

Pós-graduação em Ciências Morfológicas (UFRJ/2007). Mestrado (UFES/2005) e Doutorado em Ciências Fisiológicas pela Universidade Federal do Espírito Santo (Sanduíche UFES-IBCCF-UFRJ; 2008) com experiência em fisiologia endócrina, metabólica e reprodutiva (eixo hipotálamo-hipofisário-gonadal). Atualmente, professor Associado II do departamento de Morfologia da UFES, trabalhando com impactos morfofisiológicos e moleculares da contaminação de organoestênicos em diferentes modelos animais. Modelos de desregulação endócrina, pela exposição a contaminantes ambientais e dietas que induzem a obesidade. Professor do Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da UFES. Membro da SBFis. Orientador de Mestrado e Doutorado. PhD, Endocrinologia Johns Hopkins School of Medicine.

Luciano Fernandes Huergo

Graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Paraná (1999). Mestre (2002) e Doutor (2006) em Ciências - Bioquímica pela Universidade Federal do Paraná. Estágio Sanduíche no John Innes Centre - Norwich - Inglaterra (2005-2006). Pós-doutor pela Universidade Federal do Paraná (2008) e pela Griffith University - Institute for glycomics - Australia (2012-2024). Professor Visitante na Universidade de Tübingen - Alemanha (2018). Professor efetivo da UFPR desde 2008. Orienta alunos de mestrado e doutorado pelo programa de Pós-Graduação em Ciências-Bioquímica da UFPR nos laboratórios da UFPR no Setor Litoral em Matinhos e no Setor de

Ciências Biológicas em Curitiba. Coordena projeto de colaboração internacional entre a UFPR e a Universidade de Tübingen na Alemanha com financiamento pela Fundação Alexander von Humboldt (2020-2023). Coordena projeto com financiamento internacional de desenvolvimento de diagnóstico da COVID-19 (financiamento da Fundação Humboldt). Coordena projeto de análise de aerossóis em unidades de conservação no Paraná (2021-2013). Coordenador do Laboratório de Microbiologia Molecular - UFPR e líder do grupo de pesquisa Biologia Molecular, Bioquímica e Biodiversidade de Microorganismos. Inventor de novo método de diagnóstico imunológico ELISA rápido para COVID-19 de grande repercussão <https://doi.org/10.1186/2197-4384-2-1>. Atua como revisor de periódicos internacionais e como consultor de agências de fomento à pesquisa. Principais áreas de atuação: Microbiologia, Bioquímica, Biologia Molecular, Genética, regulação do metabolismo microbiano, biodiversidade, prospecção de microrganismos, metagenômica, microbioma, genômica, proteômica, metabolômica, técnicas de DNA recombinante, expressão, purificação, caracterização, estrutura e interação de proteínas e enzimas, espectrometria de massas tipo MALDI e ESI, identificação de microrganismos através de espectrometria MALDI-TOF, métodos de diagnóstico imunológico.

Marcelo Müller dos Santos

Tem experiência na área de Bioquímica e Biologia Molecular de Micro-organismos. Nos últimos anos tem estudado o metabolismo de polihidroxialcanoatos em bactérias. Recentemente, iniciou projetos nas áreas de engenharia metabólica e biologia sintética para o desenvolvimento de ferramentas para a manipulação gênica de bactérias gram-negativas associadas a plantas.

Roney Santos Coimbra

Possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) (1989), mestrado em Microbiologia pela UFMG (1993), pós-graduação em Bioinformática pelo Instituto Pasteur, Paris, França (2000) e doutorado em Ciências Médicas - Microbiologia pela Universidade René Descartes, Paris 5, tendo desenvolvido meu projeto de tese no Instituto Pasteur em Paris (2001). Completou a formação com um pós-doutorado de dois anos em Bioinformática e Genética no Departamento de Neurociências do Instituto Pasteur, seguido de um pós-doutorado de três anos em Bioinformática e Doenças Infecciosas do Sistema Nervoso Central, como Líder do Projeto, na Universidade de Berna, Suíça. Entre 2005 e 2007, foi Cientista Principal no departamento de Molecular Discovery Research Informatics da GlaxoSmithKline, em Stevenage e Harlow, Reino Unido, onde trabalhou na descoberta de fármacos usando estratégias de Bioinformática e Quimioinformática. De volta ao Brasil, ingressou na Fiocruz como pesquisador visitante e Gerente Científico do Centro de Excelência em Bioinformática de Minas Gerais (CEBio). Desde dezembro de 2012, é Pesquisador em Saúde Pública da Fiocruz Minas onde coordena o Grupo de Pesquisa em Neurogenômica (CNPq). Tem experiência em Neurogenômica e Infecções do sistema nervoso central e atuou na pesquisa sobre o papel da imunidade inata nos processos neurodegenerativos induzidos por infecções com ênfase na busca por biomarcadores desses processos e na descoberta de fármacos neuroprotetores.

Zunilda Cañete Duarte

Possui graduação em Bioquímica e Química Farmacêutica pela Universidade Católica Nuestra Señora de la Asunción, Campus Alto Paraná (2003 e 2007). É especialista em Análises Clínicas pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná (2007), Didática Universitária pela Universidad Nacional del Este (2013) e em Administración Pública pela Universidad Nacional del Este (2014). Tem experiência em temas relacionados à Bioquímica, Farmacologia e Bromatologia.

RESUMOS DAS PALESTRAS

Palestras de abertura

EFEITO CARDIORRESPIRATÓRIOS DA DIETA HIPERLIPÍDICA NO ADULTO E NA PROLE

Débora Simões de Almeida Colombari

Universidade Estadual Paulista, Araraquara, Brasil

A obesidade é definida como o acúmulo excessivo de gordura que traz prejuízos à saúde do indivíduo. É uma doença não comunicável altamente prevalente no Brasil e no mundo. A obesidade promove uma série de alterações cardiorrespiratórias. Demonstramos em um conjunto de estudos que ratos adultos obesos tem aumento da pressão arterial dependente de ações da angiotensina II no prosencéfalo e no bulbo. Nossos estudos mostram também que há um desbalanço entre o eixo hipertensor e hipotensor do sistema renina-angiotensina no sistema nervoso central e um aumento das citocinas pró-inflamatórias e neuroinflamação. Do ponto de vista respiratório, ratos adultos obesos tem um aumento da frequência respiratória frente à hipercapnia. As alterações cardiorrespiratórias também ocorrem na prole de mãe obesa, onde os filhotes jovens (P28-32) apresentam aumento da atividade nervosa simpática e expiração ativa. Os mecanismos dessas alterações na prole.

Palestra III, na mesa redonda “Pesquisa & inovação em fármacos e testes de diagnósticos para a COVID-19”

EPIGENETIC MODULATION OF THE IMMUNE RESPONSE IN ACUTE AND LONG
COVID-19

Roney Santos Coimbra

Instituto René Rachou, FIOCRUZ

Some pioneering studies have shown that COVID-19 induces chromatin remodeling in host immune cells. Previously, we have reported that vitamin B12 downregulates some inflammatory genes through methyl-dependent epigenetic mechanisms. These two premises motivated a recent work by our group in which, using an ex vivo model of whole blood cultures, we demonstrated that vitamin B12 normalizes the expression of a panel of inflammatory genes still dysregulated in the leukocytes of patients with moderate or severe COVID-19, despite glucocorticoid therapy during hospitalization. Furthermore, transcriptome analysis revealed that B12 attenuates the effects of COVID-19 on most pathways related to inflammation and anti-viral response affected by the disease. Our results prove that the anti-inflammatory effect of B12 in the context of moderate and severe COVID-19 is mediated by the increase in the methylation capacity of DNA and, possibly, of histones by leukocytes. To the best of our knowledge, this was the first study to demonstrate that pharmacological modulation of epigenetic markers in leukocytes favorably regulates central components of the pathophysiology of COVID-19. In another study, we recruited a cohort of adults at least four months after they recovered from mild COVID-19. These volunteers were evaluated by neuropsychological, ocular and neurological tests, immunological markers assay and by structural magnetic resonance and functional neuroimaging 18FDG-PET in order to investigate possible brain changes and clinical correlations. In approximately a quarter of individuals who had mild COVID-19, we detected a specific visuoconstructive deficiency, which was associated with changes in molecular and structural brain imaging and correlated with upregulation of immunological markers in peripheral blood. Visuoconstructive deficiency compromises the ability to plan and perform the movements necessary to organize a series of elements in space, to form a drawing or a final figure. It is an early manifestation of Alzheimer's disease. Our findings provide evidence of the causal relationship between neuroinflammation and persistent

cognitive impairment in people who have had mild COVID-19, an already large and growing fraction of the world's population. In line with this urgent public health demand, our most recent results indicate that B12 normalizes the expression of *CCL11*, a critical inflammatory biomarker up-regulated in the peripheral blood of patients with persistent visuoconstructive deficiency for at least 10 months after recovering from mild COVID-19. Interestingly, CCL11 was recently disclosed as an important biomarker of long-term brain damage in a mouse model of mild COVID-19. Thus, the epigenetic landscape is also an important search space for new treatments aiming to mitigate the burden for public health of cognitive impairment in long COVID.

Palestra IV, na mesa redonda “Pesquisa & inovação em fármacos e testes de diagnósticos para a COVID-19”

PRODUÇÃO DE KIT DIAGNÓSTICO PARA A COVID-19

Luciano Fernandes Huergo

Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil

Ensaio capazes de detectar anticorpos em amostras de sangue são ferramentas importantes no diagnóstico de doenças infecciosas como a COVID-19, estes ensaios podem também ser utilizados para avaliar a resposta imune humoral após a vacinação. Nesta palestra irei descrever um novo formato de ensaio ELISA imunomagnético ultrarrápido criado em nosso laboratório que é capaz de detectar anticorpos reativos para diferentes antígenos do SARS-CoV-2 em amostras humanas em larga escala e a baixo custo. Irei abordar os resultados obtidos com estes ensaios na avaliação da evolução da COVID-19 e da resposta vacinal em escala populacional. Também irei abordar a aplicação desta nova metodologia de ensaio ELISA imunomagnético na detecção de infecções por SARS-CoV-2 em animais de estimação e pelo vírus da dengue em amostras humanas.

Palestra V, na mesa redonda “Pesquisa & inovação em fármacos e testes de diagnósticos para a COVID-19”**EXPERIENCIA DE PARAGUAY EM LA LUCHA CONTRA LA COVID-19****Zunilda Cañete Duarte**

Universidad Católica Nuestra Señora de la Asunción, Alto Paraná, Paraguay

En Paraguay, las autoridades sanitarias se centraron en el establecimiento de una cuarentena restrictiva, a partir de los tres días después de la detección del primer caso de COVID-19 en el país, desde el 10 de marzo de 2020; con el fin de controlar el número de infectados mientras incrementaba su capacidad para tratar casos que requieran internación. Ante esta situación, el impacto de las decisiones del Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social (MSPBS) se extendió a otras áreas como la economía, la educación y las relaciones sociales. Muchas de las cuales tuvo que afrontar se dieron bajo condiciones de incertidumbre, ya que, al inicio de la pandemia, la información a nivel mundial era insuficiente o inexistente. Para describir el comportamiento de la evolución de la pandemia en el Paraguay se han empleado al menos dos elementos: la curva epidémica y el nivel de infectividad. Los datos de casos diarios de COVID-19 se obtuvieron a partir de los reportes de casos confirmados publicados en la página web del Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social. Además, se decidió evaluar constantemente los resultados de las medidas restrictivas que fueron aplicadas con el propósito de controlar la enfermedad; así como también el impacto de las estrategias, avanzando en el desconfinamiento a través de un proceso de cuarentena inteligente, que requirió el diálogo y el trabajo multisectorial, incluyendo a la comunidad y a los diferentes sectores. Con todo esto, ha surgido la necesidad de un plan de recuperación post-pandemia que debe contemplar herramientas que promuevan una reducción de la informalidad, de la pobreza y de la desigualdad, y que sean, por sobre todo, sostenibles el tiempo.

Palestra VI, na mesa redonda “Impacto da COVID-19 na síndrome metabólica”**EXPOSIÇÃO A TRIBUTILESTANHO E MATAIS PESADOS LEVAM A ANORMALIDADES REPRODUTIVAS EM RATAS****Jones Bernardes Graceli**

Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, Brasil

Exposure to the tributyltin (TBT) is associated with several metabolic and reproductive complications. Abnormal white adipose tissue consequences were observed in vivo and in vitro models, such as adipocyte hypertrophy, inflammation, fibrosis, etc. These metabolic abnormalities were also linked with reproductive consequences, such as abnormal estrous cyclicity, sex hormone profile, irregular ovarian follicular development, abnormal uterine morphology (inflammation, fibrosis and low gland number). In this context, early life exposure to endocrine-disrupting chemicals (EDCs) is an emerging risk factor for development of complications later in life and in subsequent generations. We previously demonstrated that exposure to the EDC organotin (OT), which is present in contaminated seafood, resulted in reproductive abnormalities in adult female rats. We only exposed adult female rats for 15 days to OT present in contaminated seafood and we observed a reduction in fertility, uterine implantation failure, pregnancy and placental metabolic outcome irregularities, offspring adiposity, liver steatosis, and an increase in oxidative stress. Furthermore, some of the effects of OT may be the result of obesogenic and multigenerational effects of OT in adult female rats. Obesity is associated with several female reproductive complications, such as polycystic ovary syndrome (PCOS). The exact mechanism of this relationship remains unclear. Few previous studies using diet containing refined carbohydrate (HCD) leading to obesity have been performed and it is unclear if HCD is linked with reproductive dysfunctions. We feed female rats with HCD for 15 days and observed a PCOS-like features, impaired ovarian reserve, reduced uterine gland number, and other reproductive abnormalities in female rats. From our previous studies, we observed that exposure to TBT alone or HCD alone leads to obesity and reproductive complications, such as premature ovary failure (POF) features. However, little is known about interactions between TBT and nutrition and their combined impact on reproduction. We co-exposed and feed female rats TBT plus HCD exposure and observed a metabolic and reproductive abnormalities, exacerbating POF features in female rats. Thus, in this presentation, we will talk about the metabolic and reproductive features after TBT, HCD and other EDCs exposure in adult female rats and pregnancy and offspring consequences.

Palestra VII, na mesa redonda “Impacto da COVID-19 na síndrome metabólica”

THE CAREERS OF YOUNG RESEARCHERS IN THE TIME OF COVID-19

Carlos Alberto Ibáñez Chávez

Instituto Nacional de Ciências Biomédicas e Nutrição Salvador Zubirán, Cidade do México, Mexico

The evolving COVID-19 pandemic have been had a global adverse impact in terms of health, economy, and social interactions. The COVID-19 have exposed inequalities in the access to healthcare services and education. The measures to mitigate the COVID-19 such as the lock down around the world and travel restrictions have profoundly impacted academic activities and scientific research. In this regard, the COVID -19 pandemic has affected to the scientist in formation. Specifically, Research Trainees (RT) who are developing activities in laboratory settings to have a doctoral degree as well as the Early Researchers (ECRs) who are the professionals with a doctoral degree in their first years of research activity. The work and progress of RT and ECRs were dramatically affected by the COVID-19 pandemic. It's well accepted that RTs and ECRs are the life force of scientific discovery around the world. However, RT and ECR are in a formative stage and the disruption in their academic activities is going to likely impact their lifelong career trajectory. To have a better understanding of how COVID-19 impacted to RT and ECR, the ECR committee of the Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD) Society, formed a special interest group comprising of ECR representatives of International DOHaD affiliated Societies and Chapters from around the world. A summary of the anecdotal evidence of COVID-19 pandemic on daily research activities and its effects on career development plans of ECR will be presented. In addition, the learnings from these shared experiences and how could strength the collaborative work for the current and future generation of scientists will be discussed.

Palestra VIII, na mesa redonda “Impacto da COVID-19 na síndrome metabólica”**WHAT PLACE FOR TAU IN THE LINK BETWEEN TYPE 2 DIABETES AND ALZHEIMER DISEASE?**

Didier Vieau

Université des Sciences et Technologies de Lille, Lille França

Alzheimer disease (AD), which is the leading cause of dementia, is mainly characterized by cognitive deficits and neuropathological changes such as Tau lesions and amyloid plaques but is also associated with non-cognitive symptomatology. Accumulation of hyper-phosphorylated and aggregated Tau proteins is a neuropathological hallmark of AD and Tauopathies. AD patient brains also exhibit insulin resistance. Whereas, under normal physiological conditions insulin signaling in the brain mediates plasticity and memory formation, it can also regulate peripheral energy homeostasis. Indeed, AD patients have been reported to exhibit altered glucose metabolism and to have an increased prevalence to develop type 2 diabetes. We reported an association between Tau H1 haplotype and glucose tolerance in Humans cohorts suggesting that Tau could participate to link AD and type 2 diabetes. In line, we demonstrated that constitutive Tau deletion (KO) or knock-in (KI) of a human mutated Tau in mouse similarly leads to a loss-of-function phenotype characterized by glucose homeostasis impairments. Our recent data indicate that brain Tau overexpression in THY-Tau22 mice, a well-characterized mouse model of AD developed in our laboratory, improves glucose homeostasis, speaking for a central-based regulatory process. However, using immunofluorescence, Tau protein was found colocalized with insulin in the β cells of pancreatic islets in both mouse (WT, KI) and human pancreas. In addition, isolated islets from Tau KI and Tau KO mice exhibited impaired glucose-stimulated insulin secretion (GSIS), an effect recapitulated in the mouse β pancreatic cell line (MIN6) following Tau knock-down. Altogether, these observations and our preliminary data raise the hypothesis that a loss of physiological Tau function encountered in the CNS but also in the pancreas of AD patients is sufficient to impair glucose homeostasis through currently unknown brain and peripheral-based mechanisms. Considering that insulin signalling is prone to be pharmacologically targeted at multiple levels, it constitutes an appealing approach to improve both insulin brain sensitivity and mitigate brain pathology with expected positive outcome in terms of cognition.

Palestra IX, na mesa redonda “Design racional de drogas”**TRIAGEM FENOTÍPICA APLICADA A DESCOBERTA DE FÁRMACOS PARA
DOENÇAS INFECCIOSAS****Carolina Borsoi Moraes**

Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil

A triagem fenotípica é uma abordagem de busca de novos fármacos com base em ensaios celulares. Para doenças infecciosas, a estratégia de triagem fenotípica tem se mostrado vantajosa na descoberta de novos fármacos com mecanismos de ação inéditos, uma vez que não há necessidade prévia de validação de alvos moleculares. Novos ensaios de triagem fenotípica foram desenvolvidos para diversos modelos de doenças infecciosas, incluindo doença de Chagas, leishmaniose e covid. Esses ensaios foram aplicados com sucesso na descoberta de novos fármacos e em estudos de mecanismos de ação de fármacos previamente descritos.

Palestra X, na mesa redonda “Design racional de drogas”**PIPELINE ANTIFÚNGICOS: ALVOS, MOLÉCULAS E DESENVOLVIMENTO**

Érika Seki Kioshima Cótica

Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Brasil

As doenças fúngicas tornaram-se uma das principais causas globais de morte, totalizando mais de 2 milhões de pessoas a cada ano, superando as vítimas da tuberculose e da malária (LIFE, 2020). Nos últimos anos, infecções fúngicas invasivas graves (IFIs) vem ganhando espaço entre os pacientes críticos, especialmente as infecções da corrente sanguínea (ICS) em unidades de terapia intensiva (UTI). Apesar desta situação crítica, somente três classes antifúngicas estão disponíveis até o momento. Portanto, a busca por terapias alternativas mais específicas tornou-se uma demanda urgente. O desenho racional de medicamentos é a estratégia mais eficiente e menos dispendiosa para o desenvolvimento de novos medicamentos com base em um alvo patogênico específico. Desde 2011, nosso grupo tem se concentrado no estudo da tioredoxina redutase (TRR1) como um alvo para novos antifúngicos. Nesta jornada, vários pontos avançaram, como a seleção de derivados oxadiazólicos que atuam no sistema de tioredoxina e apresentam promissoras atividades antifúngicas abrindo novas perspectivas para o desenvolvimento.

Palestra XI, na mesa redonda “Design racional de drogas”**PLANEJAMENTO DE FÁRMACOS AUXILIADO POR COMPUTADOR****Eduardo Borges de Melo**

Universidade do Oeste do Paraná, Cascavel, Brasil

O planejamento de fármacos auxiliado por computador envolve todas as técnicas com o auxílio do computador usadas para descobrir, planejar e otimizar compostos biologicamente ativos com uso suposto de fármacos. Um dos objetivos é acelerar o desenvolvimento de alternativas terapêuticas mais eficientes que as atualmente disponíveis, ou para quadros patológicos que ainda não possuem tratamento, como o Transtorno do Espectro Autista (TEA).

