CONCURSO PROFESSOR ADJUNTO A - INTEGRAÇÃO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS

Nº	NOME
1	Letícia Silva Ferraz
2	Adriana Carvalho de Moraes
3	Johnatas Dutra Silva
4	Arnon Dias Jurberg
5	Mariana Macedo de Almeida
6	Kamila Guimarães Pinto
7	Mauricio Peña Cunha
8	Rafael Cardoso Maciel Costa Silva
9	Luana Pereira Borba dos Santos
10	Alessandra Marcia da Fonseca Martins
11	Julianna Dias Zeidler
12	Leonardo Marquesa da Fonseca
13	Gustavo Monnerat Cahli
14	Mariana Martins Chaves
15	Amanda Roberta Vicentino
16	Felipe Campos Ribeiro
17	Evelyn Seam Lima de Alvarenga
18	Letícia Dobler
19	Almir Jordão da Silva Junior
20	Thiago Soares de Souza Vieira
21	Juliana Aparecida Rizzo Balancin
22	Renata Guedes Gonçalves
23	Gabriel Macedo Costa Guimarães
24	Aline Furtado Bastos Campos
26	Patricia Pinheiro Bado

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho
Concurso para Professor Adjunto
MC-015 – Integração de Sistemas Biológicos
Edital nº 377 de 25 de maio de 2022, publicado no DOU nº 102 de 31 de maio de 2022 - consolidado com as alterações dos Editais nº 402 de 31 de maio de 2022 e nº 435 de 31 de maio de 2022

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 1

No. fl. 1

Favor não escrever no verso

Comunicação Celular:

As células de um organismo comunicam-se a fim de estabelecerem alterações de comportamento em outra, através do envio de moléculas de sinalização celular. Essa comunicação pode acontecer localmente, como no caso do estabelecimento de junções comunicantes entre as células; podem ser do tipo células ou célula; ou ainda podem ser autócrinos e/ou parácrinos. Nas junções comunicantes, as células adjacentes formam canais entre elas. Esses canais são constituídos pela proteína conexina e podem ser utilizados para compartilhar íons e pequenas moléculas orgânicas a favor do gradiente de concentração. A comunicação células a células é mediada por proteínas do tipo Cam (cell adhesion molecules) e depende da concentração de Ca^{2+} presente no líquido extracelular. A sinalização pode também ser autócrina, na qual a célula que emite o sinal é a mesma quem o recebe, ou pode ser parácrina, na qual a célula emite um sinal e quem responde a ele é outra célula diferente localmente. O sinal enviado por uma célula pode ser recebido por outra (ou por ela mesma) de diferentes formas, dependendo do tipo

UFRJ

de receptor. Os receptores podem ser canais iônicos, que dependendo do sinal recebido são abertos ou fechados; podem ser associados à integrinas, que atuam no remodelamento do citoesqueleto; podem ser associados à enzimas ou associados à proteína G. Os sinais recebidos por proteína G normalmente se utilizam de segundos mensageiros para amplificação do mesmo. Dois exemplos interessantes de sinalização por GPCR (receptores associados à proteína G) são os cascatas sinalização celular relacionados com os sentidos do olfato e da visão. No caso do olfato, o GPCR Golf, quando ativado por um sinal externo, promove a ativação da adenilciclase, aumentando os níveis intracelulares do segundo mensageiro (AMPc) AMP cíclico, esse aumento na concentração promove a abertura de canais catiônicos dependentes de AMPc e um influxo de Na^+, esse influxo despolariza a membrana do neurônio olfatório, enviando o sinal para o centro integrador responsável processar. Já na visão observa-se o fenômeno oposto, no escuro, a rodopsina (GPCR) presente na membrana plasmática dos bastonetes encontra-se inativa, a concentração de GMPc (GMP cíclico) é alta e os canais de cátions dependentes de GMPc encontram-se (~~fechados~~) abertos. Na presença de luz a rodopsina sofre isomerização que provoca a ativação da GMP transferase que diminui a concentração plasmática de GMPc, fechando os canais catiônicos dependentes de GMPc, hiperpolarizando a célula e trans-

UFRJ

emitindo o sinal. A transdução do sinal recebido por um GPCR pode ser dar pela ativação das cinases PKA e PKC. Esta última fosforila fosfoinositídeos na membrana plasmática gerando dois subprodutos, o diacilglicerol (DAG) e o IP_3. O IP_3 atua nos canais de rianodina na membrana do retículo endoplasmático, essa abertura promove um influxo de Ca^{2+} que amplifica o sinal. Os receptores associados à enzimas podem ou não apresentar atividade enzimática direta. Eles atuam, por exemplo, por meio de receptores de tirosina cinase (RTK) que fosforilam resíduos de serina/treonina em proteínas alvo, promovendo sua ativação. Uma importante via que se utiliza de receptores associados à enzimas é a via das MAPK. Essa via se inicia quando um sinal é recebido pelo receptor RAS. A família de proteínas RAS é composta por GTPases e apresenta três isoformas K, H e N. RAS atua como um comutador, quando ativada pelo sinal, a proteína GEF promove a ligação do GTP, e quando inativa, a proteína GAP promove a hidrólise do GTP. RAS ativa (ligada ao GTP) promove a fosforilação dos dímeros de MEK, que por consequência fosforila os dímeros de ERK, que fosforila diferentes alvos celulares correlacionados com o processo de crescimento e divisão celular. Como exemplo, sabe-se que ERK fosforila a proteína mitocondrial DRP1, ativando a. A DRP1 fosforilada promove a fissão mitocondrial, processo que tem como uma de suas funções garantir o número adequado

de mitocôndrias nas células filhas durante a mitose. A proteína RAS se encontra mutada em vários tipos de tumores, em melanoma, por exemplo, a principal mutação ocorre na isoforma N, em que ocorre uma troca de aminoácido Q na posição 61 por um aminoácido R. Essa alteração na carga e tamanho do aminoácido promove uma alteração conformacional que trava a RAS na posição ativa (ligada ao GTP) constitutivamente, independente de sinalização celular externa, promovendo divisões celulares descontroladas e crescimento tumoral.

A comunicação celular pode ocorrer também à longas distâncias. Ela pode ser endócrina, nas quais os moléculas sinalizadoras são normalmente hormônios, ou pode ser nervosa, na qual sinais químicos são convertidos em sinais elétricos. A sinalização nervosa ocorre em células excitáveis, como as células musculares e as células nervosas, os neurônios. O sinal recebido por uma célula nervosa provoca a abertura de canais de Ca^{2+} ligante dependentes e por consequência um influxo de Ca^{2+} que promove a liberação de neurotransmissores na fenda sináptica. Para ser gerado um potencial de ação neuronal, os potenciais graduados recebidos devem atingir um limiar.

O tempo de resposta entre a emissão de um sinal e a promoção do comportamento desejado depende na natureza química da moléculas sinalizadoras, da disponibilidade de molécu

Favor não escrever no verso

dos receptores de sinal, da capacidade de adaptação ao sinal, de sua especificidade, entre outros. Moléculas sinalizadoras lipofílicas, como retinóis, hormônios esteroides e vitamina D, atravessam a membrana plasmática por difusão a favor do gradiente de concentração e, normalmente, ativam receptores nucleares, modulando a expressão gênica, tratando-se, portanto, de uma resposta lenta. Já moléculas hidrofílicas se utilizam de receptores de membrana, como os GPCRs e RTKs mencionados anteriormente, e tem como alvo normalmente proteínas citoplasmáticas, que já se encontram traduzidas, tratando-se, portanto, de uma resposta rápida. A capacidade das células de apresentar novamente seus receptores disponíveis depende das reciclagem dos receptores por vesículas de endocitose, de degradação dos mesmos nos lisossomos ou de sua difusão para o líquido extracelular.

Equilíbrio dinâmico e Homeostasia:

Homeostasia refere-se a capacidade de um sistema biológico de manter-se constante e relativamente estável mediante alterações no ambiente externo. É a manutenção do equilíbrio dinâmico de diversos parâmetros biológicos, como temperatura, pH, osmolaridade, pressão arterial e glicemia, dentro de uma faixa de valores aceitáveis, ou seja, compatíveis à vida desse determinado organismo. Para esse fim, o corpo humano apresen-

UFRJ

tal uma série de receptores que monitoram variações em parâmetros corporais específicos, levam essa informação para os centros integradores de sinal no encéfalo, que se necessário disparam sinais eferentes para que o parâmetro em questão retorne à normalidade. A homeostasia segue a lei de balanço de massas, na qual a quantidade de uma determinada substância deve ser igual ao somatório do que foi produzido e/ou ingerido menos o somatório do que foi metabolizado e/ou excretado dessa mesma substância. O centro de integração de sinal para alteração na temperatura corporal é o hipotálamo. Quando a temperatura sobe, o corpo responde com respostas eferentes para diminuição da temperatura, como a vasodilatação e a produção de suor pelas glândulas sudoríparas. No entanto quando a temperatura corporal desce, as respostas eferentes são opostas para promover a retenção de calor, como a vasoconstrição e a resposta de tremores. A taxa glicêmica no sangue é outro exemplo de regulação homeostática. Quando a concentração de glicose no sangue está alta, as células β do pâncreas são ativadas e secretam insulina, as células α do pâncreas são inativadas. A insulina promove o armazenamento da glicose na forma de glicogênio no fígado, o que faz com que os níveis de glicose no sangue desçam. Essa queda na concentração sanguínea de glicose ativa as células α do pâncreas que secretam glucagon e inativam

UFRJ

as células β do pâncreas. O glucagon mobiliza os estoques de glicogênio não fígado através da gliconeogênese e glicogenólise, aumentando novamente a concentração de glicose no sangue. Um desbalanço em qualquer uma destas etapas pode provocar doenças, como o diabetes, por exemplo. A pressão arterial é outro parâmetro importante que é monitorado por barorreceptores carótidos e aórticos. Um aumento na pressão arterial promove a secreção de renina pelos rins que fornece a secreção de angiotensina I que é inativa. A enzima cardíaca (~~ECA~~) ECA ativa a angiotensina I em II através de sua conversão. A Angiotensina II promove a vasodilatação e consequentemente a diminuição da pressão arterial. Outro hormônio que atua na regulação da pressão arterial e da osmolaridade é a vasopressina. Ela, regula a inserção de aquaporinas no túbulo proximal dos néfrons renais e assim regula a absorção/retenção de água, ou sua eliminação, regulando a volemia e a pressão arterial, além da concentração de íons. A homeostasia é regulada por alças de retroalimentação negativa, como nos exemplos citados anteriormente, alças positivas devem sempre ter uma alça negativa acoplada para normalização dos parâmetros. A contração do útero uterino mediada pela ocitocina é um exemplo de retroalimentação positiva, na qual as contrações e pressão exercidas pelo feto na útero fazem mais liberação do hormônio.

Genes, ambiente e respostas biológicas.

A informação biológica para a replicação de uma célula está contida no DNA. O DNA é uma dupla hélice composta por bases nucleotídicas purinas (adenina) e pirimidinas (ex: timina), o açúcar ribose e grupamentos fosfato, que lhe confere carga negativa. As bases de nucleotídeos são unidas por pontes de hidrogênio e são pareadas da seguinte forma, uma adenina forma duas pontes de nitrogênio ao se parear com uma timina e uma citosina forma três pontes de nitrogênio ao se parear com uma guanina. A replicação do DNA envolve diferentes proteínas que formam um complexo protéico, o replissomo. Nele, a helicase abre as duplas hélices através da quebra das pontes de hidrogênio, a topoisomerase impede a super helicoidização da fita desenovelada e as proteínas SSB estabilizam a estrutura. A enzima DNA polimerase replica a fita no sentido 5' para o sentido 3' através da inserção de nucleotídeos complementares ao da fita molde contínua no local onde se encontra a sequência primer. A outra fita de DNA, a fita descontínua, é replicada pela inserção seguida de pequenos fragmentos, os fragmentos de Okazaki, que são posteriormente ligados pela DNA ligase. O processo de replicação pode sofrer erros, que podem ser desencadeados por fatores ambientais como a radiação e a exposição à luz ultravioleta. A enzima DNA polimerase apresenta também a atividade de exonuclease para

UFRJ

carga positiva nula. A replicação do DNA é um processo regulado e desencadeado por reguladores de transcrição que controlam como e em que momento esse processo deve ocorrer. Nos cromossomos, o DNA encontra-se associado a octâmeros de histonas que possuem carga positiva, dessa forma elas atuam na compactação do DNA. O grau de condensação das histonas determina o acesso dos complexos de replicação ao material genético. A cromatina que corresponde a parte do material genético que pode ser transcrita e expressa e pode estar condensada ou descondensada dependendo do tipo celular e da fase do ciclo celular. ([illegible]) o material genético pode sofrer também alterações epigenéticas, que podem ser desencadeadas por alteração na homeostasia, as alterações no grau de metilação das histonas e até mesmo no próprio DNA podem promover a expressão ou silenciar um gene.

Como dito anteriormente, fatores ambientais podem promover alterações no DNA. No caso do melanoma, que é um tipo de câncer originado pela alteração maligna dos melanócitos, ele é causado principalmente por exposição prolongada à radiação ultravioleta sem fotoproteção adequada. Cerca 50-70% dos casos de melanoma são causados por mutações genéticas no gene B-RAF que promove a alteração de um aminoácido V por um E na posição 600 da proteína e de 15-20% são causados por mutações genéticas em N-RAS

como explicado anteriormente. Essa exposição à luz UV promove danos no DNA que ocorrem gerando proteínas defeituosas na via das MAPK, uma importante via no crescimento e divisão celular. A resposta biológica a essa via expressa com as proteínas defeituosas é a expressão constitutiva da via, independente de estímulos extracelulares no caso de RAS e independente da formação de dímeros de B-RAF e da sinalização de RAS no caso de B-RAF. Essa ativação constitutiva promove o crescimento celular descontrolado e desregulado, provocando a proliferação tumoral. Mutações nessas e outras vias biológicas levam ao desenvolvimento de diferentes tipos tumorais, como mutações nas proteínas da família BCL2 que regulam a morte celular apoptótica, mutações em p53 e em PTEN são outros exemplos.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho
Concurso para Professor Adjunto
MC-015 – Integração de Sistemas Biológicos
Edital nº 377 de 25 de maio de 2022, publicado no DOU nº 102 de 31 de maio de 2022 - consolidado com as alterações dos Editais nº 402 de 31 de maio de 2022 e nº 435 de 31 de maio de 2022

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 2

No. fl. 1

Favor não escrever no verso

Tema 4 - Comunicação intercelular

A comunicação intercelular pode ocorrer entre diferentes seres vivos: dos unicelulares aos pluricelulares. Nos organismos multicelulares pode-se citar 2 tipos principais de comunicação: modo direto e modo indireto. No modo direto essa interação ocorre por contato. Nesse contexto, as junções comunicantes são estruturas que formam canais entre células aumentando a velocidade de comunicação propagando um sinal e coordenando uma resposta específica dentro de um grupo de células, como as esqueléticas cardíacas e musculares.

Já no modo indireto de comunicação podemos citar os sistemas humorais. Nele as secretoras e produtoras especializadas produzem moléculas que agirão localmente ou serão liberadas na corrente sanguí-

Favor não escrever no verso

mia até alcançar as células alvos e suscitem uma resposta. A especificidade da resposta dependerá de diversos fatores. Dentre eles podemos citar o tipo celular e sua maquinaria para a transdução de diferentes sinais, a entrada dessas moléculas na célula, a existência receptores específicos para as mesmas, a fase do desenvolvimento do organismo e a comunicação e interação entre diferentes tipos de sinalização.

Dentre os diversos mecanismo de comunicação intercelular via humoral ~~poste~~ está o eixo hipotalamo - hipófise - glândulas. Sendo essencial para função como metabolismo, regulação osmolaridade, reprodução e desenvolvimento sexual além da amamentação. Aqui será descrita a sinalização hipotálamo - hipófise - tireoide. O hipotálamo, estrutura do sistema nervoso central, produz e secreta o TRH (hormônio liberador de tireotrofina) que será liberado na junção com a adenohipófise e atuará nos tireotrofos para a estimulação da produção T_3 T_4 (hormônio tireotrofina)

UFRJ

O TRH liga-se ao seu receptor TR14R, receptor acoplado a proteína G, uma das principais famílias de receptores possuindo 7 domínios transmembrana. Após ligar-se a proteína G q/11, ocorre uma mudança conformacional e a ativação da fosfolipase C. Esta age sobre o fosfatidilinositol 4,5 bifosfato (PIP2) clivando-o em trifosfato inositol e diacilglicerol. O trifosfato inositol liga-se ao seu receptor na membrana do retículo endoplasmático, ativando um canal de Ca^{2+} e aumento os níveis citoplasmáticos desse íon. O aumento da concentração de Ca^{2+} juntamente com o diacilglicerol ativam a PKC (proteína quinase C). Esta irá fosforilar diferentes proteínas levando a indução da transcrição do gene TSH subunidade B. O TRH também estimula a glicosilação do TSH, etapa essencial para a sua atividade biológica. E por fim, estimula a liberação de TSH.

O hormônio tireotrofina (TSH) agirá na tireoide através dos receptores de membrana TSH R. Também fazem parte da

UFRJ

família de receptores acoplados à proteína G. Nesse caso, a ligação do T3/4 ao seu receptor gerará uma mudança conformacional na proteína G, levando a troca de GDP por GTP, liberando a subunidade α da Gβγ. A subunidade α ativará a enzima adenilato ciclase, responsável pela conversão de ATP em AMPc. O aumento intoplasmático das concentrações de AMPc, leva a ativação de PKA (proteína quinase A). PKA irá fosforilar diversas proteínas dentre elas CREB (fatores de transcrição) e resultará na síntese de T3 e T4, os hormônios tireoidianos. Além disso, aumenta o transporte de iodetos para serem usados na síntese de T3 e T4 e estimula até a síntese e atividade da DIO1 (enzima conversora de T4 → T3). Sendo T3 a forma ativa do hormônio. Níveis circulantes de T3 e T4 permitem uma regulação local da ação do hormônio. Importante ressaltar que uma hipotálamo - hipófise - tireoide observa um mecanismo de retroalimentação negativa onde um aumento dos

UFRJ

níveis de T3 e T4 inibe a síntese e liberação de ambos TRH e TSH. Seguindo esse raciocínio um aumento nos níveis de TSH também inibe diretamente a liberação TRH. Outras moléculas como a somastatina, dopamina, estrogênios e Testosterona podem atuar nesse eixo tanto inibindo quanto estimulando-o. O resultado dessa complexa sinalização e comunicação intercelular será a resposta fisiológica observada pelo acão dos hormônios tireoidianos. Dentre as quais podemos citar a regulação metabolismo celular, termogênese, gliconeogênese e glicogenólise dentre outras.

UFRJ

Favor não escrever no verso

Tema 7 - Equilíbrio dinâmico, homeostasia

Diversos mecanismos regulatórios existem nos organismos para controlar e manter as condições do meio interno dentro de limites ideais para o funcionamento. Nos mamíferos, o meio interno chama-se líquido intercelular. Os diferentes sistemas trabalham portanto para manter este equilíbrio dinâmico necessário para a funcionalidade dos organismos em resposta a sinais tanto internos quanto ambientais.

Os rins são por excelência órgãos reguladores da homeostasia. Sendo responsáveis pelo controle pH, osmolaridade, concentração de diversos íons, reabsorção glicose, aminoácidos e proteínas além da regulação da pressão arterial a longo prazo.

Modificações ambientais como a falta de qualidade da água para seus diferentes usos levam à exposição a diversos agentes que levam a uma perda de homeostasia nos diferentes organismos de diferentes níveis tróficos. Como todos os seus níveis conhecidos em nosso planeta são dependen-

Favor não escrever no verso

tes de água, a composição dessa água influencia o meio ambiente e as populações humanas.

Em 1996, um caso em Caruaru-PE chamou a atenção do mundo. Pacientes de uma clínica de hemodiálise foram a óbito após ~~intoxicação~~ exposição via intravenosa a duas cianobactérias chamadas microcistinas e cilindrospermopsina, ambas presentes na água que abastecia essa clínica.

As microcistinas são heptapeptídeos produzidas por diferentes gêneros de cianobactérias. Seu órgão alvo é o fígado, onde são internalizadas via OATPs (transportadores de ânions orgânicos) e seu principal mecanismo de ação é a inibição das proteínas fosfatases 1 e 2A. ~~Várias proteínas permanecem fosf~~ O balanço quinases/fosfatases é perdido, ocorre um desarranjo do citoesqueleto, ativação vias apoptóticas levando a falência hepática. Mais recentemente, trabalhos tem demostrado seu papel desregulador no rim, alterando o ritmo de filtração glomerular, causando edema e elimi-

UFRJ

nuição reabsorção de Na^+, prejudicando o funcionamento do órgão como um todo.

No que diz respeito a cilindrospermopsina é um alcaloide de 413 Da também produzido por uma gama de gêneros de cianobactérias presentes em várias regiões do globo. Classicamente descrita como hepatotóxica, hoje é considerada uma citotoxina pela sua ação ser generalizada e não órgão específica. Nos rins de camundongos expostos a essa molécula, ela é capaz de causar um dano tubular, comprometo a integridade celular e a reabsorção de proteínas como a albumina. Além de induzir a deposição de colágeno e edema intersticial. Já em cultura de células tubulares renais (LLC-PK1), observa-se um aumento da morte celular após exposição a cilindrospermopsina, uma inibição da endocitose de albumina que é realizado pelo complexo megalina e cubilina e alterações na expressão gênica de proteínas como a Dab2, essencial no processo endocítico de albumina. Sendo uma molécula hidrofílica, além de desre-

UFRJ

afetar a reabsorção tubular, este pode ser um mecanismo de entrada nas células, não só renais, já que a megalina é expressa em outros tecidos como testículos, ovários e endométrio.

Por fim, diferentes agentes ambientais podem ser capazes de afetar a homeostasia dos organismos expostos. O resultado desse desbalanço vai depender da dose de exposição, frequência, duração e da capacidade individual de resposta, reparação e processos de destoxificação.

UFRJ

Tema 12 - Lagos, ambiente e respostas biológicas

O processo de eutrofização consiste no enriquecimento dos corpos d'água com fontes de nitrogênio e fósforo. Este processo tem sido acelerado pelas atividades humanas e vem favorecendo a dominância das cianobactérias em ecossistemas eutrofizados (ricos em N e P).

Cianobactérias são seres procariontes fotossintetizantes com características similares as bactérias gram-negativas. Alguns gêneros são potencialmente produtores de diversas toxinas. Dentre elas podemos citar a saxitoxina, anatoxina, modulacina, microcistinas e cilindrospermopsina. A presença dessas toxinas é um problema tanto de saúde ambiental, afetando a biota aquática, quanto de saúde pública, causando danos aos seres humanos. Diversos casos de intoxicação por cianobactérias já foram relatados na literatura. Dentre eles o mais importante aconteceu em Caruaru - PE - Brasil, onde pacientes de uma clínica hemodialise

UFRJ - CNPJ - INSTITUTO DE BIOFÍSICA CARLOS CHAGAS

vieram a óbito após exposição a água contaminada com cianotoxinas. Atualmente tanto a legislação brasileira estabelece limites de ingestão quanto a organização mundial da Saúde: No entanto, os ecossistemas aquáticos continuam sendo afetados por esse problema cada vez mais frequente. Além disso não existe uma legislação para a detecção e limites dessas toxinas nos pescados, tornando a ingestão crônica pela alimentação negligenciado.

Dentro desse contexto, o estudo da toxicologia dessas cianotoxinas é de vital importância para a avaliação do problema num contexto ambiental, entendendo a saúde humana como parte e interdependente da saúde ambiental.

Dentre as cianotoxinas, a cilindrospermopsina (CYN) é um alcalóide, hidrofílico que 415 Da. Esta molécula já foi descrita em diversos ambientes tanto temperados como tropicais. É uma molécula estável em temperaturas de 10 a 40°C e pode ficar biodisponível na coluna d'água por cerca de 30

Favor não escrever no verso

dias. Além disso, diferente das outras cianotoxinas que são predominantemente intracelulares cerca de 30% é exportada pro meio extracelular. Tornando-a assim mais disponível para os outros organismos diretamente na água.

Em mamíferos, a CYN é capaz de afetar diversos órgãos como: fígado, baço, fígado, vesícula pulmão e rins; inicialmente sendo descrita como inibidora de síntese proteica. Nos rins a CYN causa uma proteinúria de baixo peso molecular, predominantemente albumina além de deposição de colágeno e de forma intersticial sugerindo um dano tubular. Já em cultura de células tubulares renais (LLC-PK1), observa-se indução morte celular, diminuição reabsorção albumina e modificação de genes relacionados a função tubular como o Dab2, proteína essencial para o processo de endocitose de albumina pelas células tubulares.

Em outro modelo animal, a CYN foi capaz de induzir alterações morfológicas e de expressão gênica de 3 grandes grupos:

UFRJ

metabolismo tireoide, estresse oxidativo e função renal em embriões de zebrafish. Em cultura de testículo pode-se observar alterações na composição dos diferentes tipos celulares existentes na ~~espio~~ espermatogênese, alterações expressão genes esteroidogênese e aumento níveis testosterona. Em folículos ovarianos houve indução de apoptose, alteração expressão gênica e um aumento níveis testosterona.

Todos esses resultados mostram a ação da CYP a nível de expressão gênica, gerando uma alteração na resposta hormonal e, por fim, um efeito fisiológico. O uso de diferentes modelos e diferentes tecidos e, portanto, diferentes mecanismos fortalecem os estudos e abrem novas possibilidades no entendimento dos mecanismos envolvidos na toxicidade dessa molécula. Um exemplo é a possível modulação do efeito na endocitose de albumina nas células do Túbulo proximal com o efeito tanto em testículo como em folículos ovarianos do aumento de testosterona. O transporte dos hormônios esteroides é realizado por proteínas carreadoras

UFRJ

como a SHBG, devido ao caráter lipofílico desses hormônios. Acredita-se também que a albumina é capaz de ligar-se a esses hormônios. A megalina é ~~liga~~ receptor tanto para albumina quanto para SHBG e trabalhos recentes têm demonstrado cada vez mais a participação dos processos de endocitose para disponibilização e internalização de hormônios sexuais. Resta a verificação se a endocitose do complexo SHBG-hormônio também está prejudicada, assim como a endocitose de albumina, e por isso um aumento de testosterona no meio de cultivo de tecido e celular.

Dos modificáveis e mal genético pessoais, o ambiente no qual um determinado organismo está inserido será sempre um fator relevante p~~r~~ no decorrer de seu ciclo de vida. Entender como essas interações ocorrem, suas influências e níveis seguros de exposição para cada grupo populacional é a chave para um equilíbrio entre saúde e doença, ambiental e humana.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho
Concurso para Professor Adjunto
MC-015 – Integração de Sistemas Biológicos
Edital nº 377 de 25 de maio de 2022, publicado no DOU nº 102 de 31 de maio de 2022 - consolidado com as alterações dos Editais nº 402 de 31 de maio de 2022 e nº 435 de 31 de maio de 2022

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 03

No. fl. 1

Favor não escrever no verso

TEMA 4 - COMUNICAÇÃO INTERCELULAR

A EVOLUÇÃO TORNOU O DESENVOLVIMENTO DA MULTICELULARIDADE, ONDE PARA A REALIZAÇÃO DAS FUNÇÕES E RESPOSTAS BIOLÓGICAS AS CÉLULAS PRECISARAM/DESENVOLVERAM MECANISMOS DE COMUNICAÇÃO ENTRE SI E OS DEMAIS COMPONENTES/SISTEMAS DO CORPO HUMANO. A COMUNICAÇÃO INTERCELULAR REFERE-SE AO MECANISMO NO QUAL AS DIFERENTES CÉLULAS DO CORPO HUMANO E DOS SISTEMAS PODEM SE COMUNICAR.

AS CÉLULAS PODEM SE COMUNICAR ATRAVÉS DE DIFERENTES MECANISMOS: ATRAVÉS DE CONTATO CÉLULA-CÉLULA (JUNÇÕES COMUNICANTES), ATRAVÉS DA SECREÇÃO DE FATORES SOLÚVEIS (FATORES DE CRESCIMENTO, CITOCINAS, METABÓLITOS), ATRAVÉS DE PROJEÇÕES CELULARES COMO NANOTUBULOS DE TUNELAMENTO (TNT'S) OU ATRAVÉS DA LIBERAÇÃO DE VESÍCULAS EXTRACELULARES (EV'S). UM DOS MECANISMOS AMPLAMENTE ESTUDADO E QUE TEM GANHADO E EXPANDIDO O INTERESSE DE ESTUDO E PESQUISAS, TANTO NO CONTEXTO DA SAÚDE E DA DOENÇA, É A COMUNICAÇÃO INTERCELULAR ATRAVÉS DAS VESÍCULAS EXTRACELULARES (EV'S).

AS VESÍCULAS EXTRACELULARES (EV'S) SÃO UM GRUPO HETERO-

Favor não escrever no verso

GÊNESE DE VESÍCULAS - ESTRUTURA ESFÉRICA CONSTITUÍDA POR UMA BI-CAMADA LIPÍDICA PROVENIENTE DA CÉLULA MÃE (CÉLULA SECRETORA). AS EV'S SÃO UM GRUPO BEM HETEROGÊNEO QUE ABRANGE VESÍCULAS DO TAMANHO ENTRE 50NM — 5000 NM, ONDE AS MAIS ESTUDADAS SÃO OS EXOSSOMOS E AS MICROVESÍCULAS. OS EXOSSOMOS SÃO FORMADO A PARTIR DOS CORPOS MULTIVESICULARES DO CITOPLASMA CELULAR E LIBERADOS NO ESPAÇO EXTRACELULAR EM DIREÇÃO A CÉLULA ALVO. OS EXOSSOMOS POSSUEM TAMANHO VARIADO ENTRE 50-200 NM (NANÔMETROS).

AS MICROVESÍCULAS SÃO FORMADAS A PARTIR DE PROJEÇÕES DA MEMBRANA PLASMÁTICA NA CÉLULA SECRETORA, EMPACOTANDO NO SEU INTERIOR O PRODUTO A SER LIBERADO NO ESPAÇO EXTRACELULAR. AS MICROVESÍCULAS ABRANGEM O GRUPO ENTRE 200-1000 NM.

TANTO OS EXOSSOMOS E AS MICROVESÍCULAS PODEM TRANSFERIR DIFERENTES COMPONENTES PARA A REGULAÇÃO E/OU MODULAÇÃO NAS FUNÇÕES CELULARES, COMO: PROTEÍNAS, MICRO RNAS, METABÓLITOS, FATORES DE CRESCIMENTO, ALÉM DE UM GRUPO ESPECÍFICO DE VESÍCULAS QUE PODEM TRANSFERIR ORGANELAS CITOPLASMÁTICA, COMO O CASO DE MITOCÔNDRIAS.

AS EV'S TEM SIDO DESCRITAS COMO IMPORTANTES FATORES ENVOLVIDOS NA COMUNICAÇÃO CELULAR. MEIO DE CULTURA DE CÉLULAS, LAVADO BRONCOALVEOLAR DE ANIMAIS E HUMANOS, SANGUE, URINA E OUTROS LÍQUIDOS E COMPONENTES CORPORAIS ESTÃO REPLETO DA PRESENÇA DE VESÍCULAS EXTRACELULARES, TANTO AQUELAS SE-

CRETADAS PELAS PRÓPRIAS CÉLULAS DO TECIDO, COMO EVS PROVENIENTES DE OUTROS TECIDOS/TIPOS CELULARES, CONFIRMANDO ASSIM A IMPORTÂNCIA E O ENVOLVIMENTO DAS EV'S NA COMUNICAÇÃO ENTRE AS CÉLULAS.

ACREDITA-SE QUE SINAIS QUÍMICOS PROVENIENTES DAS CÉLULAS É DISTRIBUÍDOS PELA CIRCULAÇÃO, ESTIMULA A LIBERAÇÃO E PRODUÇÃO DAS VESÍCULAS EXTRACELULARES, QUE ENTÃO EMPACOTA/CARREGA A INFORMAÇÃO PARA A CÉLULA ALVO. O MICROAMBIENTE CELULAR LIBERA SINALIZADORES QUE ESTIMULA A SECREÇÃO E PRODUÇÃO DE VESÍCULAS EXTRACELULARES QUE ENTÃO ESTIMULA A ATRAÇÃO DE VESÍCULAS PARA AQUELE AMBIENTE. AO SEREM ATRAÍDAS PARA O LOCAL, AS VESÍCULAS PODEM LIBERAR SEU CONTEÚDO ATRAVÉS DA FUSÃO COM A MEMBRANA PLASMÁTICA OU ATRAVÉS DE RECEPTORES NA CÉLULA ALVO. EM ALGUNS CASOS, COMO EM TUMORES, DIFERENÇAS NO PH É O ESTÍMULO NECESSÁRIO PARA A CAPTAÇÃO DAS EV'S.

VISTO QUE O MICROAMBIENTE LIBERA FATORES QUE PODEM SER ATRATIVOS PARA A PRODUÇÃO DAS EV'S, ESTE MESMO MICROAMBIENTE, NO CONTEXTO DE UMA DISFUNÇÃO/DOENÇA, PODE LIBERAR PRODUZIR EV'S QUE VÃO SERVIR COMO DISSEMINADORES DA RESPOSTA PATOLÓGICA EM OUTROS TECIDOS E ORGANISMOS. AO COMPARAR VESÍCULAS EXTRACELULARES DE PACIENTES SAUDÁVEIS (ASSINTOMÁTICOS) COM PACIENTES DOENTES, COMO POR EXEMPLO DOENÇAS PULMONARES, O NÚMERO/CONCENTRAÇÃO DE EV'S É MAIOR NOS PACIENTES COM DOENÇAS PULMONARES, NÃO APENAS A CONCENTRAÇÃO SE DIFERE-

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 03

No. fl. 4

COMO O CONTEÚDO DAS EV'S SE DIFEREM.

NO CONTEXTO DAS DOENÇAS PULMONARES, AS EV'S TEM DEMONSTRADO UM DUPLO PAPEL - TANTO NA SINALIZAÇÃO CELULAR PARA ESTIMULAR REPARO E MECANISMOS ANTI-INFLAMATÓRIOS, ASSIM COMO ATRAIR CÉLULAS IMUNES PARA COMBATER AGENTES AGRESSORES; COMO TAMBÉM PODEM DISSEMINAR ESTA RESPOSTA INFLAMATÓRIA PARA OUTROS TECIDOS, COMO NO CASO DA SEPSE, ONDE AS EV'S ESTÃO SENDO APONTADAS COMO UM DOS FATORES RESPONSÁVEIS PELO DESENVOLVIMENTO DO COMPROMETIMENTO DE MÚLTIPLOS ÓRGÃOS.

A SÍNDROME DO DESCONFORTO RESPIRATÓRIO AGUDO (SDRA) É CARACTERIZADA PELA RESPOSTA INFLAMATÓRIA DESREGULADA NO ESPAÇO-ALVEOLAR QUE RESULTA EM COMPROMETIMENTO DA MEMBRANA ALVEOLA-CAPILAR E AUMENTO DA PERMEABILIDADE COM FORMAÇÃO DE EDEMA ALVEOLAR. ESTUDOS DO LAVADO BRONCOALVEOLAR DEMONSTRAM UMA QUANTIDADE ELEVADA DE EV'S PROVENIENTES DO EPITÉLIO ALVEOLAR, ESTAS EV'S SÃO CAPAZES DE PROMOVER INFLAMAÇÃO QUANDO INJETADAS EM CAMUNDONGOS SAUDÁVEIS DEMONSTRANDO CONFIRMANDO SEU PAPEL TAMBÉM NO DESENVOLVIMENTO, SUA CONTRIBUIÇÃO FISIOPATOLÓGICA NAS DOENÇAS. DESTA FORMA, AS EV'S TAMBÉM ESTÃO SENDO HOJE CONSIDERADAS POTENTES BIOMARCADORES DE ALGUMAS DOENÇAS PULMONARES.

A LIBERAÇÃO DE EV'S É UM DOS PRINCIPAIS MECANISMOS NO QUAL AS CÉLULAS MESENQUIMAIS ESTROMAIS (MSC) DESENPENHA AS SUAS ATIVIDADES TERAPÊUTICAS NAS DOENÇAS PULMONARES. TEM SIDO CONSENSUAL QUE AS MSC'S DESENVOLVE SUAS ATIVIDADES

TERAPÊUTICAS OBSERVADAS NOS ESTUDOS, ATRAVÉS DAS EV'S. O MICROAMBIENTE INFLAMATÓRIO PULMONAR ESTIMULA O RECRUTAMENTO E LIBERAÇÃO DAS EV'S PELAS MSC'S QUE TRANSFEREM DIFERENTES FATORES, JÁ IDENTIFICADOS, PARA AS CÉLULAS NO ESPAÇO ALVEOLAR COMO FATORES DE CRESCIMENTO ENVOLVIDOS NO REPARO (HGF, KGF), CITOCINAS ANTI-INFLAMATÓRIAS (IL-10), MIRNA'S, PROTEÍNAS E MITOCÔNDRIAS.

NA NOSSA EXPERIÊNCIA EM MODELOS EXPERIMENTAIS DE SDRA, PODEMOS OBSERVAR QUE AS VESÍCULAS EXTRACELULARES DERIVADAS DE MSC'S QUANDO ESTIMULADAS COM FLUÍDO DO LAVADO BRONCOALVEOLAR FORAM ENRIQUECIDAS COM O MIRNA-181, MIRNA ENVOLVIDO NA MODULAÇÃO DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA DE MACRÓFAGOS ALVEOLARES ATRAVÉS DA SINALIZAÇÃO DE SOCS-1.

OUTRO MECANISMO QUE OBSERVAMOS FOI A TRANSFERÊNCIA DE MITOCÔNDRIAS SAUDÁVEIS, VIÁVEIS ATRAVÉS DE VESÍCULAS EXTRACELULARES PARA MACRÓFAGOS ALVEOLARES DISFUNCIONAIS, FAZENDO COM QUE ESTES MACRÓFAGOS ADQUIRAM UM FENÓTIPO RESOLUTIVO, REDUZINDO A SECREÇÃO DE MEDIADORES COMO TNF-α E IL-8 E AUMENTANDO A RESPIRAÇÃO MITOCONDRIAL (FOSFORILAÇÃO OXIDATIVA) ATRAVÉS DA TRANSFERÊNCIA MITOCONDRIAL.

NO CONTEXTO DA SDRA, A TRANSFERÊNCIA MITOCONDRIAL ATRAVÉS DE VESÍCULAS SECRETADAS POR MSC'S FORAM RESPONSÁVEIS POR RECUPERAR A MEMBRANA ALVEOLO-CAPILAR, RESTAURANDO A PERMEABILIDADE DAS CÉLULAS EPITELIAIS - ENDOTELIAIS PULMONARES; FOI CAPAZ DE RECUPERAR A DISFUNÇÃO MITOCONDRIAL OBSERVADA EM

CÉLULAS PRIMÁRIAS, ASSIM COMO NO TECIDO PULMONAR, ATRAVÉS DA RECUPERAÇÃO DO POTENCIAL DE MEMBRANA MITOCONDRIAL, DA REDUÇÃO DE CORÉLICES REATIVAS MITOCONDRIAIS, MELHORA E RESTAURAÇÃO NA RESPIRAÇÃO/METABOLISMO CELULAR E REGULAÇÃO DOS MECANISMOS DE QUALIDADE DE CONTROLE MITOCONDRIAL (BIOGÊNESE/MITOFAGIA). QUANDO AS MITOCÔNDRIAS FORAM BLOQUEADAS NAS MSC'S, O CONTEÚDO MITOCONDRIAL NAS EV'S FOI DIMINUIDO E SEUS EFEITOS TERAPÊUTICOS FORAM ABOLIDOS, DEMONSTRANDO QUE A TRANSFERÊNCIA/CONTEÚDO MITOCONDRIAL É UM IMPORTANTE COMPONENTE NAS MSC'S (RESPONSÁVEIS PELO SEUS EFEITOS TERAPÊUTICOS).

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 03

TEMA 7 – EQUILÍBRIO DINÂMICO, HOMEOSTASIA.

AS CÉLULAS DO ORGANISMO HUMANO ESTÃO CONSTANTEMENTE SENDO EXPOSTAS A UMA VARIEDADE DE AGENTES ESTRESSORES, TANTO PROVENIENTE DO MEIO INTERNO, COMO DO MEIO EXTERNO. AS CÉLULAS ESTÃO ENVOLVIDAS NUM AMBIENTE AQUOSO, O LÍQUIDO EXTRACELULAR, QUE É UMA SOLUÇÃO AQUOSA COMPOSTA POR DIFERENTES CONSTITUINTES QUE INFORMAM AS CÉLULAS / TECIDOS AS MODIFICAÇÕES NOS SEUS CONSTITUINTES: ÍONS, TEMPERATURA, CONCENTRAÇÃO DE GASES, pH, OSMOLARIDADE.

A HOMEOSTASIA SE REFERE AO ESTADO O QUAL AS CÉLULAS, TECIDOS, SISTEMAS DO CORPO MANTÉM O SEU EQUILÍBRIO. AS MUDANÇAS DIÁRIAS / MODIFICAÇÕES AO QUAL OS SISTEMAS ESTÃO EXPOSTOS CAUSAM DESEQUILÍBRIOS QUE PERTURBAM O MEIO INTERNO, REMOVEM OS SISTEMAS DO SEU EQUILÍBRIO HOMEOSTÁTICO, E ENTÃO O CORPO ESTÁ CONTINUAMENTE BUSCANDO AJUSTAR ESTE DESEQUILÍBRIO PARA MANTER AS CÉLULAS / TECIDOS / SISTEMAS DE VOLTA AO SEU EQUILÍBRIO, A SUA FAIXA HOMEOSTÁTICA.

EXISTEM DOIS PRINCIPAIS SISTEMAS ENVOLVIDOS NA REGULAÇÃO DA HOMEOSTASIA, O SISTEMA NERVOSO E O SISTEMA ENDÓCRINO. O SISTEMA NERVOSO DESEMPENHA SUAS FUNÇÕES DE CONTROLE HOMEOSTÁTICO ATRAVÉS DE IMPULSOS ELÉTRICOS, ATRAVÉS DE SINAIS ENQUANTO O SISTEMA ENDÓCRINO ATRAVÉS DA SECREÇÃO DE HORMÔNIOS NO SISTEMA CIRCULATÓRIO.

PARA UMA RESPOSTA DE CONTROLE / REGULAÇÃO EFICAZ, 3 COMPONEN

UFRJ

TES SÃO FUNDAMENTAIS PARA AMBOS OS SISTEMAS, NERVOSO E ENDÓCRINO, DESEMPENHAREM SEU PAPEL NA REGULAÇÃO DA HOMEOSTASIA: (1) UM DETECTOR, (2) UM CONTROLADOR E (3) UM EFETOR.

O DETECTOR É O COMPONENTE RESPONSÁVEL EM DETECTAR AS ALTERAÇÕES NA HOMEOSTASIA. É O COMPONENTE RESPONSÁVEL EM DETECTAR AS VARIAÇÕES (PARA MAIS OU MENOS) E ENVIAR ESTAS INFORMAÇÕES PARA O CENTRO CONTROLADOR. COMO EXEMPLO DE DETECTOR, PODEMOS CITAR OS QUIMIORRECEPTORES PERIFÉRICOS PRESENTES NO ARCO AÓRTICO E NO CORPO CAROTÍDEO QUE DETECTAM AS VARIAÇÕES DE O_2 E CO_2 NO SANGUE.

O CONTROLADOR É O COMPONENTE RESPONSÁVEL EM CAPTAR AS INFORMAÇÕES ENVIADAS PELO DETECTOR, IDENTIFICANDO O DISTÚRBIO E ENVIAR RESPOSTA PARA REGULAÇÃO DA DISFUNÇÃO TENDENDO-A TRAZER PARA O EQUILÍBRIO, HOMEOSTASIA. NO SISTEMA NERVOSO, O CONTROLADOR ESTÁ LOCALIZADO NO SN CENTRAL, SN AUTÔNOMO OU NA MEDULA. NO SISTEMA ENDÓCRINO, O CONTROLADOR É A CÉLULA ENDÓCRINA RESPONSÁVEL EM SECRETAR O HORMÔNIO. COMO EXEMPLO DE CONTROLADOR, OS SINAIS DE ALTERAÇÃO NAS CONCENTRAÇÕES DOS GASES SANGUÍNEOS, O_2 E CO_2 SÃO INFORMADOS PARA O CENTRO CONTROLADOR DA RESPIRAÇÃO LOCALIZADO NO [redacted] SN CENTRAL, NO TRONCO ENCEFÁLICO.

O EFETOR É O COMPONENTE RESPONSÁVEL EM EFETUAR A RESPOSTA ENVIADA PELO CONTROLADOR NA TENTATIVA DE CORRIGIR O DISTÚRBIO, TRAZENDO DE VOLTA A HOMEOSTASIA. EXEMPLO DE EFETOR PODEMOS CITAR OS MÚSCULOS RESPIRATÓRIOS E O DIAFRAGMA, AS

Favor não escrever no verso

INFORMAÇÕES DO TRONCO ENCEFÁLICO PARA OS MÚSCULOS RESPIRATÓRIOS RESULTARÁ EM AUMENTO OU DIMINUIÇÃO DA VENTILAÇÃO REGULANDO ASSIM AS CONCENTRAÇÕES DE O_2 E CO_2, TRAZENDO DE NOVO PARA A FAIXA DE EQUILÍBRIO/HOMEOSTASIA.

NO SISTEMA NERVOSO, O DETECTOR É UMA CÉLULA/COMPONENTE ESPECIALIZADO QUE DETECTA O DISTÚRBIO E ENVIA ESTA INFORMAÇÃO ATRAVÉS DE UMA VIA AFERENTE PARA O CONTROLADOR, RESPONSÁVEL EM INTERPRETAR A INFORMAÇÃO, E ENVIAR (ENVIA) A RESPOSTA ATRAVÉS DE UMA VIA EFERENTE PARA OS EFETORES PERIFÉRICOS. QUALQUER ÓRGÃO E/OU TECIDO PODE SER UM EFETOR.

NO SISTEMA ENDÓCRINO, O DETECTOR E O CONTROLADOR NORMALMENTE SÃO O MESMO COMPONENTE, RESPONSÁVEL EM DETECTAR AS VARIAÇÕES NA CONCENTRAÇÃO DE UM DETERMINADO HORMÔNIO E ASSIM REGULAR A SUA SECREÇÃO PARA DESEMPENHAR A REGULAÇÃO DA HOMEOSTASIA. OS EFETORES SÃO AS CÉLULAS, SISTEMAS QUE POSSUEM O RECEPTOR RESPONSÁVEL (QUE) EM RECONHECER O HORMÔNIO SECRETADO.

OS SISTEMAS DE REGULAÇÃO DESEMPENHAM SUAS FUNÇÕES ATRAVÉS DE MECANISMOS DE RETROALIMENTAÇÃO, ONDE O ESTÍMULO PODE REGULAR A INFORMAÇÃO AUMENTANDO OU POTENCIALIZANDO A VARIÁVEL A SER REGULADA (FEEDBACK NEGATIVO) OU VAI POTENCIALIZAR O ESTÍMULO INICIAL, NUMA ESPÉCIE DE CICLO VICIOSO (FEEDBACK POSITIVO).

O FEEDBACK NEGATIVO SE REFERE A RESPOSTA CONTRÁRIA AO ESTÍMULO INICIAL, TRAZENDO-A DE VOLTA A FAIXA DE HOMEOSTASIA.

Favor não escrever no verso

REGANDO O EXEMPLO DA CONCENTRAÇÃO DE CO_2 SANGUÍNEO. NÍVEIS ELEVADOS DE CO_2 NO SANGUE SERÃO DETECTADOS PELOS QUIMIORRECEPTORES LOCALIZADOS NO ARCO AÓRTICO E SEIO CAROTÍDEO E ENVIADOS PARA O CENTRO CONTROLADOR NO SN CENTRAL (TRONCO), EM RESPOSTA, SINAIS EFERENTES PARA OS MÚSCULOS RESPIRATÓRIOS, AUMENTANDO ASSIM A VENTILAÇÃO E REDUZINDO AS CONCENTRAÇÕES DE CO_2 NO SANGUE. DESTA FORMA, A RESPOSTA É NEGATIVA (REDUÇÃO) AO ESTÍMULO INICIAL (AUMENTO DE CO_2).