Palestras de encerramento

SYNBIOVAC, UMA PLATAFORMA DE BIOLOGIA SINTÉTICA APLICADA PARA O DESENVOLVIMENTO DE VACINAS

Marcelo Müller dos Santos

Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil

Nessa apresentação, mostrarei porque pesquisadores da área de microbiologia somaram esforços com imunologistas e virologistas para desenvolver uma nova plataforma para vacinas. Apresentarei a origem da ideia, de usar polímeros bacterianos como nanopartículas carreadoras de antígenos, e os resultados obtidos até o momento. Por fim, discutirei os entraves que tivemos que contornar durante o projeto e as perspectivas para se atingir a fase de teste clínico em humanos.

O SISTEMA 'INUNOLÓGICO' E DEFESA DA PLANTA

Erika Wakida

Fortgreen Comercial Agrícola, Paiçandu, Paraná, Brasil

Diferentemente dos animais, as plantas não possuem um sistema antígeno-anticorpo, muito menos células especializadas de defesa como os linfócitos, mas assim como nós, as plantas estão constantemente expostas a patógenos, prejudiciais à saúde do organismo. Sem um sistema de defesa como o nosso, como as plantas se defendem da alta pressão de doenças? As plantas possuem a capacidade de sintetizar diversos compostos e realizar rotas metabólicas que os animais não têm a habilidade de fazer, como a do ácido chiquímico, responsável pela síntese de aminoácidos e outros derivados aromáticos. Além disso, as respostas em diferentes níveis, como o estímulo da síntese de proteínas relacionadas à patogênese e a resposta hiper sensitiva, são importantes para a defesa e indução de resistência, tornando-as mais menos susceptíveis à reinfeção pelo patógeno.

RESUMOS DAS CONTRIBUIÇÕES LIVRES

(Em ordem alfabética do primeiro autor)

Área de conhecimento: Biologia Celular

ISOXAZOLE 35-A CAUSES OXIDATIVE STRESS IN INTRACELLULAR AMASTIGOTES OF *Leishmania amazonensis*

*Amanda Beatriz Kawano Bakoshi*¹, *Rayanne Regina Beltrame Machado*¹, *Samara Mendes de Souza Melo*², *Fernanda Andreia Rosa*², *Tania Ueda-Nakamura*¹, *Celso Vataru Nakamura*¹,
*Danielle Lazarin-Bidóia*¹

¹Departament of Basic Health Sciences, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brazil

²Department of Chemistry, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brazil

Knowledge area: Cell biology, Protozoology

Leishmaniasis is a vector-borne disease caused by protozoa parasites of the genus *Leishmania*. The search for new drugs against leishmaniasis is urgently needed, since current treatment presents toxicity and severe side effects. Thus, this study aimed to investigate the mechanisms by which the synthetic compound 4-[(4-fluorophenyl)amino)methyl]-5-(4-nitrophenyl)-3-[N'-(pyridine-2-ylmethylene)hydrazinecarbonyl]-isoxazole (**35-a**) induces cell death in intracellular amastigotes of *L. amazonensis*. For this, amastigotes were treated with IC₅₀ (0.96 µM) and 2×IC₅₀ (1.92 µM) of **35-a** for 24 h and for detection of reactive oxygen species (ROS) and nitric oxide (NO), parasites were incubated with H₂DCFDA and DAF-FM DA, respectively, and the fluorescence was determined by spectrofluorimetry (Victor X3; PerkinElmer, USA); additionally, the ROS increase was observed in an Olympus BX51 fluorescent microscope. The mitochondrial membrane potential (ΔΨ_m) was evaluated in amastigotes by incubation with rhodamine 123 and analysis was performed in FACSCalibur flow cytometer (Becton-Dickinson, Rutherford, NJ, USA), while ATP levels were evaluated using the CellTiter-Glo kit and the luminescence determined in luminometer (SpectraMax® L; Molecular Devices, USA). Amastigotes treated with **35-a** presented an increase in ROS and NO levels and these molecules at high concentrations may damage cell structures. An important organelle for these parasites is the mitochondria, which is responsible for generating intracellular ATP and after treatment with **35-a**, it was observed a decrease in ΔΨ_m and ATP levels. Therefore, the results indicate that isoxazole **35-a** causes oxidative stress in intracellular amastigotes of *L. amazonensis*, leading to a biochemical imbalance that culminates in parasite death.

Keywords: Leishmaniasis, cell death, mechanism of action.

Acknowledgements: This study was supported by grants of CAPES, CNPq, FINEP and Fundação Araucária.

EFEITOS DO EXTRATO DAS FOLHAS DE *Moringa oleifera* SOBRE RATOS OBESOS: AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA INTESTINAL E HEPÁTICA

Ana Luiza Russo Duarte¹, Nayra Thais Delatorre Branquinho², Rosângela Bergamasco³, Márcia do Nascimento Brito⁴, Maria Raquel Marçal Natal⁵

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

²Docente do curso de Ciências Biológicas EaD, Centro Universitário Cesumar (Unicesumar), Maringá, Paraná, Brasil

³Departamento de Engenharia Química, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

⁴Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

⁵Departamento de Ciências Morfológicas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

Área de conhecimento: Biologia celular, Morfologia.

A obesidade é um grave problema de saúde pública, associada ao desenvolvimento de várias comorbidades. A *Moringa oleifera*, conhecido fitoterápico, possui propriedades que contribuem para redução do perfil lipídico e a inflamação hepática. O objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos da *M. oleifera* (200mg/Kg de massa corporal) por 60 dias, como alternativa terapêutica para a obesidade provocada pela ingestão da dieta rica em carboidratos simples (RCS) sobre a morfologia hepática e jejunal de ratos machos Wistar obesos. Os grupos diferiram conforme a alimentação e o tratamento ocorreu por gavagem gástrica: controle água (CC): dieta padrão e 0,1mL/100g de massa corporal de água filtrada; controle Moringa (CM): dieta padrão e solução aquosa de *M. oleifera*; obeso água (OB): dieta RCS e 0,1mL/100g de massa corporal de água filtrada; obeso Moringa (OM): dieta RCS e solução aquosa de *M. oleifera*. Conforme a aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal, aos 150 dias, após anestesia e eutanásia, amostras de fígado e jejuno foram fixadas para processamento histológico e coloração com HE para análises morfológicas e morfométricas e reação histoquímica PAS para quantificação de células calciformes e evidênciação do glicogênio hepático. A *M. oleifera* em ratos obesos promoveu redução da massa corporal, da área dos hepatócitos que aumentaram em densidade. No jejuno houve efeito sobre a espessura das túnicas, parede intestinal e índice de células calciformes.

Conclui-se que a administração oral de *Moringa oleifera* em ratos obesos por 60 dias promoveu alterações morfométricas hepáticas e intestinais, com possíveis repercussões funcionais.

Palavras-chave: Células calciformes, hepatócitos, morfometria.

Agradecimentos: Ao CNPq e Capes pelo apoio financeiro.

CARACTERIZAÇÃO DA RAÇÃO PRODUZIDA COM NÍVEIS CRESCENTES DE GLÚTEN PARA RATOS WISTAR

Anne Caroline Santa Rosa¹, Ghiovani Zanzotti Raniero², Antonio Roberto Giriboni Monteiro³, Leandro Dalcin Castilha⁴, Larissa Carla Lauer Schneider⁵, Maria Raquel Marçal Natali⁶

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

²Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

³Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

⁴Departamento de Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

^{5,6}Departamento de Ciências Morfológicas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

Área de conhecimento: Biologia celular, Morfologia.

O glúten está presente em cereais como trigo, cevada, centeio e aveia. As prolaminas do trigo são do tipo gliadinas, que induzem respostas imunológicas no intestino caracterizando hipersensibilidade não celíaca ao glúten. Atrofia das vilosidades, aumento de linfócitos intra-epiteliais (LIEs), disbiose, e distensão abdominal são manifestações do consumo de glúten. O objetivo desse trabalho foi produzir uma ração com níveis de glúten de trigo: grupo SG (0%), grupo padrão CG (14%) e grupo com sobrecarga de glúten EG (42%) para alimentar ratos Wistar machos por 69 dias. A ração foi produzida com máquina extrusora monorosca no Departamento de Engenharia de Alimentos/UEM. A extrusão é um processo essencial na produção de alimentos, associada à composição química, grau de cozimento, umidade e a expansão, influencia diretamente nos níveis de digestibilidade intestinal dos animais. Os percentuais de carboidratos (79%), proteínas (14,1%) e gorduras (0,4%) foram adequados com base no grupo CG e todas as rações analisadas sob parâmetros zootécnicos no Laboratório de Análise de Alimentos (LANA)/UEM. A energia digestível (ED) disponível para o metabolismo provém da capacidade digestiva (CD) da matéria seca (MS), fator que indica eficiência nutricional. A CD da MS reduziu ($p < 0,05$) no grupo EG comparado ao CG e SG. A ED para os grupos SC, CG e EG foi de 572cal/g, 291cal/g e 467cal/g, respectivamente. Conclui-se que todas as rações com níveis de glúten crescentes para ratos Wistar apresentaram padrões energéticos para manutenção metabólica, entretanto a redução na CD da MS do grupo EG indica menor absorção intestinal.

Palavras-chave: Extrusão, gliadina, intestino delgado.

Agradecimentos: À CAPES pelo apoio financeiro.

EFEITOS DO TEMPO DE TRATAMENTO COM BENZONIDAZOL EM CAMUNDONGOS INOCULADOS POR VIA ORAL POR *Trypanosoma cruzi* II

David Fernandes de Souza^{1,2}, *Ricardo Nascimento Drozino*¹, *Marcella Paula Mansano Sarto*³, *Nilma de Souza Fernandes*¹, *Max Jean de Ornelas Toledo*^{1,3}.

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá-PR.

²Instituto Federal do Paraná, IFPR, Umuarama-PR.

³Departamento de Ciências Básicas da Saúde, UEM, Maringá-PR.

Área de conhecimento: Biologia celular

Camundongos suíços, machos (n=10), receberam por via oral (VO) 1×10^4 tripomastigotas sanguíneos (TS) de *T. cruzi* II (TcII). Três grupos receberam tratamento com BZ (TBZ) 100 mg/kg/dia a partir do 10º dia após a inoculação, por 20, 40 ou 60 dias consecutivos, e três grupos foram mantidos como controles (CNT). Após o tratamento, os animais foram imunossuprimidos com ciclofosfamida 50 mg/kg/dia, por três semanas. A média dos parâmetros período pré-patente (PPP), período patente (PP), pico máximo de parasitemia (Pmax), dia do pico máximo (Dpmax) e área sob a curva de parasitemia (ASC) foram obtidas de sangue coletado antes da imunossupressão. A qPCR foi realizada em sangue coletado antes e após imunossupressão e em tecido cardíaco. Diferenças significativas ($p=0,0002$) foram observadas entre os resultados dos animais TBZ e CNT em 3/4 parâmetros derivados da curva, exceto no PPP. A qPCR apresentou resultado positivo em todas as amostras de sangue dos animais de todos os grupos, com aumento significativo ($p<0,0001$) da carga parasitária (CP) após a imunossupressão (de 5 eq. par/100 ng para 9.000 eq. par/100 ng). Não houve diferença significativa ($p=0,66$) na CP de tecido cardíaco entre grupos tratados nos diferentes tempos e nem com os controles (CP média de 5,5 eq. par/100 ng). As taxas de sobrevivência foram significativamente maiores nos grupos de animais tratados por diferentes tempos, variando de 80 a 100%, do que nos grupos CNT, cuja variação foi de 30 a 50%. O aumento no tempo de tratamento com BZ dos animais infectados por VO com TS de TcII não resultou em cura parasitológica. Entretanto, promoveu uma redução significativa dos parasitos circulantes e da letalidade dos animais tratados.

Palavras-chave: *Trypanosoma cruzi* II, benzonidazol, tempo de tratamento.

Agradecimentos: PROAP/Capes.

EFFECTS OF PROTEIN RESTRICTION ON THE METABOLISM OF ADOLESCENT WISTAR RATS

Gabriel Kian Guimarães Lopes¹; Anna Rebeka Oliveira Ferreira²; Maiara Vanusa Guedes Ribeiro²; Maria Natália Chimirri Peres²; Anna Carolina Huppel de Souza¹; Scarlett Rodrigues Raposo¹; Paulo Cesar de Freitas Mathias¹; Kesia Palma-Rigo²

¹Department of Cell Biology, State University of Maringá, Maringá, Paraná, Brazil.

² Department of Biosciences and Pathophysiology, State University of Maringá, Maringá, Paraná, Brazil

Knowledge area: Cell biology

The DOHaD concept points out that insults such as malnutrition, when occurring in periods of great organ plasticity, such as adolescence, can program for cardiometabolic disorders in adulthood (1). This study aims to evaluate the effect of exposure to a low-protein diet during adolescence on glucose metabolism and biometric and biochemical parameters. The research ethics committee approved the study under CEUA (n^o 2910011021). 30-day-old Wistar rats were fed a low-protein diet (LP, 4% protein) for 30 days. Control animals (NP) were fed a 20.5% protein diet throughout the protocol. Murinometric parameters were evaluated during adolescence and at 60 days the basal plasmatic values of glucose, cholesterol, triglycerides and HDL-cholesterol were quantified from serum samples collected after euthanasia. And at 60 days, glucose concentrations were quantified in animals submitted to both the oral glucose tolerance test and the intraperitoneal insulin tolerance test. The LP group had lower body weight (P=0.0027) and nasal-anal length (P=0.0001), with a reduction in food consumption (P=0.0512). Regarding biochemical dosages, the LP group had higher levels of glucose (P=0.0079), however, levels of triglycerides (P=0.0024), total cholesterol (P=0.0163) and HDL (P< 0.0001) were lower in LP animals. In the assessment of glucose metabolism, the LP group had a lower glucose tolerance (P=0.0183) and a higher insulin tolerance (P=0.0073). Protein restriction induces metabolic, biochemical and biometric dysfunctions during adolescence. Thus, these results demonstrate that malnourished animals are at greater risk for the development of metabolic syndrome in adulthood.

Keywords: DOHaD, cardiometabolic dysfunctions, low protein diet.

Acknowledgments: CNPq, Capes and Jbs.

ECOLOGICAL NICHE MODELS OF *TRYPANOSOMA CRUZI* VETORIAL TRANSMISSION IN PARANÁ-BRAZIL STATE

João Vitor de Souza Trovo¹, Michele Martha Weber Lima^{2,3}, Giullia Ferreira Iunklaus¹, Bianca Prado-Costa³, Taís Protzek Ferreira¹, Renata L. Muylaert⁴, Andrey Jose de Andrade³, Larissa Magalhães Alvarenga³, Max Jean de Ornelas Toledo¹

¹Universidade Estadual de Maringá.

²Secretaria Estadual da Saúde do Paraná.

³Universidade Federal do Paraná.

⁴Massey University (New Zealand).

Área de conhecimento: Biologia celular

Ecological niche models (ENM) correlates environmental aspects with species occurrence data to define the most suitable characteristics for populational maintenance and can be used to control disease risk areas. An analysis of collected data from 2007 to 2013 by ENM suggested that municipalities in central and northern Paraná have a higher climate and landscape suitability for the occurrence of vectors of *Trypanosoma cruzi*, the etiological agent of Chagas disease (CD). To evaluate and compare the areas of vector transmission risk previously predicted by ENM with new triatomine occurrence data from the period 2012 to 2021. The QGIS software (3.22.1) was employed to make risk maps using latitude and longitude data of the municipalities, the triatomine occurrence points and the environmental suitability maps of the State of Paraná created by Ferro e Silva et al. (2018) with climate variables selected and extracted from WorldClim dataset v 1.4 and landscape variables obtained from Earthenv. A total of 1,748 triatomine specimens were found in 43.6% (174/399) of Paraná municipalities, with a general infection rate by *T. cruzi* of 23.7% (397). The nymphs from the intra-domicile showed a higher rate of positivity 30% (29/61), compared to those from the peridomicile 31% (133/246). The adults, on the other hand, showed a higher infection rate in the intra-domicile 24% (195/676) in relation to the peridomicile 12.8% (58/280). Five species were identified: *Panstrongylus megistus* (1,399), *P. geniculatus* (238), *Triatoma sordida* (58), *Rhodnius neglectus* (39) and *R. prolixus* (14). The new occurrences were observed on areas for which suitability values ranged from 0.00 to 1.00 for climate and 0.04 to 0.92 for landscape. The municipalities with higher concentration of new occurrences were in the central, northwestern, northern and northeastern regions of the state, which presented higher environmental suitability ranging from 0.72 to 0.87 and 0.35 to 0.88, respectively for climate and landscape. The same species and order of prevalence were found, showing consistency with predictions and steady trend for risk in the state. The highest occurrences of triatomines were in municipalities of medium to high environmental suitability, showing that the maps generated by ENM from the previous study were good predictors for potential areas of risk of vector transmission of *T. cruzi*, becoming an additional tool to be used in the control of CD. This consistency, however, indicates that further intensive surveillance and preventions should be applied to high-risk areas in order to decrease risk in the future.

Keywords: ENM, climate, landscape, vector transmission, Chagas disease, control.

Support: Capes, CNPq and PROAP.

Piper marginatum* ESSENTIAL OIL INCREASE ROS LEVELS AND INDUCES LIPOPEROXIDATION IN EPIMASTIGOTES OF *Trypanosoma cruzi

Luis Henrique Dalbello Yamashita¹, Caroline Gomes Macêdo², Kelly Christina Ferreira Castro², Marcelo Neves Tanaka³, Edilene Oliveira da Silva³, Tania Ueda-Nakamura¹, Celso Vataru Nakamura¹, Danielle Lazarin-Bidóia¹.

¹Departament of Basic Health Sciences, Universidade Estadual de Maringá, Paraná, Brazil.

²Universidade Federal do Oeste do Pará, Santarém, Pará, Brazil.

³Universidade Federal do Pará, Belém, Pará, Brazil.

Area of knowledge: Cell biology, Protozoology

Trypanosoma cruzi is the etiologic agent of Chagas disease, a neglected tropical disease that affects eight million people worldwide. The search for a new treatment is crucial to improve the prognosis of new and chronic patients. Thus, this study pursues the evaluation of the essential oil of *Piper marginatum* (PO) on the lipid and reactive oxygen species (ROS) constituents of epimastigotes of *T. cruzi*. For this, epimastigotes were treated with benznidazole ($1,67 \mu\text{g mL}^{-1}$), IC_{50} ($36,8 \mu\text{g mL}^{-1}$) and $2 \times \text{IC}_{50}$ ($73,6 \mu\text{g mL}^{-1}$) of PO for 24 h and for detection of ROS, lipid droplets and plasma membrane integrity, parasites were incubated with H_2DCFDA , Nile red and propidium iodide, respectively. The fluorescence was determined by flow cytometry (FACSCalibur flow cytometer (Becton Dickinson, Rutherford, NJ, USA)). Additionally, the lipid bodies increase was observed in Olympus BX51 fluorescence microscope. The levels of lipoperoxidation were determined by the probe 1,3-Bis(diphenylphosphino)propane (DPPP) and fluorescence determined by spectrofluorometer (Victor X3; Perkin Elmer, USA). The treatment with PO increased the levels of ROS, molecules with high reactive potential that can interact with the lipid composition of the cell. This may have led to lipid droplets accumulation and elevation on the levels of lipoperoxidation in epimastigotes. Collectively, ROS possibly affected the integrity of the plasma membrane by disrupting lipid bonding. In conclusion, treatment with PO increased ROS and consequently led to elevation of the production of lipid droplets and lipoperoxidation levels in epimastigotes of *T. cruzi*.

Keywords: Chagas disease, reactive oxygen species, lipid peroxidation.

Acknowledgements: This study was supported by grants of CAPEs, FINEP, Fundação Araucária and CNPq.

ANÁLISE DE ESTRESSE OXIDATIVO NO FÍGADO DE RATOS MACHOS SUBMETIDOS AO HIIT E A DIETA HIPERLIPÍDICA

Melissa Cumani Aragão¹, Diogo Rodrigues Jimenes², Karile Cristina da Costa Salomão³, Camila Quaglio Neves³, Carmem Patrícia Barbosa⁴, Nilza Cristina Buttow^{4}*

¹Acadêmica do Curso de Ciências Biológicas. Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

²Doutorando pelo programa de Pós-graduação em Educação Física. Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

³Doutoranda pelo programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas. Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

⁴ Docente do Departamento de Ciências Morfológicas; Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

Área do conhecimento: Biologia celular

O aumento da obesidade no mundo moderno está associado principalmente ao sedentarismo e ingestão de dietas ricas em gorduras. O fígado é um órgão afetado na obesidade e pode apresentar esteatose. O acúmulo de ácidos graxos no tecido hepático favorece o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio que pode contribuir para a peroxidação lipídica. Deste modo, o objetivo do trabalho foi investigar o efeito do Treinamento Intervalado de Alta Intensidade (HIIT) sobre estresse oxidativo no fígado de ratos machos com obesidade induzida por dieta hiperlipídica com 9 meses de idade. Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais (n=6): dieta padrão e sem treinamento (CP); dieta padrão e treinados com HIIT (CPT); dieta hiperlipídica e sem treinamento (HFDS); dieta hiperlipídica treinado com HIIT (HFDT). Amostras do fígado foram utilizadas para a realização das análises bioquímicas, com mensuração dos níveis de LOOH e GSH, da atividade enzimática de GST e SOD. Os resultados demonstraram uma redução significativa dos níveis de LOOH no grupo CPT em comparação ao CP e HFDS. O GST não apresentou diferença significativa, no entanto, a SOD apresentou aumento significativo no grupo HFDT comparado ao grupo CP. Os níveis de GSH foram menores no grupo HFDT quando comparado ao CP. O treinamento físico altera parâmetros de estresse oxidativo em animais tratados com dieta padrão e hiperlipídica e reduz a peroxidação lipídica em animais treinados e alimentados com dieta padrão, indicando que o HIIT pode ser vantajoso com redução do estresse oxidativo no fígado.

Palavras-chave: Peroxidação lipídica, obesidade, treinamento intervalado de alta intensidade.

Agradecimentos: CAPES e Universidade Estadual de Maringá.

ANÁLISE DE PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS NO FÍGADO DE RATOS COM OBESIDADE INDUZIDA POR DIETA HIPERLIPÍDICA E SUBMETIDOS AO HIIT

Melissa Cumani Aragão¹, Diogo Rodrigues Jimenes², Karile Cristina da Costa Salomão³, Camila Quaglio Neves³, Carmem Patrícia Barbosa⁴, Nilza Cristina Buttow^{4}*

¹Acadêmica do Curso de Ciências Biológicas. Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

²Doutorando pelo programa de Pós-graduação em Educação Física. Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

³Doutoranda pelo programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas. Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

⁴Departamento de Ciências Morfológicas; Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

Área de conhecimento: Biologia Celular

A obesidade contribui para o desenvolvimento de diversas enfermidades. O fígado por suas funções metabólicas é bastante afetado por esta patologia. O consumo elevado de alimentos ricos em gorduras pode desencadear esteatose e até esteatohepatite. Dentre os mecanismos desencadeantes está a inflamação sistêmica. A prática de exercícios físicos é um grande aliado para a perda de peso. O Treinamento Intervalado de Alta Intensidade (HIIT) tem sido utilizado visando a redução das gorduras corporais. Assim, o objetivo deste trabalho foi investigar o efeito do (HIIT) sobre parâmetros inflamatórios do fígado de ratos machos com obesidade induzida por dieta hiperlipídica com 9 meses de idade. Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais (n=6): dieta padrão e sem treinamento (CS); dieta padrão e treinados com HIIT (CT); dieta hiperlipídica e sem treinamento (OS); dieta hiperlipídica e treinado (OT). Amostras do fígado dos animais foram utilizadas para a realização das análises bioquímicas, com mensuração da atividade enzimática das enzimas mieloperoxidase (MPO) e N-acetilglucosaminidase (NAG). A mensuração da atividade da MPO não apresentou diferença significativa entre os grupos, no entanto, a atividade da NAG reduziu no grupo CT comparado com todos os grupos e aumentou no grupo OT quando comparado com os grupos CS e CT. Tendo em vista que a NAG caracteriza a ativação de macrófagos na resposta inflamatória, nossos resultados demonstram que o treinamento apresentou efeito anti-inflamatório no grupo com dieta padrão mas teve efeito inflamatório no grupo obeso treinado.

Palavras-chave: Macrófagos, inflamação, treinamento intervalado de alta intensidade.

Agradecimentos: CAPES e Universidade Estadual de Maringá.

BH7 INDUCES *Trypanosoma cruzi* CELL DEATH THROUGH MITOCHONDRIAL DYSFUNCTION AND CELL CYCLE ARREST

*Raíssa Benan Zara*¹; *Danielle Lazarin-Bidoia*¹; *Vanessa Guimarães Alves-Olher*²; *Fabio Vandresen*³; *Tânia Ueda-Nakamura*¹; *Francielle Pelegrin Garcia*¹; *Celso Vataru Nakamura*¹

¹Laboratory of Technological Innovation for the Development of Pharmaceuticals and Cosmetics, State University of Maringá, Maringá, Paraná, Brazil.

²Department of Chemistry, Federal Institute of Parana, Paranavaí, Paraná, Brazil

³Department of Chemistry, Federal Technological University of Parana, Londrina, Paraná, Brazil

Área de conhecimento: Biologia celular, Protozoologia

Chagas disease is a neglected tropical disease caused by *Trypanosoma cruzi* that affects around 7 million people. Despite ongoing efforts, available treatments are limited and ineffective, especially in the chronic phase. In this study, BH7, a new *n*-acylhydrazone, was evaluated in order to investigate its activity against epimastigotes of *T. cruzi*. The antiproliferative activity was analyzed by XTT method and cytotoxicity in LLCMK₂ was determined by MTT. ROS generation, lipoperoxidation and intracellular ATP levels were measured by fluorescence microplate reader (VICTOR X3, PerkinElmer) using H₂DCFDA, DPPP and CellTiterGlo kit, respectively. Mitochondrial membrane potential and cell cycle were evaluated with Rhodamine 123 and propidium iodide (PI)/RNase, respectively, using flow cytometry (BD FACSCalibur). Compound BH7 showed an IC₅₀ of 4.85 μM against epimastigotes and cytotoxicity of 212.71 μM. In addition, BH7 induced an increase in ROS levels and lipoperoxidation, suggesting an oxidative stress. Further, mitochondrial depolarization was observed in all tested concentrations and, as a consequence, the ATP levels decreased significantly after treatment with 4.85 μM BH7. Cell cycle analysis has shown an arrest to G0/G1 phase. The increase in ROS levels can cause damage to lipids, proteins and DNA and this effect is also associated with disorders in mitochondria, an important energy target. Thus, possibly BH7 by inducing ROS increase, promoted depolarization of the mitochondrial membrane, reduction in ATP levels and DNA damage, leading to cell cycle arrest in the G0/G1 checking phase. Other studies are still needed, however BH7 has shown its potential biological activity against *T. cruzi*.

Palavras-chave: Chagas disease, benzoidrazone, oxidative stress.

Agradecimentos: This research was supported by Capes, CNPq, FINEP and Pronex/Fundação Araucária, COMCAP-UEM.

ACET-1 CAUSES DIFFERENT BIOCHEMICAL RESPONSES IN PARASITIC FORMS OF *Trypanosoma cruzi*

Rayanne Regina Beltrame Machado¹, Danielle Lazzarin Bidóia¹, Deysiane Lima Salvador², Maria Helena Sarragiotto², Celso Vataru Nakamura¹

¹Department of Basic Health Sciences, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brazil

²Department of Chemistry, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brazil

Knowledge area: Cell Biology, Protozoology

Chagas disease, one of the neglected tropical diseases according to the World Health Organization, is caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi* and about 10,000 new cases occur per year. Despite continuous efforts, the current treatment is unsatisfactory, especially in the chronic phase of the disease, besides being highly toxic. In response, our research group demonstrated interesting trypanocidal activity of thiophene substance ACET-1 (4-(5'-formyl-[2,2'-bithiophen]-5-yl)but-3-yn-1-yl acetate) on the main parasitic forms of *T. cruzi*: epimastigote, amastigote and trypomastigote. Therefore, this study aimed to evaluate the biochemical effects of ACET-1 in *T. cruzi* in order to investigate the mechanism of action of the thiophenic substance. For this, the parasites were treated with IC₅₀ and 2xIC₅₀ of ACET-1 for 24 h, with respective values of each parasitic form (46,4 and 92,8 µM for epimastigotes, 78,9 and 157,8 µM for trypomastigotes, 115 and 230 µM for amastigotes), and the reactive oxygen species (ROS), nitrogen species (RNS) and mitochondrial membrane potential ($\Delta\Psi_m$) were analyzed in FACSCalibur flow cytometer equipped with CellQuest software. Our results showed that ACET-1 induced an increase in ROS in amastigotes and an increase in RNS in amastigotes and trypomastigotes, and simultaneously caused depolarization of the mitochondrial membrane in the three parasitic forms evaluated. In conclusion, the results demonstrated that ACET-1 causes parasite death in different ways, since the parasite has different metabolisms, dependent on the phase of the cycle and in which host they are.

Keywords: Chagas disease, mechanism of action, thiophenes.

Acknowledgements: This study was supported by grants of CAPES, CNPq, FINEP and Fundação Araucária.

EFEITOS DO GOJI BERRY (*Lycium barbarum*) SOBRE A MORFOMETRIA E INERVAÇÃO INTRÍNSECA DO COLO PROXIMAL DE RATOS WISTAR OBESOS

Samara Cristina Dossena¹, Isabela Ramos Mariano Furlan¹, Maria Montserrat Diaz Pedrosa², Rosângela Fernandes Garcia², Fernando Carlos de Sousa³, Maria Raquel Marçal Natali⁴

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Maringá¹, Maringá, Paraná, Brasil.

² Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Estadual de Maringá¹, Maringá, Paraná, Brasil.

³ Universidade Tecnológica Federal do Paraná², Dois Vizinhos, Paraná, Brasil.

⁴ Departamento de Ciências Morfológicas, Universidade Estadual de Maringá¹, Maringá, Paraná, Brasil.

Área de conhecimento: Biologia celular

O Goji Berry (GB), um fruto tradicional da medicina chinesa, vem sendo amplamente estudado por apresentar potenciais efeitos benéficos para com a saúde, com ação anti-obesogênica e anti-inflamatória. A obesidade é um problema de saúde mundial, de caráter inflamatório com possíveis repercussões sobre a morfologia e a motilidade intestinal. A fim de investigar os efeitos do GB na morfometria e inervação intrínseca do colo proximal (CP), 50 ratos Wistar machos foram distribuídos em 5 grupos com o delineamento experimental aprovado pelo Comitê de Ética da UEM. Os grupos CA e CGB foram alimentados com dieta padrão para roedores e receberam gavagem gástrica com água (CA) e extrato de GB (CGB) na dose de 250 mg/kg, por 60 dias. Os grupos OA, OGB e OPR foram alimentados com dieta rica em carboidratos simples (DRCS) e receberam gavagem com água (OA) e GB por 60 (OGB) e 109 dias (OPR). A DRCS reduziu o comprimento do CP, entretanto não teve efeito sobre o tempo de trânsito gastrointestinal e espessura da parede total intestinal, túnica mucosa e muscular. Também não causou alterações na densidade glial e neuronal do plexo mioentérico que apresentou maior incidência de neurônios pequenos. O tratamento com GB não teve efeito significativo nos parâmetros citados, já a profilaxia teve tendência a restaurar o comprimento do CP e aumentou a incidência de neurônios grandes. Conclui-se que a administração profilática do Goji Berry apresentou efeito sobre a biometria do colo proximal e área do corpo celular neuronal de ratos obesos.

Palavras-chave: Goji Berry, obesidade, sistema nervoso entérico

Agradecimentos: As agências financiadoras CAPES e CNPq, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas e a Universidade Estadual de Maringá.

***Urbanorum* spp.: REVIEW OF THE LITERATURE**

Veridiana Lenartovicz Boeira^{1,2}, Marina Silva de Carvalho², Cristiane Maria Colli¹ e Max Jean de Ornelas Toledo¹

¹Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá (UEM), Brasil.

²Curso de Farmácia, Centro de Ciências Médicas e Farmacêuticas da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Brasil.

Área de conhecimento: Biologia celular

Intestinal parasites clinical manifestations and epidemiology are well known, however, little is known about *Urbanorum* spp., a recently described protozoan parasite of the human intestine, emerging in South America. This work presents a literature review on cases of infection by this protozoan. The literature review involved a search in several research databases (MedLine, PubMed, Lilacs, Scielo), using the terms *Urbanorum* spp and parasite(s). The reports of cases of infection by *Urbanorum* spp began in 2013 in Colombia and, since then, 12 publications appear in the searched databases, eight of them in Brazil. *Urbanorum* spp. is a protozoan that has been described in human fecal samples as a rounded structure with a diameter between 50 and 100 µm and which when stained with lugol has a yellow color content and a double outer membrane with pores through which hyaline structures emerge, pseudopod-like. In addition to the high prevalence of intestinal parasites still existing in South America, we are faced with the need to correctly identify this pathogen. Studies like this seek to arouse interest in further studies regarding the morphological, ultrastructural and molecular characteristics, as well as possible reservoirs of this protozoan.

Key words: *Urbanorum* spp., protozoan infections, public health.

Área de conhecimento: Biologia Molecular

DETERMINAÇÃO DA EXPRESSÃO E ATIVIDADE *IN VIVO* DAS ENZIMAS GLUTAMINA SINTETASE E ASPARAGINA SINTETASE DE *Herbaspirillum seropedicae*.

Amanda Ruoso Lazzari Almeida¹, Eduardo Lênnyn dos Santos Campos¹; Larissa Fonseca Tomazini¹, Marco Aurélio Schüler de Oliveira¹

¹Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá – Maringá, Paraná, Brasil.

Área de conhecimento: Biologia molecular

A bactéria *Herbaspirillum seropedicae* é capaz de fixar nitrogênio e colonizar os tecidos internos de plantas com interesse econômico, estimulando o crescimento do hospedeiro. Uma das possibilidades para aumentar o potencial biofertilizante dessa bactéria consiste na manipulação genética das vias de assimilação de amônio. A via de assimilação de amônio mais bem estudada possui a enzima Glutamina Sintetase (GS). Porém, recentemente foram encontrados no genoma de *H. seropedicae* quatro genes codificadores da Asparagina Sintetase (AS), uma enzima que pode assimilar amônio em algumas condições. No entanto, o envolvimento dessas 4 isoformas na assimilação do amônio em *H. seropedicae* é desconhecido. Dentro desse contexto, o presente trabalho tem como principal objetivo determinar o padrão de expressão dos quatro genes codificadores da enzima AS e de GS, bem como a atividade *in vivo* dessas enzimas em condições de alto e baixo nitrogênio. Para isso, primeiramente foi determinada a atividade *in vivo* da GS da estirpe selvagem de *H. seropedicae*. A reação biossintética mostrou GS mais ativa em baixo nitrogênio. Os ensaios de atividade indicaram, ainda, que a GS se encontra adenilada em condições de alto nitrogênio. A expressão de GS foi quantificada nas condições de nitrogênio por western blot. Para a quantificação da expressão de GS e AS no nível transcricional, o RNA da bactéria crescendo nas diferentes condições de nitrogênio foi extraído, o cDNA sintetizado, e os primers da qPCR testados por PCR convencional. Na próxima etapa, a quantificação da expressão será feita através de RT-qPCR utilizando os cDNAs já obtidos.

Palavras-chave: *Herbaspirillum seropedicae*, asparagina sintetase, RT-qPCR.

Agradecimentos: CAPES, CNPq, Laboratório de Bioquímica de Procariotos (DBQ), Programa de pós-graduação em Biologia celular.

ANÁLISE DA LIGAÇÃO DE ATP E ADP NO DOMÍNIO AR DA ENZIMA GlnE DE *Herbaspirillum seropedicae*

Eduardo Sabatine Lopes¹, Larissa Fonseca Tomazini¹, Marco Aurelio Schüler de Oliveira¹

¹Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

Área de conhecimento: Biologia molecular e bioquímica

A enzima bifuncional GlnE é responsável pela regulação pós-traducional, uma adenililação reversível, da enzima Glutamina Sintetase (GS), que constitui a principal via de entrada de amônio em bactérias, em resposta aos níveis nitrogênio intracelulares: em condições de alto nitrogênio, GlnE tem sua atividade transferase (ATase) ativada e catalisa a adenililação de GS, inibindo sua atividade. Em condições de baixo nitrogênio, GlnE tem sua atividade removedora (AR) ativada, catalisando a desadenililação de GS, aumentando a atividade dessa enzima. Como as atividades de GlnE são opostas, é necessária uma regulação fina para evitar um ciclo fútil. Anteriormente, em nosso laboratório, foi demonstrado que a atividade AR é estritamente dependente de ATP em *Herbaspirillum seropedicae*, uma bactéria diazotrófica promotora do crescimento vegetal. Neste estudo, nós utilizamos Fluorimetria Diferencial de Varredura (DSF) para investigar a interação de ATP e ADP com o domínio AR truncado de GlnE, expresso heterologicamente. Nossos resultados indicam que o domínio AR pode ligar ATP e ADP, sendo o K_d aparente para ADP maior que para ATP. Além disso, demonstramos que ATP e ADP competem pelo mesmo sítio de ligação, sugerindo a existência de um sítio de sensibilidade à razão ATP:ADP. Em nosso conhecimento, a existência do sítio sensível à energia em GlnE ainda não havia sido demonstrada para outros organismos, sugerindo um mecanismo regulatório inédito.

Palavras-chave: GlnE, DSF, Sistema Ntr.

Agradecimentos: CAPES e CNPq.

CARACTERIZAÇÃO DA ENZIMA GLUTAMINA SINTETASE DE *AZOSPIRILLUM BRASILENSE*

Eduardo Sabatine Lopes¹, Bárbara Barizão Nogueira¹, Larissa Fonseca Tomazini¹, Marco Aurelio Schüller de Oliveira¹

¹Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil.

Área de conhecimento: Biologia molecular e bioquímica

Azospirillum brasilense é uma bactéria fixadora de nitrogênio capaz de promover o crescimento e desenvolvimento vegetal de cultivares de interesse agroindustrial, como soja e milho. Entretanto, para os processos envolvidos na biofertilização sejam otimizados, é necessário a descrição detalhada do metabolismo de nitrogênio desses organismos. Nas bactérias, a enzima Glutamina Sintetase (GS) constitui a principal via de entrada de nitrogênio no metabolismo pela síntese de glutamina e está sujeita a forte regulação alostérica e pós-traducional, a adenililação reversível catalisada pela enzima bifuncional GlnE. Nesse trabalho, nós expressamos e purificamos a enzima GS em diferentes estados de modificação pós-traducional e determinamos os parâmetros ótimos para testes de atividade *in vitro*. Posteriormente, nós expressamos e purificamos a enzima GlnE de *A. brasilense* e conduzimos ensaios de desadenililação de GS. Nossos resultados sugerem que a GlnE pode ser estimulada por ATP e por 2-OG de maneira sinérgica e sem a necessidade de outras proteínas regulatórias, como ocorre em outros organismos. Os sinais que indicam o *status* de energia (ATP) e do balanço C/N (2-OG) aparentam ser integrados diretamente por GlnE indicando a existência de um mecanismo regulatório nunca antes descrito.

Palavras-chave: Glutamina Sintetase, GlnE, *Azospirillum brasilense*.

Agradecimentos: CAPES e CNPq.

***Toxoplasma gondii* DNA RESEARCH IN ENVIRONMENTAL SAMPLES IN AN OUTBREAK OF TOXOPLASMOSIS IN THE CITY OF IGUAARAÇU (PR)**

Fernanda Ferreira Evangelista¹, Luana Aparecida Maia¹, Cristiane Maria Colli¹

Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Brasil

Knowledge area: Molecular biology

Toxoplasmosis is a disease caused by the parasite *Toxoplasma gondii*, which has humans as one of its intermediate hosts, and felines as definitive hosts. All research in the area of toxoplasmosis is extremely important, since it is one of the most dispersed zoonoses in the world. Infection occurs through ingestion of poorly washed food, or ingestion of water contaminated with *T. gondii* oocysts, or even meat from contaminated animals, containing parasite cysts. Transplacental infection may also occur. This study was developed in order to investigate a possible source of environmental infection, in an outbreak of toxoplasmosis that affected a family residing in the rural area of Iguaaraçu, Paraná, Southern Brazil. *T. gondii* DNA was investigated by PCR (polymerase chain reaction) in soil and water samples collected at the outbreak site. The samples collected were taken to the Laboratory of Environmental and Food Parasitology of the State University of Maringá, for analysis, following the Protocols for Investigation of *T. gondii* in environmental and food samples of the Ministry of Health, from the year 2020. In the environmental risk factors investigated, *T. gondii* DNA was not identified through conventional PCR, therefore, it is believed that this infection was caused by some uninvestigated factor or external to the home, arising the need for further study in the region and investigation into the origin of the food consumed by the family.

Keywords: Toxoplasmosis. Investigation. Ground. Water. Zoonoses. PCR.

VIRULENCE OF THE COLOMBIAN STRAIN OF *Trypanosoma cruzi* I INOCULATED IN BALB/C MICE BY DIFFERENT ROUTES

Giullia Ferreira Iunklaus¹, João Vitor de Souza Trovo¹, Max Jean de Ornelas Toledo¹.

¹Universidade Estadual de Maringá – UEM.