JÁ O FEEDBACK POSITIVO, A RESPOSTA SE SOMA AO ESTÍMULO INICIAL, NUM CICLO VICIOSO QUE SE NÃO CONTROLADO OU CORRIGIDO PODE CAUSAR UM DISTÚRBIO NO SISTEMA. COMO EXEMPLO PODEMOS CITAR AS CONTRAÇÕES NO PARTO, A PASSAGEM DO BEBÊ PELO CANAL VAGINAL ESTIMULA A LIBERAÇÃO DE OCITOCINA NA CIRCULAÇÃO QUE AUMENTARIA MAIS AINDA AS CONTRAÇÕES ATÉ TOTAL SAÍDA DO BEBÊ. DESTA FORMA A RESPOSTA EFETORA SE SOMA (FEEDBACK POSITIVO) AO ESTÍMULO INICIAL, AMPLIFICANDO ASSIM A RESPOSTA ATÉ TOTAL CESSAÇÃO DO ESTÍMULO.

AMBOS OS SISTEMAS, NERVOSO E ENDÓCRINO, DESEMPENHAM SUAS FUNÇÕES DE REGULAÇÃO NA HOMEOSTASIA ATRAVÉS DESTES SISTEMAS/RESPOSTAS REFLEXAS, PORÉM, MUITOS DESTES MECANISMOS DE REGULAÇÃO POR VEZES SE SOBREPÕEM COMPARTILHANDO OS MESMOS MECANISMOS/VIAS DE REGULAÇÃO, ATRAVÉS DE UM REFLEXO NEUROENDÓCRINO, ONDE AMBOS OS SISTEMAS JUNTAMENTE DESEMPENHAM SUAS FUNÇÕES DE EQUILÍBRIO E/OU DESEMPENHAM SUAS RESPOSTA REFLEXAS.

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 03

NO TECIDO, AUMENTA A EXPRESSÃO DE HIF-1α QUE ESTIMULA AS CÉLULAS A LIBERAÇÃO DE VEGFA. ESTA LIBERAÇÃO DE VEGF-A VAI ESTIMULAR A ANGIOGÊNESE QUE AUMENTARÁ A CIRCULAÇÃO REGIONAL E ASSIM A CONCENTRAÇÃO DE O_2 CORRIGINDO A HIPÓXIA, OU TAMBÉM OUTRO EXEMPLO DE SECREÇÃO DE VEGFC QUE AUMENTARÁ A LINFANGIOGÊNESE E DRENAGEM LINFÁTICA, REGULANDO ASSIM A OSMOLARIDADE TECIDUAL. OS MECANISMOS DE CONTROLE TECIDUAL E CELULARES SE COMPLEMENTARÃO NESTE USO PARA CONTROLE E REGULAÇÃO DA HOMEOSTASIA TECIDUAL/CELULAR.

UFRJ

COMO EXEMPLO DE RESPOSTA / MECANISMO NEUROENDÓCRINO PODEMOS CITAR A AMAMENTAÇÃO / EJEÇÃO DO LEITE. A SUCÇÃO DA MAMA PELO BEBÊ (ESTÍMULO MECÂNICO) É TRANSFORMADA PARA O SN CENTRAL (HIPOTÁLAMO) ESTIMULANDO A LIBERAÇÃO DO NEURO-HORMÔNIO NA CIRCULAÇÃO QUE VAI ESTIMULAR A EJEÇÃO DO LEITE, ATUANDO O EFETOR - MÚSCULO LISO.

EM TERMOS DE VELOCIDADE DE RESPOSTAS, POR SE TRATAR DE ESTÍMULOS ELÉTRICOS / SINAPSES A RESPOSTA REFLEXA DO SISTEMA NERVOSO É MAIS RÁPIDA E CURTA EM COMPARAÇÃO A RESPOSTA ENDÓCRINA, PORÉM, EMBORA A RESPOSTA ENDÓCRINA DEMORE MAIS TEMPO, SEUS EFEITOS PERDURAM POR PERÍODOS PROLONGADOS (DIAS - MESES).

A NÍVEL CELULAR, O CONTROLE HOMEOSTÁTICO É DADO / REGULADO ATRAVÉS DA EXPRESSÃO REGULAÇÃO DE FATORES ESSENCIAIS PARA O CONTROLE DAS FUNÇÕES CELULARES, COMO OXIGÊNIO (HIF-1α), NÍVEIS DE ATP (AMPK), pH (GSK), TAMANHO E DISTINGUIÇÃO DE ORGANELAS, ENTRE OUTROS. OS MECANISMOS CELULARES NÃO SÃO BEM COMPREENDIDOS VISTO QUE VÁRIOS DESTES FATORES TEM / FORAM IDENTIFICADOS FRENTE A DISFUNÇÃO DOS TECIDOS.

A NÍVEL TECIDUAL, OS MECANISMOS DE REGULAÇÃO HOMEOSTÁTICOS SE ASSEMELHAM AOS FATORES IDENTIFICADOS A NÍVEL CELULAR, E A ATIVAÇÃO DE MECANISMOS DE SINALIZAÇÃO CELULAR SÃO OS RESPONSÁVEIS EM RECRUTAR / ATIVAR MECANISMOS NECESSÁRIOS PARA A REGULAÇÃO E EQUILÍBRIO NO TECIDO. COMO EXEMPLO, A HIPÓXIA

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 03

No. fl. 13

TEMA 12 – GENE, AMBIENTE E RESPOSTAS BIOLÓGICAS

A EPIGENÉTICA ENVOLVE O ESTUDO DA INFLUÊNCIA DE FATORES AMBIENTAIS NA RESPOSTA, MODIFICAÇÕES OBSERVADAS NAS EXPRESSÃO DE GENES E FATORES CELULARES. UMA SÉRIE DE FATORES / MODIFICAÇÕES OBSERVADAS PRÓXIMAS A GENES ESPECÍFICOS TEM SIDO ASSOCIADAS AO DESENVOLVIMENTO DE DISFUNÇÕES / DISTÚRBIOS OBSERVADOS NO DECORRER DA VIDA.

O AMBIENTE AO QUAL O INDIVÍDUO É EXPOSTO DURANTE A INFÂNCIA TEM SIDO DETERMINANTE NO DESENVOLVIMENTO DO SISTEMA IMUNE ASSIM COMO RESPOSTA ALÉRGICA E ATOPIA. O AMBIENTE EXTERNO, O AR AMBIENTE E SEUS CONSTITUINTES TEM SIDO CONSIDERADO FUNDAMENTAL E UM FATOR IMPORTANTE NO DESENVOLVIMENTO DE RESPOSTAS ALÉRGICAS, ATOPIA, E ISSO FOI OBSERVADO EM DIFERENTES ESTUDOS.

DOIS ESTUDOS IMPORTANTES DEMONSTRANDO A INFLUÊNCIA DO MEIO AMBIENTE NO DESENVOLVIMENTO DE ASMA ALÉRGICA, OS ESTUDOS PARSIFAL E GABRIELA, DEMONSTRARAM QUE CRIANÇAS QUE MORAM EM ZONAS MAIS RURAIS EM COMPARAÇÃO A REGIÕES MAIS INDUSTRIALIZADAS APRESENTAM MENOS REATIVIDADE NAS VIAS AÉREAS E DESENVOLVIMENTO DE ATOPIA. ESTES DADOS DESTE ESTUDOS CORROBORAM COM OUTROS DOIS, UM NA CHINA QUE COMPARA CRIANÇAS DE ZONA MAIS RURAL / DE FAZENDAS MAIS RURAIS COMPARADAS A FAZENDAS / REGIÕES MAIS MODERNAS COM MENOR INTERAÇÃO AMBIENTAL (CONTATO COM TERRA, VÁRIAS PESSOAS NO MESMO AMBIENTE) DEMONSTRARAM MAIOR OCORRÊNCIA DE ATOPIA, EOSINOFILIA E HIPERREATIVIDADE NAS CRIANÇAS

MORADORES DE REGIÕES MAIS INDUSTRIALIZADAS.

OUTRO ESTUDO REALIZADO NOS EUA, COMPARANDO POEIRA AMBIENTAL, AMBIENTE INTERNO E EXTERNO E CRIANÇAS QUE MORAM EM FAZENDAS AMISH (MAIS RURAL) EM COMPARAÇÃO COM AQUELAS QUE SÃO DE COMUNIDADES HUTTERITE (MAIS MODERNAS) DEMONSTRARAM RESPOSTAS DISTINTAS ~~(NA ATOPIA)~~ MAIS ATOPIA, HIPERREATIVIDADE E SENSIBILIZAÇÃO NAS CRIANÇAS MORADORAS DE REGIÕES MAIS URBANIZADAS.

EM CONJUNTO, OS RESULTADOS DESTES ESTUDOS DEMONSTRAM E REFORÇAM A INFLUÊNCIA DO AMBIENTE EXTERNO NO DESENVOLVIMENTO DA RESISTÊNCIA A RESPOSTA ALÉRGICA. AINDA NESTES ESTUDOS SE DISCUTE A INFLUÊNCIA DO GENE GST-1 (GSTM1, GSTP1, GSTT1) NO DESENVOLVIMENTO E RESISTÊNCIA A ATOPIA. ESTUDOS DEMONSTRAM QUE AUSÊNCIA OU DELEÇÃO DESTES GENE, ESTA RELACIONADO A MAIOR OCORRÊNCIA DE ATOPIA E DESENVOLVIMENTO DE RESPOSTA ALÉRGICA E REATIVIDADE NAS VIAS AÉREAS.

A POLUIÇÃO AMBIENTAL É OUTRO FATOR QUE INFLUÊNCIA E DESENCADEIA MODIFICAÇÕES NAS RESPOSTAS BIOLÓGICAS, COLABORANDO PARA MODIFICAÇÕES DOS SISTEMAS BIOLÓGICOS. A POLUIÇÃO AMBIENTAL É UMA MISTURA COMPLEXAS DE COMPOSTOS PROVENIENTES DO AMBIENTE E AQUELES PROVENIENTES DO HOMEM (QUEIMA DE COMBUSTÍVEIS, USINAS, ETC...). UM DOS PRINCIPAIS COMPONENTES PRESENTES NESTA MISTURA RESPONSÁVEL PELAS MODIFICAÇÕES E IMPACTO DA POLUIÇÃO AMBIENTAL NO ORGANISMO SÃO OS MATERIAIS PARTICULADOS (PM). OS MATERIAIS PARTICULADOS PRESENTES NA

Favor não escrever no verso

POLUIÇÃO AMBIENTAL É UM FATOR IMPORTANTE NA DESREGULAÇÃO DA RESPOSTA DO SISTEMA RESPIRATÓRIO DURANTE O DESENVOLVIMENTO.

O EIXO INTESTINO-PULMÃO É UM IMPORTANTE EIXO ENVOLVIDO NO DESENVOLVIMENTO DAS RESPOSTAS IMUNOLÓGICAS EM AMBOS OS SISTEMAS, E ESTUDOS TEM DEMONSTRADO A INTIMA RELAÇÃO ENTRE OS DOIS SISTEMAS NO DESENVOLVIMENTO DE RESPOSTAS IMUNOLÓGICAS.

O INTESTINO POSSUI UMA VARIÁVEL E MAIS EXTENSA MICROBIOTA DO CORPO HUMANO, ENVOLVIDA NÃO APENAS NA PRODUÇÃO DE IMPORTANTES METABÓLITOS PARA AS FUNÇÕES CELULARES, ASSIM COMO RESPOSTA A AGENTES AGRESSORES PRESENTE NOS ALIMENTOS E NO DESENVOLVIMENTO DO SISTEMA IMUNOLÓGICO. ESTUDOS TEM DEMONSTRADO QUE ALTERAÇÕES NA MICROBIOTA INTESTINAL, IMPACTA NO SISTEMA IMUNOLÓGICO E DESENVOLVIMENTO DE DISBIOSE PROPORCIONANDO AINDA MAIOR CHANCE DO DESENVOLVIMENTO DA SÍNDROME DO INTESTINO IRRITÁVEL. COMPORTAMENTOS COMO MUDANÇAS NA DIETA NA INFÂNCIA, ANTIBIOTICOTERAPIA, PARTO CESÁREA TEM INFLUÊNCIA NO DESENVOLVIMENTO DA MICROBIOTA INTESTINAL.

OS PULMÕES POSSUE UMA MICROBIOTA BEM DIVERSA, PORÉM, MENOS VARIÁVEL DO QUE A MICROBIOTA INTESTINAL. OS PRINCIPAIS CONSTITUINTES DA MICROBIOTA PULMONAR, FURMICATES E BACTEROIDES, SE ASSEMELHAM COM OS PRINCIPAIS OBSERVADOS PRESENTES NA MICROBIOTA INTESTINAL, O QUE LEVA AO ENTENDIMENTO QUE AMBAS SE DESENVOLVEM SIMULTANEAMENTE E QUE MICROORGANISMOS INTES

UFRJ

TINAIS SÃO IMPORTANTES E TRANSFERIDOS PARA OS PULMÕES DURANTE O NASCIMENTO. DISBIOSE DO SISTEMA RESPIRATÓRIO INFLUÊNCIA E TEM SIDO ASSOCIADA A DISBIOSE DO SISTEMA INTESTINAL, ESTA CARACTERÍSTICA É COMUMENTE OBSERVADA EM INDIVÍDUOS COM FIBROSE CÍSTICA.

ESTUDOS TEM DEMONSTRADO QUE MATERIAL PARTICULADO PRESENTE NA POLUIÇÃO AMBIENTAL PODE SE DEPOSITAR NO INTESTINO, E ALTERAR A COMPOSIÇÃO E A MICROBIOTA INTESTINAL, OCASIONANDO DISBIOSE E MUDANÇAS NA RESPOSTA INFLAMATÓRIA PULMONAR. ESTUDOS EM CAMUNDONGOS DEMONSTRARAM QUE DEPLEÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL AUMENTARAM A RESPOSTA ALÉRGICA E INFLAMAÇÃO NO PULMÃO DE CAMUNDONGOS, OUTRETANTO, APÓS A INJEÇÃO INTRATRAQUEAL DE LPS EM CAMUNDONGOS, ESTES DESENVOLVERAM MENOR RESPOSTA ALÉRGICA E REATIVIDADE, CORROBORANDO PARA A HIPÓTESE DE QUE AMBOS OS SISTEMAS ESTÃO CORRELACIONADOS PARA O DESENVOLVIMENTO DE RESPOSTA IMUNOLÓGICA EFICAZ E DE QUE FATORES AMBIENTAIS COMO A POLUIÇÃO AMBIENTAL, PRINCIPALMENTE MATERIAL PARTICULADO, PODE SE DEPOSITAR E MODIFICAR A MICROBIOTA OCASIONANDO DISBIOSE E RESPOSTAS ALTERADAS EM AMBOS OS SISTEMAS.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho
Concurso para Professor Adjunto
MC-015 – Integração de Sistemas Biológicos
Edital nº 377 de 25 de maio de 2022, publicado no DOU nº 102 de 31 de maio de 2022 - consolidado com as alterações dos Editais nº 402 de 31 de maio de 2022 e nº 435 de 31 de maio de 2022

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 4

No. fl. 1

Favor não escrever no verso

4- Comunicação intercelular

A comunicação pode ser definida como a troca de informações entre dois elementos. Segundo o modelo de Shannon-Weaver, no entanto, essa definição pode ser mais elaborada e envolve: um ~~recept~~ emissor, que produz a informação; um receptor/~~destinat~~ destinatário, que recebe a mensagem; a mensagem propriamente dita, que precisa ser codificada, enviada e então decodificada; e, o canal de transmissão dessa mensagem. Qualquer perturbação (ruído) em qualquer um desses componentes do sistema pode então atrapalhar, ou mesmo impedir, a comunicação entre as partes, que geralmente envolve algas de retroalimentação para checar se ela foi bem sucedida.

Similar à comunicação verbal em humanos, as células estão em constante comunicação com outras células. Organismos unicelulares, ~~proc~~, ~~tipo~~ como bactérias e leveduras, podem trocar informações com outros indivíduos para/p/ perceber a densidade populacional ("quorum sensing"), identificar sinais de perigo (geralmente produzidos por predadores) ou para iniciar a reprodução sexuada (p. ex em leveduras). Já nos organismos multicelulares, a comunicação entre as células é utilizada para orquestrar o desenvolvimento

UFRJ

e manter a homeostasia do corpo.

Os tipos de comunicação célula-célula podem ser divididos conforme as estratégias utilizadas; na comunicação dependente de contato (i.e. justácrina), duas células vizinhas interagem localmente a partir de moléculas (p.ex ligante e receptores) em suas superfícies celulares; já na comunicação parácrina, um tipo celular "A" produz e secreta um sinal para o seu meio extracelular, que vai atuar localmente em um segundo tipo celular, "B". A comunicação é dita autócrina quando o sinal local secretado pelo tipo celular "A" atua localmente em células do mesmo tipo celular, "A". A comunicação endócrina também envolve a produção e secreção de uma molécula sinal para o meio extracelular. Contudo, esse sinal é transportado pelos fluidos corporais (p.ex. plasma sanguíneo) para todo o corpo. Por fim, a comunicação sináptica envolve neurônios e algumas outras células eletricamente excitáveis, como células musculares. Nela, um impulso nervoso é transmitido pelo axônio neuronal e, ao chegar no botão sináptico, estimula a liberação de moléculas químicas (i.e, neurotransmissores como o glutamato e acetilcolina) em uma pequena fenda altamente especializada entre as células emissora e receptora. O neurotransmissor então se liga ao seu receptor acoplado a um canal de íons e essa ligação estimula a despolarização da membrana e, subsequentemente, a propagação do impulso nervoso. Ambas as comunicações endócrina e sináptica operam, portanto,

Favor não escrever no verso

a longas distâncias. Contudo, a comunicação sináptica é muito mais rápida e os seus sinais, por serem liberados exclusivamente em um compartimento diminuto (a fenda sináptica), geralmente apresentam grande concentração local e menor afinidade ao receptor. Já o sinal endócrino (i.e. hormônio) é distribuído pela circulação sanguínea e, assim, a sua concentração de atividade é geralmente baixa. Porém, os hormônios exibem grande afinidade pelos seus receptores cognatos.

Muitas técnicas experimentais podem ser usadas para estudar a comunicação intercelular. Elas podem envolver a observação direta por ~~técnicas~~ métodos de microscopia, com a utilização de anticorpos conjugados a fluoróforos ou proteínas fluorescentes para a observação em tempo real dos tipos celulares em interação e das moléculas envolvidas. Ensaios químicos de proximidade, onde uma enzima é utilizada para reconhecer o seu substrato - como FucoID, LIPSTICK ou EXCELL - têm sido recentemente desenvolvidos. Além disso, ensaios de detecção de proteínas - como Western blot e proteômica - ou detecção de genes - como hibridizações in situ ou mesmo single cell RNA-Seq - têm sido utilizados para inferir grupos de células em interação. Após essas investigações, a comunicação célula-célula é ainda investigada por ensaios funcionais, que usualmente envolvem a inativação genética ou ensaios de ganho de função (p.ex. superexpressão) para validar e confirmar as observações iniciais,

UFRJ

bem como caracterizar o papel biológico daquela interação a partir da observação dos fenótipos produzidos após a perturbação. Em especial, os avanços técnicos recentes, incluindo as abordagens de alto rendimento e edição gênica por CRISPR, têm provocado um grande ganho do conhecimento das interações celulares. Muito dessas informações estão sendo trazidas para a clínica e provocando inúmeras revoluções nos tratamentos de doenças, como o câncer. Entre os diversos exemplos já em uso, é possível citar as terapias com anticorpos monoclonais (p.ex. anti-PDL1) e as células CAR-T (com receptores TCR quiméricos). Um novo grupo de reagentes, baseados em receptores Notch sintéticos, está em avaliação.

O impacto dos estudos da comunicação célula-célula já são (e serão ainda mais) profundos para a nossa sociedade, desde a compreensão de fenômenos biológicos básicos – como uma resposta imune contra uma infecção ou a geração de órgãos a partir de morfógenos – até a sua utilização na clínica, que já tem salvo a vida de muitos indivíduos. A identificação de componentes compartilhados entre plantas e animais ou exclusivos de animais (p.ex. WNT, TGF-β, SHH) também permitiu inferir que a ~~multi~~ multicelularidade e as estratégias de comunicação intercelular evoluíram independentemente nesses grupos.

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 4

EQUILÍBRIO DINÂMICO - HOMEOSTASIA

Os organismos vivos compreendem sistemas termodinâmicos dissipativos, ou seja, eles realizam trabalho e perdem calor para manterem a sua organização fisiológica longe do equilíbrio. Nesse caso, equilíbrio é definido como o estado onde não há fluxo de energia entre os sistemas. Para os seres vivos, portanto, isso significa a morte. Por sua vez, os seres vivos estão inseridos em seus meios ambientes, de onde capturam nutrientes e liberam resquícios metabólicos, p. ex.. Assim, qualquer perturbação, externa ou interna, tem o potencial de interferir com o funcionamento adequado do organismo. Com base nessas informações, em 1929, os fisiologistas Claude Bernard e Walter Cannon cunharam o termo "homeostasia" para se referir à manutenção das condições internas relativamente estáveis. Por exemplo, a temperatura corporal (de homeotérmicos), o volume de sangue e a pressão arterial e as concentrações de O_2 e CO_2 nos tecidos são alguns dos parâmetros que apresentam faixas de variação relativamente constantes. Algumas faixas podem ser mais amplas (p. ex. volume de sangue corporal) e outras são bem estreitas (na ordem de nanomoles, como no caso de alguns hormônios).

Os sistemas de órgãos trabalham juntos para manter a homeostasia do nosso corpo. Entre eles, o sistema imunológico é responsável por discriminar entre o "próprio" e o "não-próprio" a partir da geração de inúmeros mecanis-

UFRJ

mas de reconhecimento, como a produção de um repertório de receptores específicos por recombinação V(D)J. Outros mecanismos atuam receptores contra padrões moleculares (p. ex. DAMPs e MAMPs), o sistema complemento, a eliminação de células T autorreativas em desenvolvimento (i. e. seleção tímica) e a geração de células T reguladoras (Treg). Contudo, o sistema imunológico não é apenas reativo contra perturbações, mas está em constante atividade para evitar que elas ocorram (ou, se ocorrerem, ele possa responder). A própria existência de alergias, autoimunidades e das células Treg reforçam essa percepção.

Élie Metchnikoff propôs, a partir dessas observações, um modelo de equilíbrio imunológico, onde o sistema imunológico ~~mantera~~ contrabalanceia condições pró-inflamatórias com respostas anti-inflamatórias (e vice-versa) mutualmente excludentes e competidores. Assim, por exemplo, no caso de uma lesão ~~do músculo~~ muscular estriada esquelética, as primeiras células a chegarem no local serão neutrófilos e macrófagos pró-inflamatórios, que removerão as células mortas por fagocitose ou mesmo algum microrganismo invasor. Cerca de três dias após a lesão, contudo, essa resposta pró-inflamatória é substituída por uma resposta anti-inflamatória, contendo macrófagos M2 que direcionam a recuperação da fibra muscular lesionada para a regeneração (envolvendo a recuperação funcional) ou para o reparo

UFRJ

teadual, com produção de uma cicatriz de colágeno (e perda de função contrátil). De modo geral, as respostas podem ser divididas em 4 perfis. Na resposta de tipo 1, contra microrganismos intracelulares, macrófagos e células dentríticas direcionam uma resposta baseada em celulas natural-killer (NK), ILC1, células T $CD8^+$ e perfil T_H1, com a produção de interferon e perforina. Na resposta de tipo 2, contra organismos maiores (p.ex. helmintos) a resposta visa isolar e bloquear o agente, seja pela produção de muco ou colágeno (p.ex. granulomas). Ela envolve um perfil T_H2, células ILC2, eosinófilos e linfócitos B $IgG1^+$ e IgE^+. Já a resposta do tipo 3 envolve um perfil T_H17 e células ILC3, estando voltada contra microrganismos extracelulares. Por fim a resposta do tipo 4 envolve a grande produção de IgA na tentativa de impedir que o agente infeccioso alcance órgãos sensíveis à inflamação, como o olho e os intestinos. (Eberl6, 2016). Em determinadas situações, essa respostas podem apresentar caráter misto, porém elas geralmente ocorrem em sequência (como no ~~ex~~ exemplo dos macrófagos no músculo esquelético). Também é possível que um tipo de resposta esteja acontecendo em uma determinada região do corpo, enquanto outro tipo de resposta ocorre em outra região distante. O desequilíbrio entre esses 4 tipos de resposta, portanto, pode embasar o surgimento de condições pró-inflamatórias como as autoimunidades e as alergias.

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 4

No. fl. 8

A compreensão do funcionamento desses mecanismos de equilíbrio dinâmico tem produzido impactos benéficos e valiosos no tratamento de muitas condições patológicas, como no caso da tempestade de citocinas na Covid-19 e a presença de anti-inflamatórios. O estudo contínuo e minucioso dos mecanismos moleculares envolvidos na homeostase ~~envolvem~~ provavelmente produzirão novas e promissoras terapias para a clínica.

Favor não escrever no verso

GENES, AMBIENTES e RESPOSTAS BIOLÓGICAS

~~A influência do ambiente~~

Os seres vivos estão em constante contato com o seu ambiente, de onde eles tiram os meios para a sua sobrevivência. Antigamente, contudo, acreditava-se que o meio ambiente tinha pouca ou nenhuma influência sobre o desenvolvimento embrionário dos organismos multicelulares. Pensava-se que todas as informações necessárias para produzir um organismo estavam nos genes, que podem ser definidos como "unidades herdáveis e localizáveis - no genoma - de informação biológica". Para isso, portanto, bastava "ler" o genoma (i.e. conjunto de genes de um organismo). Os relatos esporádicos que um fator externo podia influenciar o desenvolvimento embrionário eram considerados exceções à regra. Curiosamente, essa visão foi construída porque muitos dos organismos utilizados nos ensaios experimentais — C. elegans, Drosophila, Xenopus, peixe-zebra, galinha e camundongo — foram escolhidos justamente por manifestarem poucas influências ambientais.

Esse paradigma começou a mudar na década de 1960 com as observações por Rachel Carson que o inseticida DTT estava reduzindo as populações de pássaros e comprometendo o desenvolvimento dos seus ovos. Além disso, nessa época, foi identificado que bebês de mulheres grávidas que tinham sido medicadas com talidomida nasciam com malformações de membros (p. ex. amelia, focomelia) e/ou orelhas. Essas e outras

UFRJ

evidências levaram ao conceito "FENÓTIPO = GENÓTIPO + AMBIENTE". Hoje sabemos, p. ex., que a talidomida atua na sinalização de FGF8 proveniente da crista ectodérmica apical (i.e. espessamento do ectoderma de superfície) nos brotos dos membros. O FGF8 secretado por essa região ativa como morfógeno no crescimento e padronização das células mesenquimais dos brotos dos membro. Um morfógeno é uma molécula secretada (sinal parácrino) que atua para induzir a diferenciação celular a partir do seu gradiente de concentração. Assim, células que estão perto da fonte produtora recebem mais moléculas e se diferenciam em um determinado grupo de células. As células que estão em uma distância intermediária para a fonte receberão uma concentração intermediária e, desse modo, se diferenciarão em um segundo grupo de células. Já as células que estão mais distantes da fonte recebem pouco ou nenhum sinal e, portanto, se diferenciarão em um terceiro grupo. Ao interferir com a integridade da crista ectodérmica apical, a talidomida perturba o gradiente e produz essas malformações. Ainda, é importante salientar que os órgãos são induzidos e padronizados durante a embriogênese a partir da combinação de muitos gradientes de morfógenos diferentes. Além disso, o efeito teratogênico de algum fator geralmente ocorre durante um período crítico do desenvolvimento. Em humanos, esse período abrange a 3ª e a 8ª semanas de gestação, justamente durante a gastrulação, neurulação e a indução dos órgãos.

UFRJ

Perturbações antes da 3ª semana geralmente são letais e abortivas, por isso a incidência de malformações é baixa caso a perturbação ocorra nesse período.

O teratógeno mais importante pela frequência de casos e o alto custo para a sociedade é o álcool (etanol) A ingestão de álcool na gravidez causa redução da circunferência da cabeça e fenótipos cognitivos, como baixo QI e problemas de memória. Nos EUA, a sua prevalência é de 1/650 nascidos vivos. Isso ocorre porque o álcool ativa nos progenitores neurais durante a neurulação e induz a morte de precursores neuronais e gliais. As células da crista neural também podem morrer ou, alguns grupos de células, sofrem diferenciação prematura em cartilagem. Alguns estudos em animais revelaram que a administração de antioxidantes protege essas células da morte prematura. Em conjunto, a "janela" de ingestão de álcool, a quantidade ingerida (2 doses de álcool, p. ex. 350ml de cerveja ou 300ml de vinho) e a própria genética da mãe e do feto podem influenciar a gravidade do fenótipo.

As recentes mudanças ambientais, com aumento da temperatura em diversas regiões ou o aumento da poluição, têm trazido interesse renovado para o efeito do ambiente no desenvolvimento embrionário. Por exemplo, a determinação sexual de tartarugas e jacarés é dependente da temperatura. Ovos mantidos em temperaturas abaixo de 28°C se desenvolverão como

UFRJ

machos, enquanto ovos mantidos em temperaturas superiores a 31°C se desenvolverão como fêmeas. Entre os genes que correlacionam com essas mudanças de temperatura estão os genes Sox9 e SRY de determinação sexual masculina, enquanto o gene da β-catenina parece correlacionar com a temperatura aumentada. Entretanto, ainda não é conhecido se esses genes são diretamente modulados pela temperatura nesses animais (nos humanos, a determinação sexual é genética e ocorre no momento da fecundação, quando o número diplóide de cromossomos é restabelecido. Nos indivíduos XY, o gene SRY presente no cromossomo Y é ativado nas células de suporte da gônada em diferenciação por volta dos 40-50 dias de gestação e desencadeará a cascata de ativação/repressão gênica para o desenvolvimento testicular).

Outro exemplo interessante sobre a influência do ambiente no desenvolvimento envolve os estudos de Thomas Hunt Morgan com luminosidade e as cores das asas de borboletas. Ele incubou lagartas sob as luzes vermelha, verde, azul ou escuro e observou que aquelas lagartas mantidas sob a luz vermelha produziam asas com cores vívidas; já aquelas mantidas sob luz verde produziram borboletas com asas escuras; por fim, as lagartas mantidas sob luz azul ou no escuro produziram borboletas com asas de cor pálida, porém com corpo maior. Esses observações iniciais deram início a investigação sobre os genes envolvidos com essas cores (e os padrões de ocelos). Atualmente,

UFRJ

pelo menos 4 genes envolvidos com a produção de pigmentos já foram identificados e alguns loci estão sob investigação.

A compreensão da relação dos genes com o ambiente no contexto do desenvolvimento embrionário levou à criação de um campo denominado Biologia Ecológica Evolutiva do Desenvolvimento (Eco-Evo-Devo) que trouxe grandes implicações para o entendimento da evolução das espécies por meio da alteração no padrão de ativação/inibição de regiões reguladoras de genes (p.ex. Wnt, Fgf, Notch & Oct4 e Hox) durante o desenvolvimento embrionário. Uma vez que essas vias são conservadas nos animais e são reativadas em muitos casos de doenças — especialmente câncer —, as descobertas nos modelos animais têm encontrado ampla receptividade e aplicabilidade em estudos translacionais.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho
Concurso para Professor Adjunto
MC-015 – Integração de Sistemas Biológicos
Edital nº 377 de 25 de maio de 2022, publicado no DOU nº 102 de 31 de maio de 2022 - consolidado com as alterações dos Editais nº 402 de 31 de maio de 2022 e nº 435 de 31 de maio de 2022

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 5

No. fl. 1

Favor não escrever no verso

Gene, ambiente e Respostas Biológicas

A molécula de DNA carrega, através das suas ligações químicas, a informação genética dos indivíduos. A estrutura desta molécula foi demonstrada em 1953 através de experimentos dos pesquisadores Watson, Crick e Rosalin Frank. Duas cadeias anti-paralelas de nucleotídeos em forma de dupla hélice ligados na mesma cadeia por ligações fosfodiester. Uma cadeia ligada a outra através do pareamento de bases nitrogenadas ligadas por ponte de hidrogênio, adenina pareada com timina (2 pontes de hidrogênio) e citosina pareada com guanina (3 pontes de hidrogênio). A configuração da dupla hélice de DNA é caracterizada por um sulco maior e um sulco menor. A ligação fosfodiester ocorre entre as hidroxilas 3' das desoxirriboses adjacentes. Nessa forma, cada nucleotídeo é formado por uma molécula fosfato, um açucar (desoxirribose) e uma das quatro bases nitrogenadas.

No molécula de DNA estão contidos os genes que podem codificar uma ou mais proteínas, bem como moléculas de RNA estrutural ou catalítico. Em 2003 o projeto

Favor não escrever no verso

genoma humano sequenciou genomas humanos e re-velou características importantes. Aproximadamente 1,5% do nosso genoma codifica proteínas e esses genes codi-ficantes são constituídos por sequências intercaladas de éxons e íntrons. Grande parte do genoma humano é não codificante. Parte dela tem grande importância em controlar como os genes são expressos. Cada gene tem associa-do uma sequência promotora, a qual se ligam fatores de transcrição gerais, bem como a RNA polimerase II. Além disso, há sequência reguladoras gênicas que geralmente encon-tram-se a milhares de bases de base da região promotora. Fatores de transcrição associam-se a essas sequências regu-ladoras que contem elementos responsivos específicos (sequên-cias de pares de base que interagem com domínios proteícos determinados) e regulam a transcrição gênica através da formação de alças que são capazes de permitir a interação dos fatores de transcrição específicos com os fatores gerais da transcrição e RNA polimerase II presentes na região promotora.

O DNA eucariótico está organizado na forma de croma-tina, que envolve diversos níveis de empacotamento através da presença de várias proteínas, nas quais as histonas tem papel preponderante. Aproximadamente 1/3 da cromatina é DNA e 2/3 são proteínas. As principais histonas são as H2A, H2B

UFRJ

H3 e H4. Elas interagem entre si na forma de dímeros, formando um octâmeros de histonas ao qual a dupla hélice se envolve compromente aproximadamente 147 pares de bases. Esta estrutura é chamada de nucleossomo e encontra-se espaçada ao longo da cromatina por aproximadamente 200 pares de bases.

O ambiente pode interferir nos genes de muitas maneiras, desde modificando as sequências de bases nitrogenadas até modificando a forma como os genes são expressos. Poluentes ambientais, radiações e exposição a altos níveis de estresse oxidativo gerados, por exemplo pela fumaça do cigarro, podem gerar danos no DNA, alterando as sequências das bases nitrogenadas ou adicionando grupos volumosos a ela, como é o caso da ligação covalente entre o benzopireno, presente na fumaça do cigarro, e bases nitrogenadas do DNA. Graças as proteínas do sistema de reparo do DNA muitas modificações geradas, por fatores ambientais ou geradas espontaneamente, podem ser reparadas. Os principais sistemas de reparo são o por excisão de bases e por excisão de nucleotídeos que contam com várias proteínas específicas bem como a ação da DNA polimerase e DNA ligase para reparar os danos. Além disso, o dano ao DNA gera o aumento da atividade da proteína p53, capaz de atuar como fator de transcrição e aumentar a expressão de proteínas que paralisam o ciclo

o ciclo celular, como p21 (quinase inibidora de ciclina), favorecendo a parada da célula em G1 até que o dano seja reparado.

Caso a resposta ao dano não seja bem sucedida alterações na sequência de DNA podem ocorrer e se acumular. Isso pode gerar proteínas com alterações de função relacionadas, por exemplo ao desenvolvimento de cânceres e ou. outras doenças metabólicas. Uma variação genética muito associada com saúde ou doença são os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs). Eles podem ser utilizados como marcadores para risco aumentado de algumas disfunções metabólicas e são caracterizados pela substituição de um nucleotídeo na sequência do DNA. Como o código genético é redundante, pode não ser alteração no fenótipo, entretanto, muitas vezes há relação do SNP com alterações funcionais locais e sistêmicas.

A obesidade é uma desordem imuno neuroendócrina cuja causa pode estar relacionada com SNPs, bem como outras disfunções genéticas e exposição a fatores ambientais que modificam a forma como os genes se expressão através de mecanismos epigenéticos.

Os mecanismos epigenéticos envolvem a mudança de expressão gênica que pode ser herdável na mitose e meiose. Os principais mecanismos são aqueles associados as alterações covalentes nas caudas N-terminais das histonas. A acetilação

Favor não escrever no verso

das caudas de histonas são modificações pós-traducionais inseridas por enzimas chamadas histonas acetil transferases (HAT) e retiradas pelas histonas deacetilases (HDAC). A presença da acetilação diminui a interação da cauda de aminoácidos ~~(da proteína)~~ rica em lisina (positivamente carregada) com as cargas negativas da molécula de DNA, deixando as regiões mais frouxas e possibilitando a interação maior com os fatores de transcrição e, consequentemente, aumentando a expressão gênica. Por outro lado, a metilação do DNA, que ocorre principalmente em citosinas adjacentes a guanina (CpG), deixa as regiões promotoras mais compactadas dificultando o acesso da maquinaria transcricional. Esta modificação do DNA é adicionada pelas enzimas DNA metil transferase (DNMT) 1, 3a e 3b. A DNMT1 é uma enzima de manutenção de metilação, adicionando as alterações nos sítios CpGs da fita-filha de DNA que surge após a replicação semiconservativa. Só a DNMT3a e 3b podem adicionar novas metilações em citosinas do DNA, o que tem especial importância em períodos de grande plasticidade do epigenoma, como o período intrauterino.

Os substratos para HAT, HDAC, DNMTs estão associados com macronutrientes alimentares, bem como vitaminas e ácido fólico. Desta forma, dietas desbalanceadas podem favorecer a maior disponibilidade Acetil CoA, obtida através da

UFRJ

β-oxidação lipídica, por exemplo, e consequentemente alterar a acetilação de caudas de histonas e a expressão gênica.

O sistema endocanabinoide está superativado em indivíduos obesos. O receptor canabinóide 1 (CB1) ativa no sistema nervoso central a ingestão de alimentos altamente palatáveis e ricos em calorias. Estudos mostram a presença na população de SNPs do gene Cnr1 (que codifica a proteína CB1) associado com obesidade humana.

Além disso, dieta hiperlipídica leva a uma alteração do perfil de acetilação de histonas e metilação do DNA, o que está associado com o desenvolvimento de desordens metabólicas devido a modificação da expressão gênica nos indivíduos e nas próximas gerações. Nós demonstramos que a dieta hiperlipídica materna aumenta o percentual de acetilação de caudas de histonas na região promotora do gene Cnr1 no hipotálamo de ratos neonatos, o que pi associado com o desenvolvimento precoce de obesidade. No desenvolvimento intrauterino, as marcas epigenéticas são deletadas para que atinja-se a totipotencia. Conforme há a embriogênese essas marcas são adicionadas nas células somáticas e germinativas em diferenciação. O ambiente intrauterino modificado pela maior oferta nutricional materna, como os componentes doadores de metil (metionina, colina, folato) e ácidos graxos, modifica essas reprogramação das marcas epigenéti-

UFRJ

ticas, levando a alteração na expressão gênica na próxima geração. Portanto, a interação gene, ambiente e respostas biológicas pode envolver o surgimento transgeracional de doenças.

Equilíbrio dinâmico, Homeostasia

Em 1856 o pesquisador Claude Bernard postulou que a constância do meio interno é uma condição para uma vida livre e independente. O meio interno é composto pelo líquido plasmático e intersticial e é ele que banha nossas células. Em 1932 Walter Cannon utilizou o postulado de Claude Bernard para cunhar o termo homeostasia, que popularizou no livro "a sabedoria do corpo". Homeostasia diz respeito as flutuações dos parâmetros do meio interno em faixas de normalidade, de modo que as variável não são fixas mas envolvidas em alças de regulação que as mantêm operando dentro de padrões de normalidade. Os principais parâmetros do meio interno são pressão arterial, pH, osmolalidade, glicemia, volume e temperatura.

Para que esses parâmetros flutuem dentro de faixas de normalidade é de supra importância o funcionamento adequado dos sistemas biológicos de controle. Eles são formados por receptores sensoriais que percebem a alteração do meio interno, vias aferentes que direcionam esta informação a centros integradores que

UFRJ

agem por vias eferentes que agem em efetores específicos gerando uma resposta.

Os principais centros integradores das funções neurovegetativas são o tronco encefálico e o hipotálamo. Nestas regiões são estabelecidos "set points de normalidade" que pode ser ajustados fisiologicamente frente alguma demanda, por exemplo atividade física ou infecção. Estes centros integradores agem através da modulação do sistema nervoso autônomo, simpático e parassimpático, tecido glandular, tecido linfoide e, no caso da musculatura respiratória, músculo esquelético.

As principais alças de controle homeostático são aquelas por retroalimentação negativa. Elas ocorrem nos diversos níveis, desde molecular, atuando, por exemplo, no controle da atividade e expressão gênica de enzimas, até os supracelulares. Na retroalimentação negativa a resposta biológica gerada age inibindo a via eferente que a originou. Esta é a base de controle homeostáticos de muitos dos eixos neuroendócrinos que envolve hipotálalo e hipófise. Agentes estressores ambientais, como hipóxia ou hemorragias, aumentam a produção hipotalâmica do hormônio liberador de corticotrofina (CRH) que é liberado na eminência mediana e atinge os corticotrops da adeno hipófise levando a liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) que é liberado na corrente sanguínea e estimula o córtex da adrenal a produzir o cortisol. O hormônio cortisol inibe a produção de ACTH e CRH, caracterizando a retroalimentação nega-

UFRJ

tiva importante para manter os níveis de cortisol adequados para a manutenção das suas ações. Disfunções na retroalimentação negativa deste eixo podem estar associadas a tumores nos órgãos envolvidos, por exemplo, impedindo o controle homeostático adequado.

A manutenção da glicemia em níveis adequados ocorre mesmo no momento de grande oferta energética (período pós-prandial) como em momento de escassez (jejum) devido a ação do hormônio insulina e dos contrarreguladores (glucagon, adrenalina, cortisol). O aumento da glicemia é percebido por neurônios hipotalâmicos sensíveis a glicose bem como pela célula β pancreática, que secretam o hormônio insulina. Importantemente, a secreção de insulina pode ocorrer de modo antecipatório devido a estímulos visuais, olfatórios, gustativos e da interação com o alimento da presença no trato gastrointestinal. Os receptores sensoriais dos sentidos especiais e do músculo liso gastrointestinal percebem o alimento gerando respostas ascendentes até o tronco encefálico, do qual parte eferências parassimpáticas que estimulam a célula β pancreática a secretar insulina, antes mesmo que haja absorção dos nutrientes nos enterócitos. Este é um exemplo de controle antecipatório dos sistemas homeostáticos de controle (feedforward). O principal estímulo para secreção de insulina pela célula β pancreática é o aumento da glicemia. A insulina é um hormônio peptí-

UFRJ

dito que age por mecanismos transcricionais e pós-traducionais em vários tecidos, por exemplo aumentando a produção de glicogênio hepático e muscular e a internalização de glicose no tecido adiposo e músculo via GLUT 4.

As alças de controle por retroalimentação positiva são mais raras e necessitam de uma intervenção externa ao sistema para que seja cessadas. Nestes casos as respostas geradas intencificam suas vias eferentes que as originaram. Como exemplo, a ação do hormônio ocitocina, produzido no hipotálamo e liberado na neuro hipófise, no momento do parto. Este hormônio induz contrações uterinas que são percebidas por - mecanoreceptores locais que através de vias aferentes induzem mais liberação de ocitocina. Esta via permanece e a retroalimentação positiva cessa quando o feto é expulso.

O controle a curto prazo da pressão arterial ocorre através de barorreceptores localizados na aorta e seio carotídeo. O aumento da pressão arterial aumenta a deformação destes receptores sensoriais e a frequência de disparo de potenciais de ação. A via aferente atinge o centro cardiovascular do tronco encefálico induzindo diminuição da atividade do bulbo ventrolateral rostral e aumento das regiões motoras vagais, núcleo ambíguo e núcleo dorsal motor do vago. Consequentemente, há diminuição do tônus simpático e aumento do parassimpático, o leva a bradicardia reflexa. Importantemente, não encontramos

UFRJ - CHAS
INSTITUTO DE BIOFÍSICA CARLOS CHAGAS FILHO

bradicardia reflexa no exercício físico, o que é importante para a redistribuição sanguínea e manutenção da contração muscular esquelética. Temos exemplo de modificação de set point de controle que pode ser induzida pela ação hormonal e alças suprabulbares, como aquela que ocorre entre o núcleo paraventricular hipotalâmico (PVN) e o núcleo do trato solitário do tronco encefálico. Aferências que ascendem do tronco encefálico atingem o PVN e acionam, por exemplo, a liberação do hormônio anti-diurético (ADH) que tem ação impedindo a bradicardia reflexa no exercício físico.

A homeostasia é um processo de integração entre órgãos e sistemas. A manutenção dos níveis de pH no sangue em níveis adequados depende da ação ~~intera~~ integrativa entre os pulmões e rins. O aumento dos níveis de H^+ pode ocorrer devido acetoacidose diabética, jejum prolongado e atividade muscular intensa com produção de ácido lático. A curto prazo a hiperventilação é um processo que visa corrigir este aumento. A longo prazo, os rins podem aumentar a reabsorção de bicarbonato, através do metabolismo de glutamina das células tubulares, o que também é efetivo em combater excessos de H^+. Caso haja prejuízos na função respiratória, este sistema pode perder sua função no equilíbrio ácido base e inclusive gerar quadros de acidose respiratória.

UFRJ

A obesidade é um desafio para os processos homeostáticos por diversos mecanismos. Por exemplo, a neuroinflamação hipotalâmica caracterizada nestes indivíduos pode aumentar o tônus simpático para o organismo, o que é relacionado a maior produção hepática de glicose e hipertensão. Além disso, obesos apresentam disfunções na mecânica respiratória e comumente apresentam quadros de hipóxia. Baixos níveis de oxigênio arterial são percebidos por quimiorreceptores arteriais e ativam os centros cardiovasculares, aumentando o tônus simpático.

Comunicação Intercelular

Principalmente para os organismos multicelulares, a comunicação intercelular é fundamental para sobrevivência, diferenciação e crescimento. A ausência de sinais pode levar a processos de indução de morte celular, como apoptose. O sinal é liberado por uma célula através de exocitose, difusão pela membrana plasmática ou fica aderido a sua membrana plasmática. Este sinal pode ter ter natureza química diversa, desde lipídica, peptídica, proteínas, derivado de aminoácidos ou constituir moléculas gasosas. Os sinais emitidos por uma células são percebidos por uma célula ou um grupo de células a diferentes níveis de distância, dependendo do tipo de comu-

UFRJ

nicação, através de um receptor. Este receptor pode se localizar na membrana plasmática, caracterizando um receptor de superfície, ou ser um receptor intracelular citosólico ou nuclear.

A especificidade e sensibilidade entre sinal e receptor depende do tipo de comunicação intercelular, bem como de mecanismos adaptativos que visam reduzir a comunicação em um excesso de sinal. Os receptores de superfície podem ser internalizados em endossomos, degradados em lisossomos, modificados covalentemente ~~por~~ na porção citosólica propiciando a ligação de proteínas inibitórias, bem como pode haver a inibição de proteínas sinalizadores intracelulares. Todos esses mecanismos adaptativos regulam a comunicação intercelular.

A curta distância enfatizo a comunicação dependente de contato, autócrina e parácrina. A primeira pode ser realizada no período de embriogênese, no qual o contato físico entre as proteínas transmembranares Notch e Delta presentes em células adjacentes vizinhas determina a proteólise de Notch, liberando uma fração citosólica que age como fator de transcrição e induz a não diferenciação da célula em ~~a~~ célula neural. Se a célula com a proteína Delta transmembrana se diferencia em neural. A comunicação autócrina é realizada por um mediador produzido na célula que age

nela mesma e na parácrina o mediador atinge as vizinhas. Moléculas lipídicas como as produzidas na cascata do ácido araquidônico são exemplos de sinais que podem agir dessa forma. O ácido araquidônico presente nos fosfolipídeos de membrana sofre ação de lipases e da ciclooxigenase produzindo prostaglandinas que podem ter várias ações pró-inflamatórias em células vizinhas, agindo em receptores acoplados a proteína G específicos. A partir do ácido araquidônico também são produzidos endocanabinóides, lipídeos bioativos que agem de forma autócrina e parácrina em vários tecidos, por exemplos no tecido adiposo branco, eles aumentam a lipogênese na célula que o deu origem e nas vizinhas.

Os endocanabinoides também estão presentes na comunicação sináptica. Ela envolve um neurônio e uma célula alvo, neuronal ou não. Esta comunicação pode envolver grandes distâncias, através dos axônios longos e é caracterizada pela liberação de neurotransmissores na fenda sináptica pela célula pré-sináptica que atinge receptores acoplados a canais ou metabotrópicos na célula pós-sináptica. Esta é a sinapse química cuja ativação de receptores ionotrópicos e metabotrópicos na célula pós-sináptica pode estar relacionado com potenciais pós-sinápticos excitatórios (PEPS) ou inibitórios (PIPS). A integração dos sinais elétricos

Favor não escrever no verso

ocorre no cone de implantação do axônio, onde há a maior concentração de canais de sódio dependentes de voltagem. Caso o limiar de disparo seja atingido, há o disparo de potencial de ação, que percorre o axônio levando a abertura de ~~poi~~ canais de cálcio dependentes de voltagem no terminal axônio, entrada de cálcio e liberação de neurotransmissores na fenda sináptica. O principal neurotransmissor excitatório do sistema nervoso central é o glutamato e o GABA é o principal inibitório.

As sinapses elétricas são menos frequentes e se caracterizam pela presença de conexons caracterizando as ~~gap junctions~~ entre as células. As gap junctions possibilitam a maior rapidez na ~~comunicação~~ comunicação comparado às sinapses químicas.

A comunicação endócrina tem como principal via o sangue. Hormônios lipídicos (derivados do colesterol), derivados de aminoácidos e peptídicos são liberados por células endócrinas e atingem os receptores de células alvos. Comparado a comunicação sináptica, a endócrina é mais lenta (minutos ou horas) porém há grande sensibilidade entre o receptor e o sinal, que pode atingir a célula alvo em baixas concentrações comparado a grande quantidade de neurotransmissor liberado na fenda sináptica.

A obesidade é caracterizada por uma disfunção na comu-

UFRJ

nicação intercelular. O hormônio leptina é produzido em quantidades proporcionais a massa adiposa e o excesso de sinal leva a dessensibilização da ação do hormônio leptina em regiões do SNC que controlam o apetite. Consequência disso, há (+) menor ação anorexigênica e diminuição do gasto energético, o que contribui para a manutenção do fenótipo de obesidade. A leptina age através dos receptores de superfície acoplados a enzimas. O excesso de leptina é contra-regulado pela diminuição dos seus receptores no hipotálamo arqueado, e, consequentemente disfunção do metabolismo energético. O prejuízo da ação central da leptina aumenta a sinalização dos endocanabinoides nas sinapses centrais. Estes são mediadores de ação retrógrada. Eles são produzidos nos neurônios pós-sinápticos e atuam nos neurônios pré-sinápticos aumentando a ativação dos receptores canabinóides do tipo 1 (CB1). CB1 é um receptor associado a proteína G inibitória. A obesidade está associada com um remodelamento sináptico com mais receptores CB1 em neurônios gabaérgicos (produtores de GABA) pré-sinápticos em vias que aumentam o apetite homeostático e hedônico. A maior sinalização endocanabinoide no SNC, favorecida pelo quadro de resistência a ação do hormônio leptina, inibe a liberação de GABA, aumentando a excitação de vias orexigênicas, como aquelas que envolvem maior liberação de orexina e dopamina no sistema nervoso central. Portanto, tratamentos promissores contra doenças metabólicas devem ter como alvo a comunicação intercelular.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho
Concurso para Professor Adjunto
MC-015 – Integração de Sistemas Biológicos
Edital nº 377 de 25 de maio de 2022, publicado no DOU nº 102 de 31 de maio de 2022 - consolidado com as alterações dos Editais nº 402 de 31 de maio de 2022 e nº 435 de 31 de maio de 2022

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA:

No. fl. 6

Favor não escrever no verso

12. Genes, Ambiente e Registral Biológicos

O código genético é universal. Cada célula humana em seu núcleo apresenta diversos pares de base distribuídos em 23 cromossomos em duas cópias cópias de material genético o que é coletivamente chamado de genoma. Cada célula ao gerar uma nova célula deve duplicar seu genoma a partir da replicação, processo semiconservativo, onde uma fita da dupla hélice será mantida e servirá como molde para a síntese de uma nova fita seguindo o emparelhamento de Watson e Crick e sob controle de enzimas DNA polimerases. Resumidamente, a replicação do DNA se inicia a partir da abertura da dupla hélice em pontos pré-~~[illegible]~~ determinados por sequências de bases específicas chamadas origins da replicação. As enzimas helicases vão promover essa abertura pela quebra das ligações de hidrogênio entre os pares de base. Essa abertura vai gerar regiões chamadas de forquilhas da replicação, onde a replicação ocorrerá em sentidos opostos, mas sempre regida no sentido 5'→3' pela adição de nucleotídeos à fita ~~complet~~ complementar feita pela DNA polimerase. A segunda fita, para que ela possa ser re-

(1)

plicada no sentido 5'-3' pela DNA polimerase precisa ser adicionadas à ela pares de base em fragmentos, dando origem à replicação descontinuada da fita atrasada por meio de fragmentos de Okazaki. Vale ressaltar que para que a replicação se inicie a enzima Primase deve sintetizar pequenos segmentos de RNA, os quais servirão para que a DNA polimerase possa identificar o início da replicação. Nos fragmentos de Okazaki, cada fragmento ~~tem~~ terá uma sequência iniciadora, também chamada de primer, para que sua replicação seja realizada. Após a inserção completa de nucleotídeos catalisada pela DNA polimerase, exonucleases irão excluir as sequências de RNA (primer) da fita e, no caso da fita replicada em fragmentos (tardia), a DNA polimerase irá adicionar novos nucleotídeos entre os fragmentos para que depois a enzima ligase possa juntá-los e formar uma fita contínua. Vale ressaltar que durante a replicação proteínas de ligação ao DNA (SSBs) mantém as fitas simples abertas e estendidas do DNA (moldes) para que a replicação não seja interrompida. Após a replicação, um segundo processo importante para manutenção e desenvolvimento de um organismo ocorre, a transcrição, a qual, inclusive, pode ser modulada a partir da ação de proteínas e enzimas que podem ser ativadas ou desativadas em decorrência de estímulos ambientais exógenos ou endógenos a partir dos microambientes em que as células estão inseri-

UFRJ

inseridas. A transcrição compartilha características com a replicação, porém nesse processo apenas uma fita de DNA será transcrita em RNA mensageiro a qual carrega informação para a síntese de proteínas. Esse processo é catalisado pela enzima RNA polimerase, a qual a partir de uma sequência promotora irá iniciar a inserção de nucleotídeos à fita crescente de RNA mensageiro via abertura da dupla hélice. A inserção de novas bases ao RNA mensageiro (RNAm) se dará até que a RNA polimerase encontre uma sequência de parada, identificando que a síntese do RNAm imaturo terminou. O novo RNAm imaturo é composto tanto por sequências chamadas íntrons como éxons, onde os íntrons precisam ser eliminados do RNAm, pois não codificam proteínas como os éxons, apesar de serem sequências importantes para a regulação da expressão gênica. A edição do RNAm imaturo se dá pelo seu processamento ou splicing, onde haverá a formação e edição de uma molécula de RNAm madura, apenas com éxons. Apesar do número limitado de genes (~30 mil) no genoma, o processo de splicing dá origem a diversas sequências de bases que irão codificar diversas isoformas de proteínas com diferentes atividades biológicas, mostrando que mesmo com um número limitado de genes, um transcriptoma diverso é gerado por esse processo. Vale ressaltar que padrões anormais de splicing podem gerar mutações e o desenvolvimento de doenças, bem

UFRJ

como o empacotamento incorreto de bases durante a replicação também pode gerar mutações que serão transmitidas nas próximas gerações e erros replicativos se não reparados pela enzima DNA polimerase e enzimas de reparo do DNA. A última etapa após a transcrição se dá a partir da transferência do RNAm maduro para o citoplasma, a qual será realizada no ribossomo através de um RNA de transferência (RNAt). O RNAt a partir de três sequências de bases (anticódons) irá reconhecer códons na fita de RNAm e irá adicionando aminoácidos a fita crescente de proteína. Esse processo será regido através da identificação inicial de códons de iniciação e terminado, quando a proteína estiver pronta a partir da identificação de códon de parada. A transcrição e expressão gênica pode ser modulada pelo ambiente, principalmente nos passos iniciais da vida a depender de estímulos ambientais. Esses estímulos podem ativar ou desativar a expressão/transcrição via mutilação, mudanças pós-traducionais em histonas e através de RNA não codificantes, como RNA de interferência, micro RNA e RNAs não codificantes longos. A mutilação será promovida por enzimas DNA metil transferases que irão adicionar grupos metil a citosinas + metil sequências de genes específicos e promovendo seu silenciamento. Essa inserção de grupos metil é feita principalmente em ilhas CpG (citosina-guanina) em região promotora dos genes fazendo com que interrompa a

UFRJ - CHTI - INSTITUTO DE BIOFÍSICA CARLOS CHAGAS

interação da maquinaria de transcrição com o RNA e induzindo heterocromatina e interrompendo a interação dos genes com fatores de transcrição. Os RNAs não codificantes irão silenciar genes a partir da metilação ou modificação em histonas. Por último, as modificações pós traducionais em histonas irão promover ① acetilação, ② metilação, ③ fosforilação ou ④ ubiquitinação de histonas interferindo nas interações DNA-histonas nos nucleossomos. Vale ressaltar que cada uma delas vai atuar de maneira diferente: ① acetilando resíduos de lisina e abrindo a cromatina permitindo a interação DNA-histonas e expressão de genes; ② adicionando resíduos metil em lisinas nas histonas ou argininas podendo induzir ou suprimir a expressão de genes; ③ fosforilando caudas negativas das histonas, adição de grupos fosfato, como na histona H2AX, envolvida na resposta de dano ao DNA e reparo do DNA; e ④ ubiquitinando resíduos de lisina, silenciando genes por degradação proteassômica. Vale ressaltar que todas essas edições são consideradas modificações epigenéticas, as quais irão modular o epigenoma induzindo diversas modificações frente alterações ambientais nos fenótipos das células e até entre espécies. As modificações epigenéticas são também capazes de modular a função de células do sistema imunológico (SI), como os macrófagos. Os macrófagos são células do SI inato, estão presentes em diversos tecidos como células residentes diferenciadas após desenvolvimento ou

a partir de monócitos derivados da corrente sanguínea. São células histiogênicas apresentando uma enorme plasticidade que pode variar e ser modulada pela ação de hormônios desacetilases (HDCA). Os seus perfis de ativação podem, resumidamente, migrar da extremidade M1, ativados por LPS derivado de bactérias gram-negativas até M2, ativados por citocinas, como a IL4. Apesar disso, diversos outros perfis podem estar inclusos entre estas extremidades. As HDCAs podem modular o perfil M1 de macrófagos seja os ativando ou inibindo. O estímulo de macrófagos com LPS já foi demonstrado por modular diversas HDCAs. Dentre elas a inibição das HDCAs 4, 5, 7 já foram demonstradas por regular positivamente a transcrição e promover, via estímulo de macrófagos com LPS, a indução da enzima ciclooxigenase 2 (COX2), impactando na produção de mediadores envolvidos nas respostas inflamatórias. Além disso, a inibição das HDCAs 1 e 5 já foi demonstrada por estar envolvida na indução da citocina inflamatória IL-8 em células epiteliais infectadas c/ C. pneumophila. As HDCAs 6 e 7 estão envolvidas na indução da expressão de genes que codificam citocinas pró-inflamatórias IL-12p40 e IL-6 pós ativação de vias de sinalização mediadas pelos receptores TLR em macrófagos estimulados com LPS. Por outro lado, a inibição da HDCA6 ou ausência da HDCA3 estão envolvidas na inibição da indução do status M1 de macrófagos via supressão

UFRJ

da transcrição de diversos genes pró-inflamatórios essenciais, como os que codificam as citocinas IL-6, ~~TNF~~ TNF-α entre outros. Vale ressaltar que a modulação gênica de macrófagos, principalmente inibindo a ativação do perfil M1 é totalmente prejudicial para respostas imunes celulares contra microorganismos fagocitados e intracelulares, bem como respostas imunes anti-tumorais.

4. Comunicação Intercelular

As comunicações intercelulares medeiam as interações entre ~~entre~~ células bem como entre células e proteínas da matriz extracelular, bem como moléculas solúveis. Diversos processos e atividades são moduladas por comunicação direta, via contato ou via moléculas solúveis liberadas por células produtoras. Dentre elas, podemos destacar a comunicação via justácrina, autócrina, parácrina e a recém descrita via citonemas e nanotubos de tunelamento (2008), descrita como uma possível indução da comunicação justácrina (dependente de contato). ~~A~~ A comunicação autócrina é mediada por moléculas sinalizadoras produzidas pela célula produtora, a qual possui receptor para a molécula que ela própria produziu. A comunicação parácrina ela é mediada por uma célula produtora de uma molécula sinalizadora, a qual irá atuar em uma célula adjacente (célula-alvo). Essa comunicação

UFRJ

intercelular pode ser mediada de maneira próxima, com efeito curto e imediato, como a realizada por duas células nervosas na sinapse química, via liberação de neurotransmissores ou ainda pode ser lenta, com efeito prolongado e sistêmico, como a mediada por hormônios liberados pelas células do sistema endócrino. Vale ressaltar que essa comunicação também pode ser mediada por citocinas liberadas pelas células do sistema imunológico, como IL-1, TNF, IL-6, conhecidas como pirogênicas e atuam no hipotálamo modulando a resposta febril via produção de PGE2 pelas células endoteliais da entrada capilar-encéfalo ou microgliais. A comunicação intercelular via citonemas e nanotubos de tunelamento é realizada via transferência de material citosólico entre duas células adjacentes via finas estruturas tubulares de membrana plasmática ou via citonemas, extensões da membrana plasmática que permitem a interação entre um ligante e um receptor sem que haja transmissão tubular do conteúdo citoplasmático. A comunicação justácrina se dá, primariamente, por junções celulares, as quais são essenciais p/ manutenção, integridade, rigidez e estabilidade dos tecidos. Ela pode ser realizada por junção comunicante do gap, mediada por conexinas as quais permitem a comunicação e transferência de moléculas sinalizadoras entre o citosol de duas células adjacentes. Ela é altamente regulada e em situações extremas, co-

UFRJ - CCS - INSTITUTO DE BIOFÍSICA CARLOS CHAGAS FILHO

na falta de íons intracelulares acima do limite ótimo, essas junções podem ser fechadas, sem que haja prejuízo para o encaixe de células que estão se comunicando. As junções oclusivas, mediadas por ocludinas e claudinas, principalmente, que estão localizadas na extremidade apical das células e na barreira epitelial intestinal desempenham um papel essencial na movimentação paracelular de moléculas entre as células do epitélio, bem como permite a aderência entre as células espalhando o lúmen intestinal da lâmina própria, onde estão localizadas as células do SI. Finalmente, as junções de ancoragem permite a comunicação das células com seu esqueleto e estão muito envolvidas nos processos de motilidade celular, proliferação e diferenciação celular. Elas podem ser mediadas por caderinas que por dependência de Ca^{2+} interagem entre si com os domínios extracelulares de outras caderinas permitindo o agrupamento intracelular de cateninas, as quais se ligarão ao esqueleto. Também são realizadas por integrinas que interagem com sequências de aminoácidos específicas da matriz extracelular, (fibronectina e colágeno), mudando de conformação e quando sítios de adesão focal e recrutamento de proteínas com atividade GTPase, Rac e Rho, e proteínas quinases da família Src, as quais irão mediar a ligação com o esqueleto. As comunicações intercelulares são a

base do desenvolvimento e montagem das respostas imunológicas no que diz respeito, principalmente, à ativação de linfócitos TCD4+, células essenciais para coordenar as funções do SI por meio da liberação de citocinas e das respostas imunes celulares e humorais. O SI é um sistema de reconhecimento formado por células diversas que vão desempenhar funções a depender do braço imune que estão inseridas (inato e adaptativo). Além das barreiras físicas e químicas, macrófagos são considerados células do SI inato os quais reconhecem padrões moleculares moleculares conservados (PAMPs) e dano (DAMPs) através da expressão de uma complexa gama de receptores de reconhecimento de padrão (PRRs) que quando estimulados via PAMPs, vão promover vias de sinalização envolvidas na endocitose, processamento dos PAMPs em antígenos peptídicos e produção de citocinas a depender do PAMP que induziu sua ativação. Essa via de sinalização é principalmente mediada por receptor TLR, os quais também vão promover a indução da expressão de glicoproteínas de membrana, chamadas de CD80 e CD86, essenciais para a co-estimulação durante a ativação de linfócito TCD4+. Uma vez ativados, macrófagos e células dendríticas (DCs), ambas células do SI chamadas coletivamente de células apresentadoras de antígenos, irão migrar para zonas de linfócitos T nos órgãos linfoides secundá-

UFRJ

nos na periferia através de um gradiente de quimiocinas li-
beradas pelos linfócitos onde irão apresentar os seus antígenos
peptídicos complexados à molécula do complexo principal
de histocompatibilidade II (MHCII) para linfócitos TCD4 vir-
gens. Essa comunicação inicial entre linfócitos TCD4+ virgens
com a APC é mediada por forças de adesão fracas que irão
permitir a varredura ativa dos complexos peptídeo-MHC (pMHC)
na superfície da APC pelo TCR, receptor dos linfócitos TCD4+.
Essa comunicação é mediada pela interação da integrina
LFA1 expressa pelos linfócitos virgens com a glicoproteína ICAM1
das APCs, bem como a molécula ICAM3 dos linfócitos virgens
com a molécula DC-sign expressa pelas APCs mais profissionais.
Vale ressaltar que essa ~~comunicação~~ comunicação inicial é essencial para
permitir o contato físico das duas células e subverter a carga
negativa emitida pela glicocálix das duas células. Uma
terceira comunicação intercelular por contato entre a mole-
cula CD2 nos linfócitos T virgens e LFA3 nas APCs é essencial pa-
ra permitir o engajamento do TCR. Uma quarta comuni-
cação vai fortalecer e prolongar o contato intercelular entre
APCs e linfócitos T virgens mediada pela mudança de confor-
mação na integrina LFA1 que se ligará mais fortemente a
ICAM-1. Vale ressaltar que todas essas interações são indepen-
dente do antígeno. Uma segunda etapa de comunicação de-
pendente de antígeno se inicia a partir da emissão de exten

sois provenientes dos linfócitos T virgens dependentes de Ca^{2+} e da polimerização do citoesqueleto de actina que irão aproximar ainda mais as células permitindo o contato repetido e prolongado entre os pMHC das APCs e os TCRs dos linfócitos T virgens. Essa comunicação vai se dar em locais específicos da membrana, microdomínios ricos em fosfolipídios altamente saturados, os quais irão formar uma área concêntrica e em forma de alvo chamada de sinapse imunológica ou agregado de ativação supramolecular (SMAC), composto por três regiões (pSMAC) (cSMAC) (dSMAC) (periférica, central e distal) No Smac central (cSMA) está localizado na interface do linfócito T virgem composta pelo complexo TCR (CD3+TCR), do co-receptor CD4, essencial para estabilizar a ligação com cadeias não polimórficas do MHC no complexo pMHC, pelo receptor co-estimulatório constitutivamente expresso pelos linfócitos em sua superfície, CD28, e por moléculas de sinalização intracelular que irão mediar posteriormente a ativação e transcrição de genes envolvidos na ativação dos linfócitos, como a citocina IL-2 e seu receptor, CD25. Na APC, a presença do complexo pMHC e das moléculas co-estimulatórias CD80 e CB6, permitirão a ativação dos linfócitos T virgens via, inicialmente, pelo reconhecimento antigênico, e agora pelo segundo sinal, interação das moléculas CD80/86: CD28. O pSMAC é composto pelas moléculas de adesão LFA1 e talina que permitem a comunicação intercelular en-

tre as APCs e linfócitos T ligam e o cSMAC que é composto pelas proteínas glicosiladas CD43, CD45 e PSGL-1 que contribuem para a ativação dos linfócitos. O receptor TCR é capaz de ser ativado por moléculas/sinais extracelulares, porém só transmite esses sinais para o meio intracelular e núcleo dos linfócitos via a expressão dos dímeros de cadeias CD3 (CD3ε/CD3γ) (CD3ε/CD3δ) e dímero de duas cadeias CD3zeta. A ativação e indução dessa via de sinalização vai permitir uma outra etapa de comunicação, agora autócrina, mediada pela indução e transcrição mediada pelos fatores de transcrição AP-1, NFAT e NF-KB da citocina IL-2 e seu receptor, CD25, a qual irá mediar a proliferação do linfócito T ativado (expansão clonal) e sua sobrevivência. A última etapa da comunicação intracelular entre linfócitos T ativados e APCs se dará a partir de células secretoras com citocinas que serão liberadas durante a sinapse imunológica pelas APCs e irão promover, a depender do contexto peptídico que induz a ativação de linfócitos T, a indução e diferenciação dessas células em linfócitos T efetores, resumidamente, em três subpopulações diferentes: Th1, Th2 e Th17. Resumidamente, se na sinapse imunológica as APCs liberam a citocina IL-12, os linfócitos T ativados se diferenciarão em linfócitos Th1 produtores de IFNγ e mediadores das respostas imunes celulares e eliminação de microrganismos fagocitados e intracelulares. E a citocina liberada

Favor não escrever no verso

por a IL4, esses linfócitos se diferenciarão em linfócitos Th2, os quais mudam respostas imunes humoral e eliminação de microorganismos extracelulares. Por fim, se as citocinas forem a IL-6 induzida pelas APCs e o TGFβ induzida por outras células imunes, os linfócitos se diferenciarão em linfócitos Th17 altamente inflamatórios, que medeiam a eliminação de microorganismos (bactérias e fungos) extracelulares e estão envolvidas com o desenvolvimento de doenças auto imunes.

7. Equilíbrio dinâmico e Homeostasia

O termo homeostasia ou homeostase discorre a manutenção do meio interno estável mesmo sob a intervenção externa a todo momento devido a entrada e saída de estímulos e "pulsos" divididos do ambiente externo ou do microambiente, onde as células, tecidos e órgãos estão inseridos. Os fatores regulados internos variam desde a pressão, nutrientes, oxigênio, gás carbônico, volume entre outros os quais precisam ser mantidos existir dentro de uma faixa estreita e de um nível ótimo compatível com a sobrevivência dos organismos. Os sistemas de controle homeostáticos podem variar desde sistemas que podem atuar na direção da mudança, amplificando (retroalimentação positiva), até sistemas que podem atuar minimizando as mudanças guiadas a partir da indução de mecanismos fisiológicos homeostáticos que

Favor não escrever no verso

permite o retorno às condições ótimas (retroalimentação negativa (2)). Um último sistema pouco utilizado pelo organismo é o de controle homeostático por antecedência, o qual permite que o organismo disponha uma ação à uma mudança antes mesmo dela acontecer (controle por (3) antecipação). Na retroalimentação positiva, como a mudança é amplificada, indo contra o estado homeostático, a mesma é pouco realizada pelo organismo e sempre vem acompanhada por (2) impedindo a exaustão ou esgotamento energético do organismo. A mais utilizada pelo organismo é o mecanismo (2) o qual permite que uma mudança seja rapidamente minimizada permitindo que o organismo volte ao seu estado normal. Vale ressaltar que a homeostasia é definida como um equilíbrio dinâmico, onde os fatores reguladores internos estão sempre variando de uma maneira constante e dinâmica, os sistemas de controle homeostáticos estão sempre atuando de modo a manter o equilíbrio das atividades e funções biológicas. O sistema nervoso e o endócrino são os sistemas mais envolvidos no controle da homeostase por, em resposta ao estímulo, gerarem uma resposta curta prazo/imediata (sistema nervoso) ou médio-longo prazo, com efeito prolongado e duradouro no organismo (sistema endócrino). Apesar desses dois sistemas serem essenciais no controle da homeostasia do organismo o sistema imunológico (SI) através da tolerância a auto-

UFRJ

autoantígenos, a antígenos da microbiota comensal e derivados dos alimentos, tem um papel crítico em induzir mecanismos de tolerância impedindo que o organismo monte respostas imunes contra autoantígenos (autoimunidade) e induza doenças inflamatórias intestinais ou alergias alimentares.

Além da tolerância, o SI desempenha uma função essencial para manutenção (2ª função) que é a de imunovigilância, a qual permite que células do SI patrulhem órgãos e tecidos periféricos à procura de fatores que possam quebrar a homeostase, como microrganismos invasores, células mortas, danificadas, senescentes ou infectadas. Dentre os mecanismos de tolerância que previnem a ativação de respostas imunes autoimunes estão a tolerância central e a tolerância periférica. O potencial para autoimunidade surge devido ao rearranjo randômicos dos segmentos gênicos (recombinação somática) para a síntese e formação das cadeias polimórficas do TCR, as quais irão gerar receptores altamente rearranjados, distribuídos clonalmente e que irão discriminar mínimas diferenças entre os antígenos. Esses receptores devem passar por diversas etapas de checagem da sua funcionalidade e especificidade antes que sejam liberados para circular pelos órgãos linfoides secundários e se tornem ativados. Ainda durante o desenvolvimento de linfócitos T e B, no timo e na medula óssea, respectivamente, estas

UFRJ

celular irão passar pela tolerância central, especificamente, pela seleção positiva e negativa. Na seleção positiva, a qual ocorre no córtex tímico, células epiteliais corticais tímicas irão funcionar como células apresentadoras de antígenos (APCs) e irão apresentar autoantígenos complexados à moléculas de MHC I ou II nas suas membranas plasmáticas. Nessa etapa, serão selecionados linfócitos T virgens imaturos ou timócitos que expressam TCRs úteis/funcionais capazes de se ligar aos complexos peptídeo-MHC (pMHC) nas APCs. Vale lembrar que se a afinidade de reconhecimento do complexo pMHC for baixa ou muito baixa, esses linfócitos serão eliminados por apoptose e não passarão para a etapa de seleção negativa na medula tímica. Uma vez selecionados positivamente e já expressando seus co-receptores CD4 e CD8, uma vez que nessa etapa os timócitos passam pelo processo de ressecção pelo MHC, seus TCRs agora terão que reconhecer autoantígenos expressos em células epiteliais medulares tímicas e DCs, os quais serão eliminados caso reconheçam os complexos pMHC com alta afinidade e avidez. Para que a seleção negativa seja possível de acontecer, células epiteliais medulares tímicas e DCs passam expressar ectopicamente autoantígenos teciduais associados a células e expressos na membrana de células de sítios periféricos e isso é possível porque essas células expressam o fator de transcrição regulador da autoimuni-

dade (AIRE). Nem todos os linfócitos que reconhecem c/ alta afinidade e avidez complexo pMHC são eliminados durante a seleção negativa, tornando-se alternativamente como se diferenciando em células T reguladoras (Tregs) naturais (nTreg). Além disso, os mecanismos de tolerância central são capazes de gerar linfócitos T regs autorreativos, porém que também reconhecem antígenos estranhos. Por causa disso, células adicionais de tolerância periférica precisam ser adicionadas para controlar a ativação desses linfócitos autorreativos nos órgãos linfáticos periféricos. Dentre os mecanismos de tolerância periférica, estão a indução de anergia, deleção clonal e supressão da ativação e função efetora de linfócitos T autorreativos. A indução de anergia ocorre durante a ativação de linfócitos T mediada, resumidamente, a presença de dois sinais emitidos pelas APCs, o reconhecimento antigênico e a co-estimulação induzida pelo reconhecimento das moléculas CD80 e CD86 induzidas na membrana plasmática das APCs na interação dos PRRs com MAMPs, com o seu receptor coestimulatório expresso constitutivamente na membrana plasmática dos linfócitos T, CD28. A anergia é induzida quando na ausência do reconhecimento antigênico, não há co-estimulação. O linfócito T autorreativo se torna não funcional. Outra maneira de indução de anergia é na interação do receptor co-inibitório CTLA4 com as moléculas estimulatórias CD80 e CD86 expressas

pelas APCs. O receptor CTLA-4 tem mais afinidade pelas moléculas CD80/86 do que o receptor CD28. A ligação CD80/86 com o receptor co-inibidor CTLA-4 vai induzir o recrutamento de uma tirosina fosfatase SHz, a qual irá se ligar na cauda do domínio CD3zeta do TCR e desfosforilando e não fosforilando a indução da expressão do gene que codifica a citocina IL-2, essencial para expansão clonal e sobrevivência do linfócito. O mecanismo de deleção clonal também vai ocorrer na ausência de reconhecimento, mas com ausência de co-estimulação. Um desses mecanismos é induzido pela ausência da citocina IL-2, a qual irá promover a regulação negativa de proteínas anti-apoptóticas da família Bcl-2, como Bcl2 e Bax, e irá promover a indução de proteínas pró-apoptóticas da família Bcl-2, como Bim, levando o linfócito a morte pela via mitocondrial intrínseca por privação de citocina. A deleção clonal também pode ocorrer via restimulação do TCR de linfócitos T autorreativos, a qual irá induzir a morte do mesmo pela via extracelular via indução dos receptores de morte FasL e Fas. Neste sentido, o linfócito T autorreativo que teve seu TCR restimulado irá expressar FasL que irá se ligar ao Fas expresso por células do SI e, até mesmo, pelo linfócito T, quando a sua morte (suicídio) e das células expressando Fas (fratricídio). A eliminação de células apoptóticas tanto durante a

a tolerância entral como na periférica é essencial para que as células não evoluam para um estado de necrose secundária, o qual culminaria na liberação de DAMPs que podem alterar o status de ativação das APCs fazendo com que elas se tornem ativadas e ativem linfócitos T autorreativos. Essa etapa implementa uma etapa de regulação imunológica importante neste processo. A próxima etapa de indução de tolerância periférica se dá a partir da supressão da ativação e função efetora de linfócitos T autorreativos, a qual é mediada por fatores solúveis e por contato. Essa etapa é mediada por células Treg naturais geradas durante a tolerância entral e induzidas (iTregs), as quais são geradas na periferia. Ambas as Tregs são geradas via reconhecimento de autoantígenos, porém as iTregs também podem ser geradas via reconhecimento de antígenos estranhos derivados, por exemplo, da dieta, o processo essencial para indução de tolerância nas mucosas e de tolerância oral. Ambas são geradas também na presença de co-estimulação (CD80/86:CD28) na presença das citocinas IL-2 e TGF-β. O primeiro mecanismo de tolerância periférica por Tregs se dá pela liberação dos fatores solúveis IL-10 e TGF-β. A citocina IL-10 induz a regulação negativas das moléculas co-estimulatórias CD80, CD86 e MHCII por induzir uma ubiquitina ligase, a Marcn-1, a qual marca as moléculas (ubiquitina) para

Favor não escrever no verso

sua degradação em proteassoma. Vale ressaltar que a indução de Tregs é uma etapa essencial que depende da expressão do Fator de transcrição FOXP3 o qual além de ser importante para o desenvolvimento e função das Tregs também modula positivamente a expressão do receptor de IL-2, CD25, e do co-receptor inibitório CTLA-4 nessas células. Os mecanismos de supressão por contato mediado pelas Tregs se iniciam a partir da interação do receptor CTLA-4 com as moléculas co-estimulatórias CD80/86, impedindo ativação dos linfócitos T autoreativos. As células Treg naturais também podem impedir a ativação dos linfócitos via citotoxicidade, ou seja, através da liberação de grânulos de perforina e granzima, os quais fazem poros na membrana da célula-alvo e permitem a entrada de granzimas pelos poros, as quais ativam caspases e promovem a morte dos linfócitos T autoreativos. O terceiro mecanismo envolve a captação da citocina IL-2 pelos linfócitos Treg. Os fatores de transcrição NFAT1, AP1 e NFκB são essenciais para indução da expressão da IL-2, a qual mediria a sobrevivência de linfócito T e Tregs ativados. Apesar disso, a expressão de FOXP3 pelas Tregs é capaz de inibir a produção de IL-2 via supressão desses três fatores de transcrição, o que acaba modulando negativamente a ativação de linfócitos T autoreativos. Além disso, as células Treg também expressam maiores níveis do receptor CD25, permitindo maior captação dessa citocina

por essas células. O último mecanismo de indução de tolerância e também essencial para a manutenção da homeostase é o sequestro de autoantígenos para sítios imunoprivilegiados. Nem todos os autoantígenos são expulsos durante a seleção de linfócitos autorreativos na seleção negativa no timo. Não se sabe se porque eles são ~~não~~ expressos em momentos mais tardios do desenvolvimento, se não são induzidos por AIRE ou se porque estão confinados em sítios que não tem contato com as células do SI, como testículo, cristalino e a câmara anterior do olho. Esses autoantígenos ficam confinados nesses sítios e ~~[illegible]~~ impedindo seu reconhecimento e ativação de linfócitos T autorreativos. Por último, mas não menos importante, a tolerância central e periférica à linfócito B também é essencial para a manutenção da homeostase, uma vez que essas células atuam promovendo o reconhecimento de antígenos solúveis polissacarídicos e lipídicos, por exemplo, induzindo sua neutralização e eliminação. Além disso, quando ativadas também promovem a eliminação via produção e secreção para os líquidos corporais de anticorpos. A tolerância central de linfócitos B ocorre no mesmo sítio em que há o desenvolvimento de linfócitos B, ou seja, na medula óssea a partir de precursores comprometidos com a linhagem linfocítica. O reconhecimento de alta afinidade de antígenos solúveis pelos BCRs, (receptores de linfócitos B expressos em sua membrana plasmá-

UFRJ

tica) induz a ativação de duas enzimas, RAG1 e RAG2, as quais são essenciais para promover um rearranjo dos éxons dos genes da imunoglobulina, processo chamado de edição do receptor, o qual é essencial para eliminar sua autorreatividade. Caso ela não seja eliminada, o linfócito B, ao contrário dos linfócitos T que se tornam anérgicos, são destinados para apoptose. Quanto a tolerância periférica linfócitos B que reconhecem autoantígenos com alta afinidade não conseguem migrar para os folículos de linfócitos B, mas nos linfonos, por exemplo, onde suam ativados devido a inibição da expressão do receptor de quimiocina CXCR5.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho
Concurso para Professor Adjunto
MC-015 – Integração de Sistemas Biológicos
Edital nº 377 de 25 de maio de 2022, publicado no DOU nº 102 de 31 de maio de 2022 - consolidado com as alterações dos Editais nº 402 de 31 de maio de 2022 e nº 435 de 31 de maio de 2022

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 7

No. fl. 1

Favor não escrever no verso

Comunicação intercelular

O fluxo de informação entre duas células é um processo extremamente preciso e coordenado que regula um processo celular. Essa comunicação celular pode ser realizada através de sinais elétricos ou químicos. Além disso, a comunicação e o fluxo de informação entre as células pode ser um evento local ou de longa distância. A comunicação local pode ocorrer através de uma comunicação direta entre o citosol de duas células justapostas com formação de junções comunicantes (poros denominados de conexons). Uma outra espécie de comunicação local ocorre através do contato (interação) de moléculas encontradas nas membranas plasmáticas de duas células distintas. Por fim, uma outra espécie de comunicação celular local ocorre através de sinais químicos. Este tipo de sinalização celular pode ocorrer através de uma célula que sintetiza uma molécula e a mesma é secretada e atua se ligando em receptores encontrados na próprio

célula que a sintetizou (sinalização autócrina). Uma outra sinalização química local ocorre quando uma célula sinalizadora sintetiza uma molécula sinalizadora e esta irá se ligar em receptores em células próximas (sinalização parácrina).

A sinalização de longa distância entre duas células ocorre através da síntese e secreção de sinais químicos que são liberados no espaço extracelular e se difundem para a corrente sanguínea e podem ser carreados até células alvo específicas e distantes (sinalização endócrina).

A comunicação entre neurônios e outras células pode ser mediada por neurotransmissores (moléculas metabolicamente ativas que são sintetizadas por neurônios e se difundem através da fenda sináptica até células próximas) ou neuro-hormônios (moléculas sintetizadas e secretadas por neurônios e que se difundem para a corrente sanguínea e podem chegar até células alvo longínquas).

Para efeitos didáticos a resposta poderá ser sinalização endócrina e neuroendócrina. Essas sinalizações demandam um conhecimento das etapas envolvendo esse tipo de fluxo informacional: 1) síntese e secreção de hormônios e/ou neuro-hormô-

Favor não escrever no verso

nos mediante estímulo; d) transporte das moléculas sinalizadoras na corrente sanguínea sistêmico, 3) ligação à receptores específicos; 4) resposta fisiológica celular.

Alguns estímulos ambientais ou mesmo "internos" geram em células sinalizadoras a síntese e secreção de hormônios (do grego hormon = excitar) na corrente sanguínea). Existem basicamente 3 grandes classes de hormônios descritos: peptídicos, esteróides e aminados. Os hormônios peptídicos são sintetizados nos ribossomos como um pre-pró-hormônio. Este é encaminhado ao lúmen do retículo endoplasmático onde será encapsulado em vesículas de transporte contendo enzimas hidrolíticas e assim o pre-pró-hormônio é clivado a pró-hormônio e endereçado ao aparelho de golgi. Neste sítio celular o pró-hormônio é novamente encapsulado em vesículas contendo enzimas lisossomais e assim o pró-hormônio é clivado um hormônio metabolicamente ativo e fragmentos peptídicos. Essa vesícula pode ser exocitada e o hormônio liberado no espaço extracelular e posteriormente se difunde à corrente sanguínea. Por ser naturezo hidrofílico ele é dissolvido no plasma sanguíneo e levado a um tecido alvo específico rapidamente (meia vida curta).

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 7

Já em tecidos alvos estes se ligam em receptores de membrana do tipo enzimático (com domínios com atividade de tirosina cinase ou guanilato ciclase) ou receptores que recrutam proteínas cinase (como o receptor ObRb de leptina que recruta a enzima tirosina cinase Janus cinase 2 (JAK-2)) quando ativados o receptores acoplados a proteína G (estimulatória, inibitória ou q) os quais estão associados a produção de segundos mensageiros como o AMP cíclico, Ca^{2+}, diacilglicerol, o inositol ~~fosfato~~ 1,4,5 trifosfato (IP3).

Os hormônios esteroidais são derivados da molécula ciclopentano perhidro fenantreno (colesterol) obtido da dieta (80%) ou sintetizado "de novo" no fígado. Nesse grupo de hormônios encontramos os hormônios sexuais, glicocorticóides e mineralocorticóides. Devido a sua natureza lipofílica esses hormônios ao serem secretados são carreados no plasma ligados à proteínas plasmáticas (apresentam meia vida mais longa que os hormônios peptídicos). Esses hormônios apresentam receptores majoritariamente intracelulares no citosol e no núcleo de células alvo e a ligação hormônio-receptor se liga em sequências gênicas do DNA e promove a ativação ou repressão da transcrição.

Os hormônios aminícos podem ser subdivididos

Favor não escrever no verso

em catecolamínicos e tireoidianos; ambos derivados do aminoácido tirosina. No grupo dos hormônios catecolamínicos encontramos: noradrenalina, adrenalina e dopamina. Esses hormônios ao serem secretados podem ser diluídos no plasma sanguíneo e carreados até células alvo. Essas células alvo apresentam receptores de membrana acoplados a proteína G (estimulatória [receptores β_1 e β_2 adrenérgicos], inibitória [α_2 adrenergico e de dopamina D2] e q [receptores α_1 adrenérgicos]), sendo estes amplamente associados a modulação de segundos mensageiros.

Já os hormônios amínicos tireoidianos são sintetizados a partir da glicoproteína tireoglobulina encontrada no coloide do tireóide. Essa molécula apresenta cerca de 70 resíduos de tirosina e quando ocorre sua organificação através da conjugação com iodos oxidados são gerados a triiodotironina (T3) e a tiroxina (T4). Essas moléculas ao serem secretadas são conjugadas com proteínas plasmáticas (90%) e direcionadas até o tecido alvo. Nas células alvo são encontrados receptores citoplasmáticos e a sua ativação faz com que esse complexo se translade ao núcleo e induza ou suprima a transcrição de genes alvo.

As respostas fisiológicas celulares são altamente

dependentes dessa modulação dos níveis de segundos mensageiros ou de transcrição gênica. Assim podem ser regulados o metabolismo energético, proliferação, diferenciação e morte celular dentre outros eventos celulares.

Nesse sentido, nos últimos anos o meu grupo de pesquisa vem demonstrando o efeito endócrino de uma nova classe de moléculas peptídicas chamadas de miocinas ~~da~~ exercinas devido a sua síntese no músculo esquelético quando exercitado e secreção na corrente sanguínea. Existem mais de 20 miocinas bem descritas e elucidadas, como por exemplo a Irisina (nomeada em homenagem a deusa mensageira Íris). Nós demonstramos que essa molécula pode ser um importante alvo molecular nos efeitos antidepressivos e neuroprotetor do exercício físico (especialmente no hipocampo cerebral). E assim estamos ocupando com novos alvos terapêuticos para o manejo de doenças relacionadas ao estresse e desregulação do eixo endócrino hipotálamo-pituitário-adrenal.

Favor não escrever no verso

Equilíbrio dinâmico e homeostase

O célebre pesquisador francês e considerado pai da fisiologia contemporânea Claude Bernard no século XIX cunhou o termo "meio interno" e relatou que uma precisa regulação dos componentes do mesmo se fazem fundamentais a vida. Desse modo, o meio interno é compreendido como o "mar dentro" ou seja o líquido que banham as células internamente. Assim podemos nos permitir a inferir que o meio interno é uma designação para o líquido extracelular.

Em 1929, o pesquisador Walter Cannon cunha a nomenclatura homeostasia (homeo = similar e stasia = condição). Nessa descrição Cannon não atribuiu a nomenclatura homeostase (homeo = igual e stase = condição), pois acreditava que existiam fatores que eram regulados e deveriam apresentar uma faixa de equilíbrio para que as funções fisiológicas fossem mantidas ~~funcionais~~. Cannon mostrou com alto grau de precisão que existiam fatores ambientais ~~ET~~ (PH, temperatura, osmolaridade) e "substâncias que as células utilizavam" (íons, oxigênio, substâncias secretórias [o que conhecemos como hormônios atualmente]) que eram fatores disruptivos desse processo porém geravam respostas reguladoras que mantinham as condições celulares em um restrito faixa.

UFRJ

Alguns pesquisadores atualmente atribuem que a melhor nomenclatura para homeodinâmico, pois "stasia" talvez possa associado a uma condição estática e precisa. Embora, não se tenha consenso na nomenclatura o termo homeostasia é amplamente difundido em livros textos de fisiologia e de fato Cannon além de ~~outros a nomenclatura~~, também reportou quatro importantes descrições sobre a homeostasia:

1) O sistema nervoso é um importante regulador dos processos homeostáticos

2) Existe uma precisa regulação tônica de acordo com a frequência do estímulo que regulam os processos fisiológicos do tipo ligado (on) / desligado (off). Por exemplo, um mesmo neurônio de acordo com a frequência de estímulos pode induzir a dilatação ou a constrição de um vaso sanguíneo.

3) Existe uma regulação antagonística eficiente na modulação de processos fisiológicos. Nesse sentido, um neurônio do sistema nervoso autonômico simpático pode estar associado a um aumento da contração cardíaca, e de forma antagônica um neurônio parassimpático inervando o coração pode reduzir a contratilidade cardíaca e o relaxamento do mesmo.

4) Um estímulo pode apresentar respostas diferentes em faci

dos distintos.

Nesse sentido a regulação do meio interno se faz com alterações locais ou alterações fisiológicas de longa distância (por exemplo reflexos neurais locais ~~e respostas~~ contraportida a respostas endócrinas). Assim existe de forma simplificada um sinal de entrada, um centro regulador, e um sinal de saída. Porém podem existir respostas mais complexas e interconectadas com outros sistemas de regulação.

A terminologia equilíbrio dinâmico nos traz a tona que existem diversos processos fisiológicos e bioquímicos para que uma faixa homeostática seja mantida. Por exemplo, ao comermos e ingerirmos carboidratos os níveis de glicose sanguínea (glicemia) aumentam e concomitantemente os níveis de insulina também aumentam no sangue. Em alguns tecidos alvo como músculo esquelético e tecido adiposo existem na membrana plasmática destas células receptores para este hormônio. A ligação de insulina em seu receptor induz uma cascata de transdução de sinais que culminam com a fosforilação de proteínas constitutivas de vesículas contendo os transportadores de glicose. A fosforilação destas proteínas induz a translocação destas ~~as~~ vesículas a membrana da célula

~~assim~~ aumentando a disponibilidade de transportadores de glicose no membrano e assim essas células aumentam a captação de glicose. Além disso, no fígado a insulina ~~por~~ de ativar seus receptores no membrano dos hepatócitos ~~e produz~~ uma cascata de transdução de sinais por modificações covalentes que promove a inibição do ~~a~~ enzima glicogênio fosforilase e assim menos glicose é mobilizada destes tecidos a partir de glicogênio. Esses mecanismos de regulação e adaptativos apresentam um alto custo energético. Fica claro e evidente que equilíbrio dinâmico é distinto de uma condição de repouso e requer energia para a manutenção de uma restrita faixa homeostática que no caso exemplificado ~~mantendo~~ a faixa de glicemia entre 70-90 mg/dL.

O meu grupo de pesquisa vem se atendo em estratégias neuroprotetoras que possam gerar respostas adaptativas homeostáticas mais eficientes em condições de disruptura homeostática que possam levar a patologias neuropsiquiátricas e neurodegenerativas. Uma destas estratégias se configura no exercício físico que gera ~~a~~ disrupturas homeostáticas com adaptações em sistemas antioxidantes e anti-inflamatórios a longo prazo

UFRJ - CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE - INSTITUTO DE BIOFÍSICA CARLOS CHAGAS

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 7

No. fl. 11

gerando maiores respostas de enfrentamento aos eventos disruptivos patológicos.

Favor não escrever no verso

Genes, ambiente e respostas biológicas

Genes são segmentos de DNA que se correlacionam a um produto (RNA ou proteína). O conceito de que seriam genes partem de descrições da estrutura de nucleotídeos, bem como dos ácidos nucleicos até os experimentos de Beadle e Tatum com neurospora crassa. De fato os estudos da estrutura dos nucleotídeos partem das proposições de Friedrich Miescher sobre a nucleína (material orgânico encontrado no núcleo, porém diferente das proteínas). Posteriormente devido a sua natureza ácida a nucleína foi retotizada para ácido nucleico. Com os avanços moleculares começaram a identificar estrutura de moléculas nitrogenadas conhecidos como bases nitrogenadas, bem como fosfato e os açucar desoxirribose na estrutura. Com os descrições de Maurice Wilkins e Rosalind Franklin no foto 53 e com os modelos experimentais de Watson e Crick, a estrutura do DNA começou a ser desvendada. Já a compreensão sobre a hereditariedade se iniciou com os experimentos de Mendel e De Vries com ervilhas e chegando aos experimentos de Beadle e Tatum no bolor do pão (Neurospora crassa) que passaram por um processo de irradiação gerando mutações gênicas que estavam associadas a alterações metabólicas específicas)

UFRJ

Beadle e Tatum então postulam que um gene estaria associado a uma enzima. E essa proposição foi amplificada para um gene codifica um produto (RNA com funções catalíticas ou estruturais, bem como proteínas).

De fato, nos genes estão as informações hereditárias necessárias para a manifestação de caracteríticas. Diversas teorias são postuladas para a importância dos genes e do ambiente para a manifestação de características fenotípicas. A primeira teoria coloca luz a importância dos genes em detrimento do ambiente na manifestação de caracteríticas fenotípicas. Para se justificar esta teoria muito se utiliza do exemplo da lebre e do leão que mesmo em uma condição ambiental similar serão sempre lebre ou leão. Outro exemplo que justifica essa teoria é a folha do carvalho e o musgo que coexistem no mesmo microambiente mas serão folha de carvalho e musgo. Por fim um importante exemplo é o da patologia anemia falciforme cuja uma única mutação no gene codificante da hemoglobina gerando uma alteração de apenas um aminoácido da cadeia da proteína gera uma alteração significativa na estrutura da hemácia levando

Favor não escrever no verso

comprometimentos funcionais sérios e até o óbito do indivíduo e este evento parece não diferir em relação a distintos microambientes

Uma outro importante hipótese é a que valoriza o ambiente em detrimento dos genes. Nesse teoria pesquisadores utilizam gêmeos idênticos que são separados ao nascer e não apresentam distintas características físicas na fase adulta

Por fim a teoria que vem recebendo maior prestígio nos últimos anos é a teoria que reconhece a interação do ambiente e dos genes na constituição de uma característica específica. Por exemplo os indivíduos A e B podendo ser expostos a dois microambientes 1 e 2 podem apresentar 4 características distintos A1, A2, B1 ou B2.