Knowledge area: Molecular biology

Outbreaks of acute Chagas disease acquired by oral (OR) route have been frequently reported over the last decades in some regions of South America. However, in the majority of experimental studies the mice are inoculated by intraperitoneal route (IP). The aim of this work was to analyze comparatively the infectivity and virulence of the Colombian strain of *T. cruzi* for mice inoculated by OR, intragastric (IG) and IP routes. Male, isogenic BALB/c mice, 28 days, were divided into three experimental groups of 10 animals each, according to the inoculation route. The animals received 2×10^6 culture-derived metacyclic trypomastigotes in 0.1 mL of LIT medium. The infectivity rate and the parasitemia was daily determined by fresh blood examination (FBE) from the 5th day of infection (d.i.). The means for pre-patent period (PPP), patent period (PP), maximum peak parasitemia (Pmax), day of maximum peak (Dpmax) and area under the parasitemia curve were obtained. The percentage of animals with positive FBE was 100% and the mortality rate was 0% for the three groups. We observed oscillating and long-term parasitemia profiles, an earlier Dpmax (at 19 d.i.) in animals inoculated by IG and OR routes than in animals IP inoculated (at 48 d.i.), and lower levels of parasitemia in animals inoculated by the IG route. Comparisons of the means showed significant differences between the three groups for PPP ($p < 0.0001$), PP ($p < 0.0269$). Therefore, the infection by the IP route was more virulent, with earlier parasitemia and longer PP in relation to the OR and IG routes.

Keywords: Oral Chagas disease, Tci, parasitemia.

Acknowledgements: We thank CAPES and PROAP for the financial support.

ALTERAÇÕES HEPÁTICAS EM CAMUNDONGOS INOCULADOS POR VIA ORAL COM *Trypanosoma cruzi* II TRATADOS COM BENZONIDAZOL

*Hevillyn Fernanda Lucas da Silva*¹; *Marcella Paula Mansano Sarto*¹; *Ana Paula de Abreu*¹; *Nilma de Souza Fernandes*²; *João Vitor de Souza Trovo*¹; *Ingrid Giarola Matias dos Santo*¹; *Aline Francieli da Silva*³; *Alice Maria de Souza-Kaneshima*³; *Jurandir Fernando Comar*^{2,3}; *Max Jean de Ornelas Toledo*^{1,2,4}

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Maringá.

²Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Maringá.

³Departamento de Bioquímica, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Maringá.

⁴Departamento de Ciências Básicas da Saúde, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Maringá.

Área de conhecimento: Biologia molecular e bioquímica.

Na doença de Chagas (DC), causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, a infecção pela via oral, tem sido a forma de transmissão mais frequente, associada a maior gravidade e pior resposta ao benzonidazol (BZ), fármaco utilizado no tratamento da DC. Objetivou-se avaliar o impacto de infecção por via oral (VO) e do tratamento com BZ, sobre as alterações hepáticas de camundongos inoculados com *T. cruzi* II. Camundongos swiss foram inoculados por VO e por via intraperitoneal (IP) com 2×10^6 tripomastigotas metacíclicos de cultura da cepa Y (TcII) de *T. cruzi*. O tratamento com BZ (100 mg/Kg/dia, 20X). Para confirmar a infecção e os efeitos do tratamento, foram realizados exame de sangue a fresco, qPCR, avaliações bioquímicas (dosagens enzimáticas e estresse oxidativo) e análises histopatológicas. Os parâmetros parasitológicos mostraram que os animais infectados com a cepa Y por via IP apresentaram maior virulência. O tratamento com BZ dos animais controles não infectados causou aumento da atividade das enzimas AST e ALT mostrando que a droga sozinha afeta o fígado. O que também foi confirmado pelo aumento do estresse oxidativo (EO) do fígado destes animais, e pelas análises histopatológicas. As infecções de camundongos pela via IP foram mais virulentas do que as infecções adquiridas por VO. A infecção pela cepa Y de *T. cruzi* pelas vias oral e IP causou mais danos hepáticos que o tratamento etiológico. Entretanto, o tratamento com BZ reduziu os parâmetros de EO nos animais infectados, promovendo benefícios aos animais tratados.

Palavras-chave: *Trypanosoma cruzi*, doença de Chagas oral, benzonidazol.

Agradecimentos: Fundação Araucária de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Paraná, PROAP/UEM e CNPq.

EVALUATION OF HEPATIC AND HISTOPATHOLOGICAL CHANGES IN MICE INFECTED ORAL ROUTE WITH *Trypanosoma cruzi* IV AND TREATED WITH BENZNIDAZOLE

*Ingrid Giarola Matias dos Santos*¹, *Hevillyn Fernanda Lucas da Silva*³, *Marcella Paula Mansano Sarto*³, *Ana Paula de Abreu*³, *Nilma de Souza Fernandes*⁴, *Aline Francieli da Silva*², *Alice Maria de Souza-Kaneshima*¹, *Jurandir Fernando Comar*^{2,4}, *Max Jean de Ornelas Toledo*^{1,3,4}

¹Departamento de Ciências Básicas da Saúde, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Maringá.

²Departamento de Bioquímica, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Maringá.

³Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Maringá.

⁴Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Maringá.

Knowledge area: Molecular biology and biochemistry.

Chagas disease, caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi*, manifests essentially in the heart, causing myocarditis. However, liver damage is also linked to the acute phase of infection. The most recurrent form of transmission of the parasite is the oral route (OR), which can progress to a more severe infection, affecting the liver in a different way. Its treatment is based on the use of benznidazole (BZ), which has high toxicity, causing important adverse reactions. Swiss mice were inoculated OR and intraperitoneally (IP) with 2×10^6 culture-derived metacyclic trypomastigotes of the BZ-resistant strain AM14 (TcIV) and treated with this drug (BZ 100 mg/kg/day, 20X) from 5th day of infection. A fresh blood test and qPCR were performed to determine the parasite load, in addition to immunosuppression with cyclophosphamide after the etiological treatment. The effects of infection and treatment were evaluated by measuring liver enzymes and histopathological analysis, after staining with hematoxylin-eosin. The OR infection was more virulent than the IP route, with parasitemia levels up to 2.5 times higher, in addition to the presence of amastigote forms in the heart tissue, indicating greater virulence of the AM14 strain by OR. In both inoculation routes, an intense inflammatory process was observed in both hepatic and cardiac tissue. However, changes in plasma levels of the ALT enzyme were found only in animals infected OR. Severe and moderate inflammatory process were also observed in the BZ-treated and immunosuppressed groups, indicating drug toxicity.

Keywords: *Trypanosoma cruzi*, oral Chagas disease, benznidazole.

Support: Araucária Foundation for Support to Scientific and Technological Development of Paraná, PROAP/UEM and CNPq.

A BIOSÍNTESE DE ACETIL-COA EM *Herbaspirillum seropedicae* É REGULADA PELA PROTEÍNA PII

Larissa Fonseca Tomazini¹, Eduardo Sabatine Lopes¹, Isabela de Carvalho Contesoto, Marco Aurélio Schuler de Oliveira¹

¹ Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

Área do conhecimento: Biologia molecular

A família de proteínas PII regula a atividade de muitas enzimas-alvo por interação direta proteína-proteína. Essas proteínas têm sido descritas como importantes reguladores do metabolismo do nitrogênio. No entanto, evidências recentes têm mostrado que as proteínas PII podem também regular o metabolismo do carbono, sugerindo uma regulação mais ampla da família de proteínas PII. Recentemente, nosso grupo identificou, através de um interatoma, a interação entre a proteína PII GlnB com a proteína fosfotransacetilase, Pta, da bactéria fixadora de nitrogênio *Herbaspirillum seropedicae*. A proteína Pta catalisa a interconversão reversível de acetil-CoA e acetil fosfato. O balanço das reações diretas e inversas é essencial para a adaptação das bactérias aos diferentes ambientes. Nosso objetivo aqui foi mostrar a regulação *in vitro* da proteína Pta de *H. seropedicae* por GlnB. Para isso nós superexpressamos e purificamos as proteínas recombinantes e testamos a reação de acetil-CoA catalisada por Pta na presença de GlnB e seus efetores alostéricos ATP, ADP e 2-oxoglutarato (2-OG). Nossos resultados sugerem que GlnB inibe a síntese de acetil-CoA aumentando o Km da enzima na presença de ATP e ADP. A interação entre GlnB e Pta foi interrompida pelo 2-OG na presença de ATP, liberando o efeito inibitório. A forma uridililada de GlnB, por outro lado, não foi capaz de inibir a atividade de síntese de Pta acetil-CoA. Em conjunto, os resultados aqui relatados indicam que a proteína GlnB não modificada controla a biossíntese de Acetil-CoA em *H. seropedicae*.

Palavras-chave: PTA, GlnB, *Herbaspirillum seropedicae*.

Agradecimentos: CAPES, CNPq.

IDENTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS DE *Herbaspirillum seropedicae* QUE INTERAGEM COM A PROTEÍNA GlnB ATRAVÉS DE ESPECTROMETRIA DE MASSAS

Larissa Fonseca Tomazini¹, Eduardo Sabatine Lopes¹, Josielle Abrahão de Souza¹, Rogério Marchiosi¹, Marco Aurélio Schuler de Oliveira¹.

¹ Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil.

Área do conhecimento: Biologia molecular

O metabolismo de nitrogênio em bactérias é controlado pelo sistema Ntr, que sensoria a qualidade e quantidade do nitrogênio ambiental e modula o metabolismo para se ajustar a essas condições. As proteínas da família PII tem um papel central nesse sistema: são transdutoras de sinal, que regulam proteínas-alvo através de interação física. As proteínas PII são sensíveis às razões ATP/ADP e 2-OG/glutamina, integrando essas informações moleculares para regular o metabolismo. Evidências recentes indicam que, além de regular o metabolismo de nitrogênio, as proteínas PII têm um papel mais amplo que o já classicamente descrito, podendo atuar como um regulador em diversas vias. Portanto, desejamos entender melhor a função regulatória de PII através da rede interações da proteína GlnB da bactéria *Herbaspirillum seropedicae*. No presente trabalho, o objetivo era determinar o interatoma da proteína GlnB ligada aos efetores alostéricos ATP/2-OG. Para isso, foi realizada uma cromatografia de afinidade de um extrato de proteínas solúveis de *H. seropedicae* com a proteína GlnB imobilizada em uma coluna na presença de ATP/2-OG, seguida de eluição com ADP. As proteínas eluídas foram submetidas a um SDS-PAGE. Após a confirmação da eluição, as frações contendo proteínas de interesse foram precipitadas e submetidas a digestão proteica. Os peptídeos gerados foram injetados no espectrômetro de massas nanoACQUITY (Waters). Dessa forma, cerca de 200 proteínas foram identificadas, entre elas enzimas importantes no metabolismo de nitrogênio, de carbono e de síntese de aminoácidos. O papel regulatório das proteínas PII nessas vias metabólicas será descrito na continuidade do trabalho.

Palavras-chave: Interatoma; PII; *Herbaspirillum seropedicae*.

Agradecimentos: CAPES, CNPq.

REGULAÇÃO DA ENZIMA GLUTAMINA SINTETASE PELA ENZIMA GlnE DE *Herbaspirillum seropedicae*

Larissa Fonseca Tomazini¹, Eduardo Sabatine Lopes¹, Marco Aurélio Schuler de Oliveira¹

¹ Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil.

Área de conhecimento: Biologia molecular

A principal enzima para assimilação de amônio em bactérias é a Glutamina Sintetase (GS), que catalisa a aminação irreversível do glutamato para formar glutamina. Em bactérias, o fluxo metabólico através dessa via geralmente é regulado através da adenililação reversível da enzima GS. Ambas as atividades, adenilil transferase (ATase) e a remoção de adenilil (AR) da GS, são catalisadas pela mesma enzima bifuncional, denominada GlnE. Aqui, nós caracterizamos *in vitro* a regulação de GlnE de *Herbaspirillum seropedicae*, uma bactéria fixadora de nitrogênio. Para isso, nós clonamos os genes codificadores de GS e GlnE em vetores de expressão, expressamos e purificamos as formas recombinantes dessas proteínas, as quais tiveram sua atividade testada *in vitro*. Os resultados indicaram que as proteínas PII de *H. seropedicae*, GlnB e GlnK, são capazes de estimular a atividade ATase de GlnE, embora não sejam estritamente necessárias. Na presença das proteínas PII, a atividade ATase foi inibida pelo 2-oxoglutarato. Além disso, o ATP parece inibir a atividade ATase de GlnE. A atividade AR de *H. seropedicae* GlnE, por sua vez, é ativada por ATP e inibida por ADP, e não foi estimulada pelas proteínas PII, seja nas formas não modificadas, como também uridililadas, diferentemente de outros ortólogos de GlnE relatados na literatura. Os resultados permitiram a elaboração de um modelo de regulação da enzima GS de *H. seropedicae* pela razão ATP:ADP, sugerindo que a assimilação de amônio nesse organismo é sensível ao status energético da célula.

Palavras-chave: Glutamina Sintetase, GlnE, *Herbaspirillum seropedicae*.

Agradecimentos: CAPES, CNPq.

AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS PARASITOLÓGICOS EM CAMUNDONGOS INFECTADOS POR VIA ORAL E INTRAPERITONEAL COM *Trypanosoma cruzi* E TRATADOS COM ASSOCIAÇÃO DE BENZONIDAZOL E ICM-20a

*Marcella Paula Mansano Sarto*¹, *Hevillyn Fernanda Lucas da Silva*¹, *Danielle Lazzarin Bidóia*², *Marcelo Eduardo Cardozo*¹, *Sueli de Oliveira Silva Lautenschlager*¹, *Celso Vataru Nakamura*², *Max Jean de Ornelas Toledo*^{1,2}

¹Departamento de Ciências Básicas da Saúde, Universidade de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

²Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

Área do conhecimento: Biologia molecular

Os medicamentos disponíveis para o tratamento da doença de Chagas (DC) apresentam eficácia limitada, fazendo-se necessária a busca por alternativas terapêuticas mais eficazes. Avaliamos a parasitemia de camundongos inoculados por via oral (OR) e intraperitoneal (IP) com *Trypanosoma cruzi*, tratados com a associação de benzonidazol (BZ) e ICM-20a. Camundongos Balb/c foram inoculados com 2×10^6 tripomastigotas metacíclicos de cultura da cepa colombiana. Foram avaliados os grupos: Não infectado e não tratado (NT); infectado por IP e OR e NT; infectado OR e tratado com BZ 100 mg; infectado OR e IP e tratado com ICM-20a; infectado OR e IP e tratado com ICM-20a+BZ 5 mg. A partir do 3º dia após a inoculação (dpi) foi realizado o exame de sangue a fresco para obter a média dos parâmetros: período pré-patente (PPP), período de patente (PP), pico máximo de parasitemia (Pmax) e dia de parasitemia máxima (Dpmax). As substâncias foram administradas por gavagem por 20 dias consecutivos, a partir do 5º dpi. O PPP foi de 14,9 e 8,3 dias ($p=0,001$), o PP de 9,3 e 21,3 dias ($p=0,01$), o Pmax de 5.805 e 9.288 tripomastigotas sanguíneos/0,1 mL de sangue ($p=0,008$) e o Dpmax ocorreu em torno de 19 dpi e 14,7 dpi ($p=0,001$), respectivamente para os grupos OR-NT e IP-NT. Animais OR tratados com BZ 100 mg e com a associação ICM-20a+BZ 5 mg apresentaram supressão da parasitemia e redução significativa ($p<0,0001$) dos parâmetros avaliados. A associação (ICM-20a+BZ 5 mg) promoveu supressão da parasitemia, confirmando seu efeito sinérgico in vivo.

Palavras-chave: Doença de Chagas, Associação de fármacos, Infecção oral.

Agradecimentos: À Fundação Araucária de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Paraná, PROAP/UEM e CNPq.

AVALIAÇÃO DO EFEITO IN VIVO DE ICM-20A COM E SEM BENZNIDAZOL CONTRA CEPA DE *Trypanosoma cruzi* RESISTENTE A DROGAS EM MODELO EXPERIMENTAL MURINO DE DOENÇA DE CHAGAS CRÔNICA

*Marcelo Eduardo Cardozo*¹, *Marcella Paula Mansano Sarto*², *Danielle Lazarin Bidóia*³, *Celso Vataru Nakamura*³, *Sueli de Oliveira Silva Lautenschlager*², *Max Jean de Ornelas Toledo*^{2,3}

¹Department of Clinical Analysis and Biomedicine, University of Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

²Department of Basic Health Sciences, University of Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

³Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá-PR

Knowledge area: Cellular and Molecular Biology

Os medicamentos disponíveis para o tratamento da doença de Chagas (DC), apresentam eficácia limitada e efeitos colaterais significativos, tornando essencial a busca por opções terapêuticas mais eficazes. O estudo teve como objetivo avaliar os efeitos do tratamento da associação de benznidazol (BNZ) e ICM-20a em camundongos inoculados com *Trypanosoma cruzi* durante a fase crônica da infecção. Camundongos Balb/C foram divididos nos seguintes grupos: 1) Não infectados e não tratados (NI); 2) Infectados e não tratados (NT); 3) Infectado e tratado com BNZ 100 mg/kg/dia; 4) Infectado e tratado com ICM20a; 5) Infectado e tratado com ICM20a + BZ 5 mg/kg/dia. Os animais foram inoculados intraperitonealmente com 500 tripomastigotas sanguíneos da cepa colombiana de *T. cruzi* e submetidos a exame de sangue fresco. Aos 60 dias após a inoculação (dpi) não foram observados parasitas no sangue, caracterizando a fase crônica da infecção experimental, e os tratamentos foram iniciados por 20 dias consecutivos. O sangue, coração e músculo esquelético (MS) dos animais foram submetidos a avaliações por qPCR. O tratamento com ICM20a promoveu redução ($p \leq 0,0001$) da carga parasitária (PC) detectada por qPCR no sangue e tecido cardíaco em relação aos animais NT e animais tratados com BNZ 100 mg. O tratamento com ICM20a+BZ 5 mg promoveu redução ($p \leq 0,0001$) da PC nos três tipos de tecido em relação aos animais NT, e no sangue e coração em relação aos tratados com BZ 100 mg. Os tratamentos avaliados promoveram redução da PC sem resultar em cura parasitológica. No entanto, a combinação ICM20a+BZ 5 mg promoveu maior redução da PC e nos três diferentes tecidos, necessitando de maiores investigações sobre o uso dessa associação como potencial alternativa de tratamento para DC.

Keywords: Chagas disease, drug combination, mice.

Acknowledgments: À Fundação Araucária de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Paraná, PROAP/UEM e CNPq.

EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR DE *Ascaris* sp EM ALDEIA INDÍGENA GUARANI DO SUL DO BRASIL: AMOSTRAS DE FEZES HUMANAS, DE SUÍNOS E DO SOLO

Veridiana Lenartovicz Boeira^{1,2}, Marina Silva de Carvalho², Ana Paula de Abreu³, Renata Coltro Bezagio³,
Cristiane Maria Colli¹, Max Jean de Ornelas Toledo^{1,3}

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas - Universidade Estadual de Maringá. Maringá, Paraná, Brasil.

²Curso de Farmácia. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Cascavel, Paraná, Brasil.

³Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde –Universidade Estadual de Maringá. Maringá, Paraná, Brasil.

Área de conhecimento: Biologia molecular

Ascaris lumbricoides é um parasito humano que infecta bilhões de pessoas em todo o mundo e *Ascaris suum* é um parasito de suínos que afeta milhões de animais. A investigação epidemiológica molecular do gênero *Ascaris* tem estimulado pesquisas desde que a infecção cruzada entre os hospedeiros foi reportada. Estudou-se a dinâmica da transmissão de *Ascaris* em população indígena guarani de uma aldeia do Paraná, Sul do Brasil. Realizaram-se análises de amostras fecais humanas, de suínos e do solo da aldeia por métodos parasitológicos e moleculares para determinar possíveis fatores de risco para infecção. Nas análises parasitológicas das amostras fecais humanas a positividade para *A. lumbricoides* foi de 4,0% (3/75), em amostras fecais de suínos 57,1% (8/14) foram positivas para *A. suum*. No solo, em 11,8% (8/68) amostras haviam ovos de *Ascaris* sp. Na análise molecular por PCR do gene ITS1 com amostras positivas no parasitológico, as três amostras humanas apresentaram banda de 396 pares de base (pb) característica da espécie *A. lumbricoides*, de 4 amostras de suínos analisadas, 4 apresentaram banda de 178 pb característica da espécie *A. suum* e no solo, três amostras apresentaram banda de *A. lumbricoides*, duas de *A. suum* e uma apresentou ambas as bandas. Os resultados não mostram infecção cruzada entre as duas espécies hospedeiras nesta aldeia. O solo está contaminado por fezes humanas e suínas, sendo fonte de infecção para ambos os hospedeiros. Medidas de controle mais eficazes e direcionadas podem ser implementadas, resultando em melhorias nas condições de vida dessa população.

Palavras-chave: *Ascaris* sp, biologia molecular, ITS1.

Agradecimentos: PROAP/Capes, PROEXT/MEC.