De fato os cromossomos apresentam cromatina formada por nucleossomos. Esses nucleossomos é a menor unidade estrutural do DNA e formado por DNA e proteínas. As proteínas são do tipo histonas (H1, H2A, H2B, H3 e H4) e a cada 08 histonas condensados ao DNA é formado como um carretel um octâmero de 30 nm constituindo um nucleossomo. As proteínas histonas podem sofrer importantes modificações covalentes como acetilação, meti-

UFRJ

lação, SUMOilação, dentre outros. Essas são amplamente, em células eucarióticas, associadas a regulação da expressão de genes. Estas modulações podem facilitar ou dificultar a interação de fatores transcricionais com sequências específicas do DNA que codificam um gene. Assim um determinado gene pode ficar condicionado a sua expressão a facilitação ou impedimentos de ligação a repressores ou ativadores transcricionais. As modificações covalentes em proteínas nucleares são amplamente associadas a eventos ambientais. Um importante exemplo é que o homem e o chimpanzé apresentam um genoma muito próximo, porém com importantes distinções na regulação da expressão gênica.

O meu grupo de pesquisa vem analisando o fator de transcrição Nrf2. Esse fator de transcrição apresenta-se ligado a uma proteína rica em resíduos de cisteína que podem ser oxidados de acordo com as demandas oxidativas. A oxidação faz com que a proteína repressora se altere conformacionalmente e se dissocie de Nrf2. O Nrf2 se transloca do citosol ao núcleo e induz a expressão de genes antioxidantes, como o gene que codifica a enzima glutationa peroxidase e superóxido dismutase. Esse evento mole-

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 7

No. fl. 16

culos parece ser a principal ligação entre os aumentos transientes de oxidantes após uma sessão de exercício físico e adaptações antioxidantes em células a longo prazo (crônicas) diante de ~~um~~ planificações de rotinas de exercício físico. Uma outra intervenção que aumenta a translocação de Nrf2 ao núcleo é a suplementação com sulforafano (encontrado no brócolis) e o nosso grupo tem mostrado: que animais Knock-out para Nrf-2 ~~gera efeito~~ apresentam comportamento ~~anti~~ depressivo e o sulforafano reverte o comportamento tipo-depressivo induzido pela administração de lipopolissacarídeo (LPS). Nós através de nossos estudos estamos reportando que estratégias ambientais podem impactar a expressão de genes antioxidantes e assim prevenir ~~[illegible]~~ comportamentos depressivos.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho
Concurso para Professor Adjunto
MC-015 – Integração de Sistemas Biológicos
Edital nº 377 de 25 de maio de 2022, publicado no DOU nº 102 de 31 de maio de 2022 - consolidado com as alterações dos Editais nº 402 de 31 de maio de 2022 e nº 435 de 31 de maio de 2022

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 8

No. fl. 1

Favor não escrever no verso

Tópico: Comunicação Intercelular.

Nosso ~~ambiente~~ planeta, ao longo de bilhões de anos, evoluiu de um ambiente ~~extremo e~~ sem vida (era Hadeana) para, ~~compreender uma enor~~ hoje em dia, compreender uma enorme diversidade de formas de vida, uni e pluricelulares. ~~Tanto~~ Por ser um ambiente polimicrobiano (~~no~~ em grande parte do planeta), as células estão em constante interação e comunicação. Essa comunicação intercelular está presente desde os organismos mais simples, desprovidos de organelas endomembranares, os procariotos, até os organismos mais complexos, formados por células eucariótias em diversos graus de diferenciação, como os vertebrados. Interessantemente, ao longo da evolução, os vertebrados conservaram receptores ~~e moléculas~~ capazes de "reconhecer" componentes microbianos, inclusive componentes de comunicação intercelular de procariotos. Desse modo, homoserina lactonas de bactérias, como Pseudomonas aeruginosa, podem ser reconhecidas por receptores ~~T2R38~~ do tipo GPCR's ("Gprotein coupled receptors") metabotrópicos, como o T2R38 expresso em células epitelias e macrófagos de vertebrados. O reconhecimento ~~dos~~ homoserina lactonas se associa a liberação de peptídeos antimicrobianos (como β-defensinas) ~~por células epiteliais~~ e óxido Nítrico por células epiteliais, promovendo a morte de bactérias associadas ao epitélio e movimento ciliar, no epitélio do trato respiratório, ~~promovendo a eliminação das~~ direcionando as bactérias ~~em conjunto~~ que são ~~direcionadas~~ ao baixo pH estomacal. ~~Já~~ Os macrófagos podem liberar paraoxonase a fim de clivar ~~proteoli~~ as homo-

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 8

No. fl. 2

- serina lactonas de Pseudomonas aeruginosa (Pa). A importância dessas reports para o hospedeiro vertebrado é evidenciada pela função atribuída a essas homoserina lactonas de P. a. As homoserina lactonas são caracterizadas como mecanismos de ~~comunicação~~ comunicação intercelular entre bactérias gram negativas do tipo Quorum sensing, como acil-homoserinas. Bactérias gram-positivas também possuem Quorum Sensin (QS), e em geral secretam oligopeptídeos de natureza físico-química distintas, os oligopeptídeos ou auto-indutores do tipo 2 (pentarradiana), esses últimos também compartilhados por bactérias gram negativas. O ~~Quorum~~ QS faz referência ao mecanismo geral de comunicação entre bactérias (muitas dessas são patogênicas como P. a, Streptococcus, Staphylococcus aureus, etc) que regula a expressão de fatores de virulência (como ramnolipídeos que geram hemólise e morte de macrófagos); motilidade; formação de biofilme; expressão de bombas de exclusão de drogas (importante para a resistência a antimicrobianos); e modulam negativamente a ~~expo~~ resposta inflamatória do hospedeiro vertebrado, por exemplo, pela inibição de NF-κB, fator transcricional "mestre" das respostas inflamatórias mediadas pelas células da imunidade inata e induzindo a secreção de IL-10 ~~por macrófagos~~, citocina anti-inflamatória, por macrófagos). Dessa forma o sistema de QS é importante para o estabelecimento de infecções em hospedeiros vertebrados. ~~Esse sistema funciona a partir da~~ ~~secreção de indutores (em Pa existem 2 principais RhlI e lasI e PQS que são opcionais)~~

~~O sistema de QS funciona pela secreção~~

O sistema de QS de Pa funciona a partir de três pares de genes: RhlI/RhlR; lasI/lasR; e PQS. As homoserina lactonas são frutos dos genes indutores (RhlI e lasI) e, após atingirem determinada concentração, irão promover a transcrição de genes governados pelos fatores de transcrição RhlR e lasR ligados às homoserina lactonas. Assim, a comunicação entre bactérias é governada pela concentração de células procarióticas e,

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 8

No. fl. 3

consequentemente, de homoserina lactones liberadas, possibilitando a "coordenação" de genes expressos por determinada comunidade bacteriana local; ~~de acor~~ Como citado anteriormente, ~~o~~ o sistema de auto indutores do tipo 2 podem ser compartilhados tanto por bactérias gram positivas quanto negativas possibilitando a intercomunicação e regulação da expressão de genes entre ~~a~~ esses diferentes grupos. Além do reconhecimento dos sistemas de comunicação entre procariotos, os vertebrados possuem diversos receptores fundamentais para o reconhecimento de padrões moleculares associados a microrganismos (MAMP's). Os receptores de vertebrados que reconhecem padrões moleculares são chamados receptores de reconhecimento de padrões (PRR's). Esses receptores são fundamentais para a resposta ~~imde~~ imune a microrganismos e/ou organismos pluricelulares ~~[illegible]~~ parasitos, como helmintos. Assim, de acordo com os tipos de PRR's ativados (presentes na membrana celular, como TLR4 e TLR2, ou receptores intracelulares, como NLRP3 encontrados no citosol ou TLR3, 7, 8 e 9 ~~encontrado~~ presentes em vesículas) ~~o hospedeiro~~ as células da imunidade inata do hospedeiro vertebrado, como macrófago, neutrófilos, células epiteliais, mastocitos, eosinofilos, monócitos e basófilos, irão secretar uma gama de citocinas apropriadas à eliminação daquele ~~o~~ organismo invasor parasita. Por exemplo, bactérias intracelulares como Salmonella sp. podem ~~[illegible]~~ ter seus componentes microbianos, como o LPS, reconhecido no citosol por caspase 11 que irá induzir morte celular da célula parasitada. Ao mesmo tempo, ~~[illegible]~~ protozoarios e bactérias intracelulares como ~~[illegible]~~ Leishmania sp. e Mycobacterium tuberculosis, que se ~~restringem a~~ encontram majoritariamente em vacúolos, podem ser reconhecidos por receptores vacuolares como TLR9 (que reconhecem molécula de DNA em local ~~inapropriado~~ inapropriado, nesse caso os vacúolos). Assim, em geral, microrganismos patogênicos intracelulares (vírus, bactérias e protozoarios) irão levar a liberação de citocinas ~~[illegible]~~ como IL-12 por macrófagos e células dendríticas ativadas, ~~que por sua vez apresentarão peptídios antigênicos, derivados do patógeno a células T. As células dendríticas e macrófagos~~ As células dendríticas ativadas (DC's) e macrófagos ativados (as DC's com eficiência 100 vezes maior, em

UFRJ

média, pela maior capacidade de migrar a linfonodos) não capazes de migrar até o linfonodo drenante de onde houve a injeção e interagir, reconhecer, com linfócitos T $CD8^+$ ou $CD4^+$ a fim de ativá-los a partir da apresentação de antígenos (peptídeos) no contexto de moléculas de MHC-I (peptídeos derivados do proteassomo (complexo) ou de vesículas citosólicas de apresentação cruzada) ou de MHC-II (peptídeos derivados de vesículas formadas a partir de captação de moléculas exógenas, endógenas, caso sejam derivados de autoproteassomo), respectivamente. Durante a apresentação de antígenos, a ~~comunicação~~ citocinas secretadas pelas células apresentadoras profissionais (APC's) ou seja, DC's ativadas ou macrófagos ativados, será determinante para a polarização dos linfócitos T $CD4^+$ e $TCD8^+$. Para que esses linfócitos sejam ativados e polarizados, são necessários 3 sinais: (1) peptídeo-MHC interagindo com o receptor de célula T (TCR); (2) moléculas co-estimulatórias de APC's (CD80 e 86) interagindo com co-receptores de célula T (CD28); (3) e citocinas secretadas por APC's com seus respectivos receptores em célula T. Linfócitos T $CD4^+$ irão se diferenciar em célula T auxiliares do tipo 1 (Th1); 2 (Th2); 17 (Th17); 9 (9), T foliculares e T reguladores. Cada linfócito Th orquestrará a resposta imune adequada a diferentes patógenos ou malignidades, no caso de tumores, o que terá uma grande implicação para a progressão ou resistência de diferentes doenças. Os linfócitos $TCD8^+$ também irão se diferenciar em linfócitos T citotóxicos, expressando granzima B e perforina, mediando citotoxicidade das células que expressarem o MHC-I-peptídeo cognato. No entanto, a polarização e diversidade de célula TCD8 ainda é menos bem definida, havendo na literatura referências a Tc1, Tc2, diferenciando na presença de IFN-γ e IL-12 secretados por células Natural Killer e DC's, respectivamente, com alta capacidade citotóxica e Tc2 diferenciando na presença de IL-4 (semelhante a Th2), secretados por células "acessórias" à apresentação de antígenos, como mastócitos e células linfóides inatas de tipo 2 (ILC2), já que DC's

Favor não escrever no verso

vão secretam IL-4. O 2 linfócitos T CD_4^+ irão orquestrar a resposta imune pela secreção de citocinas como: IL-15, 27, IFN-γ (T_H1); IL-4, IL-13; IL-33 (T_H2); IL17A, IL17F, IL-22 (T_H17); IL-21 (T_{FH}); IL-9 e IL-10 (T_{H9}); TGF-β e IL-10 (T_{reg}). Além disso, os linfócitos T CD_4 também interagirão diretamente com outras células do sistema imune, como os linfócitos B. Através dessa interação, os linfócitos B poderão realizar mudança de classe de anticorpos e hipermutação somática, de forma dependente de contatos entre os receptores CD40L (de linfócitos T, principalmente T_{FH} que irá expressar CXCR5 e se localizar nos folículos de células B nos linfonodos) e CD40 (de células B). Citocinas como o IFN-γ secretado pelas células T_H1 e células NK's irão promover a expressão de moléculas microbicidas por fagócitos (macrófagos e neutrófilos), além de otimizar o processo de apresentação de antígeno aumentando a expressão de moléculas envolvidas no processamento antigênico de [illegible] no contexto de MHCI (como a MECL, componente imunoproteassomo e TAP1/2) e MHCII (como o HLA-DM). ~~Citocinas como IL-1, podem promover~~ Por fim, mediadores lipídicos como prostaglandina E2 podem ser importantes na comunicação intercelular entre o sistema imune e outras órgãos, por exemplo, promovendo febre, ao ser reconhecido por receptores EP3 em neurônios hipotalâmicos (nesse caso, a PGE2 é secretada por células endoteliais [illegible] encefálicas, já que a barreira hematoencefálica impede a entrada de PGE2 circulante no corrente sanguínea) e liberação de proteínas de fase aguda, como proteína C reativa, por hepatócitos. A PGE2 é liberada por uma ampla variedade de células do indivíduo infectado, como neurônios, macrófagos, astrócitos e mastócitos.

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 8

No. fl. 6

Equilíbrio dinâmico e homeostase

A homeostase é o processo pelo qual uma célula ou organismo pluricelular mantém seu equilíbrio frente a mesma diante de diferentes estímulos nocivos, o que implica num equilíbrio dinâmico, ou seja, que está em constante transformação para se adaptar às distintas condições ambientais (física-química ou polimicrobiana). O sistema imune de vertebrados tem sido considerado por diferentes autores, como o professor Ruslan Medzhitov, como um sistema que é ativado frente à perda de homeostase. Simplificadamente, o sistema imune é ativado por padrões moleculares associados a microrganismos (MAMP's) ou a danos (DAMP's) que são reconhecidos por sensores, os PRR's de perda de homeostase expressos por células de imunidade inata, células inatas linfóides (ILC's) expressam fatores de transcrição característicos de células Th's, mas não possuem receptores reconhecidos seletivamente e claros, respondendo rapidamente a danos e citocinas, como IL-33. As ILC's também podem ser subdivididas em ILC1 (≃Th1), ILC2 (≃Th2), ILC3 (≃Th17) e ILCregs (≃Treg). Uma vez que as células do sistema imune inato sejam ativadas, irão secretar mediadores inflamatórios que atuarão sobre células e órgãos alvos (como o fígado, levando à liberação de proteínas de fase aguda, e a medula óssea, levando a um aumento na formação de granulócitos e emigração de células da imunidade inata como granulócitos) promovendo a liberação de mais mediadores inflamatórios e efetores da resposta imune que são cruciais para eliminar o estímulo inicial de perda de homeostase. Assim, a liberação de NO e a formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) no interior de macrófagos, sob influência dos mediadores inflamatórios (TNF e IFN-γ, por exemplo) permitirão a eliminação de agente infecciosos. De forma semelhante, a ativação de mastócitos e basófilos por antígenos ligados à imunoglobulina E (IgE), após a interação com receptores de alta afinidade à

UFRJ

porção F_c de IgE (presente na superfície de mastócitos e basófilos) irá leva à liberação de diversas mediadores inflamatórios armazenados em grânulos pelos mastócitos e basófilos, como citocinas (TNF, IL4, IL5, GM(SF)), histaminas, eicosanóides (mediadores lipídicos) e diversas proteases, como quinases e metaloproteases. Esses mediadores serão cruciais para a eliminação de patógenos pluricelulares, como helmintos, mediando toxicidade aos tecidos dos mesmos e promovendo a expulsão por aumentar a peristalsia.

De forma interessante, como hipotetizado pela Dra Margie Profet, a liberação rápida e em grande quantidade de proteases após ligações cruzadas de IgE's associadas à receptores de alta afinidade à F_c de mastócitos e basófilos, também parece ser um importante mecanismo de defesa contra agentes nocivos de rápida ação, como venenos derivados de insetos e cobras. Essa importante constatação, observada em diferentes artigos (Nature Immunology 2016) fez com que alguns autores passassem a entender respostas alérgicas, por hipersensibilidade do tipo I, como uma forma desregulada da resposta imune inicial que tinha como "objetivo" à manutenção da homeostase do organismo após envenenamentos. Assim, é também bem estabelecido que, da mesma forma, que a resposta imune medeia a eliminação de estímulos nocivos, ela também pode, se desregulada, através da liberação de compostos tóxicos, pode ser uma contribuidora ou até a maior causadora de perda de homeostase em algumas situações, como no caso das hipersensibilidades do tipo I.

As hipersensibilidades do tipo I fazem referência a uma gama de condições patogênicas causadas por alérgenos, em geral compostos de origem protéica de baixo peso e alta solubilidade com ou sem atividade de protease (de forma similar a alguns componentes de veneno). Esses alérgenos, em geral, são substâncias inócuas ou com baixo poder de gerar perda de homeostase por si só, mas que devido a uma resposta imune exacerbada e desregulada, geram complicações locais e até sistêmicas relacionadas à ativação inicial de mastócitos teciduais e posteriormente amplificadas pela migração de monócitos, neutrófilos e linfócitos + (principalmente do subtipo Th 2).

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 8

No. fl. 8

Essa dicotomia está sempre presente nas respostas imunes e, por isso, a resposta de resolução da inflamação e promoção do retorno à homeostase é crucial para a manutenção da homeostasia. Em geral, as respostas de resolução se iniciam durante o processo inflamatório. Por exemplo, ~~citocinas pró-inflamatórias~~ mediadores pró-inflamatórios como PGE2 podem após atingirem determinada concentração começar a levar à formação de mediadores lipídicos anti-inflamatórios e pró resolutivos como lipoxinas e maresinas que compartilham as enzimas ciclooxigenase e lipooxigenase com outros mediadores pró-inflamatórios. As lipoxinas irão otimizar ~~a fagocit~~ o processo de fagocitose de macrófagos, promovendo a remoção de corpos apoptóticos, derivados principalmente de neutrófilos infiltrados mortos. ~~Nesse Apoptose de macrófagos~~ A fagocitose de corpos apoptóticos por macrófagos (principalmente por receptores AXL e de Vorredura) induz um fenótipo menos reativo ~~pro menos~~ podendo levar à liberação de citocinas anti-inflamatórias como IL-10, ~~que restringe a liberação de~~ que contrapõe a secreção de citocinas pró inflamatórias, como IL-6, e inibe a maquinaria de apresentação de antígenos. Associada a isso, a presença de lipoxinas pode inibir a migração de neutrófilos por gradiente de CXCR2 e, com a eliminação do agente causador da perda de homeostase, os neutrófilos ~~[illegible]~~ infiltrantes tendem a não receber sinais de ativação e sobrevivência, entrando em apoptose por apresentarem receptores de morte como Fas e TRAIL. De modo interessante, diferentes tecidos serão afetados de forma mais intensa por diferentes mecanismos de resolução. Por exemplo, articulações inflamadas se beneficiam da presença da citocina IL-9 que serve como um fator de crescimento autócrino para ILC2's que promovem respostas regulatórias por se ligar a Tregs (ILC2's expressam ICOS e Tregs ICOSL). Curiosamente também, a presença de redes extracelulares de neutrófilo, geralmente associadas à respostas inflamatórias (pela liberação de IFN-I após interação com DNA exógeno dos NET's) pode diminuir a presença de citocinas que contribuem para a ~~patologia~~ artrite, como TNF e IL-1β, após degradação

UFRJ

– dos vasos. Curiosamente, ILC2's podem ter um efeito dicotômico na resolução pulmonar, dependendo de sua ativação e estímulos concomitante. Por um lado, os ILC2's promovem inflamação pela secreção de ~~DDR~~, IL4 e IL13 e IL5, por outro podem promover reparo tecidual pela secreção de anfirregulina que induz proliferação de células epiteliais. Por fim, abordarei um dos mais bem sucedidos exemplos de regulação fina, de entre respostas de imunes protetoras ~~não geradoras de lesão~~ com ~~geradora~~, contra respostas imunes que geram dano tecidual colateral. Os morcegos não conhecidamente resilientes a infecções virais, que muitas vezes, como dirão no caso do SARS-CoV2, possuem uma patogenia inflamatória importante. ~~Estes animais sofrem~~ Acredita-se que esses animais sofrem pressão seletiva ~~de~~ por milhões de anos por patógenos comunitários, graças ao estilo de vida de em ambiente fechados e com grande aglomeração. Assim, ao analisar o genoma dos morcegos, ~~foi constatado~~ e através de ensaios in vitro, foi possível ~~constatar~~ constatar diversas peculiaridades desses ~~animais~~ mamíferos em relação a outros mamíferos. Há alta diversificação nos genes codificante de APOBEC, uma citina desaminase, que cliva catálise grande variedade, causando ~~Vírus~~ de pareamento no DNA, desvirtuando ~~citoplasmáticos~~ em replicação (vírus de DNA ou retrovírus) com ~~Consequente~~ Consequente ativação da ~~vigilância~~ de reparo de DNA, quebra de fita e ~~gravação~~ de mutações restritivas a infecções virais. A alta diversificação de APOBEC ~~sugere~~ sugere um importante mecanismo de resistência a infecções virais. Ao ~~esse~~ tempo, células do morcego também possuem uma capacidade aumentada de formarem autofagossomos e degradarem componentes virais após fusão com lisossomos celulares (xenofagia), mais uma vez um mecanismo de resistência. No entanto, respostas mediadas por NLRP3 (devido à superexpressão de pro-IL1β após estímulos com agonistas de PRR's e ~~processamento~~ pelos NLRP3's de morcego apresentam alterações na sequência de repetições ricas em leucina) ~~não~~ se encontram bas-

UFRJ - CNPJ - INSTITUTO DE BIOFÍSICA CARLOS CHAGAS

tanto diminuídas, assim como a ~~expressão~~ liberação de outras citocinas inflamatório ~~[illegible]~~ (em morcegos, um resíduo de serina S358 na proteína STING bastante conservado em mamíferos está substituído por uma alanina) também está diminuída. Interessantemente tanto ~~NLRP3~~ ~~respostas~~ respostas inflamatórias mediadas por NLRP3 quanto por ~~[illegible]~~ STING se associam a danos colaterais inflamatório graves em doenças virais, pelo menos em humanos com SARS-COV2.

Obs: A proteína STING leva a liberação de citocinas pró inflamatórias após se ocorrer dinucleotides ~~[illegible]~~ (cGAMP) ~~[illegible]~~ formados pela cGAMP sintase (cGAS).

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 8

No. fl. 11

Genes ambiente e respostas biológicas

O ambiente polimicrobiano e com diversidade de alterações físico-químicas em que os vertebrados evoluíram impôs importantes pressões seletivas a serem transpassadas para que os indivíduos pudessem passar seus genes às novas gerações. Abordarei inicialmente a importância dos genes do MHC's para a resistência de vertebrados à infecções. Como descrito notóriamente "Comunicação intercelular" os MHC's (Major Histocompatibility complex) serão fundamentais para a ativação da resposta adaptativa mediada tanto por linfócitos TCD_4^+ (MHC-II) quanto TCD_8^+ (MHC-I). Como a resposta adaptativa é fundamental para a resistência à infecções, os genes de MHC Como pode ser observado pela maior susceptibilidade de indivíduos deficientes em respostas adaptativas (AIDS por [illegible] ou [illegible] síndrome genética pela perda dos genes de recombinação somática RAG1/RAG2) a infecções oportunistas diversas, os genes de MHC também afetarão grandemente a resistência a infecções. Tanto os genes de MHC I quanto MHC-II são extremamente diversos em vertebrados, em geral. Ambos são polimórficos (apresentam diversas diferenças em uma sequência codificante numa população), poligênicos (apresentam mais de um gene: MHC-I em humanos é composto por HLA-A, B e C; enquanto o MHC-II apresenta 5 genes: HLA-DR, DQ, DP, DM e DO; sendo os genes DM e DO envolvidos no processamento do antígeno peptídico a ser apresentado) e possuem expressão co-dominante, ou seja todos os alelos do pai e da mãe e todos os genes serão expressos simultaneamente nas células nucleadas (no caso do MHC-I) e apresentadores profissionais de antígenos (Cél Ativadas, macrófagos ativados e DC's ativados) no caso do MHC-II. Há uma importante vantagem evolutiva para a grande variabilidade dos MHC's em uma população: será acompanhada por uma grande variedade de diferentes peptídicos antigênicos a serem -

UFRJ

apresentadas. Em populações afetadas por patógenos altamente patogênicos, como o Plasmodium falciparum, causador da malária (doença parasitária que mais mata no mundo), a presença de MHC's que reconhecem peptídios antigênicos altamente conservados nesses parasitas, pode representar uma importante forma de resistência à infecção, levando à respostas adaptativas protetoras. Assim, é possível observar uma pressão seletiva com enriquecimento de um polimorfismo, HLA-B53, em populações humanas das regiões subsaarianas, altamente afetadas pelo P. falciparum. Curiosamente, nessas populações, comparadas a outras populações, também há um importante enriquecimento de indivíduos portadores do gene da anemia falciforme. Apesar dos indivíduos homozigóticos apresentarem graves problemas de saúde, os heterozigotos se mostraram mais resistentes a malária. Recentemente, o professor Miguel Soares publicou um artigo indicando que, pelo menos em modelos murinos de malária, essa maior resistência era explicada à lise em grau brando, levando à liberação de Hem (grupamento protético da Hemoglobina) que promovia a expressão da enzima de degradação intracelular do Hem, Heme-oxigenase 1, que gerava a produção de moléculas antioxidantes e anti-inflamatórias, como biliverdina (reduzida a bilirrubina pela biliverdina redutase) e monóxido de carbono (CO). Além disso, o monóxido de carbono também preserva a hemoglobina e impedia a liberação de grandes quantidades de Hem, que contribuiria consideravelmente para a patogenia inflamatória da malária. Dessa forma, a expressão de HO-1 induzida pela liberação de pequenas quantidades de Hem promovia maior tolerância aos danos inflamatórios gerados pela infecção por Plasmodium sp. (de camundongo, nesse caso). O enriquecimento de MHC's em populações afetadas por patógenos como vírus, também pode ser observado em populações de quirópteros (afetados por coronavírus felino, coronavírus felino e Hepesvírus felino) e roedores Peromyscus sp., afetados por Hantavírus.

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 8

No. fl. 13

Por fim, as pressões seletivas do ambiente, através de ~~restrições~~ condições físico-químicas, principalmente ~~[illegible]~~ escassez de nutrientes, também moldaram peixes da espécie Astyanax fasciatus, levando à formação de uma subespécie A. f. mexicanus desprovida de olhos e que habita cavernas. Curiosamente, esses peixes "cegos" não possuem mutações inativadoras em seu genoma, mas apresentam modificações epigenéticas importantes em alguns genes associados ao desenvolvimento dos olhos, como hipermetilações associadas a silenciamento. Ainda não se sabe como essas hipermetilações podem ser passadas entre gerações mas já se cunhou o termo paramutação para determinar esses achados em milhos que perdem a expressão de antocianina (cor púrpura). Além disso, esses peixes "cegos" possuem expressam aumentada do morfogeno Sonic hedgehog (shh) o que pode fornecer cor importante vantagem evolutiva, pela ausência de pressão seletiva à manutenção da visão, por aumentar a presença de papilas gustativas. A ~~expressão~~ inibição de chaperonas também parece agora indivíduos com olhos menores, permitindo que polimorfismos deletérios sejam mais evidentes, pela ausência do ação tampante de HSP90. Assim os peixes derivados de caverna (1 - 2 milhões de anos) perderam a visão provavelmente pela conjunção de fatores: ~~[illegible]~~ ausência de pressão seletiva à visão, menos gasto energético ~~para formação~~ não precisando formar olhos e menos chance de infecção nos olhos, pela ausência dos mesmos

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho
Concurso para Professor Adjunto
MC-015 – Integração de Sistemas Biológicos
Edital nº 377 de 25 de maio de 2022, publicado no DOU nº 102 de 31 de maio de 2022 - consolidado com as alterações dos Editais nº 402 de 31 de maio de 2022 e nº 435 de 31 de maio de 2022

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 9

No. fl. 1

ÁREA TEMÁTICA: BIOLOGIA CELULAR E PARASITOLOGIA - MICOLOGIA MÉDICA

TEMA 4: COMUNICAÇÃO INTERCELULAR

Candida albicans é um dos principais fungos patogênicos que afetam os seres humanos e vem sendo utilizado como um dos modelos biológicos que empregamos em minhas pesquisas. Minha principal linha de pesquisa é a prospecção de novos antifúngicos, tema de grande relevância uma vez que são limitadas as opções terapêuticas para o tratamento de infecções fúngicas sistêmicas.

C. albicans é um fungo da microbiota de seres humanos e está continuamente interagindo com outros constituintes da microbiota e com as células do hospedeiro em sua forma comensal. No entanto, alterações no hospedeiro e nos diferentes nichos colonizados por *C. albicans* podem induzir ~~a patogenicidade~~ seu parasitismo. O principal fenômeno relacionado a esta transição do comensal para parasita é a morfogênese de *C. albicans*.

UFRJ - INSTITUTO DE BIOFÍSICA CARLOS CHAGAS FILHO

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 9

No. fl. 2

Em seu estado comensal, C. albicans é uma levedura que coloniza a pele e as mucosas oral, gastrointestinal e genitourinária. No entanto, torna-se um patógeno oportunista em indivíduos imunossuprimidos ou imunocomprometidos, dependendo das condições a que está exposta (se estas favorecerem sua filamentação, a invasão tecidual e a dispersão pelo hospedeiro). Em um dos estudos mais amplos até o momento onde a incidência das principais infecções fúngicas invasivas foi estimada, Bongomin e colaboradores (2017) descreveram que cerca de 750 mil casos de candidíase ocorrem anualmente e 350 mil mortes. C. albicans é o quarto patógeno responsável por infecções na corrente sanguínea em ambiente hospitalar e na pandemia de COVID-19 foi um dos principais patógenos oportunistas relatados em pacientes na UTI.

A comunicação intercelular entre C. albicans e os demais constituintes da microbiota ~~pa~~ desempenha um papel chave na manutenção de seu estado comensal. Bactérias da microbiota, outros fungos comensais e a própria C. albicans secretam pequenas moléculas sinalizadoras que poderão induzir ou inibir a filamentação das leveduras deste organismo. Este mecanismo de comunicação é chamado de "quorum sensing" e permite que microrganismos sincronizem seu comportamento em função da densidade populacional.

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 9

No. fl. 3

As moléculas "quorum sensing" são pequenas e difusíveis e são rapidamente degradadas após sua secreção, por isso irão atuar nas células vizinhas aquela que a produziu. A primeira destas moléculas descrita em eucariotos foi o farnesol produzido por C. albicans em um trabalho de Holmb e colaboradores em 2001. Até então, o mecanismo de "quorum sensing" havia sido descrito apenas em bactérias.

O farnesol é produzido continuamente por C. albicans como um intermediário da via de biossíntese de esteróis. Ele possui ação inibitória do crescimento bacteriano, efeito imunomodulatório em células do sistema imune do hospedeiro e também é capaz de inibir o crescimento de fungos de outras espécies. Em C. albicans, o farnesol inibe a formação de hifas, sendo importante, portanto, para manutenção do fungo em seu estado comensal.

Por ser uma pequena molécula, o farnesol se difunde pela parede celular e pela membrana plasmática do fungo e é capaz de inibir sua filamentação por interagir com a adenilato ciclase CYR1, inibindo sua ativação em resposta a sinais ambientais.

Outra molécula "quorum sensing" secretada por C. albicans é o tirosol, mas diferente do farnesol, este composto induz a filamentação de C. albicans. O tirosol será um importante indutor da filamentação nas etapas iniciais de formação

UFRJ - CHEM SOUTO
INSTITUTO DE BIOFISICA CARLOS

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 9

No. fl. 4

de biofilmes, por exemplo.

Biofilmes são comunidades de células que crescem de forma estruturada e estão imbebidas em uma matriz extracelular polimérica secretada por estas mesmas células. Em C. albicans, a capacidade de formação de biofilmes é um importante fator de virulência, pois o fungo forma estas estruturas em dispositivos médicos (tais como: cateteres e sondas), o que favorece a dispersão para a corrente sanguínea e dificulta o tratamento com antifúngicos, pois estes biofilmes são resistentes à ação de antifúngicos comerciais.

Para formar os biofilmes, C. albicans precisa coordenar seu crescimento com as demais células que formam o biofilme, além de induzir a diferenciação das células ~~especializadas~~ modificadas que o biofilme apresenta. ~~[illegible]~~ Farnesol e tirosol participarão da formação e manutenção do biofilme, que contem uma mistura de hifas, leveduras e pseudo hifas. Além de outras moléculas "quorum sensing" menos estudadas.

C. albicans é o fungo patogênico mais estudado e por isso o mecanismo de comunicação intercelular de "quorum sensing" está melhor caracterizado. No entanto, outros fungos patogênicos possivelmente produzem moléculas "quorum sensing" para coordenar seu crescimento, incluindo fungos que também formam biofilmes.

Parte das avaliações que realizo com novas moléculas

UFRJ - INSTITUTO DE BIOFÍSICA CARLOS CHAGAS FILHO

buscando compostos com atividade antifúngica promissora estudar o efeito destas substâncias em diferentes biofilmes de importantes fungos patogênicos além de C. albicans, tais como: Sporothrix spp., Sacdosporium spp., Rhizopus spp. e Candida auris. Elucidar os mecanismos de comunicação intercelular que governam a formação de biofilmes e sua resistência no hospedeiro poderão fornecer alvos em potencial para o desenvolvimento de novos antifúngicos que previnam ~~ou~~ o surgimento destas estruturas.

—— // —— // —— // —— // ——

TEMA 7: EQUILÍBRIO DINÂMICO, HOMEOSTASIA

Como mencionado anteriormente, C. albicans é um fungo comensal, mas que pode se tornar um parasita para seres humanos e uma característica chave para esta transição é a sua filamentação. Por isso a morfogênese é uma das principais características relacionadas a C. albicans ser um patógeno humano ou comensal.

Em condições de equilíbrio no hospedeiro, C. albicans encontra-se como levedura colonizando diferentes nichos que possuem diferentes pH, disponibilidade de nutrientes, tensão de CO_2 e O_2, presença de forças de dispersão e interação com diversos tipos celulares. A grande capacidade de C. albicans se adaptar a diferentes condições no ambiente

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 9

No. fl. 6

se aprimorou ~~[illegible]~~ ao longo da co-evolução como comensal de humanos. No entanto, determinadas alterações no ambiente favorecerão a filamentação (e, por isso, o parasitismo), tais como: pH neutro, baixa disponibilidade de nutrientes, presença de determinadas moléculas, altas temperaturas, entre outras.

Um conhecido fator de risco para o desenvolvimento de infecções invasivas por C. albicans é o uso prolongado de antibióticos. Isso porque a eliminação das bactérias da microbiota causa uma disbiose, favorecendo a proliferação exacerbada de C. albicans e também sua filamentação. Em condições de homeostasia, C. albicans é encontrada como levedura na mucosa do trato gastrointestinal e tem sua proliferação e morfogênese controlada por constituintes do muco (mucinas, por exemplo) e pelos demais microrganismos que integram a microbiota (como descrito anteriormente no tópico sobre comunicação intercelular). Mas na disbiose, C. albicans se apresenta como hifa, pseudohifa ou levedura, em que as primeiras são capazes de invadir o tecido e causar danos.

Um forte indutor da filamentação de C. albicans que pode ser produzido por bactérias na disbiose (e secretado) é a N-acetilglucosamina (GlcNAc). O efeito de GlcNAc na indução da filamentação de C. albicans foi descrito pela primeira vez por Simonetti e colaboradores em 1974, sendo um dos primeiros trabalhos descrevendo a

UFRJ - Instituto de Biofísica Carlos Chagas

função deste açúcar na sinalização celular. Atualmente, diversos trabalhos na literatura reportam a função de GlcNAc na comunicação celular, sendo esta uma molécula presente na superfície celular de uma ampla variedade de células, incluindo: células de mamíferos e na parede celular bacteriana e fúngica.

A sinalização induzida por GlcNAc pode envolver diferentes vias, que irão culminar com a alteração da expressão gênica de C. albicans, induzindo a expressão de genes associados a hifas. Entre este genes encontram-se genes que codificam adesinas, proteases, ~~[illegible]~~ toxinas líticas e de resposta ao estresse oxidativo, por exemplo.

A hifa de C. albicans terá maior capacidade de aderir ao epitélio ou endotélio, em comparação com as leveduras, devido à expressão das adesinas Als3 e Hwt1 (expressas apenas nas hifas). Als3 também irá atuar como uma invasina, induzindo a endocitose da hifa por células epiteliais e endoteliais do hospedeiro. Aspárticos proteases também expressas apenas por hifas (SAP4, SAP5 e SAP6) serão importantes para clivar moléculas do hospedeiro, auxiliando a invasão tecidual e a obtenção de nutrientes durante a infecção. Outras hidrolases secretadas pela hifa são fosfolipases e lipases. Além destas, as hifas também secretam a ~~[illegible]~~ toxina lítica candidalisina, que

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 9

foi elevada em 2016 por mayos e colaboradores, sendo capaz de se inserir na bicamada lipídica das membranas plasmáticas do hospedeiro e promover sua lise. Uma superóxido dismutase (SODS) também é produzida apenas pelas hifas e permite que este tipo celular seja mais resistente ao estresse oxidativo.

Diante do exposto, torna-se evidente que a formação das hifas é um atributo fundamental para o patogenismo da C. albicans. Smibir a filamentação em C. albicans pode ser um mecanismo eficaz para impedir o dano tecidual em alterações do hemostasia do meio, por exemplo, em casos de disbiose. No entanto, os antifúngicos disponíveis para o tratamento sistêmico ou que visam um fator em testes clínicos não possuem tal mecanismo em ação.

TEMA 12: GENES, AMBIENTE E RESPOSTAS BIOLÓGICAS

Como mencionado anteriormente, minha principal linha de pesquisa é a prospecção de novos antifúngicos. A necessidade de se buscar novas opções terapêuticas para o tratamento de infecções fúngicas não vem de apenas no fato de que há poucas opções de antifúngicos disponíveis para o tratamento sistêmico, mas também no fato de que nos últimos anos houve um aumento de isolados em

UFRJ - INSTITUTO DE BIOFÍSICA CARLOS CHAGAS

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 9

No. fl. 9

espécies resistentes a ação dos antifúngicos comerciais.

Alguns dos modelos biológicos que utilizo em minhas pesquisas são fungos filamentosos que são encontrados no meio ambiente, mas que podem ~~ou~~ contaminar e causar quadros de infecção disseminada em indivíduos imunocomprometidos ou imunossuprimidos. Exemplos destes fungos são Aspergillus spp., Scedosporium spp. e Rhizopus spp. Tais fungos são saprófitas de solo e estão amplamente dispersos pelo mundo. Mas a resistência demonstrada por estas espécies a principal classe de antifúngicos utilizada na clínica (azóis) é extremamente preocupante.

Em outubro deste ano, a OMS divulgou um relatório onde descreve algumas espécies como de grande prioridade para estudos que envolvam resistência e resposta a antifúngicos, incluindo as espécies citadas acima. Outra espécie citada neste relatório da OMS e que faz parte dos estudos que desenvolvo é a espécie multiresistente Candida auris. A dispersão desta espécie por diferentes países, causando surtos hospitalares, é crítica, uma vez que alguns isolados de C. auris são resistentes as três principais classes de antifúngicos disponíveis para tratamento sistêmico (polienos, azóis e equinocandinas).

A resistência dos fungos filamentosos ambientais aos azóis pode ser, em parte, devido a exposição destes

UFRJ - Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 9

No. fl. 10

microrganismo a fungicidas agrícolas? Uma das hipóteses para a resistência de C. auris ao azóis também sugere a importância da exposição ambiental a fungicidas agrícolas. Isso porque diversos fungicidas agrícolas utilizados atualmente são derivados azólicos e possuem o mesmo mecanismo de ação dos antifúngicos da classe dos azóis utilizados na clínica.

Os azóis inibem a enzima C-14 α lanosterol demetilase, que é um componente necessário para a síntese do ergosterol. O ergosterol é o principal esterol presente na membrana plasmática de fungos e a inibição de sua síntese causa alterações na permeabilidade e estabilidade da membrana, perda de função de proteínas integrais da membrana e o acúmulo de intermediários da via de síntese de esteróis causa efeito tóxico para a célula. Os azóis apresentam um efeito fungistático, apenas inibindo o crescimento do fungo em sua presença. A completa eliminação do fungo do hospedeiro dependerá da ação da resposta imune do indivíduo.

A exposição prévia aos derivados azólicos utilizados na agricultura favorece a seleção de fungos resistentes a ação destas moléculas e, caso este fungo ambiental contamine um indivíduo imuno comprometido, o uso de azóis para o tratamento de infecções fúngicas ~~[illegible]~~ será ineficaz.

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 9

No. fl. 11

Estimativas descrevem que mais de 10% dos isolados de Aspergillus fumigatus de casos clínicos europeus são resistentes a algum dos azóis utilizados no tratamento de aspergilose (itraconazol e voriconazol, principalmente). E em outros lugares do mundo os relatos são cada vez mais frequentes, sendo A. fumigatus o principal fungo filamentoso causador de infecções fúngicas invasivas em humanos.

Além da exposição aos fungicidas de uso agrícola, outro fator relacionado a resistência de Aspergillus spp. aos azóis é a exposição ao antifúngicos de uso clínico por tempos de tratamento prolongados. Em ambos os casos, a resistência será devido a alterações na expressão gênica do fungo.

São três os principais mecanismos implicados na resistência de fungos filamentosos (e também espécies de leveduras) aos azóis: (i) mutações na enzima alvo do azol; (ii) superexpressão da enzima; e (iii) superexpressão de bombas de efluxo.

Diferentes mutações na enzima lanosterol demetilase já foram descritas como envolvidas na resistência ao azóis e, geralmente, envolvem a substituição de alguns aminoácidos no sítio de ligação a droga. Algumas mutações observadas em fungos ambientais são iguais aquelas de isolados clínicos, o que corrobora a teoria de que a exposição prévia

UFRJ - Instituto de Biologia Geral

aos fungicidas ~~de~~ agrícolas na natureza é responsável pelo desenvolvimento de resistência.

O aumento na expressão da lanosterol demetilase envolve, geralmente, alterações na sequência da região promotora do gene ou mudanças da expressão de fatores de transcrição que induzem a expressão do gene. Em Candida spp., a enzima ~~[illegible]~~ lanosterol demetilase é conhecida como Erg11, enquanto em Aspergillus spp., a enzima é denominada CYPSIA. Ao aumentar a expressão dos genes ERG11 ou CYPSIA, o fungo irá produzir mais enzimas e, para uma mesma concentração do azol, o efeito de inibição do crescimento será menor.

O terceiro mecanismo mais frequentemente observado em fungos resistentes aos azóis é o aumento na expressão de proteínas transportadoras presentes na membrana plasmática de fungos que irão transportá-lo para fora da célula. Estas bombas de efluxo podem ser da família de transportadores ABC (principais) ou da família de transportadores MF. Em ambos os casos, o transporte do antifúngico será realizado de forma ativa (pela hidrólise de ATP, no primeiro caso, ou utilizando o gradiente eletroquímico, no segundo caso). As bombas de efluxo são naturalmente expressas na membrana plasmática de fungos patogênicos, mediando o transporte de diferentes substratos. Mas a exposição aos azóis induz o aumento de sua expressão, favorecendo assim a redução da ação

UFRJ

do antifúngico. Um dos mecanismos envolvidos na superexpressão das bombas de efluxo está relacionado com mutações em regiões promotoras que serão continuamente reconhecidas.

Diferentes bombas de efluxo com papel na resistência aos azóis já foram descritas em importantes fungos de relevância médica. Em um projeto que iniciou durante meu Doutorado e que continua sendo desenvolvido em meu laboratório, buscamos caracterizar o papel de uma bomba de efluxo da família dos transportadores ABC em Sporothrix brasiliensis, assim como seu papel na resistência ao itraconazol. S. brasiliensis é o principal fungo causador da esporotricose no Brasil e o tratamento desta doença é feito principalmente com o itraconazol. A esporotricose afeta humanos e animais, especialmente gatos, que possuem um papel importante na transmissão zoonótica da doença.

Há mais de duas décadas os casos de esporotricose aumentaram exponencialmente no Rio de Janeiro e, posteriormente, em todo o Brasil. Atualmente, outros países da América Latina que fazem fronteira com o Brasil também reportam casos de esporotricose por transmissão zoonótica causada por S. brasiliensis. Com o aumento no número de casos em humanos e animais também passamos a observar casos de falhas do tratamento com itraconazol. Além disso, também aumentou o número de relatos de isolados do fungo com baixa sensibi-

UFRJ - INSTITUTO DE BIOFÍSICA CARLOS CHAGAS FILHO

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 9

No. fl. 14

lidade in vitro ao itraconazol. De acordo com os resultados que obtive no laboratório, comparando a expressão de uma bomba de efluxo de S. bacillinais homóloga a bomba de efluxo de Candida spp. em isolados sensíveis ao itraconazol e pouco sensíveis, foi possível constatar que a sensibilidade ao azol está relacionada a expressão deste transportador. Este é mais um exemplo que demonstra que a exposição prolongada aos azóis (neste caso da esporotricose, gatos e humanos recebem o itraconazol para o tratamento e são os animais que transmitem a doença para os indivíduos, na maioria dos casos observados no Brasil) irá induzir o aumento na expressão de bombas de efluxo que irão retirar o antifúngico do citoplasma da célula.

Uma forma de contornar este problema da resistência aos antifúngicos é buscar moléculas com alvos diferentes dos antifúngicos disponíveis e que conhecemos os mecanismos de resistência envolvidos com seu uso. Além disso, é preciso investir em estudar moléculas com efeito fungicida (e não fungistático como os azóis), pois isto irá reduzir a probabilidade de desenvolvimento de resistência, ao menos a curto prazo.

Uma estratégia que vem sendo muito empregada para reduzir o desenvolvimento de resistência é combinar

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 9

diferentes antifúngicos com alvos diferentes durante tratamentos longos. Ainda, o estudo de inibidores de bombas de efluxo pode, futuramente, auxiliar na produção de resistência a estas moléculas podendo ser utilizadas em combinação com os antifúngicos tradicionais.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho
Concurso para Professor Adjunto
MC-015 – Integração de Sistemas Biológicos
Edital nº 377 de 25 de maio de 2022, publicado no DOU nº 102 de 31 de maio de 2022 - consolidado com as alterações dos Editais nº 402 de 31 de maio de 2022 e nº 435 de 31 de maio de 2022

Bacharelado em Ciências Biológicas-Biofísica

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 10

No. fl. 1

Genes, Ambiente e respostas biológicas

Gene é a estrutura responsável por constar informações biológicas de um indivíduo como estrutura física, bioquímicas, metabólicas e que são herdadas dos progenitores. Gene é composto pelo DNA que é uma fita dupla que tem em sua estrutura uma desoxirribose e se diferencia do RNA que é composto por fita simples e tem em sua estrutura uma ribose. As bases nitrogenadas podem ser purinas que são adenina, timina e uracila ou pirimidinas que são citosina e guanina. O DNA possui adenina ligada por 2 pontes de H^+ em timina e citosina ligada por 3 pontes de H^+ em guanosina. Já o RNA possui adenina ligada a uracila por 2 pontes de H^+ e citosina ligada a guanosina por 3 pontes de H^+. ~~Em procari~~ O DNA está ligado à histonas formando a cromatina. Em procariotos, o DNA é formado por fita única e circular, e os processos de transcrição e tradução ocorrem no citoplasma. Em eucariotos, o DNA possui em sua estrutura segmentos íntrons que não são codificados e segmentos éxons que são codificados. A transcrição ocorre no núcleo e a tradução ocorre no citoplasma da célula.

O processo de transcrição de células eucarióticas se inicia com a replicação do DNA. A DNA Helicase quebra as pontes de H^+ entre as bases nitrogenadas enquanto a DNA girase desenrola o DNA. Proteínas ligadoras de fita simples se ligam a fita aberta, estabilizando a fita para que ela não se enrole novamente. A seguir a DNA

UFRJ

polimerase I se liga no sentido 5'-3' da fita iniciando replicação de forma contínua e na outra fita, de forma descontínua, com a ajuda da primase. Na fita descontínua são formados os fragmentos de Okasaki que são alongados e ligados pela ligase. A seguir é formado o pré-RNAm contendo as sequências exons e íntrons. A formação do RNA maduro se dá a partir da adição da 7metilguanosina na extremidade 5', os segmentos íntrons são retirados por splicing, e é adicionado a poli A na extremidade 3' da fita. Essa fita, então, vai para o citoplasma e será traduzida. A sequência de 3 bases nitrogenadas no RNAm é denominada de códon que é lido por uma sequência de 3 bases nitrogenadas no RNAt e é que é denominado anticódon. Cada anticódon determina um aminoácido. Sendo assim, esse RNAm no citoplasma, a subunidade maior do RNAr se liga a menor, da na direção 5'-3', ocorre a tradução. O códon de iniciação é determinado pela sequência AUG de bases nitrogenadas, e ao final da tradução, quando encontra o códon stop, a sequência de aminoácidos é liberada, formando uma proteína que será estabilizada por chaperonas, e atingirá a conformação ideal.