Área de conhecimento: Bioquímica

PROSPECTING INHIBITORS OF THE PHOSPHOENOLPYRUVATE CARBOXYLASE *IN SILICO*

Amanda Castro Comar¹, Paulo Sérgio Alves Bueno¹, Erika Wakida¹, Wanderley Dantas dos Santos¹

¹Department of Biochemistry, State University of Maringá, Maringá, Paraná, Brazil

Knowledge area: Biochemistry

Resistant weeds have evolved due to the repeated use of herbicides with the same mechanism of action. This highlights the importance of discovering new active principles that act on different cellular targets. The inhibition of enzymes in charge of the C4 metabolism, such as phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPC) are promising selective herbicide targets. Here, we modelled the structure of *Zea mays* PEPC from (*ZmPEPC*) in order to identify potential inhibitors of its activity by virtual screening (VS) simulations. The enzyme *ZmPEPC* was modeled as a homotetramer bound to the cofactor Mg²⁺ and the inhibitor 3,3-dichloro-2-phosphonomethyl-acrylic acid (DCO) using the Modeller-10.2 software. We generated 1200 models and the best scored had its energy minimized by the NAMD2 software for later use in VS simulations using Autodock Vina, Autodock-4 and Molegro. The VS library was generated by similarity to select *ZmPEPC* inhibitors. The final structure had 100% of its residues in allowed regions in the Ramachandran plot, indicating an excellent stereochemical quality. In the VS of 3244 molecules from the library, the three programs indicated that the molecule identified as ZINC12405021 had better interaction than the DCO inhibitor. It has not been described as an inhibitor, yet, and ADMETox criteria indicated that it must not be toxic to mammalian cells. This work identified the molecule ZINC12405021 as a potential inhibitor of the enzyme *ZmPEPC*. Our next step will be to acquire it for *in vitro* and *in vivo* tests.

Keywords: Herbicides, molecular modeling, virtual screening.

Acknowledgements: We thank the funding agency CAPES, for the support and incentive to research.

OS EFEITOS DA HISTAMINA SOBRE OS PARÂMETROS BIOMÉTRICOS DE MILHO

Ana Flavia Gatto Raimundo¹, Karina Borba Paulino dos Santos¹, Rogério Marchiosi¹, Rodrigo Polimeni Constantin¹

¹Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil.

Área de conhecimento: Bioquímica

A histamina é uma amina biogênica produzida em seres vivos de todos os reinos, inclusive o vegetal. A ocorrência dessas moléculas conhecidas como neurotransmissores animais em tecidos vegetais e sua influência no crescimento e desenvolvimento desempenham um papel significativo na vida vegetal. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos do tratamento com histamina exógena sobre os parâmetros biométricos de plantas de milho (*Zea mays*). Sementes de milho, foram cultivadas por 22 dias em vasos de plástico contendo vermiculita: substrato de casca de pinus (1:1) sob temperatura de 25°C com fotoperíodo de 12h/12h (claro/escuro). As regas foram realizadas com água deionizada a cada 48 h e, após a emergência foliar, com solução nutritiva contendo ou não histamina (100-400 µM). O comprimento e as biomassas fresca e seca de raízes e caules, bem como a área foliar, foram determinadas ao final do período de cultivo. O tratamento com histamina não alterou de forma significativa os comprimentos das raízes e caules. Entretanto, observamos um aumento muito expressivo da biomassa fresca e seca de raízes e parte aérea. Houve também um aumento das medidas de área foliar após o tratamento. Assim, concluímos que o tratamento com histamina exógena influenciou positivamente na biometria das plantas de milho.

Palavras-chave: Aminas biogênicas, biometria, neurotransmissores, plantas.

Agradecimentos: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), CAPES e Fundação Araucária de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Paraná (FA).

PROSPECTION OF POSSIBLE INHIBITORS OF THE ENZYME O-ACETILSERINE(TIOL) LYASE BY IN SILICO TECHNIQUES

Ana Paula Boromelo¹, Luana de Oliveira Cardoso¹, Marcela de Paiva Foletto-Felipe², Rogério Marchiosi¹, Osvaldo Ferrarese Filho¹, Paulo Sérgio Alves Bueno¹, Erika Wakida¹, Wanderley Dantas dos Santos¹

¹Department of Biochemistry, State University of Maringá, Maringá, Paraná, Brazil.

²Department of Biochemistry, Parana Federal University of Technology, Dois Vizinhos, Paraná, Brazil.

Area of knowledge: Biochemistry

Due to repetitive and indiscriminate use of one or few herbicides with the same mechanism of action, weeds have developed resistant genotypes. Research and development of new molecules with new targets can bypass this unavoidable evolutive feature of living beings. The enzyme O-acetylserine(thiol)lyase (OAS-TL) is responsible for the assimilation of sulfur in plants, an essential macronutrient for plant metabolism. Using the OAS-TL enzyme structure to virtual screening (VS) simulations for inhibitor candidates. We employed the structure of OAS-TL from *Zea mays* complexed with its substrate O-acetylserine and the cofactor pyridoxal-phosphate to VS using Vina and Autodock-4 programs using Acros Organics® library of molecules filtered by Lipinski rules with a ClogP interval between -0.4 and 3.0. Comparing bound energy of the 4949 candidates with that of the substrate we found four compounds (ZINC16892208, ZINC149993, ZINC159056 and ZINC2562555) with higher affinity to the target enzyme. All five compounds attended ADMETOx criteria, indicating that they are likely not toxic to mammalian cells and tissues. Neither of these candidates have been described as inhibitors of the target enzyme. The results obtained in the double-checked scans indicate that the selected molecules have potential to work as inhibitors of OAS-TL. To validate the results, we now will submit these compounds kinetics and in vivo studies.

Keywords: enzymes, herbicides, virtual scanning.

Acknowledgments: We thank Dr. Flavio Seixas for his valuable advices and CAPES for funding.

PRODUCTION, PURIFICATION, AND PARTIAL CHARACTERIZATION OF AN AMYLASE FROM *Aspergillus clavatus*

*Ana Paula da Silva Mendonça*¹, *Ione Parra Barbosa-Tessmann*¹.

¹Laboratory of Molecular Biochemistry, Department of Biochemistry, State University of Maringá, Maringá, Paraná, Brazil

Knowledge area: Biochemistry

Amylases are used in industrial starch hydrolysis. Microorganisms mainly produce these enzymes, and new enzymes and producers are in demand. Previously in our laboratory, a strain of *Aspergillus clavatus* was obtained and molecularly identified. This strain presented amylolytic activity in a solid medium containing starch. Cultures in specific media confirmed this typical species morphology. To the best of our knowledge, this is the first report of amylase production by this species. The objectives of this work were to optimize the *A. clavatus* amylase production, purify, and characterize the produced enzyme. The best conditions for the enzyme production were liquid culture, 100 rpm, 25 °C, medium initial pH of 7.0, an inoculum of 5.5×10^6 spores, 0.2% of starch as the carbon source, and 72 hours of culture. The enzyme production reached 70 U/mL of medium with the starch-iodine complex distaining assay. For the enzyme purification, the fungus was cultured in the optimized conditions, and the proteins were precipitated from the culture filtrate with the addition of ammonium sulphate (90%). Proteins were collected by centrifugation (10,000g, 5 min) and dialyzed in 50 mM phosphate buffer, pH 7.0. Then, the enzyme was purified in a Sephadex G100 (1.9 × 60 cm) column eluted with 50 mM phosphate buffer, pH 7.0. The molecular mass of the purified protein, evaluated in SDS-PAGE, was approximately 80 kDa. The optimum pH was 7.0. The purified enzyme was activated by calcium and inhibited by copper, zinc, mercury, and SDS. Further biochemical characterization is underway.

Keywords: Amylase, *Aspergillus clavatus*, characterization.

Acknowledge: The authors are thankful to the “Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior” (CAPES) to the scholarship given to Ana Paula da Silva Mendonça and to the Department of Biochemistry, State University of Maringá, by the use of its facilities.

FRAÇÃO DE *Stevia rebaudiana* APRESENTA AÇÃO ANTIBACTERIANA DE AMPLO ESPECTRO E AÇÃO ANTIBIÓTICA PARA *Staphylococcus aureus*

Anastácia Nikolaos Deonas¹, Maria Rosa T. Zorzenon², João Paulo de Oliveira³, Daniel Vieira da Silva¹,
Cynthia Letícia S. Cabeça², Marco Aurelio Mori⁴, Silvio Claudio da Costa⁵, Paula Gimenez Milani
Fernandes⁵, Emanuele Julio Galvão de França⁶

¹Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brasil

²Programa de Pós-graduação em Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

³Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Cornélio Procopio, Paraná, Brasil

⁴UNICESUMAR, Corumbá, Mato Grosso do Sul, Brasil

⁵Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

⁶Universidade Estadual do Norte do Paraná, Bandeirantes, Paraná, Brasil

Área de Conhecimento: Bioquímica

A resistência antimicrobiana é uma das maiores ameaças globais à saúde pública e o investimento em pesquisa e desenvolvimento de novos antimicrobianos é um dos pilares para controlar a propagação de micro-organismos resistentes. Os metabólitos secundários das plantas podem ter várias propriedades farmacológicas, especialmente compostos fitoativos com potencial antimicrobiano. A *Stevia rebaudiana* Bertoni (*S. rebaudiana*) possui propriedades medicinais reconhecidas e tem sido usado na medicina tradicional. Entre os seus constituintes fitoquímicos estão compostos antimicrobianos, como flavonoides e terpenoides, e a ação antibacteriana e antifúngica de extratos de estévia já foram relatadas. Frações de folhas de *S. rebaudiana*, extraídas em acetato de etila (FAE), ricas em compostos antioxidantes e fração isobutanólica (FI), com alto teor de glicosídeos, foram avaliadas quanto ao potencial antibacteriano e antibiótico contra cepas de referência de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas de interesse clínico. FAE teve ação bactericida contra as cepas Gram-positivas avaliadas e contra a maioria das cepas Gram-negativas, com exceção da *Salmonella enteritidis*. As espécies Gram-positivas mostraram maior sensibilidade à FAE. Para IF, até a concentração máxima, não houve efeito bactericida para as cepas. O pré-tratamento das células planctônicas de *S. aureus* com concentrações subinibitórias de FAE determinou uma redução no potencial de estruturação do biofilme em até 71%. A fração mostrou eficácia no tratamento do biofilme formado por *S. aureus*, com uma redução de 99% na viabilidade celular em comparação com o controle. Além da ação antibacteriana sobre as células planctônicas, a FAE tem efeitos promissores contra os biofilmes de *S. aureus*.

Palavras-chave: Biofilme, Fração de *Stevia rebaudiana*, ação antimicrobiana.

Agradecimentos: NEPRON e UENP.

METFORMIN TREATMENT IMPROVES THE LIPID PROFILE OF ADULT MALE BALB/C MICE

Anna Carolina Huppel¹, Ana Cláudia Zara Couto¹, Mariane Carneiro da Silva¹, Scarlett Rodrigues Raposo¹, Lucas Paulo Jacinto Saavedra¹, Camila Benan Zara¹, Gabriel Kian Guimarães Lopes¹, Willian do Nascimento de Souza Rodrigues¹, Letícia Ferreira Barbosa¹, Isabela Peixoto Martins², Ananda Malta¹, Paulo Cezar de Freitas Mathias¹

¹Department of Biotechnology, Genetics and Cellular, State University of Maringá, Maringá, Paraná, Brazil.

²Department of Morphological Sciences, State University of Maringá, Maringá, Paraná, Brazil.

Knowledge area: Biochemistry

Metformin is a drug widely used in the treatment of type 2 diabetes due to its potential inhibitor of gluconeogenesis. Studies have shown that the mechanism of action goes beyond glucose metabolism, metformin is also capable of improving body weight, food intake, and lipid metabolism parameters. Thus, we hypothesized that the metformin treatment in healthy animals could also bring positive results to the metabolism. We aim to evaluate the biometric parameters and lipid profile of adult male mice treated with metformin. The animals are divided into two groups: Control (n= 8 litters) and Met (n= 2 litters), maintained in the Sectorial Bioterium of the Secretion Cell Biology Laboratory under conditions and rules of the ethics committee in the use of animals ethical approval nº 8137280920 from our university. The treatment with metformin was performed from 119 to 182 days of life, where 0.06 mg/ml was diluted in free drinking water. At 182 days of age, mice were euthanized and serum plasma was collected. We observed that the body weight, relative food intake, and fat stores did not change with the treatment. However, total cholesterol and triglycerides in the Met group are reduced by approximately 64% ($p<0.005$) and 42% ($p<0.05$) respectively. We did not observe a difference in blood glucose between groups. Therefore, we concluded that metformin treatment administrated later life improve lipid parameters in adult male balb/c mice without altering biometric parameters.

Key words: Metformin, lipid metabolism, old mice.

Acknowledgment: The authors thank all the financial support offer by the “Programa fazer o bem faz bem - JBS”, CNPq and the State University of Maringá – UEM.

ATIVIDADE ANTINFLAMATÓRIA DO β -CARIOFILENO ISOLADO DO ÓLEO DE CRAVO CARREADO POR UM SISTEMA AUTO-EMULSIONANTE

Any Carolina Chagas Almeida¹, Ana Paula Ames Sabin¹, Francielli Maria Sousa Silva², Roberto K. N. Cumar², Marco L. Bruschi², Adelar Bracht¹, Jurandir F. Comar¹

¹ Department of Biochemistry University of Maringá (UEM), PR, Brazil,

² Department of Pharmacy, University of Maringá (UEM), PR, Brazil.

Área de conhecimento: Bioquímica

O β -cariofileno é um sesquiterpeno muito conhecido por sua capacidade antioxidante e anti-inflamatória. Ele pode ser obtido pela destilação fracionada do óleo essencial de cravo da Índia, que retira o composto principal, eugenol, restando uma fração rica em β -cariofileno. Sua característica lipofílica dificulta sua interação com o trato gastrointestinal e sua absorção pelo organismo, mas novos estudos com sistemas auto-emulsificantes têm se mostrado efetivos para administrações orais de compostos com baixa solubilidade em água. A hipótese deste trabalho é preparar um sistema auto-emulsificante que contenha β -cariofileno de óleo de cravo e avaliar seu efeito sobre a inflamação aguda em ratos. O β -cariofileno foi comprado da empresa Quinarí Fragrâncias Ltda (Ponta Grossa, PR, Brasil). Ratos Wistar foram tratados por gavagem com β -cariofileno não formulado e formulado nas doses de 50, 100, 200 e 400 mg/kg, a inflamação aguda foi induzida por carragenina na pata esquerda traseira dos animais e o edema foi medido em pletismógrafo nas horas 0, 1, 2 e 4. A administração oral do β -cariofileno foi eficaz na melhoria do edema de pata induzido por carragenina em ratos, mas comparada a forma livre, seu maior efeito quando formulado foi na menor concentração de 50 mg/kg, o que mostra que o β -cariofileno pode estar reduzindo o edema de pata em baixas concentrações, que na forma livre precisam de doses maiores (100 mg/kg) para serem alcançadas. O β -cariofileno formulado foi efetivo em diminuir o edema de pata em doses menores que o β -cariofileno não formulado.

Palavras-chave: β -cariofileno, nano-emulsão, inflamação aguda.

Agradecimentos: Agradecemos à agência de fomento CAPES e CNPq, pelo apoio e pelo apoio e incentivo à pesquisa.

UMA ABORDAGEM *IN VIVO* DOS EFEITOS INIBITÓRIOS *IN VITRO* DOS ÁCIDOS FENÓLICOS E FLAVONOIDES SOBRE A ATIVIDADE DA ALFA-AMILASE PANCREÁTICA

Bárbara Ribeiro Tonsic, Vanesa Gesser Correa, Jessica Amanda Andrade Garcia-Manieri, Adelar Bracht, Rosane Marina Peralta

Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil.

Área de conhecimento: Bioquímica.

A redução na atividade das α -amilases que hidrolisam amido e glicogênio tem sido proposta para diminuir a incidência de obesidade e diabetes. Muitos extratos vegetais contêm inibidores de α -amilases e α -glicosidases e várias moléculas com essa atividade foram identificadas. O presente trabalho tenta investigar se vários compostos naturais que foram relatados como inibidores dessas enzimas hidrolíticas também podem inibir a absorção de amido *in vivo*. O teste de tolerância ao amido em camundongos foi utilizado para avaliar a absorção de amido após administração de 100 mg/kg de cinco flavonoides (epicatequina, catequina, rutina, quercetina, naringenina) e cinco ácidos fenólicos (ácidos gálico, siríngico, vanílico, sinápico, ferúlico), que são conhecidos inibidores *in vitro* de α -amilases. Entre os flavonoides, apenas a rutina inibiu a absorção de amido em camundongos, embora seu efeito tenha sido de apenas 33% daquele encontrado para o controle positivo acarbose. Entre os cinco ácidos fenólicos testados, apenas o ácido siríngico produziu uma clara diminuição na absorção do amido, que foi de 47% daquela encontrada com a acarbose. Por outro lado, outros três ácidos fenólicos, a saber, ácidos gálico, sinápico e ferúlico, causaram atraso na absorção do amido, que se caracterizou por uma mudança no horário de pico da concentração máxima de glicose no sangue, sem modificação no excesso de glicose que efetivamente entrou em circulação. Tentativas de detectar eventuais sinergismos pela administração de misturas de flavonoides e ácidos fenólicos não tiveram sucesso. Esses resultados recomendam a tradução cuidadosa de dados *in vitro* sobre a inibição de α -amilases e α -glicosidases para as condições *in vivo*.

Palavras-chaves: Inibição enzimática, ácidos fenólicos, flavonoides, absorção de amido.

Agradecimentos: CAPES, CNPq, UEM.

FRACIONAMENTO DO EXTRATO ETANÓLICO DE FOLHAS DE ESTÉVIA

*Betânea Campagnolli Pereira*¹ *Cynthia Letícia Serra Cabeça*², *Natani Caroline Nogueira*², *Maria Rosa T. Zorzenon*², *Lorena Gonçalves Bardini Aristides*², *Antonio Sérgio Dacome*¹, *Silvio Claudio da Costa*², *Paula Gimenez Milani Fernandes*²

¹Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

²Programa de Pós-graduação em Bioquímica, Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

Área de conhecimento: Bioquímica

Os glicosídeos de esteviol são componentes da planta *Stevia rebaudiana* estando presentes principalmente em suas folhas e obtendo um sabor adocicado. Porém, além dos compostos adoçantes há compostos amargos podendo assim, dificultar o processo de obtenção e purificação dos adoçantes. Esse subproduto pode ser fracionado, já que essas frações são ricas em compostos fenólicos e flavonoides, possuindo propriedades antioxidantes e antidiabéticas já comprovadas. Assim, o objetivo deste trabalho foi a obtenção de uma fração com alta concentração de compostos fenólicos a partir do fracionamento do extrato etanólico utilizando folhas secas moídas que foram submetidas a um pré-tratamento utilizando uma coluna de percolação com a retirada de 14 frações de extrato etanólico. Assim, foi realizado fracionamento para a obtenção da fração de acetato de etila e, a partir deste, determinando a quantidade de compostos fenólicos, avaliando ainda a atividade antioxidante in vitro, a partir do método DPPH e atividade antidiabética in vitro, por meio da inibição da enzima α -glucosidase. Os resultados apontam que a fração em acetato de etila apresentou cerca a 76% de compostos fenólicos (0,5 mg/mL), conseqüentemente 82% capacidade antioxidante (0,5 mg/mL) para o DPPH e 87% de inibição da enzima α -glucosidase (1 mg/mL). Analisando os dados, obtivemos a alta quantidade de fenólicos e capacidade antidiabética e antioxidante. Concluindo assim, que o uso da fração de acetato de etila a partir do fracionamento do extrato etanólico pode ser usado na aplicação de desenvolvimento de produtos alimentícios.

Palavras-chave: Antidiabética, antioxidante, fenólicos.

Agradecimentos: Ao NEPRON, A FUNDAÇÃO ARAUCÁRIA e ao CNPq.

OBTENÇÃO DA FRAÇÃO EM ACETATO DE ETILA A PARTIR DO FRACIONAMENTO COM EXTRATO METANÓLICO

*Betânea Campagnolli Pereira*¹, *Natani Caroline Nogueira*², *Cynthia Letícia Serra Cabeça*², *Maria Rosa T. Zorzenon*², *Lorena Gonçalves Bardini Aristides*², *Antonio Sérgio Dacome*¹, *Silvio Cláudio da Costa*², *Paula Gimenez Milani Fernandes*²

¹Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

²Programa de Pós-graduação em Bioquímica, Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

Área de conhecimento: Bioquímica

A *Stevia rebaudiana* é uma planta conhecida por seus componentes denominados glicosídeos de esteviol, presentes principalmente em suas folhas, dispõem de um sabor adocicado. Além dos glicosídeos de esteviol, estão presentes na folha de estévia compostos amargos que podem dificultar o processo de obtenção e purificação dos adoçantes. Esse subproduto pode ser fracionado, já que essas frações são ricas em compostos fenólicos e flavonoides, possuindo propriedades antioxidantes e antidiabéticas já comprovadas. Assim, o objetivo deste trabalho foi a obtenção de uma fração com alta concentração de compostos fenólicos a partir do fracionamento do extrato metanólico utilizando folhas secas e moídas que foram submetidas à extração no aparato *Sohxlet* com temperatura de 60°C, e determinar a quantidade compostos fenólicos e flavonoides, avaliando ainda a atividade antioxidante in vitro, a partir do método DPPH e do método ABTS. Também foi avaliada a atividade antidiabética in vitro, por meio da inibição da enzima α -amilase e α -glucosidase. Os resultados mostraram que a fração em acetato de etila apresentou cerca a 40% de compostos fenólicos (g/100g) e flavonoides 12,18% (g/100g), conseqüentemente 82,7% capacidade antioxidante (% Inibição/mgFAE) para o DPPH e 81,59% de capacidade antioxidante (% Inibição/mgFAE) para o ABTS e 54,67% de inibição da enzima α -glucosidase (2mg/mL) e a enzima α -amilase não apresentou inibição. Analisando os dados, obtivemos a quantidade de fenólicos e flavonoides esperados e capacidade antidiabética e antioxidante. Concluindo assim, que o uso da fração de acetato de etila a partir do fracionamento do extrato metanólico pode ser usado na aplicação alimentos.

Palavras-chave: Antidiabética, antioxidante, fenólicos.

Agradecimentos: Ao NEPRON, A FUNDAÇÃO ARAUCÁRIA e ao CNPq.

ATIVIDADE ANTIDIABÉTICA *IN VITRO* DE *WHEY PROTEIN* FORTIFICADO COM FRAÇÃO MICROENCAPSULADA DE ESTÉVIA

*Cynthia Letícia S. Cabeça*¹, *Betânea Campagnolli Pereira*², *Natani Caroline Nogueira*¹, *Maria Rosa T. Zorzenon*¹, *Lorena Gonçalves Bardini Aristides*², *Grasiele Scaramal Madrona*², *Silvio Claudio da Costa*¹, *Paula Gimenez Milani Fernandes*¹

¹Programa de Pós-graduação em Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil.

²Departamento de Bioquímica, Universidade de Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil.

Área de Conhecimento: Bioquímica

O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial antiabético *in vitro* de um suplemento proteico do soro do leite (*whey protein*) fortificado com uma fração microencapsulada de estévia (FAEM), a partir da inibição das enzimas α -amilase e α -glicosidase. As folhas de estévia, além de seus compostos adoçantes, são uma fonte de compostos fenólicos e flavonoides com propriedades antioxidantes e antiabéticas, alguns estudos relatam que uma fração em acetato de etila, obtida a partir do extrato metanólico das folhas de estévia (FAE) mostrou tal atividade quando testada em ratos diabéticos, com resultados melhores quando adicionada a suplementos de *whey protein*, que possuem potencial antiabético comprovado. Foi relatado também que a microencapsulação pode preservar os compostos da FAE e melhorar sua solubilidade. A FAE da variedade de elite Stevia UEM-13 foi obtida por fracionamento do extrato metanólico de suas folhas, utilizando acetato de etila como solvente, posteriormente foi microencapsulada com maltodextrina DE10 a fim de preservar os compostos bioativos por um tempo maior. A FAEM foi adicionada a um *whey protein* obtido por processos de separação membranas em duas concentrações diferentes, a primeira com 1,6 mg de FAEM para cada 100 mg de *whey* (F1) e a segunda com 20 mg de FAM para cada 100 mg de *whey* (F2). F1 e F2 foram, então, testadas para o potencial de inibição das enzimas α -amilase e α -glicosidase. As duas formulações mostraram potencial antiabético *in vitro*, sendo F2 com melhor atividade inibitória para α -amilase e F1 com maior porcentagem de inibição para a enzima α -glicosidase.

Palavras-chave: atividade antiabética *in vitro*, *whey protein*, estévia.

Agradecimentos: À Capes, ao NEPRON e ao Programa de Pós-graduação em Bioquímica.

MACHINE LEARNING-BASED VIRTUAL SCREENING APPLIED TO ANTI-TUBERCULOSIS DRUG DISCOVERY

Diego de Souza Lima¹, Flávio Augusto Vicente Seixas¹

¹Departamento de Tecnologia, Universidade Estadual de Maringá, Paraná, Brasil.

Knowledge area: Computational biochemistry

Tuberculosis (TB), a disease caused by *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), remains a major public health problem, especially in developing nations. Approximately 1.3 million deaths were reported in 2020, which more than 150,000 were caused by drug-resistant strains. Therefore, novel treatments are needed. Computational methods are an interesting approach due to their relatively low-cost and higher speed in comparison with traditional screening methods. Recently, machine learning (ML) became a promising method in early stages of drug discovery. Our goal was to develop a ML model able to classify molecules as either active or inactive, based on its two-dimensional structures, and to use it to virtually screen thousands of natural compounds in search for novel anti-tuberculosis candidates. Molecules tested against Mtb were obtained from ChEMBL and considered “active” or “inactive” based on a pMIC threshold of 7, resulting in 6,242 active and 8,743 inactive molecules, which were used to train models with different ML algorithms. Hyperparameters were chosen by 10-fold cross-validation. Ligands were encoded as Morgan fingerprints. Natural products from Molport and Timtec, totaling 177,213 compounds, were used for virtual screening. Support Vector Machines was the chosen algorithm, achieving 89% accuracy, 86% precision, 82% recall, and 85% F₁-score on the test set. After screening, 5,364 natural compounds were classified as potential actives. Natural compounds were virtually screened in search for novel anti-tuberculosis candidates. Further studies will be conducted to validate our results, such as molecular docking against a specific drug target, and growth inhibition assays, contributing to the field of anti-tuberculosis drug discovery.

KEYWORDS: Machine learning, Drug discovery, Tuberculosis.

ACKNOWLEDGEMENTS: Authors would like to thank CNPq, CAPES and Fundação Araucária for the financial support.

EFEITOS DA HIDROXICLOROQUINA NA GLICÓLISE HEPÁTICA

Emanuele Parreira de Lima¹, Gustavo Henrique de Souza¹, Isadora de Brito Hilario¹, Vanesa de Oliveira Pateis¹, Evelyn Silva Moreira¹, Jurandir Fernando Comar^{1}*

¹Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil.

Área de conhecimento: Bioquímica

Com a pandemia de coronavírus (SARS-CoV-2), muitos países utilizaram inicialmente a hidroxicloroquina (HCQ) para tratamento de pessoas hospitalizadas com COVID-19. No entanto, o medicamento não foi formalmente aprovado por meio de ensaios clínicos. A HCQ absorvido pelos enterócitos passa primeiro pelo fígado antes de atingir a circulação sistêmica. Essa droga, metabolizada no fígado, poderia provocar hepatotoxicidade, e a lesão hepática induzível pode prejudicar a função metabólica do órgão. A este respeito, o fígado é o local de várias vias ligadas ao metabolismo intermediário. Um metabolismo energético prejudicado do fígado pode ser ainda mais prejudicial à saúde já debilitada dos pacientes com COVID-19. Portanto, este estudo teve como objetivo investigar os efeitos do HCQ na via glicolítica no fígado de ratos. A glicólise foi avaliada no fígado perfundido de ratos alimentados. Após canulação, o órgão foi perfundido com tampão Krebs/Henseleit (KH) e a HCQ na faixa de até 200 μM . Glicose, piruvato e lactato foram quantificados no fluido efluente. A captação de oxigênio foi monitorada por polarografia. A HCQ não inibiu a captação de oxigênio ou a produção de glicose, mas inibiu completamente a produção de piruvato, nas concentrações de 50 e 200 μM e aumentou em 99% a produção de lactato na concentração de 200 μM . O mecanismo pelo qual isso ocorre está sendo investigado. A inibição da glicólise foi observada em concentrações relativamente altas de HCQ, porém, o efeito também não deve ser negligenciado se a superdosagem for considerada e pode estar associada à lesão hepática e alterações metabólicas nos pacientes.

Palavras-chave: Hidroxicloroquina, glicólise, metabolismo hepático.

Agradecimentos: Agradeço aos órgãos fomentadores CAPES e CNPq.

OS EFEITOS DA MOLÉCULA QUORUM-SENSING FARNESOL NA MORFOLOGIA DE *Trametes versicolor* E *Pycnoporus sanguineus* E NA CAPACIDADE DE PRODUZIR LACASE EM FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO

*Emanuelli Backes*¹, *Camila Gabriel Kato*², *Verci Alves de Oliveira Junior*¹, *Thaís Marques Uber*¹, *Luís Felipe Oliva dos Santos*¹, *Alex Graça Contato*³, *Maria de Lourdes Teixeira de Moraes Polizeli*³, *Adelar Bracht*¹, *Rosane Marina Peralta*¹

¹Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brazil.

²Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Brazil.

³Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil.

Área de conhecimento: Bioquímica

As lacases podem ser produzidas tanto em fermentação submersa quanto em estado sólido usando materiais lignocelulósicos como substratos, suplementados ou não com indutores. Farnesol (C₁₅H₂₆O), um álcool sesquiterpenoide elaborado por várias bactérias, fungos, plantas e animais, tem uma grande variedade de atividades biológicas. Estudos recentes sugerem que o farnesol atua como indutor de lacases de *Trametes versicolor* em cultivos submersos. Até o momento, no entanto, nenhum estudo foi realizado para avaliar o efeito indutivo do farnesol na fermentação em estado sólido (SSF). O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do farnesol na produção de lacases por *T. versicolor* e *P. sanguineus* em SSF. Procurou-se também avaliar as alterações na morfologia micelial causadas pelo farnesol. O farnesol desfavoreceu o crescimento fúngico ao aumentar a fase lag. Para ambos os fungos, a presença de farnesol claramente aumentou a ramificação das hifas. Em culturas de *T. versicolor* suplementadas com farnesol 5 mM, uma atividade máxima de lacase de 77,88±5,62 U/g (um aumento de 236% em relação ao controle) foi obtida no sétimo dia, enquanto em culturas de *P. sanguineus* uma máxima atividade da lacase de 130,95±2,20 U/g (aumento de 159% em relação ao controle) foi obtida no 17º dia. Em conclusão, os resultados aqui obtidos estabelecem que o farnesol é um excelente indutor de lacases em *T. versicolor* e *P. sanguineus* em SSF, abrindo grandes perspectivas para sua utilização na obtenção dessas enzimas em escala industrial.

Palavras-chave: Micélio hiperramificado, fase lag, biomassa fúngica, lacases.

Agradecimentos: CAPES, CNPq, UEM.

PERTURBAÇÕES CAUSADAS NO METABOLISMO DO NITROGÊNIO DE PLANTAS DE SOJA (*Glycine max* L. Merril) EXPOSTAS A NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ALUMÍNIO (Al₂O₃)

*Guilherme Henrique Gonçalves de Almeida*¹, *Karla Gabriela da Silva*¹, *Luiz Henryque Escher Grizza*¹, *Breno Miguel Joia*¹, *Rafaela Andreza de Souza Soares*¹, *Rodrigo Polimeni Constantin*¹, *Wanderley Dantas dos Santos*¹, *Osvaldo Ferrarese-Filho*¹, *Rogério Marchiosi*¹

¹Laboratório de Bioquímica de Plantas, Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, Brasil.

Área de conhecimento: Bioquímica

Por decorrência da vasta aplicabilidade das nanopartículas (NPs) de óxido de alumínio (Al₂O₃) em diversos campos industriais, torna-se inevitável seu descarte no meio ambiente, principalmente no solo, onde pode afetar diretamente culturas alimentares como a soja. Pensando nisso, realizamos experimentos a fim de avaliar os efeitos de diferentes doses (31,25 – 500 mg L⁻¹) de NPs Al₂O₃ no metabolismo do nitrogênio de plantas de soja por um período de 30 dias. Raízes frescas foram maceradas com diferentes tipos de soluções tamponantes específicas para mensuração da atividade de importantes enzimas do metabolismo do nitrogênio: nitrato redutase (NR), nitrito redutase (NiR) e glutamina sintetase (GS). Em seguida, os extratos enzimáticos foram acondicionados a meios reacionais propícios para perfeita atividade da enzima *in vitro* por um período pré-determinado, após esse procedimento a reação foi finalizada e a atividade de cada enzima foi determinada em espectrofotômetro. Nossos achados mostram que a influência das Al₂O₃ NPs nas doses testadas pelo tempo de exposição sugerido, de maneira geral, teve um efeito estimulatório dose-dependente na atividade de todas as enzimas analisadas, chegando a 89,2% para NR, 26,6% para NiR e 60,0% para GS nas maiores doses testadas. Concluímos que o efeito causado pelas Al₂O₃ NPs no metabolismo do nitrogênio estimula a captação e fixação do nitrogênio pelas plantas, aumentando a assimilação e incorporação desse nitrogênio na forma de amônio (NH₄⁺) em aminoácidos e seus metabólitos, conseqüentemente aumentando a produtividade dessas plantas.

Palavras-chave: Nanopartículas, soja, nitrogênio.

Agradecimentos: especificamente à agência de fomento: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) que financiou todos os passos para o desenvolvimento desse trabalho. À Universidade Estadual de Maringá (UEM), pela estrutura oferecida para realização dos testes experimentais. Aos professores Rogério Marchiosi e Osvaldo Ferrarese-Filho pelo suporte acadêmico ofertado e a todos os autores envolvidos nas análises bioquímicas realizadas.

PADRONIZAÇÃO DA INOCULAÇÃO DA BACTÉRIA *Herbaspirillum seropedicae* EM MILHO (*Zea mays* L.)

Gabriel Machado de Freitas¹, Larissa Fonseca Tomazini¹, Marco Aurelio Schuler de Oliveira¹

¹Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá, Paraná, Brasil

Área de conhecimento: Bioquímica

O agronegócio é altamente dependente do uso de fertilizantes nitrogenados, os quais têm elevado custo e causam prejuízos ambientais. Desta forma, o estudo de tecnologias alternativas para a substituição dos fertilizantes nitrogenados se faz necessário. *Herbaspirillum seropedicae* é uma bactéria fixadora de nitrogênio, capaz de colonizar os tecidos internos de plantas. Tendo em vista seu potencial como biofertilizante, esse projeto teve como objetivo estabelecer um protocolo de inoculação de milho (*Zea mays* L.) com *H. seropedicae*. Uma cultura de *H. seropedicae* foi cultivada em meio NFbHP-malato líquido para os testes de inoculação. As sementes de *Z. mays* foram selecionadas, esterilizadas superficialmente, lavadas e então semeadas em papel germitest, os quais foram levados para câmara de germinação. Após germinação, as plantas foram inoculadas com *H. seropedicae* e então transferidas para tubos de ensaio com 0,8 % de ágar, em diferentes concentrações de nitrato, e mantidas em câmara de germinação. Os resultados indicaram que não houve alterações significativa nos comprimentos das raízes, entretanto, houve aumento do número de raízes adventícias em 28,32% nas plantas inoculadas com bactérias e crescidas na presença de 0,5 mM de nitrato. Houve um aumento significativo na biomassa frescas da raiz principal de plantas crescida na presença de nitrato 0,5 mM (38,4%) e 5 mM (49,17%) em comparação com plantas com inóculo, sem nitrato. Os resultados permitiram estabelecer com sucesso um protocolo para inoculação de plântulas de milho com *H. seropedicae*, com a verificação do efeito benéfico da bactéria no crescimento.

Palavras-chave: Milho, *Herbaspirillum seropedicae*, inoculante.

Agradecimentos: CNPq, CAPES.

EFEITOS DE UM INIBIDOR DA VIA DE ASSIMILAÇÃO DO ENXOFRE SOBRE O CRESCIMENTO DE PLANTAS DE *Ipomoea grandifolia* E REVERSÃO DO EFEITO INIBITÓRIO COM L-CISTEÍNA

*Isabela de Carvalho Contesoto*¹, *Rodrigo Polimeni Constantin*¹, *Isac George Rosset*², *Wanderley Dantas dos Santos*¹, *Osvaldo Ferrarese-Filho*¹, *Rogério Marchiosi*¹

¹Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

²Departamento de Engenharia e Exatas, Universidade Federal do Paraná, Palotina, Paraná, Brasil

Área de conhecimento: Bioquímica

A assimilação de enxofre é essencial para o desenvolvimento das plantas, visto que o enxofre é um macronutriente vital. As enzimas envolvidas nessa via metabólica são possíveis alvos para descoberta de novos herbicidas. O objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos de um possível inibidor da síntese de cisteína, Afesulpro, em plantas de *I. grandifolia* e a possível reversão desses efeitos com adição de L-cisteína. As plantas foram cultivadas por 12 dias a 25 °C, com troca de solução nutritiva (controle ou tratamento) a cada 48 horas. O cultivo foi realizado com concentrações de 0 a 1500 µM de 2-amino-3-fenilsulfonilsulfanilpropanóico (Afesulpro) e o teste de reversão foi realizado com 500 µM de Afesulpro e adição de 0 a 2000 µM de L-cisteína. As concentrações de 125 e 250 µM de Afesulpro estimularam alguns parâmetros do crescimento das plantas. A partir da concentração de 500 µM foram observados efeitos inibitórios tanto nas raízes quanto nas folhas, chegando a 69% de redução do comprimento das raízes e redução em 95% a área foliar no cultivo com 1500 µM de Afesulpro. A adição de 2000 µM de L-cisteína foi capaz de reverter, parcial ou completamente, alguns efeitos inibitórios do Afesulpro (500 µM). O Afesulpro tem efeitos inibitórios sobre raízes e folhas de plantas de *I. grandifolia* e a adição de L-cisteína é capaz de reverter tais efeitos. Assim, a inibição observada pode ser devido a deficiência de cisteína das plantas e mais estudos serão feitos para descobrir a causa dos efeitos inibitórios.

Palavras-chave: L-cisteína, planta daninha, herbicida.

Agradecimentos: CAPES, CNPq.

EFEITOS DE UM INIBIDOR DA VIA DE ASSIMILAÇÃO DO ENXOFRE SOBRE O METABOLISMO ANTIOXIDANTE DE PLANTAS DE *Ipomoea grandifolia*

*Isabela de Carvalho Contesoto*¹, *Larissa Fonseca Tomazini*¹, *Rodrigo Polimeni Constantin*¹, *Isac George Rosset*², *Wanderley Dantas dos Santos*¹, *Osvaldo Ferrarese-Filho*¹, *Rogério Marchiosi*¹

¹Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

²Departamento de Engenharia e Exatas, Universidade Federal do Paraná, Palotina, Paraná, Brasil

Área de conhecimento: Bioquímica

A assimilação de enxofre é essencial para o desenvolvimento das plantas, visto que o enxofre é um macronutriente vital. As enzimas envolvidas nessa via metabólica são possíveis alvos para descoberta de novos herbicidas. O objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos de um possível inibidor da síntese de L-cisteína, de 2-amino-3-fenilsulfonilsulfanil-propanóico (Afesulpro), no metabolismo antioxidante de plantas de *Ipomoea grandifolia*. As plantas foram cultivadas por 12 dias a 25 °C, com troca de solução nutritiva (controle ou tratamento) a cada 48 horas. O cultivo foi realizado com concentrações de 0, 125 e 500 µM de Afesulpro e também 500 µM de Afesulpro com adição de 2000 µM de L-cisteína. Foram avaliadas as atividades da catalase (CAT), peroxidase (POD), superóxido dismutase (SOD) e também a quantificação de espécies reativas de oxigênio (EROs). A atividade de todas as enzimas avaliadas aumentou nas raízes tratadas com 500 µM de Afesulpro e também 500 µM de Afesulpro com adição de 2000 µM de L-cisteína, assim como a quantidade de EROs nessas mesmas condições. Nas folhas, a atividade da POD foi aumentada nos tratamentos com 500 µM de Afesulpro e também 500 µM de Afesulpro com adição de 2000 µM de L-cisteína. O Afesulpro tem efeitos estimulantes sobre o metabolismo antioxidante de *Ipomoea grandifolia* e mesmo a adição de L-cisteína nos tratamentos mantém o aumento da atividade de tais enzimas avaliadas. Futuros experimentos serão realizados para descobrir outros efeitos que o Afesulpro causa nas plantas de *Ipomoea grandifolia*.

Palavras-chave: L-cisteína, planta daninha, herbicida.

Agradecimentos: CAPES, CNPq.