O genótipo de indivíduo é a expressão gênica herdada e o fenótipo são as características visíveis e bioquímicos gerados, como a cor do cabelo, cor dos olhos, sistema sanguíneo ABO e o tom da pele. O fenótipo sofre alterações do ambiente e um exemplo clássico é o tom da pele. Diante da exposição solar, como resposta biológica, as células sofrem melanização, como mecanismo de defesa à exposição solar, e assim o tom de pele muda, adquirindo tons mais escuros. A exposição aos Raios UVA e UVB podem trazer outros prejuízos. O raio UVB atinge a pele mais superficialmente, trazendo a melanização das células, no entanto, raios UVA ~~pod~~ atingem camadas profundas da pele e com o passar dos anos podem

Favor não escrever no verso

Trazer danos ao DNA, causando mutações em células e acometendo os melanomas, que são células cancerígenas.

As alterações ambientais à nível gênico vêm sendo estudados através da epigenética. Muitos estudos mostram que os genes podem sofre alterações por conta do ambiente em que se vive, mas também por conta dos hábitos de vida, sociais, metabólicos e emocionais.

As mudanças epigenéticas são descritas em 3 tipos:

1) Metilação do DNA que é a adição de um grupo metil ao DNA, atenuando a transcrição gênica. Geralmente, essa adição do grupo metil se dá na base nitrogenada citosina.

2) Modificações nas Histonas que são proteínas positivas encontradas junto ao DNA. Essas Histonas sofrem acetilação tornando as regiões mais compactas e dificultando a transcrição gênica nessas regiões.

3) RNAs não codificantes que são RNAs que vão interferir no processo de transcrição e pós-transcrição e se utilizam de RNAs de interferência

A obesidade é uma das doenças que sofrem alteração epigenética. Muitos estudos demonstraram que ocorre metilação do DNA em diversos tecidos de indivíduos portadores de obesidade e em pessoas com o fenótipo de obesidade (representado pelo IMC e circunferência abdominal). A obesidade é uma doença que mantém índices baixos de inflamação constante e que é fator de risco para diversas outras doenças como a Diabetes Mellitus Tipo 2 (DM2). Essa doença é caracterizada por altos índices de glicose no sangue e pela resistência insulínica. Assim como ocorre na obesidade, foram encontrados modificações epigenéticas relacionados a metilação do DNA em diferentes tecidos, principalmente, relacionados à resistência insu-

UFRJ - CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE - INSTITUTO DE BIOFÍSICA CARLOS CHAGAS

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 10

No. fl. 4

línea.

A dieta também pode trazer interferências epigenéticas. Dietas baseadas em super alimentação com ácidos graxos polinsaturados e palmitato, já foram descritos no processo de metilação do DNA.

O sistema imune também pode sofrer com as alterações epigenéticas. Diante de ambientes crônicos de inflamação e exposição constante de antígenos, pode ocorrer a metilação do DNA e modificações nas histônas. Essas modificações implica no quadro de exaustão celular caracterizado pelo aumento de receptores inibitórios, aumento de citocinas como TGFβ e IL10, e redução de IFNγ, TNF e IL-2 e consequente proliferação de células TCD4 e TCD8. Esses receptores inibitórios fazem parte de um grupo de receptores conhecidos como checkpoints imunológicos e que têm função homeostática de controlar ambientes inflamatórios ou previní-los como em eventos específicos como a gravidez, evitando a rejeição ao feto. No entanto diversas doenças e patógenos se utilizam desse mecanismo como forma de escape à resposta imune gerada. Desses receptores inibitórios, os mais estudados são o PD-1 (Programmed death 1) que é encontrado em linfócitos T e que tem como ligante o PDL1 encontrado em células apresentadoras de antígenos (APCs) e células tumorais. PD-1 foi descrito por Honjo T., da Universidade de Kyoto, Japão, em 1992, e o seu ligante foi descrito pelo mesmo grupo em 2000. A formação do complexo PD-1/PD-L1 é responsável por induzir um ambiente imunossupressor.

Em 2018, Honjo ganhou o ~~Pr~~ Prêmio Nobel de Medicina por trabalhos com anticorpos monoclonais anti PD1 e anti PDL1, demonstrando que eles conseguem reverter quadros de exaustão celular, fazendo com que células T sejam revigoradas e voltem a sua função efetora. Esses anticorpos já estão sendo utilizados na

UFRJ

clínica do câncer contra diversos tipos como melanomas, câncer de pulmão, leiza, entre outros, e com bastante sucesso.

Interessantemente, meu grupo descreveu a exaustão celular no processo de infecção por leishmania, um parasito intracelular obrigatório que pode ~~apresentar~~ estimular diferentes formas clínicas como manifestações visceral e tegumentar no hospedeiro vertebrado. Nosso grupo avaliou neutrófilos e células dendríticas de camundongos e humanos, e diante da infecção in vitro, observamos o aumento da expressão de PDL1 nessas células. Animais ~~inf~~ (camundongos) infectados apresentaram um aumento na expressão de PD-1 em células TCD4 e TCD8, e redução na produção de IFNγ por essas células.

Assim como é utilizado na clínica oncológica, utilizamos a imunoterapia com anticorpos monoclonais anti PD1 e anti PDL1, no modelo murino, na infecção ~~tanto~~ por L. amazonensis. Nossos resultados mostraram o controle da carga parasitária tanto no sítio da infecção quanto no linfonodo drenante e baço dos animais tratados quando comparados aos animais que só receberam o veículo (PBS). Animais tratados também apresentaram a redução da expressão de PD1 por linfócitos TCD4 e TCD8, e o aumento da produção de IFNγ em TCD4 e, principalmente, células TCD8. Esse trabalho mostrou a possibilidade de se estimular a terapia com anti PD1 e anti PDL1 como alternativa terapêutica para pacientes que não respondem a terapia convencional.

Uma outra forma de utilizar fundamentos genéticos como alterações biológicas é através de vacinação. A vacina de RNA, que se popularizou em pandemia de COVID-19, com as vacinas da Pfizer e da moderna, já são estudadas há pelo menos 20 anos. Utilizando o vírus do SARS-COV2 como exemplo,

UFRJ

a tecnologia produz RNAs relacionados ao vírus e de forma sintética. Essa vacina é reconhecida pelas células do sistema imune e geram células B mais competentes a partir da produção de anticorpos específicos. Além dessa vantagem, as vacinas de RNA produzem robusta resposta de células T e inata, e são potentes adjuvantes pelo reconhecimento através de receptores da resposta inata como TLR3, TLR7, TLR8, MDA-5 e RIG1. Outras vantagens são a produção em alta escala da vacina, a adição de possíveis antígenos que sofrem mutação, atualizando as vacinas para variantes, além de resposta imune duradoura.

Em resumo, nós vimos sobre o que é gene e falamos das características do DNA e do RNA, e do processo de transcrição e tradução, principalmente, em células eucarióticas. A partir de influências do ambiente, nós vimos que existem alterações que podem ocorrer no gene e que essas alterações são estudadas a partir da epigenética. Existem 2 modificações que são a metilação do DNA, modificações de histonas e RNAs não codificantes. Essas modificações já foram descritas na obesidade, DM2 e dieta de poliinsaturados. Além disso pode ocorrer no sistema imune através da indução da exaustão celular, inclusive induzido em ambientes crônicos de inflamação como os causados pela leishmaniose. Por fim, vimos sobre as vacinas de RNA que é uma tecnologia que já vem sendo empregada com sucesso e abre a possibilidade do desenvolvimento de outras vacinas.

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 10

No. fl. 7

Comunicação Intercelular

Comunicação intercelular é a forma como as células se comunicam de forma a trocar substâncias, entre outros, para a manutenção da homeostase do organismo. Existem diferentes formas de comunicação como a célula-célula quando as células precisam estar em contato; através de moléculas sinalizadoras; e através de receptores.

A comunicação célula-célula pode ocorrer através das junções celulares. Existe a junção de ancoramento quando as células estão ligadas pela actina ou filamentos intermediários pelo citoesqueleto e isso é importante na mobilização celular e troca de substâncias. A adesão celular. A junção de ancoramento se utiliza de proteínas como as caderinas que quando ligadas à actina favorecem a adesão célula-célula e quando ligadas a filamentos intermediários formam os desmossomos. Também utiliza de integrinas que quando ligadas a actina favorecem a adesão célula-matriz e quando ligadas à filamentos intermediários formam os hemidesmossomos. As selectinas são proteínas que fazem adesão transitória e são muito importantes no processo de inflamação. Selectinas presentes em células endoteliais favorecem o rolamento de leucócitos como os neutrófilos, na parede do endotélio. A seguir, integrinas ajudam no processo de diapedese da célula, e elas migram a partir de um gradiente de quimiocinas para o sítio de inflamação.

As junções de oclusão são a forma mais íntima de contato entre células e favorece a troca direta de substâncias entre elas, como através de aquaporinas.

A junção comunicante se utiliza de conexons para a troca de substâncias. Esses conexons são formados a partir de 6 proteínas chamadas de conexinas.

Outra forma de comunicação intercelular é através de moléculas sinalizadoras. Existem 5 tipos de sinalizações que podem ocorrer.

1) Parácrina quando a célula libera uma molécula sinal que irá atuar em células

UFRJ - CCS

adjacentes a ela, mudando o comportamento da célula.

2) Autócrina quando a molécula sinal liberada pela células atua nela mesma.

3) Dependente de contato quando as células precisam estar ligadas para que ocorra a comunicação entre elas.

4) Endócrina quando a molécula sinal é lançada e se difunde pela corrente sanguínea atingindo células que estão longe do local da emissão da molécula.

5) Sináptica quando a molécula sinal, neurotransmissor, é lançada em fendas entre membranas de uma célula alvo e uma célula do sistema nervoso.

A outra forma de comunicação intracelular é através de receptores que são constitutivamente proteicos e podem ser de superfície ou intracelular. Os receptores de superfície podem ser encontrados na membrana externa ou endossomos das células e se ligam, geralmente, à moléculas hidrofílicas. Já os receptores intracelulares podem ser encontrados no citoplasma da célula e no núcleo, e se ligam, geralmente, à moléculas hidrofóbicas.

Como exemplo de receptores intracelulares nós podemos citar os da família NOD que são importantes na resposta imune inata, e reconhecem padrões moleculares associados à patógenos (PAMPs) e padrões moleculares associados a danos (DAMPs). Esses receptores estão no citoplasma da célula. NOD1 reconhece iEDAP e NOD2 reconhece MDP, quando ativados induzem cascata de sinalização que vão ativar fator de transcrição NFκB, que vai induzir produção de IL6, TGFβ, pró IL-1β e pró-IL-18. NLRP1 reconhece MDP e toxina do antraz, NLRP3 reconhece DAMP como ROS e NLRC4 reconhece flagelina. Esse reconhecimento serve como segundo sinal de ativação que vai ativar complexo inflamassoma e ativar caspase 1 que vai clivar pró-IL-1β em IL-1β e pró-IL-18 em IL18, citocinas extremamente inflamatórias que matam

Favor não escrever no verso

a célula por piroptose. Nosso grupo vem estudando a participação de NLRP3 na infecção por L. amazonensis, e os resultados demonstram que animais deficientes em NLRP3 apresentam melhora tanto na lesão quanto na carga parasitária. Esses dados vêm demonstrando resultados inversos aos que já foram demonstrados na infecção por L. major, mostrando que a ativação de NLRP3 é prejudicial na resposta imune contra L amazonensis.

Como receptores de superfície nós podemos citar os TOLL LIKE RECEPTORS (TLRs) que são encontrados na membrana externa e endossomos das células e também são muito importantes na resposta imune inata através do reconhecimento de PAMPs e DAMPs. TLR2 reconhece peptidioglicano, TLR4 reconhece LPS, TLR5 reconhece flagelina (que são os receptores mais estudados na membrana externa); TLR3 reconhece RNA dupla fita, TLR7 e TLR8 reconhecem RNA fita simples e TLR9 reconhece CPG de DNA (estão presentes nos endossomos). Esses receptores quando ativados recrutam proteína adaptadora MYD88 ou TRIF que desencadeiam cascata de sinalização e ativam fatores de transcrição NFKB ou IRF e que vão produzir citocinas pró-inflamatórias e IFN tipo I.

Nosso grupo vem trabalhando com vacinas de mucosa contra Leishmaniose e a nossa candidata vacinal LaAg é um lisado de promastigotas de L. amazonensis e que é rico em CPG de DNA. A via das mucosas é uma região com alta expressão de TLR9 e nosso objetivo foi entender qual a participação de TLR9 na infecção por L. amazonensis e também na resposta protetora da nossa vacina. Primeiramente, infectamos animais TLR9 deficientes e observamos que esses camundongos são mais suscetíveis a infecção quando comparados aos animais selvagens infectados. Em outro momento, vacinamos camundongos TLR9 deficientes com 2 doses de LaAg em um intervalo de 7 dias entre as doses e, 7 dias depois, nós desafiamos com L. amazonensis. Nossos resultados mostraram que

UFRJ

a nossa vacina não foi capaz de proteger animais deficientes em TLR9, principalmente na fase crônica da doença, mostrando que TLR9 é importante no mecanismo de ação da proteção de LaAg.

Uma outra forma de comunicação importante intercelular é a sinapse imunológica que vai induzir respostas imunes adaptativas com respostas específicas e indução de células de memória. Isso acontece a partir do reconhecimento do antígeno por uma célula profissional apresentadora de antígeno (APC) como as células dendríticas. Após reconhecimento e processamento do antígeno, este é apresentado por MHC para TCR de linfócitos T virgens nos linfonodos. Essa ligação gera pequena produção de IL-2. Após, ocorre a ligação entre moléculas coestimulatórias B7 de APCs com CD28 de linfócitos T gerando um aumento na produção de IL-2. Essas células passam a expressar CD25 que se liga com alta afinidade a IL-2, importante na expansão clonal. Citocinas do ambiente induzirão a diferenciação desses linfócitos.

A comunicação intercelular por indução de receptores inibitórios é extremamente importante para a regulação da resposta imune a fim de manter a homeostase tecidual. Uma dos formas de realizar essa comunicação é através de receptores checkpoints imunológicos que induzem a supressão da resposta imune. Os receptores mais estudados são PD1 que é encontrado em linfócitos T e PDL1 que é encontrado em células apresentadoras de antígenos e células tumorais. A formação do complexo PD1/PDL1 aumenta a expressão de receptores inibitórios, estimula aumento de TGFβ e IL-10 e redução das funções efetoras de células T como redução de IFNγ, TNF e IL-2, e consequente proliferação de células TCD4 e TCD8, quadro esse característico da exaustão celular.

O parasita Leishmania pode se utilizar desse mecanismo, induzindo a expressão de PDL1 em APCs, a partir da formação de PDL1 com PD1 de um linfócito T, induzindo

UFRJ

exaurindo células, imunossuprimindo a resposta imune e, dessa forma conseguir sobreviver e se disseminar para outras células, como mecanismo de escape. Nosso grupo demonstrou esse fato na infecção por L. amazonensis e L. braziliensis em células murinas e humanas, a partir do aumento da expressão de PDL1. Em modelo murino, in vivo, através da expressão de PDL1 em neutrófilos no sítio da lesão e de PD1 em células TCD4 e TCD8 dos linfonodos drenantes. Esses linfócitos apresentavam redução na produção de IFNγ durante a infecção por Leishmania. Nós demonstramos também a possibilidade da mudança desse fenótipo de exaustão no modelo murino, através da utilização de anticorpos monoclonais anti-PD1 e anti PDL1. A partir do tratamento com esses anticorpos, nós observamos o maior controle da carga parasitária tanto no sítio da lesão, quanto no linfonodo drenante e no baço desses animais. Vimos também um aumento na produção de IFNγ por células TCD4 e, principalmente, por células TCD8. Esse trabalho foi importante porque demonstrou uma alternativa de tratamento para pacientes que não respondem a terapia convencional.

Outra forma de comunicação intercelular é através dos exossomos que são vesículas intraluminais que estão em corpos multivesiculares que quando se fundem a membrana externa são liberados pela célula. Os exossomos medem de 40-100 n.m e podem ser produzidos por células NK, endoteliais, linfócitos, protozoários e células tumorais, entre outros. Esses exossomos são importantes na comunicação por conseguirem ligar receptores em outras células, também conseguem transmitir mRNA e miRNA, além de proteínas específicas para outras células. No entanto, protozoários conseguem sobreviver e se disseminar a partir dos exossomos também. Esses exossomos já foram descritos em diversos fluidos, como saliva, lágrima, seminal e líquido amniótico.

Nosso grupo vem desenvolvendo terapias utilizando exossomos de células-tronco

UFRJ - INSTITUTO DE BIOFÍSICA CARLOS CHAGAS

mesenquimais contra Leishmaniose. Animais infectados com L. amazonensis e tratados com os exossomos vêm demonstrando um controle do desenvolvimento da lesão quando comparados aos não tratados. Mais experimentos estão em andamento para confirmação dos resultados.

Em resumo, nós discutimos as diferentes formas de comunicação intercelular através do contato célula-célula, moléculas sinalizadoras e receptores. Discutimos a participação dos receptores NLRP3 na infecção por L. amazonensis, mostrando que ele agrava as lesões. Além disso, discutimos a participação dos receptores TLR9 na infecção por L. amazonensis e como mecanismo protetor na vacina LaAg., mostrando que a ausência de TLR9 em camundongos não protege no caso da vacina, e os animais são mais suscetíveis a infecção. Também vimos a participação de PD1/PDL1 como comunicação intercelular na regulação da resposta imune. Contudo, patógenos como L. amazonensis se utilizam do mecanismo de exaustão celular como forma de burlar a resposta imune. E, por fim, vimos a participação dos exossomos na comunicação entre células e também como forma terapêutica contra L. amazonensis, na infecção de camundongos.

UFRJ

Equilíbrio Dinâmico e Homeostasia

Equilíbrio dinâmico e homeostasia são conceitos que andam juntos. A homeostasia é a condição que o sistema tem de balancear suas respostas e funções de maneira a evitar alterações drásticas fisiológicas trazendo prejuízo ao organismo. Dessa forma, as células se utilizam das trocas metabólicas e de outras substâncias de forma dinâmica a ponto de compensar essas possíveis alterações, restabelecendo o Equilíbrio.

O ambiente ou as mudanças são percebidos por sensores, geralmente células nervosas, que emitem um sinal para o centro de controle, favorecendo ou estimulando uma reação. Existe o feedback positivo quando um sinal estimula o distanciamento desse ponto de equilíbrio, amplificando uma resposta, como as contrações uterinas que estimulam o apagamento do colo uterino, que estimula o aumento das contrações e assim, o nascimento do bebê. Já o feedback negativo estimula uma resposta contrária a percepção inicial e, por isso, está mais relacionada a Homeostasia. Exemplo disso pode ser o aumento da temperatura corporal que é entendida pelo centro de controle e que estimula o aumento da sudorese para reduzir essa temperatura corporal.

Um dos sistemas mais importantes no controle Homeostático é o imunológico. Além de proteger o organismo contra agentes patogênicos e substâncias nocivas, o sistema imune é extremamente importante no reconhecimento de antígenos próprios e não próprios como na indução de tolerância.

A tolerância central ocorre no timo e é responsável pela seleção negativa de linfócitos T que quando reconhecem autoantígenos fortemente, são levados a apoptose, quando reconhecem de forma fraca, são diferenciados para células T reguladoras e quando não reconhecem autoantígenos se tornam células T naïves.

UFRJ

A tolerância periférica é de igual importância. Ela é responsável pelo reconhecimento de antígenos da dieta, microbiota e outras substâncias utilizadas pelo nosso organismo e não desenvolver respostas específicas imunes, prevenindo contra processos alérgicos desagradáveis, por exemplo. Esses antígenos são reconhecidos pelo sistema imune de mucosa que é composto pelo tecido linfóide associados as mucosas (MALT) e está presentes diversos ~~tecidos~~ sistemas como o digestivo, respiratório, geniturinário, além da glândula salivar e mamária. Células M presentes no MALT captam os antígenos por transcitose e células apresentadoras de antígenos (APCs) apresentam para linfócitos nos linfonodos. Células dendríticas conseguem captar esses antígenos luminalmente do lúmen e apresentar para linfócitos no linfonodo. Quando há o reconhecimento fortemente desses antígenos e de autoantígenos também, a célula podem sofrer apoptose a partir da não indução de ligação de moléculas coestimulatórias B7 de APC com CD28 de linfócito T. Quando o reconhecimento é fraco, células T sofrem inibição por células T reguladoras a partir da ligação de CTLA4 de Treg com CD28 de células T. Quando as células reconhecem antígenos não próprios patogênicos, são levados a células T efetoras. Esse mecanismo indutor de homeostase ~~tá~~ no sistema imune de mucosa também é muito importante na tolerância central, pois células dendríticas migratórias viajam do intestino até o timo promovendo essas respostas.

Como podemos observar, o controle de respostas inflamatórias é muito importante na manutenção da homeostase. Respostas inflamatórias excessivas podem levar a doenças autoimunes e alérgicas e falhas na resposta levam à infecções crônicas e doenças como o câncer. A inibição por checkpoints imunológicos é de grande importância nesse contexto ~~p~~. Eventos específicos da vida como a gravidez, aloenxertos de tecidos e transplantes precisam ser controlados por esses receptores a fim de inibir processos de

UFRJ

de ligação. Dentre os diferentes tipos de receptores, PD1 (Programmed death 1) encontrados em linfócitos T tem como ligante PD-L1, que é encontrado em APCs e células tumorais. A formação desse complexo PD1/PDL1 é responsável pela indução de um ambiente imunossupressor de forma a manter o equilíbrio dinâmico. Entre o controle entre inflamar e desinflamar, importante para reduzir respostas excessivas e danos teciduais colaterais. PD-1 foi descrito pelo grupo de Honjo T em 1992, na Universidade de Kyoto, Japão. O ligante foi descrito em 2000 pelo mesmo grupo. Em 2016, Honjo ganhou o prêmio Nobel em medicina a partir de diversos estudos na área do câncer.

PD1/PDL1 são responsáveis pela redução das atividades efetoras de linfócitos T, reduzindo produção de IFNγ, TNF e IL2, reduzindo proliferação de células T. Além disso, ocorre o aumento na expressão de receptores inibitórios e de citocinas imunossupressoras como ~~CTLA-4~~ TGFβ e IL10. Esse aumento dos receptores inibitórios e citocinas imunossupressoras induzem o fenótipo de exaustão celular. Honjo demonstrou que o uso de imunoterapia com anticorpos monoclonais anti PD1 e anti PDL1 é capaz de reverter esse fenótipo exausto através do revigoramento de células T, tornando-as novamente efetoras.

De maneira interessante, nosso grupo demonstrou que na infecção por Leishmania ocorre indução da exaustão de células T. Nós observamos o aumento na expressão de PDL1 em neutrófilos e células dendríticas e de PD1 nos linfócitos T com redução da produção de IFNγ. Esse aumento de PDL1 foi observado tanto em células murinas quanto em humanos, inclusive em neutrófilos de lesões humanas. Nós utilizamos a imunoterapia com anti PD1 e anti PD1 no modelo murino, infectado tanto por L. amazonensis quanto em infecções por L. braziliensis, e observamos que os animais tratados apresentaram menor carga parasitária tanto na lesão quanto no linfonodo drenante e no baço, quando comparados aos animais que só receberam o veículo (PBS). Vimos nesses animais também

UFRJ - INSTITUTO DE BIOFÍSICA CARLOS CHAGAS FILHO

o aumento na produção de IFNγ por linfócitos TCD4 e, principalmente, TCD8. Esse trabalho foi importante pois demonstrou a possibilidade da imunoterapia como alternativa de tratamento para pacientes que não respondem a terapia convencional.

Uma outra forma de induzir a manutenção da homeostasia é através das vacinas que estimulam proteção ativa através da indução de respostas específicas que estarão prontas diante de possíveis quadros de infecção. Nesse ponto nosso grupo vem trabalhando com vacinas de mucosa que utilizam o sistema imune de mucosas para indução de respostas imunes locais e sistêmicas. As vacinas de mucosa são muito importantes pela maior aceitação por parte do vacinado, pela fácil administração por não necessitar de pessoal altamente treinado e de baixo custo por não necessitar de agulhas e seringas na administração. Além disso, essa via mimetiza a infecção natural podendo induzir maior resposta protetora.

Em nosso modelo de estudo utilizamos o LaAg, que é um lisado de promastigotas *L. amazonensis*, por via oral junto com o adjuvante Alum, importante indutor de resposta imune por ativação de inflamassoma. Nossos resultados mostraram que a vacina teve maior efeito protetor no controle da lesão e na carga parasitária dos animais estudados. Também avaliamos o LaAg na vacinação intranasal, e avaliamos a importância do receptor TLR9, importante na resposta imune inata por reconhecer CPG de DNA. O LaAg é rico em CPG de DNA e a via das mucosas possui alta expressão de TLR9. Animais deficientes em TLR9 são mais susceptíveis a infecção por *L. amazonensis* e nossa vacina não mostrou proteção nesses animais, mostrando a importância de TLR9 na indução da eficácia vacinal. A via intranasal mostrou eficácia na proteção dos animais selvagens, demonstrado pelo controle da carga parasitária da lesão, linfonodo drenante e baço, além do aumento

Favor não escrever no verso

da produção de IFNγ nas lisões desses camundongos. Importante ressaltar que a vacina de LaAg quando administrada por via endonasal apresentou piora das lisões. Esse dado é importante, pois demonstra a relevância da via de administração do imunizante para indução da eficácia vacinal em alguns modelos de vacinas.

~~Em resumo, nós vimos que os~~

É como último ponto de discussão na homeostasia e equilíbrio dinâmico nós podemos citar a diferenciação de células Th17 e Treguladoras. Th17 são importantes nas respostas inflamatórias e têm papel efetor, já as células Treguladoras são importantes na regulação das respostas inflamatórias induzindo imunossupressão. Ambos os modelos diferenciados são induzidos por TGFβ, no entanto Th17 é induzido a partir de TGFβ e IL-6, enquanto Treg são induzidos a partir TGFβ e IL-2. O desbalanço entre ~~as~~ a diferenciação destes fenótipos é importante na indução de doenças crônicas inflamatórias como as colites.

Em resumo, nós vimos que os conceitos de equilíbrio dinâmico e homeostasia andam juntos e que existem formas de controle de possíveis desequilíbrios como o Feedback negativo. Além disso, vimos que o sistema imune é de grande relevância na indução da homeostasia através de diferentes mecanismos, como a indução de tolerância, proteção contra patógenos e indução da iniciação por checkpoints imunológicos. Vimos também que as vacinas podem ser utilizadas como formas de manter a homeostasia e o equilíbrio dinâmico, em virtude de prevenir possíveis infecções futuras. E em destaque, vimos que na doença da Leishmaniose, no contexto da doença trazendo desarmonia ao conceito de equilíbrio/homeostasia, o parasito pode se beneficiar da exaustão celular para sobrevivência e disseminação. Vimos

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 10	No. fl. 18

também a vacinação pela via de mucosa como uma possível maneira de controlar a Leishmaniose. E, por fim, vimos que a diferenciação de células T no contexto das Th17 e TReg podem ser cruciais para o desequilíbrio homeostático, na impossível indução de doença inflamatória como a colite.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho
Concurso para Professor Adjunto
MC-015 – Integração de Sistemas Biológicos
Edital nº 377 de 25 de maio de 2022, publicado no DOU nº 102 de 31 de maio de 2022 - consolidado com as alterações dos Editais nº 402 de 31 de maio de 2022 e nº 435 de 31 de maio de 2022

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 11

No. fl. 01

Favor não escrever no verso

Os organismos se mantêm vivos devido a mecanismos que permitem manter um equilíbrio químico/físico diferente do ambiente em que se encontram. Tais mecanismos permitem que eles possam sentir e responder a perturbações externas pequenas a moderadas de forma a re-estabelecer seu estado original, alcançando assim a homeostasia. Sensores, mecanismos de comunicação intercelular dentro do tecido e entre diferentes órgãos e as respostas adaptativas mediadas por genes permitem que os organismos respondam ao ambiente em que se encontram, o que é fundamental para a manutenção da vida. Esses processos são intimamente integrados e abordarei a seguir por meio de exemplos que incluem vários desses elementos

Comunicação intercelular

As primeiras evidências de sinalização celular que se tem registro datam começaram a ser estudadas mais a fundo a partir do século XIX. Aproximadamente em 1855 o cientista Claude Bernard descreveu que um determinado conjunto de células, que compõem as glândulas, são capazes de liberar mensageiros que podem ter efeito em tecidos/órgãos anatomicamente distantes, propondo a existência de "secreção interna" nos organismos. Charles Darwin e seu filho Francis Darwin, ao observar a resposta de coleóptilos de plantas à luz propuseram existir uma influência dentre as

UFRJ - CENTRO DE BIOFÍSICA

regiões mais apicais e as mais basais dessa estrutura que regulava seu crescimento e curvatura (efeitos hoje conhecidos por serem mediados pelo hormônio auxina). Por volta da década de 50, a pesquisadora Rita-Levi Montalchini realizou um experimento injetando tumores em embriões de galinha e observou que as células tumorais induziam o crescimento de nervos nos embriões sem a necessidade de contato direto, descobrindo assim o fator de crescimento NGF ("nerve growth factor"). A partir daí as descobertas sobre sinalização celular se expandiram, tendo em seguida sido feito a descoberta de segundo mensageiros como o AMP cíclico (cAMP) e o cálcio (quando observou-se que injeção de cálcio provoca contração dos músculos), fosfatidil inositideos, outros elementos de transdução de sinal como as proteínas G, a descoberta do "Epidermal growth Factor" (EGF), dentre inúmeros outros.

Hoje são conhecidos inúmeros mecanismos de sinalização intracelular. As células podem se comunicar por meio da produção e liberação de sinais que são percebidos pelas células-alvo por meio de receptores. Estes podem ser de membrana, transduzindo o sinal extracelular para dentro das células por meio de transdutores de sinal contidos na face intracelular do receptor, ou podem ser receptores intracelulares como aqueles que respondem a moléculas lipofílicas que conseguem atravessar a membrana plasmática, tais como os receptores ~~esteroides~~ nucleares que respondem a ~~esteroides~~ hormônios esteróides. Outro exemplo de receptor intracelular são os receptores de reconhecimento de padrão que reconhecem moléculas de RNA ou DNA de dupla fita, oriundos, por exemplo, de infecções

Favor não escrever no verso

virais, como RIG-I e e GAS, respectivamente.

Para ilustrar mais detalhadamente a complexidade de uma interação intercelular, pegarei como exemplo a sinalização mediada por fatores de crescimento de fibroblastos (FGFs) entre fibroblastos e queratinócitos da pele. Durante uma injúria na pele essas células coordenam diversas atividades entre si como proliferação e remodelamento da matriz extracelular. Nesse processo, fibroblastos secretam FGF7 para o meio extracelular, os quais se ligam a receptores específicos em queratinócitos para estimular sua proliferação. Existem cerca de 22 membros da família dos FGFs, dos quais a maioria é capaz de se ligar a quatro receptores diferentes, os FGFR1-4, mas com afinidade diferentes dependendo do FGF. Esses receptores possuem três domínios extracelulares (DI - DIII), um domínio transmembrana, e um domínio tirosina quinase intracelular. O domínio DI participa da autoinibição do receptor, enquanto que os domínios DII e DIII participam da ligação ao ligante. Os receptores FGFR1-3 podem ainda sofrer um splicing alternativo no domínio de ligação ao ligante, fazendo com que resulte nas isoformas IIIb (expressa por células epiteliais) ou IIIc (expressas por células de origem mesodérmicas) e isso é um importante determinante da especificidade do receptor. Por exemplo, fibroblastos produzem e secretam o FGF7, mas só expressa receptores da isoforma IIIc e são pouco responsivos a ele, enquanto que queratinócitos, que expressam a isoforma IIIb de FGFR5, são altamente responsivos ao FGF7, um potente mitógeno para essas células.

Dessa forma, FGF7 liberado por fibroblastos se liga a um

Favor não escrever no verso

FGFR de isoforma IIIb na membrana de queratinócitos mediado pela interação de heparan-sulfato-proteoglicanos. Isso leva à dimerização dos FGFRs, levando a uma aproximação íntima entre seus domínios tirosina quinase citoplasmáticos, favorecendo a trans-fosforilação desses domínios. Essas fosfotirosinas são sítios de reconhecimento de proteínas adaptadoras como FRS2, GRB2 e GAB1, as quais recrutam proteínas sinalizadoras como a GTPase Ras e quinases, que irão dispara sinalização ("downstream") como pela via das MAPK, PI3K/AKT e PLC/PKC. Enquanto a ativação da via das MAPK ("Mitogen-activated protein kinase") resulta na transição de genes responsáveis pela transição G1→S, a via PI3K/AKT regula o crescimento das células em massa e tamanho, capacitando-a a dividir, e a via PLC/PKC regula muitas das adaptações do citoesqueleto requeridas para a mitose (isso falando de forma geral). Dessa forma, por meio de um sinal inicial liberado por outra célula, a célula-alvo é capaz de sentir e interpretar o sinal, promovendo as devidas adaptações para que ocorra a devida resposta biológica (neste caso, proliferação celular).

Neste contexto, ao caracterizar a resposta de queratinócitos humanos ao FGF1, FGF2 e FGF7, observei, como de se esperar que essas células respondem muito bem ao FGF7 (observando proliferação em curvas de crescimento) e em menos intensidade ao FGF1 (que é capaz de estimular qualquer FGFR, independente de isoforma). No entanto, fiquei surpresa em constatar que essas células respondem tão bem ao FGF2 quanto ao FGF1, sendo que pela literatura essas células não possuem

receptores de alta afinidade ao FGF2 (que estimulam FGFRs de isoformas IIIc). Fazendo então uma caracterização da expressão transcricional e proteica de FGFRs em queratinócitos, descobrimos a presença do FGFR4 nessas células, que nunca havia sido descrito nesse tipo celular e que poderia explicar sua responsividade ao FGF2. Vimos também que queratinócitos expressam o FGF endogenamente, sugerindo que esse fator de crescimento poderia tanto servir para estimulação parácrina (estimulando, por exemplo fibroblastos, que são altamente responsivos ao FGF2) quanto autócrina. Achados como esse tem implicações importantes no entendimento de comunicação intercelular. A presença de receptores de diferentes isoformas podem tanto ditar a que sinais as células são responsivas quanto podem consistir da robustez/estabilidade do sinal quando sua função se sobrepõe ao de outros receptores. Dessa forma, a descoberta do FGFR4 em queratinócitos pode ter implicações importantes na cicatrização de feridas e em condições patológicas como o câncer.

Equilíbrio dinâmico e homeostasia

O termo homeostase se refere a capacidade dos organismos de manterem uma condição estável ~~a despeito~~ em um equilíbrio que difere do de seu ambiente. Por exemplo, um urso polar é capaz de manter sua temperatura corporal dentro de uma determinada faixa que permite que seus processos biológicos ocorram a despeito de temperaturas ambientais de $-40°C$. O mesmo podemos dizer para o pH de seus fluidos corporais, sua concentração de sais, de metabólitos, etc. Isso só é possível

Favor não escrever no verso

devido à existência de mecanismos sensores e transdutores que permitem que o organismo contraponha às forças externas de mudança e se adapte a elas. Dentre esses mecanismos, estão as alças de "feedback" hormonais e em transduções de sinais, as mudanças de expressão gênica, etc. Como resultado o organismo alcança um estado estacionário que, longe de ser estático, é mantido por mecanismos altamente dinâmicos.

Um bom exemplo disso são os mecanismos intracelulares que percebem variações nos níveis da nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD^+) e disparam adaptações para manutenção de seus níveis em estado estacionário compatíveis com suas funções. O NAD^+ é classicamente conhecido como um co-fator de reações de óxido-redução e participa de inúmeras reações metabólicas catalizadas por diversas desidrogenases. O NAD^+ também é substrato de enzimas como as sirtuínas (que de forma geral são deacetilases de proteínas), as PARPs (poli-ADP-ribosil polimerases) e glicosil-hidrolases como CD38, CD157 e SARM1, as quais produzem segundos mensageiros como o ADPR, cADPR ou NAADP que regulam o fluxo de cálcio intracelular. Dessa forma, o NAD^+ é substrato de enzimas sinalizadoras. Nessas reações, há uma quebra da ligação glicosídica entre a ribose e o anel da nicotinamida do dinucleotídeo, resultando no consumo de NAD^+ com liberação de nicotinamida. Isso difere das reações de óxido-redução que NAD^+ participa, em que ele é inter-convertido entre sua forma oxidada (NAD^+) e reduzida (NADH), que não resultam em uma diminuição dos "pools" totais de nicotinamida. Por isso, as enzimas

Favor não escrever no verso

que realizam a remoção da nicotinamida da molécula, consequentemente na "quebra" do NAD^+, são conhecidas como NADases.

Em condições diversas, como exposição à radiação ultravioleta que leva a danos no DNA ou em condições inflamatórias, o aumento da atividade de NADases como as PARPs (que participam da resposta a dano no DNA) ou CD38 (muito expressa em células imune ativadas), dentre outras, pode levar a um consumo exacerbado de NAD^+ de forma não seja possível de ser compensada pelas suas vias de síntese. Nesse contexto, as sirtuínas 1 (SIRT1) é devido às suas propriedades cinéticas, as sirtuínas agem como sensores dos níveis de NAD^+. Elas têm em geral baixa afinidade ao NAD^+ como substrato, sendo que o K_M das Sirtuínas SIRT1-3 variam em torno de 30-100μM, estando dentro dos níveis fisiológicos de NAD^+ intracelular. Dessa forma, uma diminuição da disponibilidade de NAD^+ impacta profundamente sua atividade. Sirtuínas como a SIRT1 são deacetilases de histonas e regulam a expressão gênica a nível epigenético. Foi recentemente demonstrado que uma queda nos níveis de NAD^+ decorrente da exposição de queratinócitos à radiação ultravioleta (e consequentemente aumento da atividade de PARP1 em resposta a dano no DNA) leva à uma redução da atividade de SIRT1 e, consequentemente, à modulações epigenéticas que levam ao aumento da expressão gênica de NAMPT (nicotinamida fosforibosiltransferase), enzima da etapa limitante da via de salvamento da nicotinamida, o que aumenta a capacidade das células de reciclar nicotinamida para a síntese de NAD^+. Esse me-

UFRJ

canismo sensor intrínseco permite que as células re-estabeleçam os níveis de NAD^+ intracelular necessários à função normal de todas as enzimas dependentes de NAD^+, garantindo a homeostasia do sistema. Interessantemente, recentemente se descobriu que o tempo de meia-vida de NAD^+ no organismo é surpreendentemente curto, variando de 15 minutos, no baço, a 16h no músculo, girando em torno de 2h na maioria dos tecidos. Isso se dá à atividade contínua de NADases, que tem funções biológicas importantes como a manutenção da integridade do genoma e sinalização, e às vias de síntese que balanceiam os fluxos de degradação de NAD^+. Esse é um bom exemplo de equilíbrio dinâmico, em que os níveis de estado estacionário de uma molécula são mantidos pelo fluxo contínuo de vias de síntese e degradação.

Outro exemplo clássico de mecanismos homeostáticos no metabolismo são aqueles envolvidos na homeostase de glicose. Apesar da maioria das células terem a capacidade de oxidar diferentes substratos para fins energéticos, como os ácidos graxos e aminoácidos, no organismo existem células que utilizam ou dependem exclusivamente de glicose para síntese de ATP, como as hemácias e determinadas células do cristalino. Além disso, tecidos como o tecido nervoso central e a placenta possuem barreiras hematológicas que não permitem a passagem, por exemplo, de ácidos graxos da circulação (que trafegam principalmente associados à albumina), sendo então altamente dependentes da captação de glicose da circulação. Considerando que o cérebro humano, que apesar de

Favor não escrever no verso

representam 2% do peso corporal consome cerca de 20% da glicose do organismo, e de sua função essencial na coordenação dos inúmeros processos biológicos do organismo, ~~esse fato~~ isso enfatiza ainda mais a necessidade dos organismos como o de mamíferos de manter os níveis de glicose circulante em uma faixa estreita, em torno de 5mM. Isso se dá por mecanismos sensores de glicose que regulam a liberação de insulina e glucagon no pâncreas. Quando os níveis de glicose aumentam (por exemplo, durante uma refeição rica em carboidratos), os efeitos da insulina (aumento de glicogênio hepático, síntese de ácidos graxos no fígado e nos adipócitos, síntese de glicogênio muscular - ou seja, ~~estímulo~~ síntese de reservas no organismo) predominam, enquanto que em situações metabólicas como no jejum, os efeitos do glucagon (estímulo da gliconeogênese hepática, oxidação de ácidos graxos no músculo, lipólise no tecido adiposo, etc.) prevalecem. Dessa forma esses dois hormônios coordenam vias antagônicas frente a condições metabólicas distintas, garantindo a homeostase do organismo

Genes, ambientes e respostas biológicas

O dogma central da biologia molecular proposto por Francis Crick, em que o fluxo de informação gênica parte do DNA, é transmitido por RNA mensageiros resultando na síntese de proteínas é de fato um caminho importante e essencial na transmissão de informações gênicas, mas não é o único. Hoje se sabe que informações podem partir do RNA para o DNA, como no caso dos retrotransposons e da

UFRJ - Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho

transcrição reversa (mediada por retrovírus), dentre outros. Curiosamente a cientista Barbara McClintok, que descobriu os elementos transponíveis no DNA antes mesmo do dogma central da biologia molecular (por volta da década de 40), foi muito criticada na época por estar contrária às ideias vigentes na época. Posteriormente seus trabalhos foram devidamente apreciados, sendo que ela ~~foi~~ recebeu um prêmio Nobel na década de 80 com essas descobertas. Bárbara foi também uma das primeiras pesquisadoras a propor a existência de herança genética independente da sequência de DNA, o que está incorporado ao atual conceito de epigenética. A epigenética vem reconhecendo e descrevendo mecanismos que, por exemplo, conectam adaptações ambientais à alterações no genoma e sua transmissão hereditária.

A interação ambiente-gene pode ser vista de diferentes formas. ~~Um gene pode~~ Por exemplo, ~~diferenças nas condições ambientais podem ser percebidas~~ um gene pode favorecer adaptações frente a insultos ambientais de forma a disparar uma sinalização que resultará ~~em~~ nos efeitos biológicos necessários para que tais adaptações ocorram. Por exemplo, ~~a~~ mutações no gene da acetaldeído desidrogenase 2 (ALDH2) que afetem a atividade dessa enzima faz com que os organismos tenham menor capacidade de metabolização do álcool, resultando na predisposição de doenças como câncer e Alzheimer's. Por outro lado, o ambiente pode causar ~~mutações~~ alterações epigenéticas e alterar de forma relativamente estável as características daquele organismo. Um exemplo clássico é o de gêmeos idênticos, que embora sejam geneticamente iguais

possuem características físicas e psicológicas ~~e~~ distintas, sendo que inclusive a predisposição a doenças (em gêmios idênticos) altera dependendo do ambiente em que vivem.

Dessa forma, muita da interação ambiente-gene é mediada por alterações epigenéticas no genoma. As marcas epigenéticas são mediadas por alterações na estrutura da cromatina que não interferem com a sequência de DNA. Elas são responsáveis pelo silenciamento ou regulam expressão gênica. As marcas epigenéticas mais conhecidas e mais ~~abundantes~~ abundantes são a metilação do DNA, acetilação e metilação de histonas. Elas são moduladas por enzimas conhecidas como "writers" tais como a metilase de DNA (DNMTs), ~~histonas~~ acetilases de histonas (HATs) e metilases de histonas, que adicionam as marcas epigenéticas, e as "erasers" tais como as demetilases de histonas, deacetilases de histonas (como as sirtuinas) e as demetilases de DNA. Essas alterações epigenéticas são reconhecidas por proteínas que mediam a repressão ou tornam o ~~gene~~ gene mais permissivo à expressão. Enquanto metilações no DNA, ~~que~~ que se dá principalmente em ilhas CpG (metilação em Citosina-5metC) são associados à repressão gênica, a ~~adição de gru~~ acetilação de histonas ~~faz com que as~~ em resíduos de lisina faz com que sua carga seja neutralizada e diminua a interação DNA-histonas, tornando esses sítios mais acessíveis à maquinaria de transcrição.

Existem ainda múltiplas outras formas de regulação epigenéticas, como sumoilação, ubiquitinação, ADP-ribosilação de histonas, etc. No caso da ADP-ribosilação, que foi comentado anteriormente

Favor não escrever no verso

Ah mediado por PARPs, esse é um bom exemplo de interação ambiente-gene. Danos de DNA causados por intercalantes no DNA ou por danos físicos podem causar quebras de fita simples ou dupla no DNA, o que é percebido pela PARP1. A adição de polímeros de ADPR (PAR), seja linear ou ramificado, em outras proteínas ou nela mesma resulte no recrutamento de maquinarias de reparo para o sítio de injúria no DNA. PARP1 é capaz de PARilar proteínas como p53 e ATM (uma das principais quinases mediadoras de resposta de dano no DNA), recrutando-as e modulando sua atividade, além de levar o recrutamento de outras proteínas contendo domínio de reconhecimento de PAR como topoisomerases, nucleases e de proteínas da maquinaria de recombinação homóloga, que irão realizar reparo no DNA. Se o dano for muito intenso, as PARPs podem produzir grandes quantidades de PAR, que podem entrar na mitocôndria, levando à liberação do fator apoptótico AIF, que entrando no núcleo induz a fragmentação de pedaços grandes no DNA, disparando um tipo de morte conhecido como parthanatos. Dessa forma, um estímulo induzido por uma injúria ambiental, como radiação UV, é sentida pelas células que disparam um mecanismo adaptativo que leva à homeostase (neste caso, induzindo reparo no DNA ou levando as células muito danificadas à morte, evitando problemas maiores como o câncer).

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho
Concurso para Professor Adjunto
MC-015 – Integração de Sistemas Biológicos
Edital nº 377 de 25 de maio de 2022, publicado no DOU nº 102 de 31 de maio de 2022 - consolidado com as alterações dos Editais nº 402 de 31 de maio de 2022 e nº 435 de 31 de maio de 2022

Boletim Eletrônico em Ciências Biológicas

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 12

No. fl. 1

- Equilíbrio Dinâmico, Homeostase

O termo homeostase foi cunhado por Walter Cannon a partir da união de dois radicais de origem grega: "Homeo", que significa igual e "Stasis", parado ou estático. Claude Bernard, considerado o pai da fisiologia moderna diz disse que a homeostase se refere à capacidade de células ou organismos complexos de regular, através de diversos mecanismos relacionados à vários fatores e condições, seu ambiente interno frente à variações do ambiente externo. Podemos é claro, nos referir a microorganismos simples como bactérias e algas ou a organismos multicelulares muito mais complexos como o próprio Homem.

É relevante pontuar também, que quando falamos em homeostase, podemos nos referir a temas específicos como temperatura, pH, volume extracelular, concentração de íons ou podemos usar o termo homeostase de maneira mais abrangente, falando em homeostase corporal, por exemplo.

UFRJ

É necessário que haja um equilíbrio dinâmico entre os mecanismos presentes e que eles sejam capazes de agir em conjunto, o que requer muitas vezes, pontos de regulação em comum, com a participação de múltiplos tecidos e órgãos, de modo que a restauração de um parâmetro à normalidade após uma perturbação não leve a desregulação de outro.

Assim, é necessário que para o funcionamento ideal de um organismo complexo como o humano, tais parâmetros sejam mantidos dentro de faixas estreitas de controle. Temperatura e pH por exemplo são parâmetros importantíssimos para a cinética enzimática. Pequenas alterações podem levar a significativas alterações na velocidade de reações, levando a problemas severos. Variações mais drásticas podem até mesmo afetar a organização tridimensional de proteínas de maneira tal, que a própria vida seja inviabilizada.