PERFIL POLIFENÓLICO E ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS DE EXTRATOS DE CASCA de *Luehea divaricata*

Jéssica A.A Garcia-Manieri¹, Vanesa Gesser Correa², Rúbia Carvalho Gomes Corrêa³, Maria Inês Dias⁴, Ricardo C. Calhelha⁴, Marija Ivanov⁵, Marina Soković⁵, Lillian Barros⁴, Isabel C.F.R. Ferreira⁴, Adelar Bracht^{1,2}, Rosane M. Peralta^{1,2*}

¹Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Brasil

²Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Estadual de Maringá, Brasil

³Programa de Pós-graduação em Tecnologias Limpas, Instituto Cesumar de Tecnologia e Inovação (ICETI), Universidade Cesumar - UniCesumar, Brasil

⁴Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253, Bragança, Portugal

⁵Department of Plant Physiology, Institute for Biological Research "Siniša Stanković" - National Institute of Republic of Serbia, University of Belgrade, Bulevar Despota Stefana 142, 11000 Belgrade, Serbia

Área de conhecimento: Bioquímica

Folhas e cascas de *Luehea divaricata* (Malvaceae) são utilizadas na medicina popular para o tratamento de doenças infecciosas, tumores, reumatismo e diabetes. Este trabalho apresenta experimentos in vivo (ratos e camundongos) apoiados por análises químicas *in vitro* para abordar os usos medicinais populares mencionados acima. Os constituintes fenólicos dos extratos aquoso e hidroalcoólico são principalmente derivados de catequinas (135,4 e 215,9 mg/g, respectivamente). Ambos os extratos apresentaram forte atividade antioxidante. Eles também mostraram atividades antiproliferativas contra células tumorais, inibição da síntese de óxido nítrico (indicativo de atividade anti-inflamatória) e atividade antimicrobiana contra uma variedade de agentes infecciosos. A lesão hepática induzida pelo paracetamol em ratos, que possui alto componente inflamatório, foi substancialmente atenuada nos animais tratados com o extrato hidroalcoólico (200 mg kg⁻¹ dia⁻¹). Isso foi deduzido a partir de níveis de aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase no plasma, bem como das atividades hepáticas de catalase e superóxido dismutase. Ambos os extratos inibiram a α -amilase pancreática com valores de IC₅₀ de 11,50±0,05 e 18,70±3,87 µg/mL para o extrato hidroalcoólico e aquoso, respectivamente. Ambos os extratos inibiram a digestão do amido em camundongos nas doses de 200 e 400 mg/kg. Os resultados confirmam várias das noções da vox populi sobre o potencial terapêutico da *L. divaricata*, sendo a ação antidiabética, combinada com o efeito hepatoprotetor, as observações mais relevantes. Não menos importante é a perspectiva econômica para os produtores rurais que podem eventualmente aumentar sua receita com a venda de matérias-primas derivadas de *L. divaricata* cada vez mais valorizadas com base em suas propriedades terapêuticas.

Palavras-chaves: efeito antidiabético, capacidade antioxidante, efeito hepatoprotetor, catequinas.

Agradecimentos: CAPES, CNPq, UEM.

PRÉ-TRATAMENTO BIOLÓGICO UTILIZANDO FUNGOS LIGNINOLÍTICOS FAVORECE A SACARIFICAÇÃO ENZIMÁTICA DOS RESÍDUOS LIGNOCELULÓSICOS DA PUPUNHA

Kamila de Cássia Spacki¹, Thaís Marques Uber¹, Verci Alves de Oliveira Junior¹, Danielly Maria Paixão Novi¹, Rosely Aparecida Peralta², Regina de Fátima Peralta Muniz Moreira², Adelar Bracht¹, Rosane M. Peralta¹

¹Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil.

²Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

Área de conhecimento: Bioquímica

A biomassa lignocelulósica é abundante, barata e pode originar combustíveis recicláveis. Sua conversão em produtos químicos e combustíveis requer uma etapa de pré-tratamento para remover/reduzir/modificar a lignina com conseqüente aumento da acessibilidade à celulose à lignina residual. O pré-tratamento pode ser realizado por métodos físicos, químicos e biológicos. Métodos biológicos até o momento, não são competitivos quando comparados aos métodos físicos e químicos. Os métodos biológicos, entretanto, tem um grande diferencial sobre os métodos físicos e químicos: eles não geram produtos tóxicos ou inibidores para a etapa posterior de fermentação. Com base nessas considerações, os fungos da podridão branca produtores de lacase (*Ganoderma lucidum*, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus pulmonarius* e *Trametes versicolor*) foram utilizados no pré-tratamento dos resíduos lignocelulósicos da pupunha. O principal objetivo foi encontrar o melhor microrganismo e as condições mais adequadas para melhorar a hidrólise enzimática subsequente. A microscopia eletrônica de varredura e a espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foram utilizadas para detectar as principais transformações estruturais causadas pelos pré-tratamentos. Após o pré-tratamento que foi realizado por até 30 dias, a sacarificação foi realizada utilizando-se celulasas comerciais. Os melhores resultados foram obtidos utilizando-se *P. ostreatus*. Quando comparados com os resíduos sem pré-tratamento, a produção de açúcares redutores (AR) obtida com os resíduos submetidos a pré-tratamento (70 μ moles equivalentes de glicose/mL) foi até 7 vezes superior à quantidade de AR obtidos dos resíduos não tratados. Os resultados estão associados à produção da enzima lacase e à degradação seletiva da lignina evidenciada por FTIR e análises microscópicas.

Palavras-chave: Pré-tratamento, fungos ligninolíticos, *Pleurotus ostreatus*, sacarificação enzimática.

Agradecimentos: CAPES, CNPq, UEM, UFSC.

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM PRODUTOS FORMULADOS COM STEVIA E HIBISCO

Lorena Gonçalves Bardini Aristides¹, Maria Rosa Trentin Zorzenon², Cynthia Letícia Serra Cabeça², Betânea Campagnolli Pereira¹, Érika Berlin Cordeiro¹, Natani Caroline Nogueira², Paula Gimenez Milani Fernandes², Silvio Cláudio da Costa^{2}*

¹ Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil.

² Programa de Pós-graduação em Bioquímica, Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil.

Área de conhecimento: Bioquímica

Os antioxidantes são substâncias que possuem a capacidade de proteger os efeitos dos radicais livres produzidos pela oxidação no organismo, reduzindo a velocidade da oxidação por um ou mais mecanismos através da inibição dos radicais livres e complexação de metais. Muitos alimentos, como os vegetais, possuem atividade antioxidante, sendo capazes de reduzir significativamente os radicais livres no organismo. A atividade antioxidante também está presente em plantas como a *Stevia rebaudiana* e o *Hibiscus sabdariffa* L. O Hibisco é uma planta rica em nutrientes, bastante consumida por ser proteica e possuir vitaminas, sais minerais e aminoácidos; pode ser consumido de diversas maneiras sendo a mais comum por infusão. A infusão de chás pode atribuir substâncias importantes para o organismo, como os antioxidantes. Dessa forma, o objetivo desta revisão foi investigar se um extrato de Hibisco possui atividade antioxidante possível de ser inserida em um produto com fins terapêuticos. De acordo com a literatura, através de métodos como DPPH e ABTS, foi identificado um nível elevado de antioxidantes da planta em meio aquoso capaz de controlar possíveis agravamentos de oxidação no organismo. Assim como o Hibisco, o chá de Stevia também possui efeito antioxidante além de possuir glicosídeos de esteviol, sendo uma alternativa mais saudável ao açúcar. Portanto, a revisão confirma a possibilidade de inserir o hibisco em um produto alimentício juntamente com a Stevia tornando um produto mais nutritivo, com efeitos terapêuticos. Ademais, patentes sugerem novas formulações de produtos contendo Hibiscus e Stevia que podem ter benefícios sinérgicos.

Palavras-chave: Infusão, alimentos, potenciais terapêuticos.

Agradecimentos: À Universidade Estadual de Maringá, ao NEPRON e ao CNPq.

ESTUDO DE PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA DE BARRA DE CEREAL DE FLOR DE HIBISCO ADOÇADA COM REBAUDIOSÍDEO A

Lorena Gonçalves Bardini Aristides¹, Maria Rosa Trentin Zorzenon², Cynthia Letícia Serra Cabeça², Betânea Campagnolli Pereira¹, Érika Berlin Cordeiro¹, Natani Caroline Nogueira², Paula Gimenez Milani Fernandes², Silvio Cláudio da Costa^{2}*

¹ Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

² Programa de Pós-graduação em Bioquímica, Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil.

Área de conhecimento: Bioquímica

A barra de cereal é bastante nutricional e de consumo rápido, possibilitando a melhoria do trânsito intestinal, do colesterol e até uma dieta mais saudável. As plantas alimentícias não-convencionais (PANCs) são conhecidas como espécies invasoras que fazem parte da flora brasileira e são bastante consumidas terapêuticamente em várias regiões. Sua agregação às barras de cereais é uma excelente opção para alinhá-las aos princípios dietéticos de uma dieta saudável. O *Hibiscus sabdariffa L.* é uma PANC rica em nutrientes, consumida por ser proteica e possuir vitaminas, sais minerais e aminoácidos, além de possuir propriedades funcionais, como efeito antidiabético, anti-hipertensivo, hepatoprotetor e antiobesidade, podendo ser consumido de diversas maneiras. A *Stevia rebaudiana* é uma planta nativa da América do Sul conhecida pelos adoçantes das folhas como glicosídeos de esteviol como o rebaudiosídeo A. Ela passou a ser consumida como uma alternativa de substituir a sacarose e apresenta fins terapêuticos. Assim, o objetivo desse estudo foi realizar uma prospecção tecnológica para avaliar a possibilidade de formular uma barra de cereal de flor de hibisco adoçada com rebaudiosídeo A. Artigos científicos apresentaram evidências que ratificam o preparo e consumo de bebidas e alimentos formulados ou aditivados com hibisco, assim como a prospecção apontou uma intensa atividade de produtos e processos envolvendo o hibisco para fins nutricionais e terapêuticos e também dos adoçantes das folhas de Stevia pré-tratadas com etanol. Portanto, o estudo indica um alto potencial de patenteabilidade da formulação de uma barra de cereal fortificada com hibisco e adoçada com glicosídeos da Stevia.

Palavras-chave: Alimento nutricional, PANCs, stevia.

Agradecimentos: À Universidade Estadual de Maringá, ao NEPRON e ao CNPq.

PRÉ-TRATAMENTO ETANÓLICO DE FOLHAS DE STEVIA UEM-13 PARA RETIRADA DO RESÍDUO AMARGO DOS ADOÇANTES

Lorena Gonçalves Bardini Aristides¹, Cynthia Letícia Serra Cabeça², Maria Rosa Trentin Zorzenon², Betânea Campagnolli Pereira¹, Érika Berlin Cordeiro¹, Natani Caroline Nogueira², Paula Gimenez Milani Fernandes², Silvio Cláudio da Costa^{2}*

¹Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil.

²Programa de Pós-graduação em Bioquímica, Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil.

Área de conhecimento: Bioquímica

Stevia rebaudiana (Bert.) Bertoni é uma planta nativa da América do Sul popularmente conhecida pelos adoçantes provenientes das folhas como glicosídeos de esteviol principalmente esteviosídeo, o rebaudiosídeo C e o rebaudiosídeo A. Ela passou a ser consumida como uma alternativa de substituir a sacarose e apresenta fins terapêuticos. A variedade conhecida como Stevia UEM-13 possui uma quantidade maior de rebaudiosídeo A, adoçante com melhor perfil sensorial. Embora a Stevia seja conhecida pelo seu potencial edulcorante, ela também é conhecida pelo seu gosto residual amargo e herbáceo. A fim de melhorar as qualidades organolépticas da Stevia, foi criado um método que consiste em um pré-tratamento das folhas de Stevia, o qual remove seletivamente compostos que interferem no dulçor dos adoçantes. A partir de folhas de Stevia pré-tratadas, é possível obter adoçantes com maior pureza e melhores características sensoriais. Nesse sentido, o objetivo desse estudo foi obter folhas de Stevia UEM-13 pré-tratadas e avaliar se houve alteração no teor de adoçantes em suas folhas. Para isso, folhas de Stevia foram empacotadas em uma coluna utilizando etanol absoluto como eluente. Posteriormente, foram obtidas 14 frações de extrato e as folhas pré-tratadas foram secas e tiveram seus adoçantes (glicosídeos de esteviol) quantificados por HPLC. As folhas pré-tratadas com etanol em comparação com as folhas sem tratamento não apresentaram alteração em relação aos glicosídeos de esteviol, permanecendo com 13% de adoçantes totais. Portanto, por meio do pré-tratamento foi possível preservar os adoçantes da Stevia e remover compostos que atribuem o gosto residual amargo.

Palavras-chave: Adoçantes naturais, glicosídeos, características sensoriais.

Agradecimentos: À Universidade Estadual de Maringá, ao NEPRON e ao CNPq.

PROSPECÇÃO DE LIGANTES DO RECEPTOR DO PEPTÍDEO-1 SEMELHANTE AO GLUCAGON E SUAS IMPLICAÇÕES NO TRATAMENTO DO DIABETES TIPO 2

Luiz Gustavo Antunes Pessoa¹, Flávio Augusto Vicente Seixas²

¹Departamento de Biologia Celular, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, CEP 87030-121, Maringá, PR, Brasil

²Departamento de Tecnologia, Universidade Estadual de Maringá, Av. Ângelo Moreira da Fonseca, 1800, CEP 87506-360, Umuarama, PR, Brasil

Área de conhecimento: Bioquímica

O diabetes mellitus é um dos problemas de saúde pública mais comum no mundo, e o diabetes tipo 2 é responsável por 90% de todos os casos de diabetes. A tendência crescente na incidência e prevalência do DM2 é preocupante e uma resposta adequada a essas projeções seria uma busca intensificada por novos agentes e abordagens. Assim, para o desenvolvimento de candidatos a potenciais agonistas do Receptor do peptídeo-1 semelhante ao glucagon (GLP-1R), uma técnica de triagem virtual baseada em docking molecular de várias etapas utilizando a estrutura cristalográfica do GLP-1R humano como alvo foi empregada em duas bibliotecas de produtos naturais. A estrutura terciária da proteína (pdbid 6X1A) ligada ao composto PF-06882961 da Pfizer foi modelada por homologia. O modelo com a melhor saída foi inserido em uma bicamada lipídica e submetido a minimização de gradiente, redocking e simulação de dinâmica molecular. Simulações de triagem virtual foram realizadas com as bibliotecas Zinc15 e Sigma-Aldrich contendo 210.586 e 197.731 moléculas, respectivamente. Após as triagens, 39 moléculas foram selecionadas e analisadas pelo uso de critérios de absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade, resultando em 4 compostos (Zinc1901002, Zinc5413761, 336188752 e 336185530) para análise de dinâmica molecular. Os resultados de desvio quadrático médio (RMSD), raio de giração (R_{gyr}) e flutuação quadrada média (RMSF) demonstram que os compostos se acoplam ao GLP-1R por pontes de hidrogênio, interações hidrofóbicas e empilhamento π - π e permaneceram estáveis ao longo da simulação de 50 ns, indicando que os compostos possam atuar como potenciais agonistas do GLP-1R.

PALAVRAS-CHAVE: Diabetes, Triagem virtual, Glp-1r.

AGRADECIMENTOS: Agradeço à Capes pelo apoio e concessão da bolsa e ao professor Flávio Augusto Vicente Seixas pelo apoio durante o desenvolvimento do projeto.

EFFECT OF VITAMIN D3 SUPPLEMENTATION IN OBESE ANIMALS OBTAINED THROUGH HYPERCALORIC DIET

Maiara Mikuska Cordeiro¹, Gustavo Henrique de Souza¹, Evellyn Silva Moreira, Sabrina Rodrigues Vichetti¹, Dionízia Xavier Scomparin², Jurandir Fernando Comar¹

¹Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná,

²Departamento de Biologia Geral, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Paraná,

Área de conhecimento: Bioquímica

Vitamin (Vit) D regulates various organic processes, including regulation of adipose tissue morphofunction and lipid metabolism. Thus, we hypothesized that Vit D3 supplementation after obesity induction in WD rats might to reduce body weight (BW), adiposity and parameters of biochemistry for this, male Wistar rats were fed on a standard chow [control (CTL n= 6) group] or a hypercaloric diet [induce obesity (WD n=12) group], from 50 day-old. In which the diet followed a menu offering foods considered to be hypercaloric the type of diet known as the cafeteria diet. After these two groups at 90 days of life, the animals were again separated according to the treatment or not of vitamin D3 [CTL-VD (n=12) and WD-VD (n=12) groups, respectively], the animals, therefore, were supplemented with a dosage of 2800UI/day, from 90 days to 130 days of life, thus totaling 40 days of treatment. The Vitamin D₃ chosen was the commercial SupraD © liquid through the gavage technique. At 131 days of age, WD rats exhibited a significantly higher adiposity index than CTL and WD-VD rats. In WD rats, the weight of all fat deposits was substantially increased. Epididymal, retroperitoneal, mesenteric, fat deposit weights of WD animals increased 30%, 46% and 50%, respectively, compared to WD-VD rats ($p < 0.05$). The supplementation with Vit D3 decreased body weight gain, abdominal weight and plasma triglyceride levels by up to 25% compared to the WD group. It also regulated cholesterol and its fractions, approximately 15% of LDL was reduced and HDL increased by 25% in WD-VD rats ($p < 0.005$). Vit D treatment for 40 days reduced body weight gain in western-diet (WD) rats, also reduced fat store in WD-VD, and decreasing plasma cholesterol and triglycerides.

Keywords: cafeteria diet; lipid profile, obesity; western diet.

Acknowledgments: Supported by grants from: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

CHOLECALCIFEROL REDUCES BODY WEIGHT GAIN AND TOTAL LIPIDS IN LIVERS OF OBESE RATS

Maiara Mikuska Cordeiro¹, Gustavo Henrique de Souza¹, Evellyn Silva Moreira, Sabrina Alves Correa¹, Dionízia Xavier Scomparin², Jurandir Fernando Comar¹

¹Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil.

²Departamento de Biologia Geral, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Paraná, Brasil.

Área de conhecimento: Bioquímica.

Obesity is considered the disease with the highest prevalence and incidence in the world. Studies indicate that in obesity the Vit D bioavailability was reduced, which could contribute to obesity development. Thus, the aim of this study was to investigate the effects of Vit D₃ on liver hepatic in cafeteria diet-induced obese adult rats. The research is approved by the Ethic Committee on Animal Use of the State University of Maringá (CEUA 5866200720/UEM). The wistar rats used at 50 day-olds were randomly divided into 4 groups (n=12). One group was designated as a CTL, which received commercial food throughout the procedure and another group as a WD, where the diet consisted of industrialized foods. Two other groups (CTL-VD, WD-VD), were submitted to the same procedures as the previous ones, were supplemented with a dosage of 800UI/day, from 90 days to 130 days of life, thus totaling 40 days of treatment. In WD rats the body content was measured to confirm that higher BW gain and fat accumulation, the increased 60% than CTL. The hepatic steatosis was confirmed by biochemical measurements of the total liver lipid content increased in WD rats 5% of the liver weight. Vit D₃ supplementation decreased BW gain, and reduction of the total lipid total liver in WD-VD rats. In conclusion, Vit D supplementation demonstrated is a good strategy to attenuate body weight gain, and in the lipid content of the liver of animals treated with vitamin D₃, allowing improvement in the condition of hepatic steatosis.

Keywords: obesity, cafeteria diet, hepatic steatoses, Vitamin D₃.

Acknowledgments: Supported by grants from: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

QUANTIFICAÇÃO DE BIOATIVOS PRESENTES EM CHÁ GELADO DE FOLHAS DE STEVIA

Maria Rosa T. Zorzenon¹, Cynthia Leticia S. Cabeça¹, Natani C. Nogueira¹, Erika Berlin², Lorena G. B. Aristides², Betânea C. Pereira² Paula G. M. Fernandes¹, Silvio Claudio da Costa¹

¹Programa de pós-graduação em Bioquímica, departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Brasil.

²Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil.

Área do conhecimento: Bioquímica

O consumo de chás com folhas de plantas minimamente processadas tem crescido mundialmente. Diversos estudos mostram os benefícios dos fitoquímicos presentes nesses chás, que vão desde a prevenção ao tratamento de doenças metabólicas, como diabetes e obesidade. A *Stevia rebaudiana* é uma planta que já vem sendo utilizada para o tratamento dessas doenças devido a seus adoçantes naturais substituírem o açúcar, um dos principais responsáveis pelas doenças metabólicas. Com isso, o objetivo desse estudo foi fazer um chá gelado de Stevia e avaliar sua atividade antioxidante contra os radicais DPPH e ABTS e quantificar o teor dos adoçantes (glicosídeos de esteviol) e compostos fenólicos totais. O chá de Stevia apresentou 25 g/100g de adoçantes, sendo 11,9% rebaudiosideo A, o adoçante com melhor perfil sensorial da Stevia. Foram encontrados 72.3 µgEAG/mg de compostos fenólicos. O chá apresentou 50% de inibição do radical DPPH e 28.4% para o radical ABTS⁺. Também foi realizado uma análise sensorial preliminar, com avaliação por escala hedônica, que resultou em: dulçor com nota acima de 6-gostei ligeiramente e residual herbáceo acima de 2-pouco residual herbáceo. Esses resultados indicam que a extração a frio dos bioativos de Stevia podem ser uma alternativa para aproveitar todos os benefícios que as folhas de Stevia apresentam, não somente o uso de adoçantes, podendo ser diretamente consumida ou na aplicação de produtos alimentares.

Palavras-chave: Adoçantes, antioxidante, fenólicos.

Agradecimentos: CAPES, NEPRON e Programa de Pós-graduação em Bioquímica.