É fácil até mesmo para crianças perceber alguns desses mecanismos, embora não lhes seja possível discernir certas sutilezas. Mamíferos como nós, são criaturas homeotérmicas, possuindo a capacidade de regular nossa temperatura corpo

UFRJ

ral frente à alterações climáticas ou mesmo de ~~horário~~ ciclos de dia e noite. Termoreceptores periféricos são capazes de perceber variações de temperatura e dispará-las, levando esta informação ao hipotálamo. Enquanto o hipotálamo posterior responde à situações onde é necessário perder calor o hipotálamo anterior, sinaliza conservação de calor. Somos capazes de conservar calor através da ativação do tecido de gordura marrom, ligado à termogênese, já que a fosforilação oxidativa não gera ATP neste caso e a energia livre é dissipada como calor, e vasoconstrição periférica, em eventos regulados pelo sistema nervoso autônomo e receptores ~~colinérgicos~~ adrenérgicos, ~~enquanto que é por~~ Além disso, há também ativação do sistema somatomotor, responsável por tremores musculares. Enquanto isso, a perda de calor é regulada através de receptores colinérgicos pós-ganglionares que estimulam a sudorese e vasodilatação periférica. É fácil perceber o quanto isso é sofisticado quando olhamos para répteis, por exemplo. Jacarés regulam sua temperatura de modo muito mais simples, através da regulação à exposição ao sol. Se calor ficam mais na água

UFRJ - CCS - INSTITUTO DE BIOFÍSICA CARLOS CHAGAS FILHO

ou na lama e no rio buscam mais o sol. É fácil perceber através de um exemplo simples, o gerão é importante a integração de diversos tecidos para a manutenção de homeostase.

Para deixar isso bem claro, vamos nos aprofundar na regulação da concentração do íon sódio e sua homeostase.

O Na^+ é o principal regulador do volume extracelular e é extremamente importante, portanto, na regulação de pressão arterial. Além disso, vários eventos celulares dependem de manutenção do gradiente iônico de sódio para ocorrer, como por exemplo neurotransmissão, contração muscular e qualquer evento que depende de despolarização de membranas, como a regulação de abertura e fechamento de canais iônicos ~~de voltagem~~ dependentes de voltagem.

O principal órgão envolvido na regulação do Na^+ são os rins. É um processo complexo e altamente regulado, que se conecta intimamente com a regulação de outros parâmetros relevantes, além de ser extremamente dinâmico, sendo o rim, capaz de responder de maneira rápida e eficaz um resposta à variações na ingesta de sódio.

Favor não escrever no verso

A regulação do balanço de sódio ocorre no néfron. Um néfron representa a menor unidade morfofuncional do rim, capaz de executar individualmente, ainda que com diferentes eficiências todas as tarefas de transporte do rim. Para efeito de contexto, um ser humano saudável tem cerca de 1 milhão de néfrons por rim.

O néfron pode ser dividido em 2 partes: o corpúsculo renal ~~glomérulo~~ e a região tubular renal. O glomérulo é um emaranhado de capilares que parte da arteríola aferente, que se divide em 5 - 6 ramos e cada uma forma cerca de 30 alças. Esses capilares se reúnem novamente na arteríola eferente. ~~A filtração glo~~ Além do glomérulo, o corpúsculo renal também inclui a cápsula de Bowman e a filtração glomerular representa a passagem do fluido para o espaço de Bowman. Esse é um processo passivo, impulsionado primordialmente pela pressão hidrostática glomerular e o único fator que seleciona as moléculas a serem filtradas é a barreira de filtração, composta pelo endotélio glomerular fenestrado, pela membrana basal (rica em colágeno e proteoglicanos de carga negativa) e os podócitos. A barreira filtrante

dificulte apenas a passagem de moléculas grandes e de carga negativa, ou seja, proteínas plasmáticas. Íons como sódio e cloreto e moléculas pequenas como a glicose são filtradas livremente. Cerca de 10% do plasma é filtrado a cada momento, mas como a água passa livremente não há alteração de concentração de Na^+.

No primeiro trecho tubular, o túbulo proximal o sódio é reabsorvido através de vários co-transportadores aqui cabe como o de Na^+/glicose (responsável pela reabsorção total de glicose filtrada) e também do trocador Na^+/H^+, todos impulsionados pelo gradiente eletroquímico de Na^+ gerado pela Na^+/K^+-ATPase basolateral. Neste trecho a reabsorção é isosmótica, já que o epitélio proximal, cuja junções do tipo "tight" é incapaz de manter um gradiente osmótico, permitindo grande reabsorção paracelular de água p/ o interstício.

O trecho seguinte é o ramo descendente da alça de Henle. Partindo do córtex para a medula renal, apresenta morfologia e funcionalidades bem diferentes do trecho anterior. Não existem mecanismos relevantes de transporte ativo, mas

UFRJ

e alta expressão de aquaporina 1 o torna muito permeável à água, que é reabsorvida pelo fluido tubular impulsionado pelo gradiente osmótico elevado na medula progressivamente hiperosmótica. Há uma pequena reabsorção de Na^+ e ureia água, de maneira passiva, graças ao mesmo gradiente.

O trecho seguinte, o ramo fino ascendente tem morfologia simular, mas ~~funcionalidade~~ funcionalidade distinta. Apresenta poucas aquaporinas, sendo quase impermeável à água - o gradiente osmótico em direção ao córtex promove grande reabsorção de Na^+ e ureia, diluindo o fluido tubular.

O ramo espesso da alça de Henle é especial pela presença do transportador tríplice $Na^+/K^+/2Cl^-$, que reabsorve grande quantidade de sódio impulsionado pela alta atividade de Na^+/K^+-ATase basolateral. Além disso sua atividade apresenta o efeito unitário que é multiplicado pelo mecanismo de contra-corrente da alça de Henle e gera e mantém o hiperosmolaridade medular. Aqui se reabsorve 25% da carga filtrada de Na^+, atrás apenas do túbulo proximal, responsável por 65%.

O trecho seguinte é o túbulo distal inicial

Favor não escrever no verso

e embora o sódio seja reabsorvido ao nível através do co-transportador Na^+/Cl^-, a característica mais relevante desse trecho é a presença de mácula densa, células sensíveis à carga de sódio, ambos estudos mais recentes digam que a sensibilidade seja mais ao Cl^-, e capazes de perceber variações no lume. Essas células se comunicam com alterações às células justaglomerulares, responsáveis pela produção e secreção de renina. Reduções na [NaCl] levam a aumento da liberação de renina, uma enzima proteolítica responsável pela conversão do angiotensinogênio em angiotensina I (Ang I), que pode ser clivado pela enzima conversora de angiotensina (ECA) em ang. II, um peptídeo vasoativo potente, capaz de vasoconstrição generalizada, mas que em nível local tem ação preferencial na arteríola eferente, levando a vasoconstrição e aumento da pressão hidrostática glomerular e elevando o ritmo de filtração glomerular (RFG). O RFG pode ser controlado, portanto pela conc. de ang II na circulação local. Além disso Ang II é capaz de estimular diretamente a reabsorção de Na^+ por ativar a Na^+/K^- ATPase como mostra

Favor não escrever no verso

dos pos trabalhos do laboratório do Dr. Aníbal Gil Lopes, recentemente aposentado do IBCCF. Além disso a ang II estimula a liberação de aldosterona pela adrenal, fechando o eixo de regulação do Sistema Renina - Ang. - Aldosterona.

Os túbulos seguintes, o distal final e coletor cortical e medular tem morfologia semelhantes e respondem à aldosterona, que aumenta a expressão dos canais de sódio ENaC, além de estimular a atividade da Na^+/K^+ ATPase. É importante mencionar que o trecho medular do cortical, é extremamente importante p/a regulação do volume, pois ser responsivo à vasopressina, sendo capaz de grande reabsorção de água livre.

Desta forma, os rins são capazes de regular finamente a conc. de sódio no líquido extracelular.

Comunicação Intercelular

Favor não escrever no verso

Podemos imaginar células como indivíduos em uma sociedade e como tal é necessário que elas se comuniquem. Como células não são capazes de falar, precisam de uma outra forma de linguagem e assim, a liberação de compostos solúveis no meio extracelular funciona como uma linguagem química universal.

As possibilidades são imensuráveis quando tratamos das hipóteses pelas quais células se comunicam. Essa comunicação pode ser cooperativa ou até mesmo hostil. Bactérias de vida livre precisam competir por nutrientes com fungos e outras bactérias e para obter vantagens nessa competição acirrada, produzem e secretam antibióticos para os quais são resistentes, mas afetam o crescimento de colônias rivais.

Podemos também falar de organismos complexos, onde células se organizam em órgãos e tecidos altamente especializados e precisam executar funções específicas para que o corpo funcione como um todo. O hipotálamo é capaz, por exemplo, de perceber variações na osmolaridade do líquido extracelular e regular, aumentando ou reduzindo a produção e secreção de vasopressina, aumen-

UFRJ

tando ou reduzindo a reabsorção de água no coletor medular e regulando assim, a frequência e volume urinários.

Podemos ainda dividir a comunicação entre células de acordo com a distância entre endócrino, parácrino e direto.

A comunicação endócrina envolve tecidos localizados distantes uns dos outros e é mediada por hormônios secretados na corrente sanguínea, como a insulina por exemplo, secretada por células β do pâncreas, mas exercendo seus efeitos principais no que toca o metabolismo energético em hepatócitos, adipócitos e musculatura esquelética.

A comunicação parácrina envolve células próximas umas das outras. Um excelente exemplo é o do microambiente tumoral, onde vários tipos celulares secretam citocinas estimulando diferenciação e proliferação de outras células.

Também podemos falar em comunicação direta. Através de junções do tipo "Gap", células vizinhas podem se comunicar sem a participação do meio extracelular. MicroRNAs, sequências pequenas não codantes de RNA podem ser trocados via "GAP junctions", além de exossomos e são

UFRJ - INSTITUTO DE BIOFÍSICA CARLOS CHAGAS

capazes, estima-se, de regular a expressão de 60% do genoma humano.

Um excelente exemplo de como células diferentes se comunicam pode ser mostrado através da comunicação mediada por carboidratos.

Cada vez ganha mais atenção o ramo da glicobiologia, que permeia outras ~~disp~~ disciplinas mais tradicionais e estudos mostram a importância de glicoconjugados para a modulação de eventos inflamatórios, ~~por exemplo~~ e modulação de resposta imune.

A presença de ácido siálico, um carboidrato de 9 carbonos e carga negativa é extremamente relevante para o reconhecimento "self/nonself" pelo sistema imune. Um exemplo claro de como carboidratos são importantes no âmbito do sistema imune pode ser observado na doença de Chagas.

Descrita por Carlos Chagas, a doença que leva seu nome é provocada pelo parasita Tripanosoma cruzi. T. cruzi é incapaz de produzir ácido siálico, mas o incorpora à mucinas em sua membrana. Como ele faz isso? Através de sua enzima trans-sialidade, descoberta em 1985 por pesquisadores do IBCCF. A trans-sialidase (TS) existe em 2 formas. Uma forma solúvel, com atividade

enzimática e uma forma de membrana, inativa, mas com função de lectina. As duas são extremamente importantes para a invasão e escape do sist. imune

A forma solúvel é capaz de retirar ácido siálico de resíduos terminais de glicoconjugados de superfície das células do hospedeiro e adicioná-los a resíduos de galactose (Gal) de suas próprias mucinas. Não apenas isso, sendo capaz de re-sialilar glicoconjugados do hospedeiro.

A principal resposta imune contra T. cruzi é mediada por linfócitos TCD8+ e um dos primeiros eventos na ativação dessas células é a perda de ácido siálico (Sia). Dados de nosso laboratório mostram que a TS é capaz de aumentar o nível de sialidação de células TCD8 como verificado com o uso de lectinas conjugadas a FITC por citometria de fluxo. Além disso nossos dados mostram que o alvo preferencial é provavelmente CD43

~~A for~~ Assim, a forma ativa de TS é capaz de reduzir a ativação de células TCD8+, reduzindo o número de células efetoras ativas e ao decorar as mucinas de membrana c/ Sia é capaz de

mascarar ~~expressão~~ sua presença, "escondendo-a" das células citadas.

Além disso em outro trabalho propomos que a presença de TS inativa, embora não seja capaz de auxiliar no escape do sistema imune, é capaz de se ligar à resíduos de Sia terminais de células do hospedeiro e assim, ativá-las.

Um outro exemplo de como carboidratos podem influenciar a resposta imune é através das galectinas.

Galectinas são lectinas capazes de se ligar a resíduos segmentados de LacNAc (lactosamina). Já foi mostrado que a presença de galectina-1 (Gal-1) leva à redução da resposta inflamatória em carcinoma colorretal (CRC). Trabalhos do Dr. Gabriel Rabinovich mostraram em 2021, que a presença de Gal-1 leva a aumento do número de linfócitos TReg no microambiente tumoral e que a redução de sua expressão através de CRISPR leva a um microambiente de supressão tumoral.

Trabalhos do mesmo grupo mostram que em modelo de tumor de pâncreas, galectina-1 ~~aumenta a expressão de~~ leva à ativação de

UFRJ

fatores transcricionais ligados à proliferação e progressão tumoral, além de angiogênese. A supressão de expressão de bcl1 leva a um melhor prognóstico, com tumores menores e menos vascularizados.

Os dois exemplos descritos mostram que glicoconjugados são extremamente importantes para a comunicação entre células, seja entre células de diferentes tecidos ou mesmo de espécies distintas.

Favor não escrever no verso

Genes, Ambiente e Respostas Biológicas

A identidade celular é dada pelo seu fenótipo, pelo conjunto de características que a mesma exibe. O fenótipo é um produto do genoma da célula, ou seja, do conjunto de genes que a célula é capaz de expressar. Para nós, humanos, isso é determinado na fecundação do óvulo, onde as células haplóides do pai (espermatozóide) e da mãe (óvulo) se combinam para formar uma nova célula diplóide, que eventualmente será um novo indivíduo completo. O outro fator na equação do fenótipo vem dos genes que efetivamente são expressos. Isso é determinado pela ativação de fatores transcricionais que vão promover a ~~[illegible]~~ a supressão ou expressão de genes. Vale notar que o fenótipo de células pode ser alterado ao longo do tempo, mesmo sem qualquer condição patológica. Durante o processo de regeneração tecidual que procede um corte na pele, por exemplo, células epiteliais passam a exibir um fenótipo mesenquimal, com maior mobilidade e expressão de frank de proteínas de adesão. E uma vez fundo o estímulo, podem retomar o fenótipo original. É o processo de transição epitélio-mesen

UFRJ - CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE - INSTITUTO DE BIOFÍSICA CARLOS CHAGAS

Quimal que promove o fechamento rápido do corte e ~~o~~ ele é um evento recorrente tb no desenvolvimento embrionário.

A expressão do fenótipo depende ainda, de 2 fases distintas, mas ~~intimam~~ intimamente relacionadas. A fase de estabelecimento e a de manutenção.

A fase de estabelecimento é a determinada pela presença ou ausência de fatores transcricionais que moldarão o fenótipo da célula. Já a fase de manutenção está ligada a alterações não ligadas diretamente à regulação da expressão, como por exemplo modificações pós-traducionais em ~~com~~ histonas, que podem manter ou modificar o estado da cromatina ao longo de várias etapas da vida da célula e ~~alterar~~ manter a expressão de determinados genes, mesmo na ausência do fator transcricional inicial. ~~Tais altera~~

Células, sejam elas parte de um organismo maior, ou o próprio organismo, estão inseridas em um meio e precisam ser capazes de responder à variações do meio. Alterações no fenótipo celular sem alteração do genótipo são chamadas de alterações epigenéticas e podem ser provocadas

UFRJ - Instituto de Biofísica Carlos Chagas

por alterações no microambiente onde estão inseridas, como por exemplo lesões isquêmicas levando à ~~esp~~ estabilização de HIF 1α, ~~ou~~ graças à redução na tensão de oxigênio ou do macroambiente, como a presença de ~~BPAs~~ ~~PK~~ ~~PHAs~~ PAHs (hidrocarbonetos policaromáticos) provenientes de poluição no ar levando a alterações de metilação de DNA, alterando padrões de expressão. Além disso, as alterações podem ser causadas por mutações no DNA. Um exemplo clássico é o de mutações causadas por radiação, como a UV por exemplo, levando a erros na duplicação do DNA e à doenças neoplásicas.

Ficaria impossível delinear todas as formas como o ambiente (micro ou macro) pode interferir com a expressão genética das células, então vamos focar em modelos neoplásicos e como fatores micro e macroambientais podem afetá-los.

Um exemplo extremamente relevante é o do fumo e da nicotina. Até o início dos anos 90, existia um glamour muito grande em torno da indústria do cigarro, estimulando o hábito com propagandas na TV e até produtos infantis estampados com marcas de cigarro. Campanhas de conscientização

Favor não escrever no verso

e uma série de restrições reduziram o consumo de nicotina, mas o mesmo volta a crescer com o sucesso dos cigarros eletrônicos.

Existem diversas substâncias cancerígenas nos cigarros, capazes de iniciar a tumorigênese, tanto por afetar a metilação e levar à ativação de oncogenes ou inibir genes supressores de tumor, por afetar mecanismos de reparo de DNA e promover instabilidade genética.

A nicotina no entanto não é tumorigênica, embora seja o principal componente do cigarro e seja associada ao câncer. Isto ~~ocorre~~ porque a nicotina, através da interação da ~~nicotina~~ com receptores colinérgicos nicotínicos, principalmente no gânglio basal, é capaz de estimular intensa liberação de dopamina, promovendo uma sensação de recompensa, quase imediata, já que através do endotélio pulmonar, a nicotina chega ao Sistema Nervoso Central em poucos segundos e sua ação é extremamente adictiva, aumentando a exposição de indivíduos a outros compostos no cigarro.

Além disso, apesar de não ser um carcinógeno, a nicotina é capaz de provocar

em células tumorais, a aquisição de um fenótipo de resistência graças à sua capacidade de estabilizar bcl2, aumentando sua meia-vida.

A bcl2 é um membro anti-apoptótico de família que leva seu nome e é ubiquitinada e marcada para degradação proteossomal, através de uma via que depende de sua interação com Keap1. A nicotina prejudica a interação de bcl2 com Keap1 e passa a ter uma meia-vida mais elevada, garantindo à célula tumoral uma maior resistência à apoptose.

Um dos grandes desafios da oncologia, além de metástase é resistência a múltiplas drogas (MDR). O fenótipo MDR é sempre multifatorial e muitas causas podem estar envolvidas, sendo a alteração de expressão de proteínas de família bcl2 uma delas. Estudos já mostram que tratamentos de apenas 5 ou 2 semanas com doses baixas de nicotina promovem resistência em células de carcinoma pulmonar à cisplatina. Dados de nosso laboratório (mostrados em congresso), mas não publicados usando outros modelos, como câncer de mama, corroboram os resultados gerados à bcl2 e mostram

Favor não escrever no verso

As alterações já vistas por nós em modelos clássicos de indução de resistência, tanto pelo tratamento de células A549 de pulmão humanas com cisplatina, quanto em células PC-3 tratadas com paclitaxel, onde além de alteração na expressão de bcl-2 e outras proteínas conectadas ao fenótipo MDR, como ABCC1 (MRP1) e ABCG2 (BCRP), também observamos alterações no nível total de sialilação de superfície celular, tanto pela ação sialidase (SIA) em ligações $\alpha 2,3$ ou $\alpha 2,6$. As mesmas alterações de SIA são observadas em células 4T1 de câncer de mama murino.

Além disso células cultivadas em condições de hipóxia sofrem ativação do programa de transição epitélio-mesenquimal (TEM) com as mesmas alterações provocadas pela ativação clássica via TGFβ1, via ativação de Src e AKT 1/2. São notadamente observáveis a troca de caderinas (perda de expressão de E-caderina e aumento de N-caderina) e aumento de expressão de vimentina e fibronectina, notadamente a isoforma oncofetal O-glicosilada.

Também é importante notar como o ambiente

UFRJ

pode contribuir para a tumorigênese. É o caso do arsênio, por exemplo. O arsênio é um contaminante comum na água e no solo, e consequentemente em todos os alimentos.

Estudos mostram que o tratamento crônico de células normais de mama com quantidades pequenas de arsênio é capaz de promover transformação.

A explicação para isto reside em 2 ideias principais.

Primeiro, a metabolização do arsênio envolve metilação e o doador de metil usado é o mesmo que o envolvido na metilação de DNA. Isto leva a um grande de hipometilação de DNA levando à alterações epigenéticas possivelmente graves.

Em segundo lugar, o arsênio prejudica a via FA/BRCA de reparo de DNA, então a exposição crônica leva a acúmulos de erros de duplicação, promovendo o tipo de instabilidade genética, que associados à alterações epigenéticas tem alto potencial neoplásico.

Estes exemplos deixam claro que como o meio e nosso ambiente são capazes de

UFRJ - Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 12

No. fl. 23

afetar a expressão gênica e portanto à resposta de células e tecidos, e no escopo do câncer, não só ~~iniciar a tumorigênes, como~~ são capazes de iniciar a tumorigênea, mas também de afetar a progressão tumoral, aumentando malignidade e levando a um mal prognóstico.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho
Concurso para Professor Adjunto
MC-015 – Integração de Sistemas Biológicos
Edital nº 377 de 25 de maio de 2022, publicado no DOU nº 102 de 31 de maio de 2022 - consolidado com as alterações dos Editais nº 402 de 31 de maio de 2022 e nº 435 de 31 de maio de 2022

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 13

No. fl. 1

Favor não escrever no verso

4) COMUNICAÇÃO INTERCELULAR

A COMUNICAÇÃO INTERCELULAR É UM PROCESSO FUNDAMENTAL PARA O FUNCIONAMENTO DE ORGANISMOS MULTICELULARES. DESSA FORMA, IREI ABORDAR O TÓPICO DE COMUNICAÇÃO INTERCELULAR NO CORAÇÃO.

O CORAÇÃO É RESPONSÁVEL PELA EJEÇÃO DE SANGUE, CONSEQUENTEMENTE SEU FUNCIONAMENTO É CHAVE PARA A SOBREVIDA. AINDA DIANTE DO AUMENTO DE DEMANDA DE OXIGÊNIO, POR EXEMPLO, A EJEÇÃO DE SANGUE DEVE AUMENTAR RAPIDAMENTE, POR OUTRO LADO, O AUMENTO CRÔNICO DE MAIOR DEMANDA METABÓLICA PODE LEVAR À ADAPTAÇÕES CRÔNICAS NO TECIDO CARDÍACO. DESSA MANEIRA, DIFERENTES MECANISMOS DE COMUNICAÇÃO INTERCELULAR FORAM DESENVOLVIDOS PARA CONTROLAR O CORAÇÃO DE FORMA AGUDA E CRÔNICA.

PARA EJEÇÃO DE SANGUE EFICIENTE, A CONTRAÇÃO DAS [illegible] CÉLULAS CARDÍACAS

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 13

No. fl. 2

PRECISA OCORRER DE MANEIRA SINCRONIZADA. PARA ISSO, A COMUNICAÇÃO ENTRE OS CARDIOMIÓCITOS OCORRE DE MANEIRA EXTREMAMENTE RÁPIDA E EFICIENTE. AS CHAMADAS JUNÇÕES COMUNICANTES PERMITEM QUE ÍONS E PEQUENAS MOLÉCULAS, COMO AMP CÍCLICO, SEJAM TRANSPORTADOS ENTRE CÉLULAS ADJACENTES. DURANTE A PROPAGAÇÃO DO IMPULSO ELÉTRICO NA FASE DE DESPOLARIZAÇÃO DO CICLO CARDÍACO, ÍONS PASSAM ENTRE AS CÉLULAS POR POROS FORMADOS PELAS JUNÇÕES COMUNICANTES. ESSES POROS SÃO FORMADOS POR PROTEÍNAS TRANSMEMBRANA, EM CADA MEMBRANA DAS CÉLULAS ADJACENTES. A NÍVEL MOLECULAR, AS JUNÇÕES COMUNICANTES SÃO FORMADAS GERALMENTE POR SEIS UNIDADES DE UMA PROTEÍNA CHAMADA DE CONEXINA, DE FORMA QUE CADA MEMICANAL É FORMADO POR SEIS CONEXINAS E CADA PONTO DE JUNÇÃO COMUNICANTE, POR 12 CONEXINAS. NO CORAÇÃO, A CONEXINA CONSIDERADA UMA DAS MAIS RELEVANTES É A CONEXINA 43 (CNX43). A CNX43 PARTICIPA DA DESPOLARIZAÇÃO DO IMPULSO MECÂNICO DE FORMA REFINADAMENTE CONTROLADA. A PERMEABILIDADE

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 13

DE NAS JUNÇÕES COMUNICANTES CARDÍACAS PODEM SER CONTROLADAS POR DIFERENTES FASONES, COMO ALTERAÇÕES DE pH, CONCENTRAÇÃO DE CÁLCIO E MODIFICAÇÕES PÓS-TRANSCIONAIS, MODIFICANDO ASSIM A VELOCIDADE DE DESPOLARIZAÇÃO DO TECIDO CARDÍACO.

EXISTEM DIFERENTES FORMAS DE AVALIAR O FUNCIONAMENTO DAS JUNÇÕES COMUNICANTES CARDÍACAS, DESDE MODELOS INVITRO, COM USO DE ANÁLISES DE CORRENTE E VOLTAGEM, COMO IN VIVO, COMO ATRAVÉS DO REGISTRO DE ELETROCARDIOGRAMA. A PROPAGAÇÃO DO IMPULSO DESPOLARIZANTE DO VENTRÍCULO É REPRESENTADO PELO COMPLEXO QRS DO ELETROCARDIOGRAMA (ECG). DESSA MANEIRA, DISTÚRBIOS CAUSADOS PELA ALTERAÇÃO DA COMUNICAÇÃO INTERCELULAR CARDÍACA PODEM SER OBSERVADOS POR ALTERAÇÃO NO COMPLEXO QRS. ALÉM DISSO, SUBSTÂNCIAS PODEM INDUZIR UMA RESPOSTA CONHECIDA. COMO DESACOPLAMENTO DAS JUNÇÕES COMUNICANTES, POR EXEMPLO O HEPTANOL, ALTERANDO A ELETROFISIOLOGIA CARDÍACA.

ALGUMAS PATOLOGIAS PODEM APRESENTAR

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 13

UM PROCESSO CONHECIDO COMO REMODELAMENTO ELÉTRICO DO CORAÇÃO, AUMENTANDO SIGNIFICATIVAMENTE O RISCO DE DESENVOLVIMENTO DE ARRITMIAS POTENCIALMENTE FATAIS. EM UM ESTUDO PUBLICADO NA REVISTA JOURNAL OF DIABETES EM 2015, FOI DEMONSTRADO QUE CORAÇÕES DE ANIMAIS DIABÉTICOS APRESENTAM DISFUNÇÕES NAS CONEXINAS 43. NESTE TRABALHO, FOI DEMONSTRADO QUE NO CORAÇÃO DIABÉTICO, A MENOR PROPAGAÇÃO DO IMPULSO ELÉTRICO OBSERVADA NO PROLONGAMENTO DO COMPLEXO QRS PODE SER CAUSADA POR UMA MENOR PERMEABILIDADE NAS JUNÇÕES COMUNICANTES DO MIOCÁRDIO ESQUERDO. COMO MECANISMO, FOI DEMONSTRADO UMA DIMINUIÇÃO NOS NÍVEIS DE FOSFORILAÇÃO DE TIROSINA NAS CNX43 DO CORAÇÃO. ALÉM DISSO, O DIABETES CRÔNICO PROMOVEU UMA LATERALIZAÇÃO DAS CNX43 NOS CARDIOMIÓCITOS, EXPLICANDO PELO MENOS EM PARTE, OS DISTÚRBIOS ELÉTRICOS DA CARDIOMIOPATIA DIABÉTICA.

A AÇÃO DA COMUNICAÇÃO ENTRE CÉLULAS CARDÍACAS OS CARDIOMIÓCITOS PODE SER REGULADO POR SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS LIBERADAS POR

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 17

No. fl. 5

CÉLULAS NÃO CANDÍDICAS [redacted], TANTO LOCALMENTE NO CORAÇÃO, A CHAMADA COMUNICAÇÃO PARÁCRINA, COMO ATRAVÉS DE HORMÔNIOS LIBERADOS NA CORRENTE SANGUÍNEA.

AS ALTERAÇÕES METABÓLICAS E HORMONAIS INDUZIDAS PELO DIABETES TAMBÉM CONTRIBUEM PARA A FISIOPATOLOGIA DESSA DOENÇA NO CORAÇÃO. ESTUDOS PUBLICADOS PELO PROFESSOR OSCAR CASIS, PESQUISADOR ESPANHOL, MOSTRAM QUE A INSULINA POSSUI UM PAPEL FUNDAMENTAL PARA A MANUTENÇÃO DO FUNCIONAMENTO ELÉTRICO CARDÍACO. UTILIZANDO O MODELO DE DIABETES DO TIPO 1 (DMT1), FOI DEMONSTRADO QUE A DIMINUIÇÃO DA PRODUÇÃO DE INSULINA PELO PÂNCREAS PODE LEVAR A DIMINUIÇÃO DA CORRENTE DE EFLUXO DE POTÁSSIO NO CORAÇÃO, RESPONSÁVEL PELA FASE I DE REPOLARIZAÇÃO BREVE DO POTENCIAL DE AÇÃO CARDÍACO. COMO MECANISMO, FOI DEMONSTRADO QUE A INSULINA, ATRAVÉS DA VIA DE AKT, AUXILIA NA MANUTENÇÃO DA EXPRESSÃO DA CORRENTE DE EFLUXO DE POTÁSSIO Ito. ESTES ACHADOS RESPONDEM UMA SEGUNDA PARTE IMPORTANTE DO REMODELAMENTO ELÉTRICO DA CARDIOMIOPATIA DIABÉTICA, CHAMADA DE

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 13

No. fl. 6

PROLONGAMENTO DO INTERVALO QT DO ECG. ESSES ACHADOS SÃO EXTREMAMENTE RELEVANTES CLINICAMENTE, UMA VEZ QUE O AUMENTO DO INTERVALO QT AUMENTA SIGNIFICATIVAMENTE O RISCO DE ARRITMIAS VENTRICULARES.

DURANTE MEU DOUTORADO, PUDE CONTRIBUIR PARA O ENTENDIMENTO DE MECANISMOS DE COMUNICAÇÃO INTERCELULAR NO CORAÇÃO. EM NOSSO ESTUDO, DESCOBRIMOS QUE DURANTE O DIABETES, O TECIDO CARDÍACO PASSA A APRESENTAR UM NÍVEL AUMENTADO DE MACRÓFAGOS. ESSAS CÉLULAS DO SISTEMA IMUNOLÓGICO SÃO FUNDAMENTAIS PARA A RESPOSTA IMUNE, NO ENTANTO, EM NOSSO ESTUDO DESCOBRIMOS QUE A HIPERGLICEMIA CRÔNICA POR ATIVAR OS CHAMADOS RECEPTORES DO TIPO TOLL, AUMENTANDO A SINALIZAÇÃO INFLAMATÓRIA. UTILIZANDO MÉTODOS DE IMAGEM E DE EXPRESSÃO DE GENES E PROTEÍNAS, DEMONSTRAMOS QUE DURANTE O DIABETES, OS MACRÓFAGOS PRESENTES NO CORAÇÃO AUMENTAM A ATIVIDADE DE UMA ESTRUTURA CHAMADA DE INFLAMASSOMA NLRP3, O QUAL ATRAVÉS DE CASPASE 1, AUMENTA A LIBERAÇÃO DE CITOCINA INTERLEUCINA 1-BETA (IL-1B). A IL-1B LIBERADA

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 13

DIRETAMENTE NO CORAÇÃO, MODIFICA O MICRO AMBIENTE CARDÍACO, PROMOVENDO REMODELAMENTO ELÉTRICO E ARRITMIAS VENTRICULARES. UM ALVO RELEVANTE E QUE PODERÁ CONTRIBUIR PARA ESTUDOS CLÍNICOS NO FUTURO FOI QUE AO TRATAR ANIMAIS DIABÉTICOS COM UM INIBIDOR DO INFLAMASSOMA NLRP3, COM A MOLÉCULA MCC950, ASSIM COMO AO ANTAGONIZAR O RECEPTOR DE INTERLEUCINA 1, COM A SUBSTÂNCIA CHAMADA ANAKIRA, OBSERVAMOS UMA DIMINUIÇÃO SIGNIFICATIVA DO RISCO DE ARRITMIAS.

BUSCANDO INVESTIGAR OS MECANISMOS DIRETAMENTE NA PROPAGAÇÃO DO IMPULSO ELÉTRICO, DEMONSTRAMOS QUE A INCUBAÇÃO TANTO DE AGONISTAS DO RECEPTOR DO TIPO TOLL COMO DIRETAMENTE COM A IL-1B, PODEMOS OBSERVAR TAMBÉM PROLONGAMENTO DO INTERVALO QT, COMO DA DIMINUIÇÃO DA PROPAGAÇÃO DE IMPULSO DE CAMPO ATRAVÉS DA TECNOLOGIA "MEA" NA QUAL MÚLTIPLOS ELETRODOS MONITORAM A ATIVIDADE ELÉTRICA CELULAR.

ALÉM DO DIABETES, OUTRAS PATOLOGIAS PODEM IMPACTAR NA COMUNICAÇÃO INTERCELULAR CARDÍACA. EM UM ESTUDO DO NOSSO GRUPO,

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 13

DEMONSTRAMOS QUE ANTICORPOS PRESENTES NO PLASMA DE PACIENTES CHAGÁSICOS, NA FASE CRÔNICA, PODEM MODIFICAR A DESPOLARIZAÇÃO DO TECIDO CARDÍACO. NESTE SENTIDO, UTILIZANDO A TÉCNICA EX VIVO COM CORAÇÃO ISOLADO, SEGUNDO POR LANGENDORFF, DEMONSTRAMOS QUE OS ANTICORPOS COM ATIVIDADE TANTO AGONÍSTICA COMO MUSCARÍNICA PODEM ESTAR ASSOCIADOS A DISTÚRBIOS DE CONDUÇÃO, AUMENTANDO O RISCO DE ARRITMIAS DE RÉ-ENTRADA. ESTES ACHADOS SÃO MUITO RELEVANTES CLINICAMENTE, UMA VEZ QUE PACIENTES CHAGÁSICOS APRESENTAM DIFERENTES ALTERAÇÕES, INCLUINDO, REMODELAMENTO ELÉTRICO CARDÍACO E ARRITMIAS VENTRICULARES.

ASSIM, A COMUNICAÇÃO INTERCELULAR É UM ASPECTO FUNDAMENTAL DA FISIOLOGIA CARDÍACA. NO ENTANTO, ALTERAÇÕES EM DIFERENTES ESTRUTURAS PODEM LEVAR A COMPLICAÇÕES POTENCIALMENTE FATAIS.

Favor não escrever no verso

7) EQUILÍBRIO DINÂMICO E HOMEOSTASIA

O EQUILÍBRIO DINÂMICO E HOMEOSTASIA SÃO ASPECTOS FUNDAMENTAIS DO FUNCIONAMENTO DO ORGANISMO DOS ANIMAIS COMPLEXOS. NESTE CENÁRIO, A ATIVIDADE FÍSICA PROMOVE UMA SÉRIE DE MODIFICAÇÕES AGUDAS E CRÔNICAS, QUE QUANDO UTILIZADAS DE MANEIRA CORRETA, PODEM GERAR BENEFÍCIOS PARA SAÚDE. ~~[illegible]~~. ASSIM, IREI ABORDAR A RELAÇÃO DO EXERCÍCIO FÍSICO COM EQUILÍBRIO DINÂMICO E HOMEOSTASIA.

COMO DESCRITO INICIALMENTE PELO FISIOLOGISTA FRANCÊS CLAUDE BERNARD, A MANUTENÇÃO DO EQUILÍBRIO DO MEIO INTERNO É FUNDAMENTAL PARA A VIDA. SEGUINDO ESSA LINHA DE PESQUISA, O FISIOLOGISTA NORTE AMERICANO WALTER CANON DESCREVEU INICIALMENTE O TERMO HOMEOSTASIA, E GRANDES AVANÇOS NA ÁREA, COMO NO CONTROLE DA TEMPERATURA, OSMOLARIDADE E pH.

O EXERCÍCIO FÍSICO AUMENTA A DEMANDA ENERGÉTICA DE FORMA SIGNIFICATIVA. ATIVIDADES INTENSAS COMO CORRIDAS E CICLISMO PODEM AUMENTAR EM VÁRIAS VEZES A TAXA METABÓLICA. DESSA MANEIRA, PARA MANTER A OFERTA DE OXIGÊNIO E SUBSTRATOS

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 47

No. fl. 10

ENERGÉTICOS, ASSIM COMO ELIMINAR METABÓLITOS TÓXICOS E MANTER A TEMPERATURA CORPORAL, PH, OSMOLARIDADE, DENTRE OUTRAS VARIÁVEIS, EXISTE UM COMPLEXO CONJUNTO DE RESPOSTAS DOS DIFERENTES ÓRGÃOS E SISTEMAS PARA A MANUTENÇÃO DAS VARIÁVEIS FISIOLÓGICAS PRÓXIMAS DE SUAS FAIXAS DE NORMALIDADE, TANTO DURANTE COMO NAS HORAS APÓS A ATIVIDADE FÍSICA. O EXERCÍCIO FÍSICO UTILIZADO DE MANEIRA PROGRESSIVA E CRÔNICA, PODE TRAZER DIVERSOS BENEFÍCIOS CARDIOVASCULARES E METABÓLICOS, SENDO CONSIDERADO UMA IMPORTANTE FERRAMENTA TERAPÊUTICA PARA CARDIOPATAS, DIABÉTICOS, DENTRE OUTRAS CONDIÇÕES MÉDICAS.

O COMPORTAMENTO DURANTE O EXERCÍCIO PODE DOBRAR RAPIDAMENTE A QUANTIDADE DE SANGUE EJETADO POR MINUTO, O CHAMADO DÉBITO CARDÍACO (D.C.). O D.C. É DETERMINADO PELO NÚMERO DE BATIMENTOS POR MINUTO (F.C.) E PELO DÉBITO SISTÓLICO (D.S), VOLUME DE SANGUE EJETADO POR BATIMENTO. DENTRE OS PRINCIPAIS MECANISMOS ATUANTES PARA AUMENTO DO D.C., PODEMOS CITAR O MECANISMO DE FRANK-STARLING, REFLEXO CARDÍACO QUE AUMENTA A FORÇA DE CONTRAÇÃO DO CORAÇÃO DEVIDO

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 13

No. fl. 11

AO AUMENTO DA PRÉ-CARGA CAUSADO PELA ELEVAÇÃO DO RETORNO VENOSO DURANTE EXERCÍCIOS DINÂMICOS, COMO CORRIDA. O SISTEMA NERVOSO SIMPÁTICO POR SUA VEZ, PODE AUMENTAR O D.C. TANTO AO AUMENTAR A F.C., COMO O D.S. A SINALIZAÇÃO SIMPÁTICA MEDIADA POR EPINEFRINA E NOREPINEFRINA PODEM AGIR NO CORAÇÃO ATRAVÉS DOS RECEPTORES BETA 1-ADRENÉRGICOS (B1ADR). OS B1ADR PRESENTES NAS MEMBRANAS DOS CARDIOMIÓCITOS SÃO ACOPLADOS A PROTEÍNA Gs. A PROTEÍNA Gs QUANDO ATIVADA, AUMENTA A PRODUÇÃO DO SEGUNDO MENSAGEIRO AMPCÍCLICO A PARTIR DO ATP MEDIADO PELA ADENILATO CICLASE. O AMPCÍCLICO POR SUA VEZ IRÁ AGIR COMO MENSAGEIRO ATIVANDO A PROTEÍNA QUINASE PKA. A PKA ATIVADA PODE AUMENTAR TANTO A F.C. MODULANDO CÉLULAS DO SISTEMA MARCA-PASSO, COMO AUMENTAR A FORÇA DE CONTRAÇÃO ATRAVÉS DO AUMENTO DO TRANSIENTE DE CÁLCIO INTRACELULAR, E O AUMENTO DA SENSIBILIDADE AO CÁLCIO.

DE FORMA CRÔNICA, NO ENTANTO, O EXERCÍCIO PODE PROMOVER ALTERAÇÕES CARDÍACAS, LEVANDO AO AUMENTO DA CAPACIDADE DE CONSUMO MÁXIMO

UFRJ

DE OXIGÊNIO (VO_2MAX), PRINCIPAL PREDITOR DE SOBREVIDA EM PACIENTES CARDIOPATAS, COMO PACIENTES COM INSUFICIÊNCIA CARDÍACA.

DO PONTO DE VISTA ESTRUTURAL, O CORAÇÃO PODE DESENVOLVER UM PROCESSO DE HIPERTROFIA EXCÊNTRICA. ESSA ADAPTAÇÃO É HEMODINAMICAMENTE FAVORÁVEL, POR AUMENTAR O VOLUME DIASTÓLICO FINAL SEM AUMENTAR DE FORMA PATOLÓGICA A ESPESSURA DA PAREDE LIVRE DO VENTRÍCULO ESQUERDO. DESSA FORMA, EM INDIVÍDUOS TREINADOS, PODEMOS OBSERVAR VALORES NORMAIS DE D.C. (PRÓXIMO A 5 L/MIN) MESMO COM BRADICARDIA (BAIXA F.C.) DE REPOUSO. A NÍVEL MOLECULAR, ESTUDOS EM MODELOS ANIMAIS MOSTRAM QUE O AUMENTO DO PRÉ-CARGA PODE INDUZIR A HIPERTROFIA EXCÊNTRICA DOS CARDIOMIÓCITOS, ATRAVÉS DO FATOR C-EBP-BETA, QUE DEVIDO AO EXERCÍCIO FÍSICO PODE INIBIR O CIREO4, MECANISMO MOLECULAR IMPORTANTE DO CORAÇÃO.

O AUMENTO DO VO_2 MAX, PONTO FUNDAMENTAL DOS BENEFÍCIOS PARA SAÚDE E REABILITAÇÃO CARDÍACA É DETERMINADO PELO COMPONENTE CENTRAL CARDÍACO DESCRITO ANTERIORMENTE, E OS COMPONENTES DE TROCAS TROCAS DE GASES VASCULARES

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 13

No. fl. 13

E MUSCULARES PRINCIPALMENTE. DESSA FORMA, TANTO A MELHORA DA FUNÇÃO VASCULAR E METABÓLICA MUSCULAR SÃO ASPECTOS FUNDAMENTAIS DO EQUILÍBRIO E RESPOSTA DE HOMEOSTASE.

OS SISTEMAS DE CONTROLE DE HOMEOSTASE ATUAM DE FORMA CONTÍNUA, MONITORANDO SINAIS QUÍMICOS E FÍSICOS, OS QUAIS SÃO PROCESSADOS POR CENTROS INTEGRADORES, PRODUZINDO RESPOSTAS EFERENTES. DURANTE O EXERCÍCIO, ALTERAÇÕES NOS NÍVEIS DE PO_2, PCO_2, PH, OSMOLARIDADE, PRESSÃO ARTERIAL, DENTRE OUTROS SINAIS PODEM ALTERAR, DE MODO QUE DIFERENTES RECEPTORES E ESTRUTURAS EFETORES CONTRIBUEM PARA A MANUTENÇÃO DA HOMEOSTASIA DURANTE O EXERCÍCIO.

A RESISTÊNCIA VASCULAR PERIFÉRICA É UM DOS PRINCIPAIS DETERMINANTES DO FLUXO DE SANGUE. A VASODILATAÇÃO E VASOCONSTRIÇÃO SÃO OS PRINCIPAIS MECANISMOS DE CONTROLE DA RESISTÊNCIA VASCULAR, UMA VEZ QUE DE ACORDO COM A LEI DE POISEUILLE, O RAIO DO VASO ESTÁ ELEVADO À QUARTA POTÊNCIA, NA FORMULA QUE DETERMINA QUESTÕES HEMODINÂMICAS. ASSIM, O CONTROLE DA VASODILATAÇÃO MEDIADO PELO FUNCIONAMENTO ENDOTELIAL É FUNDAMENTAL DURANTE

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 23

O EXERCÍCIO. ESTUDOS MOSTRAM QUE O EXERCÍCIO PODE AJUDAR NO FUNCIONAMENTO ENDOTELIAL NO NOSSO ORGANISMO, ATRAVÉS DO AUMENTO DA BIODISPONIBILIDADE DE PRODUÇÃO DE ÓXIDO NÍTRICO, O QUAL PODE DIFUNDIR-SE PARA MEMBRANA DAS CÉLULAS ENDOTELIAIS E PROMOVER O RELAXAMENTO DA MUSCULATURA LISA DOS VASOS.

DO PONTO DE VISTA METABÓLICO, O EXERCÍCIO TEM UM PAPEL FUNDAMENTAL PARA O CONTROLE GLICÊMICO. PACIENTES COM DIABETES DO TIPO 2, APRESENTAM NÍVEIS MAIS ELEVADOS DE GLICOSE NO SANGUE EM JEJUM DE 8 A 12 HORAS. NO ENTANTO, DURANTE O EXERCÍCIO, O TRANSPORTE DE GLICOSE DO TIPO GLUT 4, AUMENTA SUA EXPRESSÃO NAS MEMBRANAS DE CÉLULAS MUSCULARES, CONTRIBUINDO PARA O CONTROLE GLICÊMICO. COMO MECANISMO, FOI DEMONSTRADO QUE A DIMINUIÇÃO DE ATP E AUMENTO DE AMP EM CÉLULAS MÚSCULOS, INDUZIDO PELO EXERCÍCIO FÍSICO, ESTÁ ASSOCIADO A ATIVAÇÃO DO FATOR AMPK. O AMPK, ASSIM COMO O PGC1 ALFA, SÃO IMPORTANTES CONTROLADORES DAS RESPOSTAS METABÓLICAS AO EXERCÍCIO FÍSICO. DENTRE OS EFEITOS, A ATIVAÇÃO DO PGC1 ALFA PODE AUMENTAR

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 13

No. fl. 15

A BIOGÊNESE MITOCONDRIAL. O AUMENTO DE MITOCONDRIA ASSIM COMO ENZIMAS OXIDATIVAS INDUZIDO PELO EXERCÍCIO FÍSICO É UM DOS PRINCIPAIS MECANISMOS REGULATÓRIOS PARA AUMENTO DE GERAÇÃO DE ATP, CONTRIBUINDO PARA BENEFÍCIOS METABÓLICOS.

DO PONTO DE VISTA TRANSLACIONAL, ESTÊ DOS COORDENADOS PELO PROFESSOR GIBALA, BUSCAM COMPREENDER OS PROTOCOLOS MAIS EFICIENTES PARA ATIVAÇÃO DE AMPK E PGC-1ALFA EM SERES HUMANOS, ATRAVÉS DO EXERCÍCIO. EM UM ESTUDO PUBLICADO NA REVISTA JOURNAL OF PHYSIOLOGY, O TIME DO DR GIBALA DEMONSTROU QUE SEM PREENDENTEMENTE, SESSÕES CURTAS DE EXERCÍCIO INTERVALADO DE ALTA INTENSIDADE REALIZADO EM UMA BICICLETA EM UM AMBIENTE CONTROLADO DE LABORATÓRIO, INDUZIU AUMENTOS SUPERIORES EM AMPK E PGC1ALFA, QUANDO COMPARADO COM SESSÕES PROLONGADAS DE EXERCÍCIO DE INTENSIDADE LEVE/MODERADA NOS MÚSCULOS DOS VOLUNTÁRIOS.

UMA OUTRA ESTRATÉGIA TERAPÊUTICA QUE VEM SENDO INVESTIGADA É ATRAVÉS DO USO DE MIMÉTICOS MOLECULARES DO EXERCÍCIO. UM TABANO

UFRJ

RECENTEMENTE DEMONSTROU QUE A CAPACIDADE AERÓBICA DO PPAR DELTA AUMENTA SIGNIFICATIVAMENTE A CAPACIDADE DE CORRIDA E DE OXIDAÇÃO DE GORDURA, DE FORMA SIMILAR AO EXERCÍCIO FÍSICO. ESSES ACHADOS, SÃO DE EXTREMA IMPORTÂNCIA, UMA VEZ QUE MUITOS PACIENTES OBESOS POSSUEM INTOLERÂNCIAS AO EXERCÍCIO. ASSIM COMO, ALGUNS DISTÚRBIOS GENÉTICOS DO COMER SÃO CLASSIFICADOS COMO PARADIGMAS DE RESISTÊNCIA ABSOLUTA AO EXERCÍCIO POR POTENCIALIZAREM O RISCO DE ARRITMIAS VENTRICULARES.

DESSA MANEIRA, O EXERCÍCIO FÍSICO PROMOVE COMPLEXAS ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS. O ENTENDIMENTO DOS MECANISMOS RELACIONADOS AO EXERCÍCIO PODERÃO CONTRIBUIR PARA PROMOÇÃO DA SAÚDE E DESCOBERTA DE NOVOS ALVOS TERAPÊUTICOS.

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 13

No. fl. 17

12- GENES, AMBIENTE E RESPOSTAS BIOLÓGICAS

OS GENES E AS ESTRUTURAS QUE CONTROLAM O FUNCIONAMENTO DOS GENES SÃO FUNDAMENTAIS PARA O CONTROLE DE RESPOSTAS BIOLÓGICAS E INTERAGEM COM AMBIENTE. NESTE CONTEXTO, IREI ABORDAR COMO O PROCESSO DE ENVELHECIMENTO IRÁ IMPACTAR NESSAS ESTRUTURAS E NAS RESPOSTAS BIOLÓGICAS.

O ENVELHECIMENTO NÃO É UMA DOENÇA, PORÉM AUMENTA SIGNIFICATIVAMENTE O RISCO DE DOENÇAS CARDIOVASCULARES, METABÓLICAS, NEURO DEGENERATIVAS ENTRE OUTRAS. A NÍVEL FISIOLÓGICO, AS RESPOSTAS BIOLÓGICAS DE ORGANISMOS PODEM APRESENTAR ALTERAÇÕES. ~~EXEMPLIFICANDO~~ EXEMPLIFICANDO, PODEMOS OBSERVAR PERDA DE FORÇA MUSCULAR, DIMINUIÇÃO DO $VO_2MÁX$ E RESISTÊNCIA À INSULINA. A NÍVEL TECIDUAL, PODEMOS OBSERVAR PERDA DE PROTEÍNAS CONTRÁTEIS, FIBROSE, O QUE PODE LEVAR À MENOR FORÇA DE CONTRAÇÃO MUSCULAR ESQUELÉTICA E DIMINUIÇÃO DO DÉBITO CARDÍACO, OBSERVADO ATROFIA MUSCULAR E REMODELAMENTO CARDÍACO PATOLÓGICO, RESPECTIVAMENTE.

O ENVELHECIMENTO MUSCULAR É UMA DAS PRINCIPAIS ALTERAÇÕES NO INDIVÍDUO ENVELHECIDO. DENTRE OS PRINCIPAIS GENES RELACIONADOS, FOI DESCRITO O PAPEL DO GENE QUE EXPRESSA O PEPTÍDEO MIOSTATINA

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 13

No. fl. 18

PELO PRÓPRIO MÚSCULO. A MIOSTATINA (GDF8) É UM PEPTÍDEO DA FAMÍLIA DO TGF-BETA, QUE PODE ATIVAR RECEPTORES DO TIPO ACTRIIB NOS MIÓCITOS, ATIVANDO A VIA DE SMAD2/3, AUMENTANDO A EXPRESSÃO DE GENES RELACIONADOS À ATROFIA MUSCULAR ATRAVÉS DE MURF-1 E ATROGIN 1.

FATORES AMBIENTAIS, ATIVIDADE FÍSICA E DIETA PODEM INTERAGIR COM ESSES GENES, DE MODO QUE TANTO A SOBRECARGA MECÂNICA DOS MÚSCULOS COMO O CONSUMO DE AMINOÁCIDOS, PRINCIPALMENTE OS RAMIFICADOS PODEM EM PARTE DIMINUIR A ATIVIDADE DE GENES RELACIONADOS À ATROFIA MUSCULAR.

A VIA DE NOTCH É FUNDAMENTAL PARA O CONTROLE DA RESPOSTA REGENERATIVA MUSCULAR. AS CHAMADAS CÉLULAS SATÉLITE, CÉLULA-TRONCO RESIDENTE DO MÚSCULO PODE SER CONTROLADA PELA SINALIZAÇÃO NOTCH. NO ENTANTO, A CAPACIDADE REGENERATIVA MUSCULAR NO ORGANISMO ENVELHECIDO É INFERIOR, PRINCIPALMENTE PELA MENOR CAPACIDADE DE PROLIFERAÇÃO E DIFERENCIAÇÃO DE CÉLULAS SATÉLITE (CONBOY, RANDO, 2005).

UM GENE IMPORTANTE NO CONTROLE DO ENVELHECIMENTO É O QUE REGULA A EXPRESSÃO DA PROTEÍNA

LAMINA A/C, O GENE LMNA. EM UMA SÍNDROME RARA, OS PACIENTES APRESENTAM UMA MUTAÇÃO NO GENE LMNA, LEVANDO À EXPRESSÃO DE UMA ISOFORMA MUTADA CONHECIDA COMO PROGERINA. NESSA SÍNDROME CONHECIDA COMO PROGERIA, OS PACIENTES PODEM APRESENTAR UM RITMO DE ENVELHECIMENTO CERCA DE 10X MAIOR DO QUE A POPULAÇÃO. EM UM ESTUDO CLÍNICO ENVOLVENDO CERCA DE 75 PACIENTES, FOI DEMONSTRADO QUE UMA DAS COMPLICAÇÕES MAIS GRAVES DESTES PACIENTES SÃO A CARDIOPATIA E VASCULARES, ALÉM DE PERDA DE MASSA MUSCULAR E GORDURA (NEJM, 2009).

DURANTE MEU PÓS-DOUTORADO, PUDE CONTRIBUIR PARA O ENTENDIMENTO DAS ALTERAÇÕES CARDÍACAS E METABÓLICAS DOS PACIENTES COM PROGERIA. UTILIZANDO A TÉCNICA DE METABOLÔMICA, MOSTRAMOS QUE PACIENTES COM ESSA MUTAÇÃO NO GENE LMNA APRESENTAM PROFUNDAS ALTERAÇÕES NOS PROCESSOS DE METABOLIZAÇÃO DE GORDURA E CARBOIDRATOS, ALÉM DE AUMENTAR ~~A~~ ALGUNS METABÓLITOS RELACIONADOS AO METABOLISMO ANAERÓBICO. NOSSO RESULTADOS POR METABOLÔMICA A PARTIR DE PLASMA DE PACIENTES AINDA, QUANDO COMPARADOS COM CONTROLES EM INDIVÍDUOS CONVE-

UFRJ - CHEFE - INSTITUTO DE BIOFÍSICA CARLOS CHAGAS

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 13

No. fl. 20

LHECIDOS, MOSTRAM PERFIS SIMILARES DE ALTERAÇÕES BIOLÓGICAS SISTÊMICAS.

BUSCANDO COMPREENDER OS MECANISMOS MOLECULARES DO ENVELHECIMENTO PRECOCE, EM UM TRABALHO SUBSEQUENTE DE NOSSO GRUPO, GERAMOS CÉLULAS CARDÍACAS A PARTIR DE UM PACIENTE COM SÍNDROME DE PROGERIA. NOSSOS RESULTADOS A NÍVEL CELULAR, SUGEREM UMA PROFUNDA ALTERAÇÃO MORFOLÓGICA NUCLEAR. ESSAS ALTERAÇÕES PARECEM IMPACTAR NA EXPRESSÃO DE DIFERENTES GENES, DE MODO QUE UMA ANÁLISE ÔMICA DOS CARDIOMIÓCITOS GERADOS, DEMONSTROU DIVERSAS VIAS METABÓLICAS ALTERADAS QUANDO COMPARADO COM CÉLULAS SEM A MUTAÇÃO DO GENE LMNA.

ALÉM DAS MODIFICAÇÕES QUE PODEM CAUSAR MUTAÇÕES, AS MODIFICAÇÕES EPIGENÉTICAS TAMBÉM CONTRIBUEM PARA O PROCESSO DE ENVELHECIMENTO. DIFERENTES ESTUDOS APONTAM QUE TANTO AO LONGO DO PROCESSO DE ENVELHECIMENTO COMO NA SÍNDROME DE PROGERIA, METILAÇÕES DE DNA, MODIFICAÇÕES DE HISTONA E RNAs NÃO CODIFICANTES PODEM REGULAR MECANISMO DO ENVELHECIMENTO.

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 13

A METILAÇÃO DO DNA, PROCESSO NO QUAL O CARBONO NO 5 DA CITOSINA SOFRE A ADIÇÃO DE UM GRUPO METIL, FORMANDO A 5-METILCITOSINA, ALTERA A CARGA METIL DISPONÍVEL. A METILAÇÃO DE DNA PODE OCORRER EM SÍTIOS DE CpG, LEVANDO AO SILENCIAMENTO DO GENE METILADO. CERCA DE 60-80% DOS SÍTIOS CpG ENCONTRAM-SE METILADOS, PORÉM ESSE NÚMERO PODE AUMENTAR COM O ENVELHECIMENTO. NESSE CONTEXTO, O CHAMADO RELÓGIO DE HORVATH AVALIA O PERCENTUAL DE SÍTIOS CpG METILADOS, CALCULANDO UM ÍNDICE DE IDADE BIOLÓGICA. DE FORMA INTERESSANTE, QUESTÕES RELACIONADAS AO ESTILO DE VIDA COMO ATIVIDADE FÍSICA, IMPACTAM TANTO POSITIVA COMO NEGATIVAMENTE NESTE MÉTODO DE AVALIAÇÃO DA IDADE BIOLÓGICA.

O GRAU DE COMPACTAÇÃO DA CROMATINA É UM IMPORTANTE MECANISMO DE CONTROLE GENÉTICO QUE É COMPROMETIDO ALVO DO AVANÇO ENVELHECIMENTO. A HISTONA É UMA PROTEÍNA DE CARGA POSITIVA CAPAZ DE INTERAGIR COM O DNA, QUE POSSUI CARGA NEGATIVA. DESSA FORMA, MODIFICAÇÕES DE HISTONA, COMO ACETILAÇÃO E DESACETILAÇÃO INFLUENCIAM NA REGIÃO N-TERMINAL DA HISTONA

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 13

DAS HISTONAS, MODIFICANDO ASSIM A INTERAÇÃO DO HISTONAS E DNA. A ACETILAÇÃO DA HISTONA ATRAVÉS DA ENZIMA HISTONA ACETIL TRANSFERASE, ADICIONA GRUPO DE ACETIL COENZIMA A (ACETIL-COA) DIMINUINDO A COMPACTAÇÃO DA CROMATINA, FACILITANDO ASSIM A EXPRESSÃO DOS GENES, FORMANDO A CHAMADA EUCROMATINA. NO CONTRÁRIO A DESACETILAÇÃO MEDIADA POR UMA HISTONA DESACETILASE, AUMENTA A CONDENSAÇÃO, INIBINDO A EXPRESSÃO DOS GENES, FORMANDO A CHAMADA HETEROCROMATINA.

ESTUDOS RECENTES MOSTRAM QUE FATORES DIETÉTICOS, ASSIM COMO A RESPOSTA DE CÉLULAS PODEM MODIFICAR PARTE DOS MECANISMOS DO ENVELHECIMENTO. ALGUNS PRODUTOS DE ALIMENTOS PODEM AUMENTAR O INTERMEDIÁRIO METABÓLICO S-ADENOSIL METIONINA (SAM), O QUAL ATUA COMO DOADOR DE CH_3 NAS REAÇÕES DE METILAÇÃO. SÃO ALIMENTOS RELACIONADOS AOS NÍVEIS DE ACETIL-COA, COMO EXERCÍCIO FÍSICO TAMBÉM PODEM INTERFERIR EM REAÇÕES EPIGENÉTICAS. AS ENZIMAS DESACETILASES TAMBÉM PODEM SER CONTROLADAS. EM UM ESTUDO O DIL ERIC VERDIN, FOI DEMONSTRADO QUE A RESTRI

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 13

CAUSA CRÔNICA OU A RESTRIÇÃO DE CARBOIDRATOS PODEM AUMENTAR A ~~EXPRESSÃO~~ PRODUÇÃO DO CORPO CETÔNICO BETA-HIDROXIBUTIRATO (BHB). O BHB POR SUA VEZ, PODE ENTRAR NAS CÉLULAS MUSCULARES E ATRAVESSAR A BARREIRA HEMATO-ENCEFÁLICA, PROMOVENDO DIFERENTES RESPOSTAS BIOLÓGICAS. DENTRE ELAS, O BHB PARECE SER CAPAZ DE INIBIR A DESACETILAÇÃO DE HISTONA, BENEFICIANDO ANIMAIS ENVELHECIDOS EM RESPOSTAS MUSCULARES E COGNITIVAS.

DESSA FORMA, O ENTENDIMENTO DOS FATORES RELACIONADOS AO ENVELHECIMENTO E ENVELHECIMENTO PRECOCE É UM ASPECTO FUNDAMENTAL PARA TRATAMENTOS MAIS EFETIVOS. O USO DE MÉTODOS PARA MONITORAMENTO DE ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS RELACIONADAS AO ENVELHECIMENTO TAMBÉM PODERÃO SER UTILIZADAS COMO FERRAMENTAS DE DIAGNÓSTICO E BIOMARCADORES DE MODIFICAÇÕES RELACIONADAS À IDADE AVANÇADA.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho
Concurso para Professor Adjunto
MC-015 – Integração de Sistemas Biológicos
Edital nº 377 de 25 de maio de 2022, publicado no DOU nº 102 de 31 de maio de 2022 - consolidado com as alterações dos Editais nº 402 de 31 de maio de 2022 e nº 435 de 31 de maio de 2022

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 12	No. fl. 1

Favor não escrever no verso

4- Comunicação Intercelular

Cada organismo compreende milhões de células, que formam diferentes sistemas. As células necessitam comunicar-se entre si para que cada sistema ou conjunto de sistemas possam funcionar de forma adequada para garantir a sobrevivência do organismo. Dessa forma, as células geram comunicações intercelulares através de moléculas-sinal expostas no ambiente externo. Essas moléculas podem alcançar o meio externo através da difusão através da membrana, quando a solubilidade e o tamanho assim permitir. Podem também serem transportadas através de vesículas, poros ou canais iônicos da célula íntegra, ou ainda se formarem o espaço extracelular quando a membrana celular da célula morta não apresentar mais integridade. Além disso, algumas moléculas-sinal podem ser expostas na face extracelular da membrana da célula para serem reconhecidas através de contatos pelas células-alvo.

As moléculas-sinal ao ganharem o espaço extracelular, podem atuar a longas distâncias, alcançando as correntes sanguíneas

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 14

No. fl. 2

e líquidos intersticiais, como no caso de hormônios. Dessa forma, a concentração necessária para gerar resposta dessas moléculas-sinal deve ser baixa. As moléculas-sinal secretadas podem atuar em células vizinhas, não necessariamente do mesmo tipo celular. Este tipo de comunicação é chamado de comunicação parácrina. Além disso, uma molécula-sinal secretada por uma célula que ativa a própria célula é chamada de comunicação autócrina.

As moléculas sinal geram respostas em células-alvo através de proteínas presentes na membrana (que pode ser citoplasmática, nuclear, etc) chamadas de receptores. Os receptores quando ativados geram sinalização e transdução de sinais intracelulares que alteram o comportamento da célula-alvo. A ativação de receptores de membrana podem levar a diferenciação, crescimento celular e até mesmo a morte celular programada.

Um exemplo de como a comunicação intercelular pode atuar na garantia do bom funcionamento de um organismo é alertando quando uma infecção e/ou injúria está ocorrendo. Para isso, células infectadas ou danificadas secretam no espaço extracelular o que se chama de sinais de perigo. Sinais de perigo podem ser padrões moleculares associados a dano (DAMPs) ou padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs). No caso de que quando sinais de perigo são origi-

UFRJ

da própria célula estamos falando de DAMPs. Os DAMPs en-
xão quando estão no meio extracelular ativam receptores
chamados de receptores de reconhecimento de padrões (PRRs) pre-
sentes na membrana de células-alvo. Um exemplo de
PRRs presentes em células do sistema imune inato são
os receptores do tipo-Toll (TLRs) e receptores purinérgicos.

Os sinais de perigo já descritos ativando TLRs são
HMGB1 e certos ácidos. Os receptores purinérgicos são
ativados quando nucleotídeos intracelulares são
liberados para o meio externo.

Durante toda a minha formação acadêmica, eu
estudei o papel de nucleotídeos intracelulares (como ATP e
UTP) atuando como sinais de perigo. Em condições homeos-
táticas, a concentração de ATP no meio externo é menor
do que 1 nM. Quando uma célula é infectada ou danifica-
da ou até mesmo morta, ATP é liberado para o espaço
extracelular, e suas concentrações, nesses casos, pode chegar na
faixa de mM. Em altas concentrações no ambiente
externo, o ATP atua como um sinal de perigo ativan-
do receptores purinérgicos de células vizinhas ou até mesmo
da própria célula. Já foi demonstrado que a ativação
de TLRs por LPS e até mesmo a infecção por L. amazonensis
podem levar a liberação de ATP para o meio externo
que ativam receptores purinérgicos.

UFRJ

Os receptores purinérgicos são subdivididos em receptores P1 e P2. Os receptores P1 respondem a adenosina extracelular. Já os receptores P2 podem ser de duas famílias: a família de receptores P2Y e a família de receptores P2X. A família de receptores P2Y são caracterizados como receptores metabotrópicos acoplados a proteína G. Já foram clonados 8 membros dessa família. A família de receptores P2X são receptores ionotrópicos, com 7 membros já clonados (P2X1 - P2X7). O membro mais bem estudado é o P2X7. O receptor P2X7 quando ativado, é um canal iônico que permite a passagem de Na^+, K^+ e Ca^{2+}. Além disso, o receptor P2X7 também abre um poro na membrana celular que permite a passagem de moléculas de até 900 Da.

Quando uma célula libera ATP para o meio extracelular, ela está então avisando às células vizinhas que algo está errado, já que as concentrações extracelulares de ATP em condições normais são muito baixas. As células vizinhas, por sua vez, respondem a ativação do receptor P2X7 de diferentes formas: a ativação do receptor P2X7 leva a liberação de espécies reativas de oxigênio (ROS) e nitrogênio (NO), a fim de erradicar uma infecção em curso. A ativação do receptor P2X7 também leva a liberação de mediadores lipídicos, como PGE_2. O

O LTB4 liberado via ativação do receptor P2x7 já foi mostrado ser essencial no controle da infecção por *Leishmania* em macrófagos. Além disso, como o LTB4 é um potente quimiotático de neutrófilo, a ativação do receptor P2x7 pode induzir o recrutamento de neutrófilos para o local de uma infecção em progresso.

Um dos principais mecanismos de ativação de receptores purinérgicos é a ativação do inflamassoma NLRP3. O inflamassoma NLRP3 é um complexo multiproteico que quando ativado leva a maturação de caspase-1. A caspase-1 por sua vez leva a clivagem de pro-IL-1β e pro-IL-18 para as suas formas ativadas. Essas citocinas podem atuar também como comunicadores intracelulares. Quando liberadas para o espaço extracelular, elas induzem o recrutamento de células mieloides, e também ativam mecanismos microbicidas, que eliminam patógenos intracelulares, como por exemplo *Leishmania*.

Desse forma, sinais de perigo como ATP e citocinas como IL-1β e IL-18 são componentes do sistema imune que alertam o sistema que infecção e/ou injúrias estão acontecendo. O sistema imune então monta uma resposta inflamatória para tentar restaurar a homeostasia. A comunicação entre células é de grande importância para

UFRJ

o bom funcionamento do organismo por inteiro e é de grande relevância para a sobrevivência do indivíduo. Um exemplo disso é que polimorfismos do receptor P2x7 e do NLRP3 levam ao patologias, muitas vezes relacionadas à suscetibilidade a infecção.

A superativação de receptores P2x7 pode levar a essas patologias devido a superinflamação. Para evitar isso, as células possuem em sua membrana enzimas que degradam o ATP, chamadas de ectonucleotidases. Essas enzimas levam a produção de adenosina no meio extracelular, que ao contrário do ATP, é um imunossupressor. Esse é um mecanismo de feedback negativo, para evitar a inflamação exacerbada e indução do reparo tecidual. A adenosina ativa receptores P1 de células vizinhas e da própria célula, que leva à produção de mediadores imunossupressores, como por exemplo IL-10. Já foi demonstrado que adenosina pode levar a menor suscetibilidade à infecção por Leishmania spp.

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 14

No. fl. 1

1. Equilíbrio dinâmico; homeostase

O organismo é organizado em células. As células possuem em seu interior grandes quantidades de água. Além disso, a água também está presente no meio externo. No meio externo, também são encontrados íons, nutrientes, oxigênio, para garantir a sobrevivência das células. A homeostase garante que o organismo esteja sob condições favoráveis para o seu pleno funcionamento.

Durante o decorrer da vida, o organismo enfrenta condições que interferem na sua homeostase, como oscilação de temperatura, pressão, infecções, privação de nutrientes e ele deve ser capaz de ativar mecanismos para restaurarem a homeostase a fim de garantir a sobrevivência do organismo.

Quando um indivíduo, no decorrer de sua vida, se depara com patógenos, que desequilibram em sua homeostase, para se restaurar a mesma o sistema imune é ativado. De uma forma simplista, o sistema imune é dividido em sistema imune inato e sistema imune adquirido. Durante toda a minha formação acadêmica, eu venho estudando mecanismos do sistema imune inato.

O sistema imune inato é compreendido por barreiras físicas e químicas (pele, mucosa, e peptídeos

UFRJ - CCS

comunicadoras; células imunes inatas como macrófagos, neutrófilos, células dendríticas, células natural killer e linfócitos da imunidade inata; e moléculas solúveis no soro que ativam o sistema complemento.

O sistema imune adaptativo tem como características a especificidade, cujo repertório de receptores imunológicos nos espaços de reconhecer partes específicas de antígenos, que os tornam altamente específicos; e a capacidade de memória, uma vez que repetidas exposições ao mesmo antígeno dão as respostas mais rápidas e eficazes. Os componentes principais do sistema imune adquirido são os linfócitos T e B e anticorpos.

O sistema imune atua estabelecendo homeostasia não apenas combatendo infecção e danos também componentes do sistema imune inato, como os macrófagos, pois condicionados células fagocíticas profissionais que têm a capacidade de fagocitar células apoptóticas, atuando também na homeostase tecidual.

As células de um organismo vivo vivem constantemente renovadas. Estima-se que 200-300 bilhões de células morrem por apoptose e precisam ser renovadas diariamente. A medula óssea produz muitas células diariamente e muitas possuem tempo de vida curto, como os neutrófilos. O sistema digestório possui área de

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 14

No. fl. 9

de uma quadra de tênis, que é renovado a cada 4-5 dias. O timo é o local onde se termina a diferenciação de linfócitos T, e a maioria é removido por ser autorreativo. Dessa forma, o mecanismo de remoção de células apoptóticas durante homeostase deve ser feita de forma eficaz, uma vez que a demora na remoção destas células pode induzir a necrose secundária e levar a inflamação local, com possível perda de função.

Como dito anteriormente, os macrófagos residentes de tecidos são considerados fagócitos profissionais. Eles têm como uma de suas funções a remoção de células apoptóticas do tecido. A fagocitose de células apoptóticas também é importante para a manutenção do fenótipo desses macrófagos. Por exemplo, macrófagos residentes da derme, quando fagocitam neutrófilos apoptóticos infectados com L. major, expressam um fenótipo anti-inflamatório, que é importante no reparo tecidual. Em alguns casos, essa capacidade fagocítica de macrófagos residentes são usadas por patógenos para estabelecer a infecção, como no caso da infecção por L. major, que induzem apoptose em neutrófilos, que são então fagocitados por macrófagos residentes da derme, sua principal célula hospedeira.

Além dos fagócitos profissionais, existem também os fagócitos não-profissionais, como as células epiteliais e os

UFRJ

fibroblastos. Estas células são tão importantes quanto os fagócitos profissionais, mesmo sendo menos eficientes na remoção de células apoptóticas. Em certos tecidos, macrófagos residentes podem estar ausentes, e as células epiteliais e fibroblastos contribuem de forma significativa para a remoção de células apoptóticas desses sítios.

A apoptose pode ser disparada por duas vias: a via intrínseca e a via extrínseca. A via extrínseca é induzida quando sinais extracelulares mediam a indução da apoptose. A via extrínseca ocorre quando a molécula Fas é reconhecida pelo ligante Fas presente na membrana de linfócitos T citotóxicos, por exemplo. A via intrínseca ocorre quando mediadores intracelulares, como componentes da mitocôndria (citocromo c) vazam o citoplasma.

As células apoptóticas precisam sinalizar que estão em processo de apoptose. Elas liberam então o que se chama de sinais "find me" (achar-me) de modo a facilitar que células fagocíticas profissionais e não profissionais as encontrem. Um dos sinais "find me" mais bem caracterizados é o [redacted]-UTP, que ativa receptores P2Y2. Este modelo já foi descrito em ensaios in vitro e in vivo.

Além disso, também existem o sinais "eat me" (comer-me).

UFRJ

O mais bem caracterizado sinal "eat me" é a exposição da fosfatidilserina (PtdS) na face externa da membrana. Em condições normais, a PtdS está retida para a face interna, porém por mecanismos ainda não totalmente elucidados, a PtdS ganha via face externa e sinaliza para os fagócitos profissionais que estes em apoptose, para serem removidas.

A PtdS é reconhecida por receptores existentes na membrana dos fagócitos. Os receptores Tim-4 e MerTK são os mais descritos no âmbito da fagocitose de células apoptóticas. O Tim-4 pode se ligar diretamente a PtdS, porém não é capaz de induzir por si próprio sinalização intracelular. O MerTK é um membro da família TAM, que compreende Mer, Tyro e Axl. O Mer é uma tirosino quinase (MerTK) que é capaz de transduzir sinalização intracelular, porém não se liga diretamente a PtdS. Proteínas de ligação são necessárias, como a Proteína S e Gas-6, que intermediam a ligação da PtdS aos receptores MerTK.

Os receptores MerTK já foram demonstrados serem essenciais na manutenção de macrófagos residentes de vários tecidos, incluindo macrófagos intestinais e alveolares. Além disso, a fagocitose de células apoptóticas é necessária para a remodelação de vários tecidos. Durante a embriogênese, tecidos precisam ser remodelados de modo que o

UFRJ - Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 14

No. fl. 12

tecido gerente sua forma final. A remoção e remodelamento tecidual do feto é feito através da apoptose das células e sua remoção.

Já foi demonstrado também que a ausência de receptores que reconhecem células apoptóticas, como por exemplo MerTK, leva a autoimunidade, uma vez que o reconhecimento e fagocitose de células apoptóticas é importante para a tolerância. A autoimunidade é um defeito do sistema imune, que passa a responder contra moléculas próprias, levando a patologias e consequentemente doenças, perturbando a homeostasia do sistema.

UFRJ

12. Genes, ambiente e respostas biológicas.

A seleção natural é conquistada através da interação de variáveis genéticas e ambientais. Os sistemas do organismo estão constantemente sofrendo pressões ambientais, e aliado com o seu genótipo, determina peculiaridades de cada indivíduo.

O sistema imune possui aspectos que são altamente variáveis, mesmo em gêmeos monozigóticos. Os receptores de células T e B, [illegible] são constantemente modulados por fatores ambientais. Além disso, o MHC também é uma peça-chave da variabilidade do sistema imune.

A interação gene-ambiente pode afetar o sistema imune de tal forma, que pode levar a patologias. Um dos mecanismos desencadeados por tal interação é o processo de hipersensibilidade a alérgeno.

A hipersensibilidade é dividida em: hipersensibilidade imediata, que ocorre imediatamente após a exposição ao desencadeador. Nessa etapa, mastócitos, eosinófilos e IgE são os componentes principais. A hipersensibilidade tardia ocorre [illegible] em momentos [illegible] posteriores, e sofre influência direta de neutrófilos, macrófagos e monócitos.

O processo de alergia se inicia quando um "alérgeno" é reconhecido por células Th2 - linfócitos T auxiliares foliculares. As células Th2 quando ativadas pelo

UFRJ

alérgeno, devem liberam IL-4, IL-5 e IL-13. Essas citocinas, juntamente com os linfócitos T auxiliares foliculares, induzem a mudança de Ig de célula B, onde passam a expressar primariamente IgE. A IgE então se liga aos receptores FcεRI em mastócitos. Uma sensibilização dos mastócitos ao alérgeno, induz a liberação de citocinas e mediadores lipídicos que vão desencadear o processo de alergia.

Variações genéticas fazem com que alguns indivíduos sejam mais propensos na produção de IgE que outros. Além disso, em resposta a fatores ambientais como pólen, poluição do ar, medicamentos e alimentos, indivíduos com polimorfismo no promotor 5q, que está relacionado a produção das citocinas IL-4, IL-5 e IL-13 e o IL-4R são mais pré-dispostos a apresentar algum tipo de alergia.

A pré-disposição à alergias é uma condição herdada. Muito se discute a participação de fatores ambientais na indução de alergias. Estudos vêm mostrando que o ambiente onde se vive, infecções adquiridas durante a primeira infância estão intimamente ligados ao aparecimento de asma alérgica. A "hipótese da higiene", onde se postula que ambientes limpos, como contato com agentes de animais e do solo, principalmente com a constituição da microbiota intestinal, que é imunomodula-

UFRJ

doria, são componentes essenciais para a inibição do aparecimento de alergias. Alguns componentes do sistema imune inato, como o CD14, que age juntamente com os receptores do tipo toll (TLR) 4 e 2, são importantes no contexto das alergias. Os TLR4 e 2 junto com CD14 são moléculas que estão presentes na linha de frente no reconhecimento de agentes microbianos. Dessa forma, durante infecção, esses receptores prontamente agem de modo a erradicar o agente patogênico. Polimorfismos nesses receptores estão associados ao aparecimento de alergias, o que corrobora com a "hipótese da higiene". Indivíduos que não respondem ou respondem de forma ineficaz a agentes microbianos, mesmo em zonas rurais, estão mais propensos a desenvolver a alma alérgica.

Como dito anteriormente, mastócitos ativados por IgE e expostos a alérgenos ambientais, produzem e liberam mediadores lipídicos. Esses mediadores lipídicos, conhecidos como leucotrienos, são produzidos através do ácido araquidônico da membrana, que é substrato para fosfolipase A2 (PLA2). A PLA2 então gera substrato para 5-lipoxigenase, que por consequente produz LTA4. O LTA4 é o precursor de todos os leucotrienos. Os leucotrienos mais importantes na alma alérgica são o

UFRJ

LTC4, LTD4 e LTE4, conhecidos como cisteinil-leucotrienos. Os cisteinil-leucotrienos, então, ao ativarem seus respectivos receptores induzem vasoconstrição, que é um dos sintomas clássicos da asma alérgica.

Baseado no exposto acima, a interação entre genes-ambiente pode modular o sistema imune, de forma a induzir um repertório de variação em receptores de células T e B, de modo a tornar uma resposta imune mais rápida e eficiente. A constante exposição a patógenos ambientais modula o sistema imune adquirido de forma positiva. Por outro lado, quando se vive em ambientes considerados mais limpos, onde há um contato com ambientes rurais, como microrganismos ou animais e do solo, o indivíduo se torna mais suscetível ao desenvolvimento de alergias, que também possui variáveis genéticas com pré-disposição herdada. Estima-se que para o desenvolvimento de asma alérgica 50% de pré-disposição vêm de fatores ambientais e os outros 50% vêm de variações genéticas.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho
Concurso para Professor Adjunto
MC-015 – Integração de Sistemas Biológicos
Edital nº 377 de 25 de maio de 2022, publicado no DOU nº 102 de 31 de maio de 2022 - consolidado com as alterações dos Editais nº 402 de 31 de maio de 2022 e nº 435 de 31 de maio de 2022

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 15

No. fl. 1 | 12

Favor não escrever no verso

7. EQUILÍBRIO DINÂMICO, HOMEOSTASIA

O organismo vivo depende de processos regulatórios para manter constante as condições de seu meio interno (Claude Bernard). Entende-se como meio interno o líquido extracelular composto de eletrólitos, quiosl macro e micronutrientes em pressão, volume, pH, osmolabidade e concentração em faixas de variação estritas para promover as condições normais de funcionamento. NO organismo humano diversos mecanismos regulatórios trabalham em cooperação para alcançar o equilíbrio dinâmico. Dentre os inúmeros mecanismos, podemos destacar a participação do sistema imune que vai além de ser o sistema de defesa do hospedeiro. Isso ficou claro a partir da recente descoberta que interações do organismo c/ as bactérias comensais (intestinais) são essenciais para a manutenção da saúde humana.

A inflamação é uma resposta benéfica ao tecido estimulada pelo dano tecidual desencadeado por microorganismos ou estímulos estéreis. A produção de mediadores inflamatórios altera a vasculatura, aumentando o recrutamento de células do sistema imune a fim de levar a uma resposta resolutiva. A inflamação descontrolada pode levar ao dano tecidual e está associada a diversas doenças, incluindo doenças metabólicas como diabetes e obesidade.

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 15

O controle da resposta inflamatória é fundamental p/ a homeostasia. Observamos na COVID-19 que durante a primeira e segunda onda, majoritariamente, o tratamento mais adequado foi a administração de corticoides e tocilizumab (anti-IL-6) para conter a resposta hiper-inflamatória inapropriada do indivíduo

O sistema imune ~~é~~ atua como um grande sistema sensorial capaz de detectar e reconhecer moléculas ~~exógenas~~ gerando uma resposta porque está em íntimo contato c/ leitos vasculares, linfáticos, epiteliais além de suas específicas células que compõe o arsenal de leucócitos (neutrófilos, monócitos, e diversos subtipos de linfócitos, granulócitos, etc.) e o sistema complemento através de seus inúmeros receptores.

A elucidação dos receptores de reconhecimento de padrão* (1989) *responsivos aos padrões moleculares associados à patógenos ▲ PAMP ▲ por Janeway no início passado juntamente c/ a quebra do paradigma proposta por Matzinger (1994) ~~propuseram~~ que propôs que o sistema imune detecta o dano celular através de padrões moleculares associados ao dano (2004) que inclusive são moléculas liberadas pelas próprios células imunes além de patógenos abriu as portas para o entendimento de diversos mecanismos que levam a quebra da homeostasia associado ao aparecimento de doenças crônicas.

Dos diversos receptores de reconhecimento de padrão destaco a importância de TLR4 e RAGE como os principais receptores da alarmina HMGB1 que vem sendo associada a diversas doenças, sendo ultimamente caracterizada como biomarcador de ~~a~~ associado a gravidade.

Alarminas são moléculas sinalizadoras de dano celular liberadas

UFRJ

pela célula que atuam em receptores de reconhecimento de padrão. Entre elas, ATP, HMGB1, S-100, IL-33 são as bem estudadas. No entanto o protótipo de alarmina mais bem caracterizado é a HMGB1 (high Mobility Group Box 1) importante como regulador epigenético. Sua sigla significa alta mobilidade eletroforética em que a alarmina atribuída a presença de aspartato e glutamato em sua cauda ácida. Essa proteína com cerca de 214 aminoácidos e 25 KDa apresenta papel fisiológico nuclear pois possui dois domínios de sinalização nuclear e também 2 domínios de ligação ao DNA, domínios box A e box B. Esses domínios ao se ligarem geram especificidade ao DNA promovendo dobraduras na fita de DNA o que aproxima os fatores de transcrição de suas regiões promotoras, exercendo um papel fundamental na regulação da transcrição gênica. A capacidade de promover dobras no DNA é fundamental também para a recombinação VDJ crucial p/ o repertório linfocitário. A HMGB1 regula diretamente a regulação gênica da proteína heat shock protein 27 que está associada a regulação da mitofagia. Acredita-se que a deleção do gene que codifica HMGB1 seja letal exatamente por ela controlar funções vitais no início da célula, como as citadas acima.

A alarmina HMGB1 quando no meio intracelular vai atuar em diversos receptores, no entanto os mais bem estudados em que ela atua diretamente são TLR4 e RAGE. A proteína HMGB1 é lançada ao meio intracelular de forma ativa ou passiva. De forma ativa ela é liberada quando a célula está SOFRENDO ação da

microambiente. Diversos são os estímulos mas acredita-se que a via TLR4 culminando na ativação da via JAK/STAT seja a principal ~~forma~~ FORMA de aumentar a atividade nuclear através da ~~ativação~~ ATIVAÇÃO de histona acetil transferase (HAT). Esse excesso de demanda de atividade nuclear afeta na atividade de HMGB1. As HAT acetilam as histonas, aumentando a transcrição gênica, no entanto também levam acetilação de HMGB1 no resíduo de lisina dos domínios de sinalização nuclear. ~~grupamento~~ A acetilação da HMGB1 nos domínios de sinalização nuclear leva a perda de afinidade pelo núcleo e migração da proteína para o citoplasma e meio extracelular onde ela atuará como alarmina, sinalizando o dano celular e amplificando a resposta inflamatória. Aqui ressalto a importância da HMGB1 como uma molécula que sinaliza que a célula está em um ambiente desfavorável a sua homeostasia. A detecção da HMGB1 em sua forma acetilada demonstra que a célula está sob demanda de intensa atividade nuclear para suprir o estímulo extracelular o que demarca um importante ponto de modificação epigenética. NO meio extracelular a HMGB1 vai atuar como ativadora de TLR4 e RAGE a depender do estado redox do meio. A HMGB1 possui três cisteínas importantes para sua atividade intra e extracelular. As cisteínas C23, C45 e C106 regulam a atividade da HMGB1 e são sensíveis as variações redox. A HMGB1 é liberada sem sua forma reduzida contendo o grupamento tiol - SH nos três resíduos. A HMGB1 totalmente reduzida atua aumentando a atividade/afinidade da quimiocina CXCR4 promovendo aumento do

UFRJ

recrutamento celular. A forma totalmente reduzida da HMGB1 em RAGE exerce um efeito benéfico ao inibir a via mTOR e conduzir a ativação da autofagia ao se ligar na ptn beclina 1. Isso acontece pq o 1 de ROS (espécie reativa de oxigênio) induzido pela inanição também promove translocação da HMGB1.

Conforme aumenta-se o estado de oxidação extracelular é formada uma ligação de dissulfeto entre as cisteínas C23 e C45 o que estabiliza a estrutura tridimensional da ptn HMGB1 fazendo c/ que ela passe a ter afinidade pela molécula MD2 do complexo TLR4/MD2 deflagrando a via de sinalização intracelular de TLR4 c/ aumento da atividade do fator de transcrição NFKB e consequente aumento da transcrição de citocinas pró-inflamatórias. A cisteína C106 se mantém na forma -SH para a perfeita interação c/ TLR4 e RAGE. Na verdade a formação da ligação de dissulfeto é imprensível para a manutenção da C106 na forma reduzida. Portanto, a forma de dissulfeto da HMGB1 vai conferir a ligação a receptores TLR4 e RAGE culminando em eventos como aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias, indução de NETS, ativação de inflamassoma e indução de transição epitelial-mesenquimal que falarei no próximo tópico, dentre outros eventos.

Vale ressaltar que sob morte celular por apoptose, necrose ou piroptose a alarmina HMGB1 é liberada de forma passiva e portanto ñ acetilada (exceto p/ a piroptose) exercendo

UFRJ - Instituto de Biofísica Carlos Chagas

também os efeitos mencionados e também sendo sensível ao meio redox.

O aumento dos níveis sistêmicos* de HMGB1 estão associados a diversas doenças infecciosas como a esquistossomose, em que verificamos seu aumento tanto no soro de indivíduos c/ esquistossomose aguda e crônica, quanto na esquistossomose murina. No modelo de esquistossomose murina foi possível observar que DERIVADOS ISOXAZOLÍNICOS inibidores de HMGB1 bem como a glicinizina aumentaram a sobrevida dos animais, modulando a fibrose hepática e a inflamação. Recentemente estamos caracterizando a HMGB1 como um biomarcador de severidade da COVID-19 pois encontramos níveis de HMGB1 mais elevados nos pacientes que foram a óbito que em pacientes que sobreviveram.

Adicionalmente já foi associado aumento de HMGB1 em doenças inflamatórias crônicas como artrite reumatóide, lupus, diabetes, obesidade, doenças cardiovasculares. O que demonstra que essa molécula pode ter importante papel na homeostasia do organismo vivo.

* O aumento de HMGB1 no soro foi documentado primeiramente em pacientes sépticos estando associada a letalidade da sepse. No modelo de endotoxemia murina, o tratamento com anti-HMGB1 aumentou a significativamente a sobrevida dos animais.

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 15

No. fl. 7/12

4- COMUNICAÇÃO INTERCELULAR

Cada célula desde a bactéria mais simples até a mais complexa célula eucariontes monitora seu meio interno e externo, processa a informação adquirida e responde de maneira adequada. NO centro de todo esse sistema de ~~informação~~ comunicação as proteínas orquestram vias de sinalização que permitem o reconhecimento do sinal externo. Isso acontece desde a ~~morfogenese~~ embriogenese / morfogenese como no organismo adulto. Além da resposta ser processada na célula - através dos receptores de membrana que ancorados em sua porção citossólica à proteínas acopladoras que dessencadeiam efeito em cascata de sinalização celular que sobretudo irão ativar reguladores da transcrição ~~[illegible]~~ quando falamos de receptores de reconhecimento de padrão - essa resposta é passada adiante através da comunicação intercelular ~~[illegible]~~ por meio ~~[illegible]~~ também de receptores ou muitas das vezes difusão para o perfeito funcionamento do tecido. Um bom exemplo disso é o óxido nítrico liberado em resposta ação da acetilcolina. ~~liberada por neurô-~~ ~~[illegible]~~ A acetilcolina liberada por neurônios parassimpáticos aumenta a liberação de óxido nítrico por células endoteliais. O óxido nítrico por sua vez, por ser apolar, se difunde pela membrana plasmática da célula do músculo liso e promove ~~o vasodilatação~~ o relaxamento da vasculatura que é finamente regulado pelo exixo calicreína*. Esse processo demonstra um importante ▲ *cinina - bradicinina também. ▲ ~~[illegible]~~ crosstalk entre as células e ▲ para desencadear o pleno funcionamento, neste caso, do tecido vascular.

▲ vias de sinalização

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 15

~~Os receptores~~ A expressão de receptores é finamente regulada para não exacerbar ou suprimir ~~a resposta~~ as vias de sinalização celulares de um determinado fator que responder localmente ou pela ação endócrina, a distância, realizada pelos hormônios ou neurotransmissores ~~e~~ como, no exemplo, a acetilcolina.

~~Portanto~~ A organização tecidual também é importante e resulta da perfeita comunicação intercelular que ~~mantenha~~ as células de forma estratégica para o perfeito funcionamento do organismo. Como exemplo destaco o espaço de Disse no fígado que promove interação entre hepatócitos, ~~cels~~ estreladas do fígado, SINUSÓIDES sinusoidais e macrófagos residentes (Kupffer). A injúria causada pelos ovos de S. mansoni ~~tornados~~ LANÇADOS no fígado (pela circulação portal) repete nos hepatócitos de forma a ativá-los. Nós observamos que hepatócitos ~~já~~ desapiados após antígenos solúveis do ovo de S. mansoni, altamente imunogênicos ativam a translocação de HMGB1 do núcleo p/ o citoplasma e para o meio extracelular. In vivo também observamos o mesmo perótipo e ao tratar os animais com inibidores de HMGB1 verificamos que ~~há~~ uma importante regulação da fibrose nesse espaço periportal significativa. ~~Este~~ Este evento também já foi caracterizado em diversas outras injúrias hepáticas como infecção pelos vírus da hepatite e que demonstra a importante ação da HMGB1 na comunicação intercelular. Ressalta-se que nos modelos de dano hepáticos a constante ativação de HMGB1 induza transição epitelial-mesenquimal das células estreladas do fígado (HSC hepática ~~estrelada~~ ativ)

UFRJ

fazendo com que essas células modifiquem seu fenótipo e passem a adquirir característicos de mio fibroblasto passando a produzir exacerbadamente componentes da matriz extracelular como ácido hialurônico, e colágeno I, entre outros. Esse exemplo demonstra um importante papel da alarmina HMGB1 na plasticidade fenotípica. Essas células sob o efeito da HMGB1 também mudam seu fenótipo passando a ~~a~~ adquirir características mesenquimais como expressão (moléculas importantes na junção intercelular de N-caderina, vimentina, fibronectina p/133 integrinas, o que modifica a arquitetura tecidual, levando a perda da função do fígado. Esse mecanismo parece acontecer via eixo HMGB1 - desmoplasia > RAGE > FP3 > MAPK. A inibição da HMGB1 ou RAGE controla significativamente o processo da fibrose hepática sendo um importante ponto de regulação.

Voltando para a minha experiência nesse ponto, é importante ressaltar que no modelo de esquistossomose murina, quando a HMGB1 foi inibida por dois ácidos isoflavonóides e por glicirrizina, foi observada uma drástica redução do tamanho do granuloma esquistossomótico, o que demonstra a importância desse mediador como um importante regulador do microambiente.

12 - GENES, AMBIENTE E RESPOSTA BIOLÓGICA.

Como ressaltei no tópico anterior, a alarmina HMGB1 ~~não~~ no meio intracelular tem papel direto ~~no~~ sob o microambiente. Por exemplo, a quimioterapia do câncer tem sido REVISTA ~~exposta~~.

UFRJ - CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
INSTITUTO DE BIOFÍSICA CARLOS CHAGAS

E estudiosos ~~[illegible]~~ da área partindo da premissa que o câncer se desenvolve em ~~[illegible]~~ ambientes altamente tolerogênico sugerem ~~o~~ uso de drogas que promovam liberação de DAMPS (que nesta literatura é designada como induced cell death marker) para criar um microambiente inflamatório favorável p/ a memória tumoral. É crescente o estudo da HMGB1 nesse sentido.

A plasticidade fenotípica é modulada por modificações epigenéticas onde o ambiente ~~[illegible]~~ no em ~~[illegible]~~ ~~[illegible]~~ torno da célula é capaz de levar a mudanças no perfil de expressão gênica através de metilação direta do DNA em regiões ricas CPG island na região promotora de um gene; regulação da arquitetura da cromatina pela ação de histonas acetil transferase ou histona ~~[illegible]~~ desacetilases, ou melhor dizendo, enzimas modificadoras de histona, e ainda pela regulação de micro RNA'S não codificantes.

Nesse contexto a alarmina HMGB1 ao ter um ~~[illegible]~~ tempo de meia vida prolongado e promover loops de feedback positivos ~~[illegible]~~ atuando principalmente em TLR4 e RAGE e ainda sendo sinérgica a outros mediadores como LPS exerce efeitos considerados no microambiente, o que reflete na resposta celular e muito possivelmente à alterações epigenéticas.

~~[illegible]~~ Tivemos interesse nessa questão e em colaboração c/ o DR. FRANK LYKO (DKFZ) especialista em metiloma nos interessamos em investigar se os ovos de S. mansoni, bem como a HMGB1 liberada

UFRJ

pelos hepatócitos no modelo ~~murino~~ murino de esquistossomose promoviam marcas de metilação significativas ~~no~~ e cruciais ~~para a mudança de fenó~~ que justificasse a mudança da arquitetura hepática a nível de epigenoma. Por problemas técnicos fomos, naquele momento, incapacitados de estudar esse efeito, no entanto, tenho muito desejo de retomar esse projeto.

As modificações epigenéticas ~~[illegible]~~ além de terem importante papel na embriogênese / morfogenese silenciando / ativando determinados genes cruciais de cada célula, permitem que compreender as alterações de fenótipo a partir de um único genótipo ineditável ~~[illegible]~~ em o ~~[illegible]~~ resposta à modificações do ambiente. A partir desses estudos foi possível identificar por exemplo porque gemeos idênticos possuem fenótipos (doenças) distintas; como uma abelha se diferencia em abelha rainha a partir da ~~[illegible]~~ geleia real; como que camaradagos herdam de seus progenitores a rejeição ao cheiro de fruta, ~~[illegible]~~ Por fim ~~[illegible]~~ a compreensão desses mecanismos epigenéticos em resposta ao meio podem agregar valor na esfera econômica. Uma recente propaganda da TV globo ~~[illegible]~~ — AGRO ~~[illegible]~~ associa o investimento em cuidado ~~animal~~ bem-estar com o aumento da produção e qualidade do leite. Esse mecanismo é explicado por modificações epigenéticas (não na propaganda) e está associado a maior produção ~~de~~ serotonina, que entre outros fatores, eleva o Ca^{2+} no sangue e no leite. Além de promover saúde do animal promove melho-

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 15

No. fl. 12/12

ramento do leite, o que agrega valor.

Dessa forma creio que o estudo da regulação epigenética seja crucial para melhor compreendimento da relação gene-ambiente sendo uma área promissora e essencial para promoção da a saúde em um meio em constante modificação.