MICROENCAPSULAÇÃO AUMENTA BIODISPONIBILIDADE DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE STEVIA

Maria Rosa T. Zorzenon¹, Cynthia Leticia S. Cabeça¹, Lorena G. B. Aristides², Natani C. Nogueira¹, Erika Berlin², Betânea C. Pereira², Paula G. M. Fernandes¹, Silvio Claudio da Costa¹

¹Programa de pós-graduação em Bioquímica, departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Brasil.

²Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil.

Área do conhecimento: Bioquímica

Compostos bioativos presentes em chás de folhas de plantas tem inúmeros benefícios fisiológicos, principalmente na prevenção e tratamento de disfunções metabólicas como o estresse oxidativo. Entretanto, o sistema digestivo contém condições específicas que alteram a biodisponibilidade desses compostos, podendo contribuir para a diminuição dos benefícios encontrados nos chás. A *Stevia rebaudiana*, uma planta conhecida por seus adoçantes, também apresenta compostos bioativos antioxidantes em suas folhas. Uma alternativa para aumentar a biodisponibilidade dos compostos bioativos do extrato de Stevia é a microencapsulação, que consiste em prender os antioxidantes dentro de uma matriz polimérica. Com isso, os objetivos desse trabalho são microencapsular o extrato aquoso de Stevia com maltodextrina por Spray Dryer e avaliar a biodisponibilidade de compostos fenólicos e glicosídeos de esteviol por HPLC do extrato livre e microencapsulado submetidas a digestão in vitro (boca, condição gástrica 30 minutos e 60 minutos, condição intestinal 60 e 120 minutos). Também foi avaliado a atividade antioxidante das amostras contra o radical DPPH e ABTS⁺. Os resultados mostraram que biodisponibilidade de adoçantes e fenólicos totais foram maiores para o extrato microencapsulado. Além disso, as microcápsulas apresentaram maior atividade antioxidante do que o extrato livre, indicando que a microencapsulação preservou os compostos bioativos contra os danos causados pela digestão. Assim, é possível utilizar a microencapsulação como uma forma de aumentar a biodisponibilidade dos compostos bioativos na digestão, aumentando contribuindo para preservação dos benefícios nutricionais que os chás apresentam e também para prevenção e tratamento de disfunções metabólicas.

Palavras-chave: Adoçantes, digestão in vitro, fenólicos.

Agradecimentos: CAPES, NEPRON e Programa de Pós-graduação em Bioquímica.

OBTENÇÃO DE FRAÇÃO POLISSACARÍDICA DE STEVIA

*Maria Rosa T. Zorzenon*¹, *Wellington F. dos Santos*², *Giuliana C. C. Grande*², *Lorena G. B. Aristides*³,
*Thales R. Cipriani*², *Paula G. M. Fernandes*³, *Silvio Claudio da Costa*³

¹Programa de Pós-graduação em Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Brasil.

²Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil.

³Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Brasil.

Área de conhecimento: Bioquímica

Stevia rebaudiana (Bert.), uma planta comumente conhecida por seus adoçantes naturais, tem apresentado inúmeros bioativos com diversos benefícios fisiológicos. Uma classe desses compostos são os polissacarídeos tem mostrado grande potencial pré-biótico e contra vírus do herpes. Entretanto, não há estudos até o momento de obtenção de frações polissacarídicas da variedade Stevia UEM-13, uma variedade de elite, selecionada por clone que apresenta alto teor de rebaudiosídeo A, adoçante com melhor perfil sensorial da Stevia. Com isso, o objetivo desse estudo foi obter uma fração polissacarídica a partir de folhas de Stevia UEM-13. Inicialmente foi realizado uma extração aquosa (1:10). O extrato foi concentrado em membrana de osmose reversa e a submetida a precipitação com etanol absoluto (1:3). O precipitado foi ressuspenso em água e submetido ao processo de congelamento-desgelo. Desse processo foram obtidos dois produtos: fração solúvel (FS) e fração insolúvel (FI). FS foi submetido a coluna de DEAE-celulose. Durante a separação pela coluna, foi acompanhado os teores de carboidratos totais. Os resultados mostraram que a fração 2 continha 50% de carboidratos totais, sendo sua composição monossacarídica determinada por CG-MS composta por ramnose (2,8%), arabinose (35,7%), xylose (4,8%), manose (3,1%), glucose (36,6%), galactose (16,5%) e ácido urônico (0,5%), sugerindo que a fração polissacarídica é um arabinogalactana. Assim, foi possível obter a fração polissacarídica da variedade Stevia UEM-13, contribuindo para a literatura e podendo ser testada em diferentes modelos experimentais para avaliação dos seus benefícios.

Palavras-chave: Adoçantes, carboidratos, *Stevia rebaudiana*.

Agradecimentos: CAPES, NEPRON e Programa de Pós-graduação em Bioquímica.

PROSPECÇÃO COMPUTACIONAL DE INIBIDORES DA ENZIMA D-ALANIL,D-ALANINA LIGASE B DE *Escherichia coli* (ECDdIB)

Matheus Francisco Soler¹, Flávio Augusto Vicente Seixas¹

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas – PBC – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil.

Área de conhecimento: Bioquímica

O início do processo de síntese dos peptidoglicanos formadores de parede celular bacteriana ocorre a partir do dímero D-alanil,D-alanina, composto por duas unidades de D-alanina e catalisado pela enzima D-alanil,D-alanina ligase (Ddl). Trata-se, portanto, de uma enzima-alvo para prospecção de novos fármacos de ação antibacteriana, uma vez que sua inibição leva à inviabilidade celular. O objetivo deste trabalho foi realizar a prospecção computacional, por meio de programas de *docking* molecular, a partir de bibliotecas de compostos com potencial de ligação à Ddl. Para a varredura, foram montadas bibliotecas de compostos sintéticos da Sigma Aldrich contendo aproximadamente 150.000 moléculas. As moléculas foram, inicialmente, prospectadas através do programa *AutoDock 4* na interface gráfica *PyRx*, onde foram selecionados inicialmente 617 compostos com potencial de ligação à enzima-alvo, uma vez que apresentaram pontuação de *docking* superior ao do substrato D-alanil,D-alanina, em comparação. Para confirmação dos dados e seleção das moléculas com maior potencial dentre as supracitadas, as 617 moléculas foram varridas novamente nos programas *AutoDock 4*, *Molegro Virtual Docker* e *GOLD Docking* para eliminação de resultados falso-positivos. Os testes foram realizados em quadruplicata a fim de validá-los e apenas as moléculas que obtiveram *score* de *docking* superior ao substrato, em todas as simulações, foram selecionadas como potenciais inibidores da Ddl. Os resultados encontrados até o momento nos estudos *in silico* indicam 46 moléculas com potencial inibitório sobre a Ddl, que serão selecionadas para futuros testes *in vitro*, avaliando-se seu potencial de ligação à enzimática recombinante, bem como a inibição do crescimento bacteriano.

Palavras-chave: Prospecção computacional, *docking* molecular, D-alanil,D-alanina Ligase.

Agradecimentos: Fundação Araucária, CNPq, CAPES.

INIBIÇÃO DA α -GLICOSIDASE POR EXTRATOS E FRAÇÕES DE *Stevia rebaudiana*

*Natani Caroline Nogueira*¹, *Cynthia Letícia Serra Cabeça*¹, *Maria Rosa T. Zorzenon*¹, *Betânea Campagnolli Pereira*², *Lorena Gonçalves Bardini Aristides*², *Antonio Sérgio Dacome*², *Silvio Claudio da Costa*¹, *Paula Gimenez Milani Fernandes*¹

¹Programa de Pós-graduação em Bioquímica, Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

²Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

Área de conhecimento: Bioquímica

Com folhas de *Stevia rebaudiana*, da variedade de elite Stevia UEM-13 foram obtidas frações de acetato de etila (FAE) por meio do fracionamento do extrato metanólico e etanólico de suas folhas, usando acetato de etila como solvente. A FAE por meio metanólico foi microencapsulada (FAEM) em *spray dryer* e o veículo usado para microencapsulação foi maltodextrina (DE10) e a razão de microencapsulação foi de 1:4 (p/p). Também com folhas de *Stevia rebaudiana* de mesma variedade foram realizadas extrações com água à 4° C (extrato frio) e à 100° C (extrato quente) por percolação semicontinua, três vezes de 1:3 (m/v), em seguida seco em *spray dryer* e microencapsulado com maltodextrina. Enzimas α -glicosidases são importantes na digestão de carboidratos e hiperglicemia, o que torna a capacidade de inibir essa enzima parte de muitos estudos sobre os efeitos antidiabéticos. A inibição da enzima α -glicosidase (atividade antidiabética *in vitro*) foi realizada, testando FAE do extrato etanólico (1 mg/mL), FAEM do extrato metanólico (1 mg/mL), microcápsula do extrato frio (1 mg/mL e 0,5 mg/mL) e microcápsula do extrato quente (1 mg/mL e 0,5 mg/mL). A atividade inibitória de α -glicosidase foi expressa por porcentagem de inibição (%) e calculado como; %Inibição = $\frac{\text{Absorbância Controle negativo} - \text{Absorbância da amostra}}{\text{Absorbância controle negativo}} \times 100$. FAE mostrou padrões de inibição (87%) parecidos em comparação com o oficial inibidor, acarbose (99,5%). Já FAEM 52,73% de inibição contra a enzima, quercetina 2% e ácido gálico 6%. Já nas microcápsulas de extratos frio e quente não houve inibição da enzima nessas concentrações.

Palavras-chave: Inibição da α -glicosidase, microencapsulada, *Stevia rebaudiana*.

Agradecimentos: Ao NEPRON e ao programa de Pós-graduação em Bioquímica.

MICROENCAPSULAÇÃO DE FRAÇÃO ANTIOXIDANTE DE *Stevia rebaudiana*

*Natani Caroline Nogueira*¹, *Cynthia Letícia Serra Cabeça*¹, *Maria Rosa T. Zorzenon*¹, *Betânea Campagnolli Pereira*², *Lorena Gonçalves Bardini Aristides*², *Antonio Sérgio Dacome*², *Silvio Claudio da Costa*¹, *Paula Gimenez Milani Fernandes*¹

¹Programa de Pós-graduação em Bioquímica, Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

²Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

Área de conhecimento: Bioquímica

Uma fração acetato de etila (FAE) de *Stevia rebaudiana*, da variedade de elite Stevia UEM-13 obtida por meio do fracionamento do extrato metanólico de suas folhas, usando acetato de etila como solvente, possui propriedades antioxidantes e antidiabéticas comprovadas. Dessa forma, o presente estudo teve como finalidade a microencapsulação da FAE, com o objetivo de preservar compostos antioxidantes por mais tempo e aumentar sua solubilidade, perfil sensorial e estabilidade. Em *spray dryer* o veículo usado para a microencapsulação foi à maltodextrina (DE10) e a razão de microencapsulação foi de 1:4 (p/p). A FAE e a fração microencapsulada (FAEM) foram submetidas a análises físico-químicas para sua caracterização (compostos fenólicos, atividade antioxidante, solubilidade, eficiência de microencapsulação, estabilidade e digestão *in vitro*). A microencapsulação resultou em um aumento de 75% da solubilidade da FAE, sendo que o processo de microencapsulação obteve uma eficiência de 83,5%. A microencapsulação foi efetiva em aumentar a estabilidade e preservar os compostos antioxidantes por mais tempo e na análise de digestão *in vitro* FAEM preservou os compostos significativamente proporcionando uma melhor possibilidade de absorção e com aumento da biodisponibilidade. Foi realizada avaliação estrutural e morfológica das microcápsulas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) no COMCAP, utilizando JEOL JSM-6060 LV MEV, operando em 10 a 5 kV de tensão de excitação, utilizando incrementos de 100 a 1.500 vezes para melhor visualização. Este trabalho microencapsulou uma fração de *Stevia rebaudiana*, mostrou que a fração microencapsulada aumenta a solubilidade e mantém os compostos de interesse mais estáveis.

Palavras-chave: Fração acetato de etila, microencapsulação, *Stevia rebaudiana*.

Agradecimentos: Ao NEPRON e ao programa de Pós-graduação em Bioquímica.

REDUÇÃO DA ÁREA FOLIAR DE SOJA SOB A INFLUÊNCIA DE CÁDMIO

Nayara Regina Campanenute Soares¹, Bruna Lana Campanenute Soares², Ana Claudia Sossai Souza², Paulo Sérgio Lourenço de Freitas³, Rogerio Marchiosi⁴

¹Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

²Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

³Departamento de Agronomia, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

⁴Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

Área de conhecimento: Bioquímica

O Cádmiio (Cd) é um metal pesado liberado no ambiente de forma natural ou por ação antrópica, incluindo a utilização de adubações, apresenta riscos ao desenvolvimento vegetal. O objetivo desse trabalho foi verificar o efeito de doses de cádmio na área foliar de soja. O cultivo foi em sistema hidropônico com soja Intacta RR pro, durante 14 dias, sendo 4 dias de tratamento, as doses utilizadas foram 0, 2, 4, 6, 8 e 10 μ M de Cd, com 4 repetições cada, a 25°C e fotoperíodo 12h/12h. A área foliar foi analisada pelo programa ImageJ e os dados foram submetidas a análise de variância a 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$) e à análise de regressão. A variedade pode ser susceptível, pois há uma diferença de área foliar a partir da menor dose de Cd, diferença que pode ser expressa em uma função quadrática qual a dose de 8 μ M apresenta a menor área foliar, apesar de não haver diferença significativa entre as doses 2, 4, 6, 8 e 10 μ M. Essa menor área pode ser justificada pela estagnação da expansão foliar quando aplicada os 4 dias de tratamento, mantendo se assim a área foliar inicial. As doses trabalhadas não apresentaram letalidade na planta. Estudos mostram que há redução de crescimento e fotossíntese em plantas de girassol e feijão, além de diferença de resistência ao Cd entre cultivares de soja. A caracterização dessa toxicidade nos dará embasamento para buscar compostos para reduzir os efeitos negativos do Cd.

Palavras-chave: *Glycine max*, cádmio, crescimento vegetal.

Agradecimentos: A CAPES, pela concessão da bolsa.

NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE GRAFENO: EFEITOS NO CRESCIMENTO INICIAL DE SOJA

Rafaela Andreza de Souza Soares¹, Rogério Marchiosi¹, Guilherme Henrique Zavaski¹, Tawany Aparecida Valerio dos Santos¹, Breno Miguel Joia¹, Ana Paulo Ferro¹

¹Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil.

Área de conhecimento: Bioquímica

A matéria prima da nanotecnologia são as nanopartículas (NPs), substâncias que possuem pelo menos uma de suas dimensões menor do que 100 nm. As plantas, sendo seres produtores nas cadeias alimentares, são portas de entrada de NPs para os diferentes níveis tróficos. O óxido de grafeno é um nanomaterial com excelentes propriedades mecânicas e hidrofílicas. Os efeitos do óxido de grafeno sobre plantas e sua interação com as células vegetais são pouco conhecidos. Por essa razão, avaliamos os efeitos do óxido de grafeno no crescimento inicial de plantas de soja. Para isso, o óxido de grafeno foi sintetizado por esfoliação do grafite utilizando agentes oxidantes (Marcano, 2010). Plântulas viáveis foram selecionadas, medidas, e transferidas para recipientes transparentes de plástico contendo 150 mL de solução nutritiva com ou sem óxido de grafeno (50, 125, 250, 500 e 750 mg/L). Os comprimentos e as biomassas fresca e seca de raízes foram determinadas após 6 dias (144h) de incubação a 25°C e fotoperíodo de 12h/12h (claro/escuro). A síntese do óxido de grafeno foi satisfatória. As plantas expostas ao óxido de grafeno apresentaram redução significativa no comprimento da raiz em relação ao controle, de 26%, 18%, 22%, 46% e 24% (50, 125, 250, 500 e 750 mg/L, respectivamente). As biomassas fresca e seca das raízes não apresentaram redução ou aumento no valor. Possivelmente pelo aumento em número e comprimento das raízes secundárias nos tratamentos, apesar da diminuição da raiz principal.

Palavras-chave: Nanopartículas, nanomateriais, óxido de grafeno.

Agradecimentos: Agradeço ao Laboratório de Bioquímica de Plantas, ao professor orientador Rogério Marchiosi e à CAPES pelo financiamento.

GOJI BERRY (*Lycium barbarum*) REDUZ O GANHO DE PESO EM RATOS WISTAR COM OBESIDADE INDUZIDA POR DIETA RICA EM CARBOIDRATOS SIMPLES

Samara Cristina Dossena¹, Isabela Ramos Mariano Furlan¹, Maria Montserrat Diaz Pedrosa², Rosângela Fernandes Garcia², Fernando Carlos de Sousa³, Maria Raquel Marçal Natali⁴

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Maringá¹, Maringá, Paraná, Brasil.

²Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Estadual de Maringá¹, Maringá, Paraná, Brasil.

³Universidade Tecnológica Federal do Paraná², Dois Vizinhos, Paraná, Brasil.

⁴Departamento de Ciências Morfológicas, Universidade Estadual de Maringá¹, Maringá, Paraná, Brasil.

Área de conhecimento: Biologia celular e bioquímica

A obesidade é um problema de saúde mundial que compromete a qualidade de vida e representa fator de risco para diversas doenças potencialmente fatais. Caracterizado como alimento funcional, o Goji Berry (GB), um fruto tradicional da medicina chinesa, tem se mostrado eficiente no controle da obesidade. A fim de investigar os efeitos do GB na prevenção e tratamento da obesidade, 50 ratos Wistar machos foram distribuídos em 5 grupos com o delineamento experimental aprovado pelo Comitê de Ética da UEM. Os grupos CA e CGB foram alimentados com dieta padrão para roedores e receberam gavagem gástrica com água (CA) e extrato de GB (CGB) na dose de 250 mg/kg, por 60 dias. Os grupos OA, OGB e OPR foram alimentados com dieta rica em carboidratos simples (DRCS) e receberam gavagem gástrica com água (OA) e extrato de GB por 60 (OGB) e 109 dias (OPR). A DRCS promoveu aumento significativo no peso corporal final, índice de massa corporal (IMC) e massa da gordura visceral, levando os animais a um quadro de obesidade efetivo. O tratamento (OGB) apresentou efeito redutor para com o peso corporal final e a massa da gordura mesentérica. A profilaxia (OPR) diminuiu em 8,5% o IMC em comparação com o grupo OA. O GB em animais não obesos não produziu alteração significativas nos parâmetros biométricos. Os resultados apontam que a utilização do extrato de GB é uma alternativa promissora para a prevenção e tratamento da obesidade, promovendo redução do peso corporal, do IMC e da gordura mesentérica.

Palavras-chave: Goji Berry, obesidade, carboidratos.

Agradecimentos: As agências financiadoras CAPES e CNPq, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas e a Universidade Estadual de Maringá.

COMPARAÇÃO DAS PROPRIEDADES CINÉTICAS E FÍSICO-QUÍMICAS DAS LACASES LIVRE E IMOBILIZADA DE *Trametes versicolor*

Thaís Marques Uber, Daniela Leila Pasquarelli, Adelar Bracht, Rosane Marina Peralta

Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil.

Área de conhecimento: Bioquímica

Lacases de fungos ligninolíticos têm atraído atenção considerável devido à sua capacidade de degradar uma série de xenobióticos lançados ao ambiente pelas práticas industriais e agrícolas. Os objetivos deste trabalho foram 1. produzir lacase em cultivos em estado sólido utilizando o fungo *Trametes versicolor* utilizando uma mistura de bagaço de cana e farelo de trigo como substrato. 2. imobilizar a enzima pelo método de reticulação com glutaraldeído. 3. comparar as propriedades cinéticas e físico-químicas das frações livre e imobilizada; 4. avaliar o reuso da enzima imobilizada na descoloração do corante sintético azul brilhante de remazol R (RBBR). O método de imobilização utilizado possibilitou um rendimento de $88\pm 5\%$ com uma atividade remanescente de $52\pm 5\%$. Com ABTS (2,2-azino-bis [3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico]) como substrato, K_M e V_{max} da lacase livre foram $0,087\pm 0,01$ mM e $1,48\pm 0,06$ $\mu\text{mol}/\text{min.}$, respectivamente. Para a enzima imobilizada, K_M e V_{max} foram $1,00\pm 0,33$ mM e $0,78\pm 0,14$ $\mu\text{mol}/\text{min.}$, respectivamente. A imobilização das lacases causou, assim, um aumento no valor de K_M e uma redução no V_{max} . Podemos concluir que a imobilização da lacase causou uma redução na eficiência catalítica da enzima. Por outro lado, a imobilização aumentou a estabilidade térmica da enzima. A lacase imobilizada foi capaz de oxidar o substrato ABTS por pelo menos 10 ciclos e de descolorir o corante RBBR por pelo menos 5 ciclos. Desta forma, a lacase imobilizada de *T. versicolor* apresenta potencial de uso para degradação em larga escala de corantes antraquinônicos em sistemas aquosos.

Palavras-chaves: Imobilização, estabilidade, reuso, degradação de corantes.

Agradecimentos: CAPES, CNPq, UEM.