Obs.:

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho
Concurso para Professor Adjunto
MC-015 – Integração de Sistemas Biológicos
Edital nº 377 de 25 de maio de 2022, publicado no DOU nº 102 de 31 de maio de 2022 - consolidado com as alterações dos Editais nº 402 de 31 de maio de 2022 e nº 435 de 31 de maio de 2022

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 16

No. fl. 1

Comunicação intercelular

Os mecanismos de comunicação intercelular são essenciais para respostas ao ambiente e adaptativas em diversos organismos, desde seres unicelulares a organismos multicelulares. A sinalização entre células é dividida entre parácrina, autócrina, de contato, endócrina e sináptica. Irei focar nesta dissertação nas formas de comunicação sináptica, seus mecanismos e função.

A sinalização sináptica é dividida entre elétrica e química, sendo a química a mais comum. Na sinapse elétrica, o sinal elétrico, na forma de íons é transportado de uma célula a outra por junções comunicantes existentes entre as células pré- e pós-sinapticas. Neste tipo de sinapse há contato físico entre as duas células, a comunicação é mais rápida, porém menos passível de regulação.

As sinapses químicas são geradas a partir da liberação de vesículas contendo neurotransmissores pelo neurônio pré-sináptico na fenda sináptica. Estes neurotransmissores irão se ligar em receptores nas sinapses do neurônio pós-sináptico e induzir uma modulação na resposta sináptica. A resposta sináptica irá depender principalmente do receptor e das moléculas a ele associadas. Porém

UFRJ - INSTITUTO DE BIOFÍSICA CARLOS CHAGAS

existem neurotransmissores classicamente associados a ativação neuronal, como é o caso do glutamato, e outros classicamente associados a inibição da neurotransmissão, como é o caso do GABA.

A neurotransmissão se inicia nos axônios do neurônios. Quando o potencial da membrana é excitado acima de um limiar, ocorre abertura de canais de Na^+ e Ca^{2+} voltagem-dependente que geram uma despolarização da membrana. Este potencial é propagado no sentido unidirecional para os dendritos. Isto ocorre porque após a abertura dos canais, o canal é fechado e por um periodo de tempo fica em um estado inativo. A propagação do sinal elétrico pode ainda ser facilitada em neurônios que contém bainha de mielina. Ela forma uma camada isolante na membrana do neurônio e o potencial de ação neste caso se propaga em saltos, apenas nas porções da membrana que não possuem bainha de mielina, chamada de nódulos de Ravier.

Quando a membrana próximo aos dendritos é despolarizada, ocorre entrada de Ca^{2+} na região pré-sináptica, que é essencial para a fusão de vesículas contendo neurotransmissores na membrana e liberação de neurotransmissores para os neurônios pós-sinápticos. Quanto maior o influxo de Ca^{2+} maior a liberação de neurotransmissores. Classicamente acreditava-se que cada neurônio produzia um único neurotransmissor. Hoje sabe-se que existem neurônios que produzem mais de um tipo de neurotransmissor, porém as sinapses são específicas quanto ao tipo do neurotransmissor.

Quando o neurotransmissor se liga ao seu receptor ocorre uma

Favor não escrever no verso

abertura de canais iônicos ou modulação da resposta sináptica. O glutamato por exemplo, é um neurotransmissor excitatório, que se liga a receptores do tipo NMDA, AMPA ou cainato, todos receptores ionotrópicos. Após a ligação nestes receptores há influxo de Na^+ e Ca^{2+} que irão levar a mudanças pós-traducionais e na expressão gênica, que por fim levarão há uma mudança estrutural ou no comportamento da célula. O Ca^{2+} por exemplo pode ativar proteínas cinases dependentes de Ca^{2+} como a CaMK ou a PKC que levarão a propagação deste sinal.

Um mecanismo muito importante em induzir mudanças prolongadas na função neuronal é a potenciação de longa duração, abreviada por LTP. Na LTP dependente do receptor de NMDA, existe um mecanismo de detecção de coincidência, que quando há liberação de neurotransmissores num período próximo de tempo, o glutamato leva a um influxo de Na^+ nos canais AMPA. Este influxo de Na^+ despolariza a membrana e libera o ion Mg^{2+} do canal NMDA, que impedia a sua abertura. Quando ocorre outro aporte de glutamato neste tempo, o receptor NMDA é ativado, o que gera influxo de Na^+ e Ca^{2+}, que irá induzir mudanças estruturais. A sinalização ~~med~~ induzida por Ca^{2+} leva a fosforilação do fator de transcrição CREB, que irá induzir a transcrição de mRNAs relacionados a síntese de receptores, proteínas estruturais e de citoesqueleto que irão induzir um aumento na força sináptica por um tempo prolongado. Acredita-se que este mecanismo seja um correlato molecular da memória.

Favor não escrever no verso

Camundongos que tiveram a LTP inibida não formavam memórias e quando a LTP era estimulada a memória era evocada. Outro aspecto interessante é que é um mecanismo sinapse específica. Estes mecanismos de compartimentalização da comunicação permitem que neurônios favoreçam comunicações com sinapses específicas, ao mesmo tempo que inibam outras interações sinápticas.

A neurotransmissão possui função de comunicação em todo o organismo. Irei focar no sistema nervoso de mamíferas, que possuem uma estrutura cerebral que irá comandar sono/vigília, integração de processos metabólicos, sensoriais, motores, memória, motivação, emoção, etc. E a medula espinhal com os nervos periféricos que irão modular a resposta motora, controlar a digestão, modular batimentos cardíacos, entre outros.

Um dos exemplos da neurotransmissão no tecido periférico é o sistema nervoso simpático e parassimpático controlado pela medula espinhal que controla as respostas luta e fuga e digestão e repouso, respectivamente. Este sistema irá modular a sudorese, frequência cardíaca, ereção, digestão, esvaziamento da bexiga, entre outros, pela liberação dos neurotransmissores noradrenalina e acetilcolina.

Em síntese a comunicação sináptica é importante na função de todo organismo, possui efeito a longas distâncias, devido a extensão em que os neurônios podem se propagar, é sinapse-específica, de forma que pode agir em uma célula que o neurônio faz sinapse sem a sinalização atingir a célula ao lado e possui efeitos distin-

UFRJ - CHN

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 16

No. fl. 5

tos a depender do neurotransmissor liberado e do receptor e ~~pode~~ ser a resposta sináptica pode ser modulada de diversas formas, tanto por mecanismos de plasticidade sináptica, como o LTP, como pela ação de neurotransmissores em receptores metabotrópicos, que controlam a força sináptica.

Favor não escrever no verso

Equilíbrio dinâmico, homeostasia

A homeostasia é um equilíbrio dinâmico que ocorre em várias funções a nível celular e do organismo a fim de manter um funcionamento ótimo e favorecer a função celular, a vida e a sobrevivência das espécies. A homeostasia existe desde o controle da proliferação celular, manutenção do volume celular, até o controle da glicemia, temperatura, pressão arterial, controle do pH, volemia, entre outros. Em todos estes exemplos existe um liminar ótimo para uma determinada função, que pode ser alterado em diferentes circunstâncias. Por exemplo, a liminar de vários processos homeostáticos se alteram de uma condição de repouso para uma condição com exercício físico.

Nesta dissertação irei focar na proteostase, que é o controle da síntese, enovelamento, modificações pós-traducionais e degradação de proteínas. Todos estes processos na célula precisam ser intimamente controlados para manutenção dos níveis e conformação das proteínas, que irão regular inúmeras funções celulares.

Para garantir a proteostase, existem muitas etapas de controle de qualidade das proteínas. Na maior parte das células e na maioria dos casos, as proteínas são sintetizados no retículo endoplasmático por ribossomas e após serem sintetizadas, as proteínas irão se enovelar espontaneamente ou com o auxílio de chaperonas. Quando este processo não ocorre de forma correta e as proteínas não adquirem a conformação nativa, as folhas β

são expostas, diferente do que ocorreria se estivessem em estado nativo. Estas proteínas mal-enoveladas são reconhecidos por proteínas E3-ubiquitina ligases, são ubiquitinadas e endereçadas ao proteassoma para degradação.

A síntese de proteínas é também regulada de acordo com o estado metabólico celular, a nível transcricional, e de acordo com o tipo de proteína que necessita ser sintetizada. Há momentos porém que ocorre uma redução generalizada da síntese proteica. Esta resposta se chama resposta integrada ao estresse, em que sinais de deprivação metabólica, infecção viral ou estresse de retículo ativam as proteínas cinases da via de resposta integrada ao stress, PERK, PKR, GCN1 e HRI que levam a fosforilação do fator eucariótico de tradução eIF2α. Quando este fator é fosforilado, ocorre a parada na síntese proteica no ribossoma da maior parte de mRNAs com excessão dos mRNAs de resposta ao estresse que serão mais sintetizados. No caso do estresse de retículo, quando ocorre um acúmulo de proteínas mal-enoveladas no lúmen há também a ativação de fatores de transcrição como CHOP e XBP1s que levam a síntese de chaperonas e outras proteínas a fim de resolver o estresse de retículo.

Um processo em especial que vale ser mencionado é o papel da síntese de novas proteínas na formação de memórias. A síntese proteica é essencial neste processo, pois quando inibida não há formação de memórias de longo prazo. Em neurônios a

síntese proteica pode ocorrer também localmente, em polirribossomas presentes na sinapse. É por isto, a regulação torna-se ainda mais complexa, pois envolve o transporte de mRNAs do núcle a sinapses, que podem se extender por ~~centen~~ dezenas de centímetros, dependendo das sinapses. A regulação na síntese proteica nestes casos também ocorre localmente. Além do mecanismo de ~~inibição~~ regulação da síntese proteica por eIF2α existem outros repressores traducionais, como o 4E-BP, FMRP e eEF2K que atuam em outras etapas da tradução.

Existe uma ~~doen~~ transtorno genético do expectro autista chamado de síndrome do X frágil, em que o gene Fmr1, que codifica FMRP é inibido. Nestes casos ocorre uma exacerbação da síntese proteica que leva a aumento de estruturas sinápticas chamadas espinhas dendríticas. Neste transtorno há prejuízo na memória e cognição, ilustrando o papel da proteostase, em que uma redução ou aumento na síntese proteica pode levar a um prejuízo de função.

Na doença de Alzheimer ocorre exatamente o contrário. Muitos grupos e inclusive no meu trabalho, foi observado uma redução na síntese proteica cerebral em humanos e em modelos murinos da doença de Alzheimer. No meu trabalho observamos que a restauração da síntese proteica tanto por mecanismos genéticos, como deleção de Fmr1 ou 4E-BP ~~gera uma melhora~~ ou por mecanismos farmacológicos gera uma melhora na memória em camundongos modelo da doença

de Alzheimer.

Por fim, outro mecanismo bastante regulado é a degradação de proteínas. Artigos recentes mostraram inclusive que os processos de síntese e degradação proteicos estão interligados a fim de manter um controle nos níveis proteicos globais. Quando há um aumento da síntese proteica por mTOR, por exemplo, ocorre um aumento na síntese de subunidades do proteassoma, levando a uma maior degradação proteassomal. ~~A contribuição~~ Outro mecanismo de degradação proteico é por autofagia, que é inibido por mTOR. A interligação e contribuição de cada uma destas vias para a manutenção dos níveis proteicos e proteostase ainda não foi completamente elucidada.

Sabe-se porém que a inibição destes processos de degradação de proteínas podem levar a diversas doenças, principalmente doenças neurodegenerativas como doença de Alzheimer, Parkinson e Hungtington. Todas estas doenças são caracterizadas por acúmulos de agregados proteicos em conformação amiloide. Muitos artigos indicam que oligômeros ou fibras de proteínas associadas a estas doenças, como β-amiloide, tau, alfa sinucleína e hungtintina inibem o proteassoma. Em contrapartida a inibição do proteassoma leva a um aumento destes agregados e alguns artigos recentes mostraram que ativação do proteassoma ou autofagia é protetora em diversas destas doenças. No meu trabalho eu observei que oligômeros do peptídeo Aβ induz redução na atividade do proteassoma principalmente

em frações sinápticas e que a inibição do proteassoma "per se" induz aumento na formação de espécies reativas de oxigênio, inibição na síntese proteica, redução no número de espinhas dendríticas e prejuízo na memória em camundongos.

Em síntese, os mecanismos de síntese proteica, enovelamento, tráfego, degradação e modificações pós-traducionais deve ser regulado para o melhor funcionamento celular. Uma inibição ou exacerbação de qualquer um destes mecanismos pode levar a disfunções celulares e a célula possui diversos mecanismos de controle da proteostase.

UFRJ - CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE - INSTITUTO DE BIOFÍSICA CARLOS CHAGAS

Genes, ambiente e respostas biológicas

As respostas biológicas e função celular dependem tanto da informação genética contida no DNA quanto a modificações do ambiente que levam a mudanças no organismo durante a vida. Em contrapartida os genes também são regulados pelo ambiente. Em leveduras por exemplo, existe o operon Lac, em que a expressão de lactose é condicionada tanto a falta de glicose, como a presença de lactose no meio.

Nesta dissertação irei focar em mecanismos epigenéticos, em que o ambiente pode levar a mudanças no controle e na expressão gênica, sem alterar o código genético. Dentre estes mecanismos incluem metilações e acetilações em histonas e metilações no DNA. Estas modificações em histonas e no DNA facilitam ou impedem a transcrição de um certo gene ou por modificar a compactação do DNA, as chamadas eucromatinas e heterocromatinas, ou por bloquear fisicamente o contato de ~~ne~~ fatores de transcrição no promotor de um determinado gene.

Diversos estímulos ambientais, através de vias de sinalização intracelulares levam a expressão de enzimas que regulam a expressão gênica por epigenética, como as enzimas histonas acetilases, histonas deacetilases e metiltransferases. As histonas são proteínas que são envelopadas por fitas de DNA e regulam a sua compactação através de modificações pós-traducionais. A acetilação de histonas, por exemplo deixa o DNA mais acessível, e portanto, favorável a

transcrição. A metilação de histonas, por outro lado leva a compactação do DNA e menor transcrição.

Para a formação de memórias, por exemplo, é necessária síntese proteica neuronal. E já foi mostrado que durante a formação de memórias ocorre maior acetilação de histonas. O uso de inibidores de histonas deacetilases, induziu melhora na memória em camundongos velhos e camundongos modelo para a doença de Alzheimer.

É importante ressaltar que o perfil epigenético pode ser propagado tanto por divisão celular para células somáticas, quanto nas células germinativas para próximas gerações de indivíduos. A separação maternal em camundongos, por exemplo, é um modelo de depressão e ansiedade em camundongos. Foi observado que camundongos que foram separados das mães em um período crítico, apresentavam maior grau de ansiedade e depressão por duas gerações e este efeito foi relacionado com o grau de metilação de DNA.

O mais comum, portanto, de ser observado é uma transmissão a nível gênica de um aspecto no ambiente em um indivíduo durante a sua vida. O período embrionário é um período particularmente importante, pois está mais suscetível a ação de mecanismos epigenéticos. Alterações durante a gestação, portanto, alteram o comportamento do indivíduo por toda a vida. O uso excessivo de álcool por exemplo, ~~induz uma redução na cognição~~ durante a gestação induz uma redução na cognição da prole. O uso de entorpescentes na gestação aumenta a chance da prole ser susce-

tível a vícios e se um indivíduo teve desnutrição na fase embrionária existe uma reprogramação metabólica que favorece o acúmulo de gordura e o indivíduo apresenta maior chance de apresentar obesidade.

Outro evento ambiental que pode modular a resposta gênica e o comportamento é infecção viral. Os vírus podem integrar material genômica em células somáticas e levar a predisposição de transtornos como a esquizofrenia, ~~e doe~~ doenças autoimunes e câncer. Um exemplo é o vírus HPV, ~~que~~ em que a sua infecção leva a um risco do desenvolvimento de câncer.

A mutação de células somáticas por exposição a raios ultravioletas também aumenta a chance do desenvolvimento de câncer de pele. Nestes casos o ambiente leva a alterações da expressão gênica em células somáticas, sem transmitir este risco para a prole.

Em síntese, a epigenética explica os mecanismos de adaptação durante a vida do indivíduo, e que as vezes pode ser propagada para gerações futuras, sem que ocorra mudança no código genético. Estas modificações epigenéticas incluem modificações pós-traducionais no DNA e nas histonas, que irão levar a menor ou maior transcrição de genes específicos, e logo mudanças no comportamento a nível celular e do indivíduo. Alguns pesquisadores incluem também na epigenética, as modificações gênicas em células somáticas, que não se propagam para a próxima geração e nem representam o código genético do indivíduo como um todo.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho
Concurso para Professor Adjunto
MC-015 – Integração de Sistemas Biológicos
Edital nº 377 de 25 de maio de 2022, publicado no DOU nº 102 de 31 de maio de 2022 - consolidado com as alterações dos Editais nº 402 de 31 de maio de 2022 e nº 435 de 31 de maio de 2022

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 17

No. fl. 01

Favor não escrever no verso

Sobre cada um dos três temas abaixo, escolha um tópico e o desenvolva. Quando relevante, inclua sua experiência acadêmica, de pesquisa e extensão.

4. Comunicação intercelular

7. Equilíbrio dinâmico e homeostasia

12. Genes, ambiente e respostas biológicas

Comunicação Intercelular.

* As principais formas (tipos) de comunicação intercelular e algumas correlações com insetos.

A comunicação intra e extracelular é extremamente importante para a sobrevivência de seres pluricelulares em geral. Para que ocorra essa comunicação, existem vários mecanismos de sinalização. É no caso da comunicação intercelular, podemos apontar três tipos: (1) hormonal, (2) parácrina e (3) neurotransmissores.

A do tipo hormonal ocorre a longas distâncias. Neste caso, o hormônio (ligante) percorre a corrente sanguínea (hemolinfa, no caso de insetos) até encontrar o local onde

UFRJ

irá se ligar (célula-alvo). Os hormônios são extremamente importantes para a manutenção de funções básicas e para a sobrevivência.

Sabe-se que a maioria dos hormônios são hidrossolúveis, podendo facilmente atravessar a corrente sanguínea. Porém, existem alguns hormônios que são hidrofóbicos, tendo, assim, facilidade para atravessar a membrana plasmática. Tais diferenças, vão representar vantagens diferentes para cada um desses hormônios.

Os insetos, por exemplo, precisam de hormônios, como o ecdisona, para o seu crescimento. Este hormônio irá percorrer a hemolinfa até atingir todo o seu corpo, estimulando o crescimento corporal e a produção do polímero de quitina (fundamental para a troca do exoesqueleto/muda).

A comunicação do tipo parácrina ocorre em curtas distâncias, sendo um exemplo a produção de ácidos araquidônicos, envolvidos com respostas conhecidas como inflamação. Em insetos, esse tipo de resposta ocorrem, geralmente, relacionadas à algum tipo de estresse ambiental, doença ou presença de parasitos.

Na literatura, por exemplo, já foi mostrado que a presença de parasitos como Trypanosoma cruzi e T. rangeli fazem com que o barbeiro Rhodnius prolixus

UFRJ

(Fator da Doença de Chagas) produza uma série de respostas inflamatórias como alterações no balanço redox e homeostase.

Já os neurotransmissores, são respostas mais especializadas que ocorrem durante as sinapses. Neurotransmissores possuem um alvo muito específico, sendo uma resposta rápida e de curta duração. Nos artrópodes em geral, existem receptores olfativos, que são neurotransmissores, cujas células-alvo estão localizadas, principalmente, em antenas. Possuindo funções importantes para o acasalamento e para a detecção de perigo, por exemplo.

É válido lembrar também, da existência da matriz extracelular que exerce papel fundamental para a regulação e manutenção do desenvolvimento, por exemplo. É no caso dos artrópodes, essa matriz também é muito importante. Possuindo uma função estrutural importante, pois como a respiração é do tipo traqueal essa matriz reforça a distribuição de gases célula-célula.

Muitos aspectos da comunicação intercelular são comuns em diversos grupos de seres vivos, podendo, assim, citar os mecanismos de comunicação e similaridades de moléculas e funções. Alguns aspectos como nomes de estruturas, moléculas e afins se diferenciam entre os grupos de seres vivos. Mas, mesmo assim, o estudo das for-

Favor não escrever no verso

mas de comunicação intra/intercelular são importantes em qualquer modelo pois nos auxilia na compreensão da evolução biológica, da importância dessa comunicação bem como no entendimento de mecanismos gerais.

Equilíbrio dinâmico e homeostasia

*O estresse oxidativo como agente alterador do equilíbrio/homeostas

Todos os seres vivos precisam sobreviver, e para isso, eles precisam contornar uma série de aspectos que podem se tornar uma ameaça para essa sobrevivência. Nossas células estão em todo momento "decidindo" como manter-se em equilíbrio sem alterar o seu funcionamento basal. Com isso, os conceitos de equilíbrio dinâmico e homeostase se relacionam pois eles estão presentes em cada alteração (ou não) do funcionamento do organismo.

Na literatura, diversos trabalhos demonstram que o organismo sempre vai "tentar" se manter em equilíbrio. Um exemplo, são os trabalhos que envolvem radicais livres (em específico a produção de radicais livres de oxigênio/ROS), pois embora a produção desses radicais seja normal em organismos; em excesso, eles podem causar danos e/ou alterações severas.

Em seres humanos, este desbalanço tem sido associado à doenças como Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA) e

COVID-19, por exemplo. Em plantas, o desbalanço redox tem sido associado, por exemplo, à alterações da cor e do crescimento vegetal.

Em insetos hematófagos a presença de ROS já foi associada à alterações morfológicas (cutícula mais escura e frágil/alteração de digestão, por exemplo). Na literatura, já foi demonstrado que esse desequilíbrio alterou o funcionamento e forma de vários órgãos como hemolinfa, intestino, cutícula e ovos, sempre na tentativa de restabelecer o equilíbrio anteriormente existente.

No barbeiro Rhodnius prolixus (inseto hematófago), o aumento de ROS interfere na adesão e diferenciação parasitária, altera a coloração cuticular, a oviposição, a alimentação bem como a produção enzimática (dados da literatura/tese de doutorado). Possivelmente, numa tentativa de retornar ao equilíbrio.

Quando algum fator altera o estado de equilíbrio de um organismo, este irá se utilizar de todos os mecanismos para retornar ao equilíbrio e quando esse retorno não acontece, sua homeostase é ameaçada. Embora a produção excessiva de ROS tenha sido colocada como exemplo, os motivos que podem levar à alteração do equilíbrio dinâmico são vários: vírus, bactérias, estresse ambiental, fome ... e outros mais.

UFRJ

OBS.: inseto hematófago = inseto que se alimenta de sangue.

Genes, ambiente e respostas biológicas

Embora o genoma de um organismo contenha todos os genes, e com isso, todas as informações genéticas, é sempre válido lembrar que os seres vivos interagem com o ambiente. Essa interação pode ocasionar mudanças na expressão de um gene bem como de respostas biológicas.

Os genes podem ter sua expressão alterada por diversos fatores ambientais e um exemplo disso é a expressão da cor de pele humana. Pois, a pele pode ter a coloração alterada dependendo dos níveis de sol ao qual é exposta. À medida que aumenta a exposição solar, a melanina responde e a cor da pele se torna um pouco mais escura.

Outro exemplo envolvendo a pele, é a exposição excessiva aos raios UV que podem alterar o funcionamento gênico, celular e ocasionar a presença de cânceres como os de pele.

Determinadas condições ambientais, são importantes influências para a expressão (ou não) de um gene. Em insetos, por exemplo, a ausência de fotoperíodo

UFRJ

(dia e noite) pode interferir na expressão de genes associados à reprodução e comportamento, levando-os à morte.

Na literatura, vários trabalhos têm avaliado o comportamento, funções e respostas produzidas por um determinado gene. É uma das técnicas utilizadas nesses trabalhos é a do RNA de interferência, onde uma dupla fita de RNA (sintetizada para um gene alvo) irá diminuir ou acabar com a expressão de determinado.

Essa técnica tem se mostrado muito importante em vários aspectos: clínicos (vacinas), biotecnológicos (produção de produtos) e morfológicos (avaliação de função gênica). Em insetos, essa técnica tem aberto portas para a produção de bioinseticidades e para avaliações morfo-funcionais.

A resistência à inseticidades têm sido associadas à transportadores do tipo ABC, que ao receberem um estímulo externo (inseticida), sinalizam que esse produto deve ser eliminado. A presença dos tradicionais inseticidas aumenta a expressão de genes PGP (também associados à resistência). Mostrando, assim, outro exemplo de como o ambiente pode interferir na expressão gênica e nas respostas biológicas.

Em insetos, plantas e animais ainda há muito a ser explorado. A interferência que os genes podem

UFRJ

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 17

receber do ambiente apesar de conhecida, não se sabe ainda até que nível essa interferência/alteração ambiental é relevante na expressão fenotípica e no cotidiano.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho
Concurso para Professor Adjunto
MC-015 – Integração de Sistemas Biológicos
Edital nº 377 de 25 de maio de 2022, publicado no DOU nº 102 de 31 de maio de 2022 - consolidado com as alterações dos Editais nº 402 de 31 de maio de 2022 e nº 435 de 31 de maio de 2022

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 18

No. fl. 1

Favor não escrever no verso

→ Comunicação Intercelular

→ subtópico: Introdução ao tema e relato de experiência

Comunicação intercelular é o mecanismo pelo qual as células eucarióticas enviam sinais à suas companheiras. Os objetivos desta sinalização podem ser os mais diversos, tal como a manutenção do número celular, a alteração do metabolismo e a reação à distúrbios do ambiente. Por exemplo, a levedura Sacharomyces cerevisae se comunica através de pequenas moléculas à suas companheiras, em um ~~como~~ sistema de comunicação conhecido por quorum sense. Através dele, a população deste microorganismo sofre mitose até uma definida concentração celular máxima. Esta, correspondente à disponibilidade de espaço e nutrientes, por exemplo. Em outros momentos, em especial quando ~~um~~ o ambiente é ostil, ~~o com~~ o sistema de comunicação indica a necessidade de aumento da variabilidade genético, sinalizando para um

Favor não escrever no verso

indivíduo haplóide, que ele deve ~~fazer~~ realizar uma reprodução sexuada. Um segundo exemplo, envolvendo humanos, é a regulação das vias metabólicas para geração de energia. Uma elevada sinalização informa quando há baixa de glicose no sangue e ~~[illegible]~~ regula as vias da glicólise, glicogênese e glicorreogênese. Existem 5 tipos principais de comunicação celular: A autócrina, que não trataremos aqui; onde a célula comunica à ela mesma a necessidade de alterar algo. A parácrina, onde a molécula sinal é liberada ao meio extra-celular ao interno da "célula mãe", ou célula mensageira. Logo, neste caso, a célula receptora está fisicamente próxima à célula mãe. Quando o sinal é enviado à uma célula receptora distante, chamamos de sinalização Endócrina. Os exemplos mais comuns são os hormônios, que geralmente pela via sanguínea percorrem o corpo humano até chegar em contato com a célula receptora. Um terceiro tipo de sinalização inter-celular é a sinalização ou comunicação dependente de contato. Neste caso, célula mãe e célula alvo estão fisicamente próximas ao ponto de estabelecer contato. Neste caso, a molécula sinal não é liberada, permanecendo na membrana celular da célula

mãe. Por último, a comunicação sináptica, é um caso especial que está relacionada à comunicação neurônio - neurônio. Nela, a liberação da molécula sinalizadora (aqui chamada neurotransmissor), é liberada na fenda sináptica, já muito próxima ao seu receptor, que estará na membrana do próximo neurônio. Nestes casos, a natureza química dos neuro-receptores, é quase sempre proteica. Mas não é regra para os outros tipos de sinalização, onde a variedade de receptores incluem além de proteínas de membrana, aminoácidos, peptídeos, RNA, DNA e até mesmo esteróides de membrana. Estes últimos geralmente são compostos hidrofóbicos e atuam no plano da membrana. ~~Alguns gases por exemplo, se difundem com facilidade pela membrana, alcançando seu receptor~~ Já a variedade química do sinal também é ampla e inclui todas as classes citadas. Ainda sim, é importante ressaltar que a grande maioria de receptores é sim de natureza proteica, enquanto a dos sinais é mais diversa. Um mesmo sinal pode agir de diferentes formas, ou seja, informar diferentemente, diferentes células. Por exemplo, a acetil colina quando nas glândulas salivares, estimulará a produção de saliva. Enquanto,

Favor não escrever no verso

em células cardíacas, diminuirá a velocidade do potencial de ação destas. Além disso, um único sinal pode gerar uma cascata de sinalização. É o caso da forscolina, uma molécula que é capaz de estimular algumas das adenilato ciclase humanas (ADCy). Estas enzimas, foram estudadas por mim e minha equipe, durante meu primeiro pós doutorado na República Tcheca.

As ADCy são enzimas transmembranas (T12 = com 12 hélices intermembranar) que são capazes de catalisar a conversão de ATP em cAMP (AMP cíclico). O cAMP é um importante sinalizador secundário (pois é gerado após 1 sinalizador inicial ativar a ADCy) envolvido em diversas vias metabólicas, especialmente aquelas ligadas ao sistema imune. ADCy são receptores do tipo 'receptores associados à proteína G'. Proteínas G são uma família de proteínas compostas de suas subunidades: α, β, γ. e estão associadas à uma molecula de GDP, quando inativas, ou à uma molécula de GTP quando ativa. Essa interação GDP/GTP com a proteína G se dá pela subunidade α da proteína G, que se dissocia das subunidades β e γ quando ativa.

Em meu trabalho na República Tcheca, nós notamos que a ADCy7 de humanos possui um motif

UFRJ

muito similar à motifs de outras proteínas que se ligam à colesterol. Esta observação foi feita pela minha colega Bielorrusa Alexandra, que me questionou se eu conseguiria fazer mutações nestes sítios. Eu realizei 2 mutações sítio-dirigidas de forma a mudar dois dos aminoácidos onde acreditávamos que ocorreria a interação ADCY7 - colesterol. Descrevemos a catálise utilizando um sistema com FRET, e comprovamos nossa hipótese. ~~Este resultado com a teracrida~~ Os nossos resultados estão em fase de publicação e espera-se obter grande impacto na área. Isso porque a possibilidade de modulação da atividade de ADCY's possibilita a ação farmacológica sob diversos pacientes com disfunção nas ADCy. Doenças relacionadas à ADCy são muitas, mas, mais notavelmente, podemos citar a síndrome de Chron e outras doenças de intestino; a propensão à obesidade, ao alcolismo e à síndrome congênita do zika vírus. Atualmente estamos trabalhando também com a resolução da estrutura da ADCY8 por Cryo-EM.

10h25 11h25 12h12 13h25 14h25
25

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 18

No. fl. 6
RASCUNHO

FSK q ativa ADCY
q produz AMPc
a partir de ATP.
o cAMP gera 1 cadeia
secundária de sinalização

tipos de receptores
ADCY + ptn G
acetil coA.
↑ salivação
↓ velocid. do potencial de ação de células cardíacas.

Associados à
canais iônicos
ptn G

5 págs tópico 4
5 tópico 12
7 tópico 7

No nível molecular e de reg. de vias metabolicas,
Homeostasia { de reflexo (longas distâncias)
de ??

1 estímulo gera 1 alça de resposta
alça de resposta
alça de retroalim. (+)
alça de retroalim (−)

Energia livre

Ambiente e Resposta Bio
1 Introd.
2 Exemplos desenv. humano
3 Exemplo sentidos sensoriais primários
4 Emoções - medo, hormônios
5 Elevação de temp, Diminuição de pressão,

apoptose

Orgão

tato { textura
temperat.
de pressão
paladar
olfato

visão 10 fótons e cor
audição

UFRJ - CHILE - INSTITUTO DE BIOFÍSICA CARLOS CHAGAS

→ Genes, Ambiente e Respostas Biológica:

→ Sub-tópico(*): Fundamentos e Introdução à área:

Ambiente e Respostas Biológicas

(*) Não trataremos diretamente sobre genes neste sub-tópico.

Células são ou fazem parte de organismos complexos e ~~altamente~~ finamente regulados. Esta regulação, conforme discutido anteriormente, envolve processos de homeostasia e a constante auto-regulação de seus componentes. Aqui, discutiremos, e especialmente, focaremos em exemplos, de como o ~~meu~~ ambiente age na homeostasia e como esta ação gera uma resposta biológica. Vamos começar com um exemplo relacionado ao desenvolvimento humano. ~~Como o~~ Teria o ambiente alguma relação com o desenvolver de um feto? Sem dúvida! Note que, neste caso, muito mais importante que o ambiente em que o organismo "mãe" está situado, existe o ambiente microscópico onde o zigoto se encontra. Isso porque, ao ser fecundado, um ovócito com um espermatozóide, o zigoto formado se liga à parede uterina. Este tecido, ricamente irrigado

por sangue, nutre a célula zigótica, e permite, e dá sinal para que esta se desenvolva, ou seja, sofra mitoses. Após alguns poucos ciclos mitóticos, a blástula se forma, e não é mais homogênea a interação do zigoto com a parede uterina. Ver figura 1 A partir deste momento, obtém-se um ambiente heterogêneo, onde aquelas células que estão em contato com a parede do útero recebem estímulos diretamente da via sanguínea, enquanto outras células estão dispostas e com maior interação com o muco uterino. Essa diferença na recepção de sinais, como visto no tópico 4, irá gerar uma reação diferente por cada grupo celular. É assim que começa a

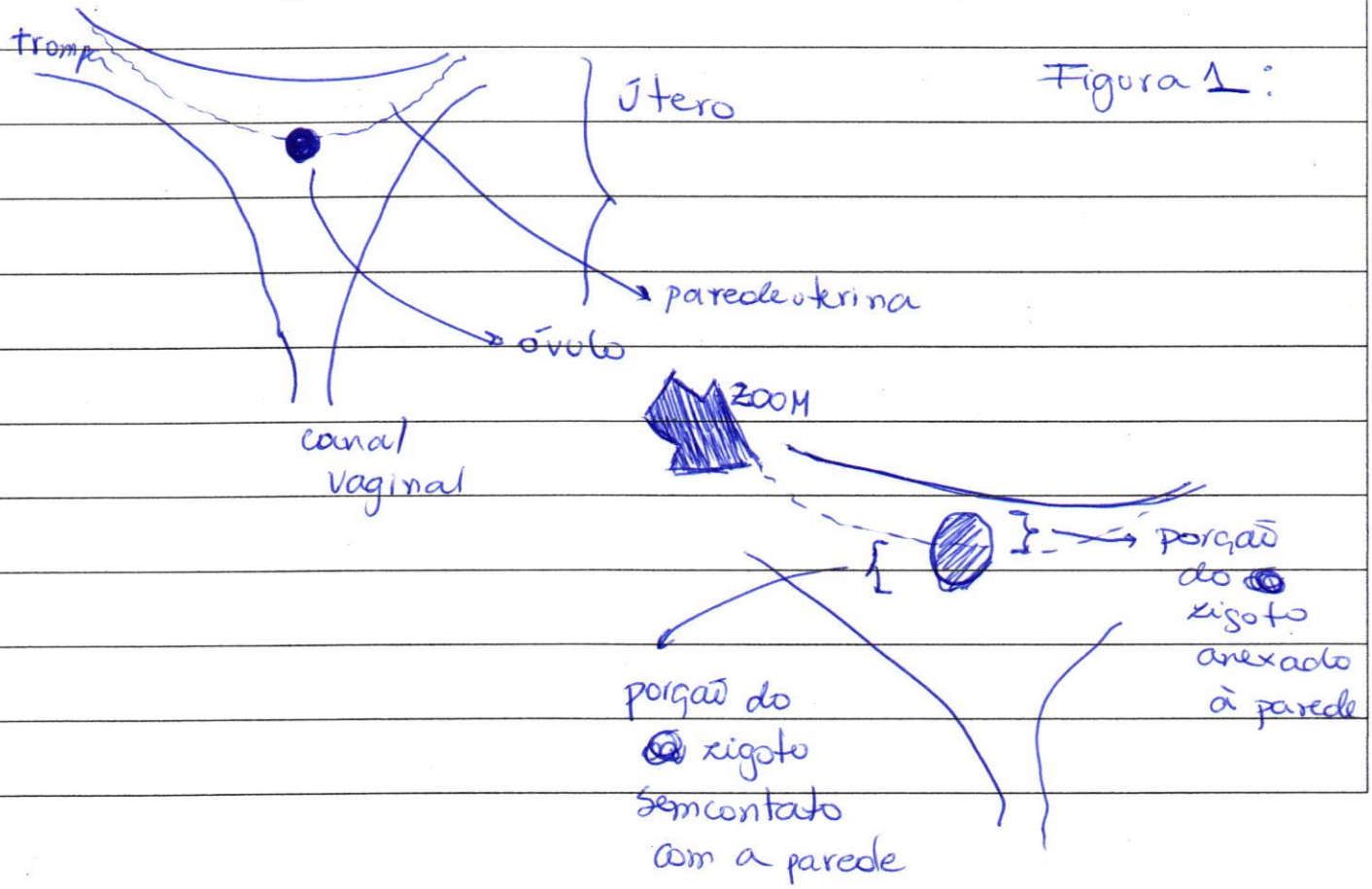


Figura 1:

Favor não escrever no verso

diferenciação celular, que acarretará, posteriormente em diferentes folhetos embrionários e sucessivamente, em diferentes orgãos e tecidos. Este é um exemplo como aquele micro-ambiente influencia e estimula diretamente uma célula ou grupos celulares. Porém, a falta de estímulos, é também geradora de uma resposta biológica. Nesse caso, a ausência de sinais ativam a morte celular programada do tipo apoptose. Já à nível biológico superior, podemos exemplificar a ação do ambiente em orgãos ou tecidos. Por exemplo, quando há exaustão das fontes primárias de energia, o corpo envia informação ao fígado para que ele quebre glicogênio, ~~energia de estocagem~~ molécula de estocagem energética, em glicose. A ação do fígado é então a resposta biológica à um ambiente pobre em glicose. Os sentidos, ou sistemas sensoriais primários, contemplam o grupo de sistemas que identificam perturbações no ambiente no qual se vive o humano. São eles o olfato, que detecta pequenas moléculas de volatilidade relativamente alta; o paladar, que identifica algumas moléculas orgânicas e alguns íons; o tato que detecta mudanças de pressão e de temperatura; a visão que detecta fótons (a partir de 10) e a partir de uma dada quantidade de fó-

tons, detecta também cores; e por último a audição que detecta ondas sonoras. Estes sistemas possibilita a recepção destes diversos sinais do ambiente e a transdução destes. Com isso, é possível uma adequação comportamental que pode trazer vantagens evolutivas, por exemplo. Um exemplo de uma reação biológica após a recepção deste tipo de sinal é o ato de cuspir ao identificar um sabor azedo ou amargo em um alimento que usualmente não teria este atributo. Acredita-se que, em humanos este ato foi de grande importância evolutiva por ter protegido indivíduos de se alimentarem de alimentos potencialmente perigosos à vida. Estes sistemas podem gerar também uma resposta emocional, como o medo, o alerta ou a felicidade. Por exemplo, a detecção de uma definida composição de ondas sonoras, formando por exemplo um grito, desperta uma emoção de alerta, que gera uma cascata de modulações metabólicas que irão preparar o indivíduo para uma resposta adequada: se defender, atacar, fugir, etc. Uma molécula intimamente ligada à esse processo é a adrenalina. Após o recebimento do sinal sonoro, ela é uma das principais mediadora da transdução do sinal. É ela que vai

UFRJ

sinalizar ao coração que ele deve aumentar sua frequência de batimentos, aos olhos que eles têm de aumentar a abertura da retina e aos músculos que estes devem tensionar. Estes são exemplos mais clássicos da recepção de sinais, porém não os únicos. Existe uma grande malha molecular que também trabalha de forma permanente para nos adequar ao ambiente, porém que não age com a colaboração do sistema nervoso central, como fazem os sentidos. Um exemplo é a adaptação à grandes altitudes. Por conta do ar rarefeito nestes ambientes, nossas hemácias tem dificuldade de saturar nos alveolos pulmonares. Para tentar contornar esta baixa taxa de fixação de O_2, nosso corpo se auto-estimula a produzir mais hemácias para que, aumentando a concentração do reagente, consiga compensar a baixa aquisição de O_2.

Favor não escrever no verso

→ Equilíbrio Dinâmico e Homeostasia

→ subtópico: Fundamentos e Introdução à Homeostasia

Homeostasia é o processo pelo qual ~~corpos~~ sistemas biológicos se regulam. Isso, não significa equilíbrio, mas sim a regulação para ajuste de resposta ao ambiente e manutenção própria. O conceito se aplica à diferentes níveis de sistemas biológicos. Por exemplo, a homeostasia ecológica regula e mantém a harmonia das populações ~~de~~ que fazem parte daquele sistema. A homeostasia corpórea, geralmente trata sobre a manutenção de organismos superiores, tal como humanos, mamíferos, aves, etc. Neste nível a homeostasia é o processo pelo qual se regula a interação dos diferentes sistemas que formam o corpo, como o sistema nervoso, o esquelético, o nervoso, etc. Estes, por outro lado, se regulam através da homeostasia tecidual, que por sua vez, se regulam pela homeostasia celular e assim por diante. Quando um sistema biológico recebe 1 estímulo, este gera 1 alça de resposta. Molecularmente, estas respostas são ~~assim~~ classificadas pela sua atuação local, geralmente à nível tecidual, ou pelo seu reflexo, à longa distância. Como discutido no tópico de sinalização

gão celular, esta resposta é dada via sinalização dos mais diversos tipos. Ainda, a homeostasia regula vias metabólicas inteiras pela alça de retroalimentação positiva e pela alça de retroalimentação negativa. Também conhecidas pelo seu termo em inglês feedback ⊕ e feedback ⊖. O primeiro, é um sistema onde o produto final de uma cascata de informações é sinal para a continuidade, ou ainda para o estímulo positivo (de aumento) de uso da via. Fazendo então que esta se retro-ative ou se retro-alimente, pelo aumento da disponibilidade de um substrato do tipo sinal. Já o feedback negativo é o processo onde a produção de um produto final ou pelo menos ~~posterior da~~ mais tardio da cascata, ~~esta~~ aja como inibidor da cascata. Inibindo-a, ou apenas pausando-a temporariamente. Um processo de homeostasia muito comum em livros voltado ao ensino, é a homeostasia sanguínea. Pela se regula a concentração de sais, íons e pH de forma a mantê-lo tamponado e propício à estabilidade celular e do plasma constituinte do sangue. Visto que o sangue está em constante alteração (exemplo: a todo o tempo recolhe gás carbônico dos tecidos e ao to-

da inspiração recolhe oxigênio (O_2) do ar atmosférico), a homeostasia é um processo mandatório para a regulação do pH sanguíneo e a permanência da vida. A desregulação do pH acarretaria na lise celular dos componentes celulares do sangue e inativação das proteínas do plasma, gerando morte ao organismo. Dessa forma, reforça-se que homeostasia não é um processo que visa a entrada em equilíbrio de um sistema, mas sim um processo que regula um equilíbrio que é dinâmico, dentro de seus limites. Para manter a homeostasia em um corpo humano, é necessário então a entrada e saída de elementos. Isto é feito através de um fino controle de massas. Além da dieta, nós fixamos massa através da nossa respiração, através da fixação de O_2. Posteriormente esse O_2 é excretado levando consigo um carbono (CO_2). Além disso, excretamos massa não metabolizada através de excrementos e metabólitos tóxicos pela urina. Esse fluxo de massa permite ainda que assimilarmos energia à ser utilizada em outros processos como a locomoção, a manutenção de temperatura e a atividade neuronal. Dessa forma, é sempre necessário adicionar-se conteúdo ao início das vias quanto é necessário remover alguns conteúdos

UFRJ - INSTITUTO DE BIOFÍSICA CARLOS CHAGAS FILHO

Favor não escrever no verso

Nº DESCRIÇÃO INTERNA: 18	No. fl. 15

produzidos mais ajustante.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho
Concurso para Professor Adjunto
MC-015 – Integração de Sistemas Biológicos
Edital nº 377 de 25 de maio de 2022, publicado no DOU nº 102 de 31 de maio de 2022 - consolidado com as alterações dos Editais nº 402 de 31 de maio de 2022 e nº 435 de 31 de maio de 2022

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 19

No. fl. 1

Favor não escrever no verso

1- Comunicação Celular

As células são as menores unidades vivas. Tanto em unicelulares, quanto em organismos multicelulares, as células necessitam responder a mudanças no ambiente e umas às outras. Principalmente em organismos multicelulares esta comunicação é de suma importância para que as células exerçam as suas funções de forma adequada para a manutenção do organismo.

O canal pelo qual as células comunicam-se é através de estruturas químicas, sejam proteínas, glicoproteínas, lipídeos, ou mesmo grandes estruturas, como as vesículas extracelulares. Essas moléculas podem interagir com proteínas de membrana, ou difundir pela membrana e interagir com proteínas citoplasmáticas da célula-alvo. A comunicação celular pode ser classificada de acordo com a proximidade entre as células:

- Interação célula-célula: ocorre quando o ligante é uma proteína fixada à membrana plasmática de uma célula e interage com receptores presentes na membrana plasmática da célula-alvo.
- Autócrina: quando o ligante liberado para o meio extracelular tem como alvo o mesmo tipo celular que o produziu.
- Parácrina: quando o ligante atua sobre células vizinhas, mas de tipo celular

UFRJ

diferente.

• Endócrina: o ligante atua a longas distâncias, geralmente sendo transportado pela circulação sanguínea.

• Sináptica: os ligantes são liberados por terminais nervosos (axonais) em um espaço restrito, prontamente atuando sobre a célula-alvo.

Alguns fatores podem variar durante a comunicação celular. Por exemplo: a sensibilidade pode ser tipo de ligante e/ou do número de receptores nas células-alvo. Por exemplo, muitas células a concentrações mínimas de hormônios, e podem alterar a sua resposta de acordo com pequenas variações nestas concentrações, como as mudanças metabólicas decorrentes das alterações finas nos níveis de hormônios circulantes. Por outro lado, neurotransmissores, como o glutamato, são liberados em altas concentrações nas fendas sinápticas. Além disso, a sensibilidade a este neurotransmissor pode ser aumentada, como o aumento no número de receptores glutamatérgicos do tipo AMPAR nas células ganglionares da retina após lesão no nervo óptico.

O tempo de resposta também pode variar dependendo da disponibilidade do ligante, da sua afinidade com o receptor ou do tempo que o receptor leva para ser inativado. Por exemplo: o neurotransmissor glutamato gera um estímulo na célula-alvo que é rapidamente cessado por ação de transportadores presentes na membrana dos astrócitos. Contudo, em situações de lesão, esta captação é comprometida, resultando na permanência prolongada do glutamato no meio extracelular. Outro fato é que um mesmo ligante pode ter afinidades diferentes por receptores diferentes, assim como o glutamato possui afinidade maior por receptores glutamatérgicos em relação aos receptores canais, o que faz com que permaneçam

Favor não escrever no verso

ligados por mais tempo.

O tipo de resposta que um ligante irá gerar depende da atividade que o receptor exerce. A comunicação celular depende do ligante, do receptor e das proteínas efetoras que irão gerar resposta. Estes componentes variam de acordo com o tipo celular.

Os receptores podem ser classificados de acordo com a sua localização: receptores de membrana, ou receptores nucleares/citoplasmáticos; ou de acordo com a sua associação ou ação imediata após serem ativados:

• Receptores canais: aumentam a permeabilidade da membrana a determinado íon, como nos casos dos receptores glutamatérgicos do tipo NMDAR ou AMPAR, permeáveis a Ca^{2+} ou Na^{+}. A interação com o ligante induz mudanças conformacionais nas alfa-hélices transmembranares do receptor, gerando a abertura de um poro condutível a determinado íon.

• Receptores acoplados à Proteína G (ou metabotrópicos): consistem de uma única cadeia polipeptídica que percorre a membrana sete vezes. Estes receptores apresentam uma região C-terminal que se associa à Proteína Trimérica dependente de guanina (Proteína G). Quando ativado, o receptor sofre mudança conformacional na região C-Terminal, que recruta a Proteína G, que ao interagir com o receptor na face interna da membrana plasmática troca o GDP ligado à sua subunidade alfa por GTP, tornando-se assim ativado. A subunidade é então, se dissocia das subunidades Bγ, ativa a adenilato ciclase que converte ATP em AMPc que ativa a Proteína Cinase dependente de AMPc (PKA); esta, por fim, fosforila vários substratos. Enquanto isso as subunidades Bγ promovem a fosforilação de fosfoinositídeos, produzindo IP_3 que é liberado no citoplasma e promove

UFRJ - CHEFIA DE BIOFÍSICA

a abertura de canais de Ca^{2+} no retículo endoplasmático.

• Receptores acoplados a enzimas: são receptores que apresentam função enzimática ou recrutam enzimas cinases para promover a sua atividade. Como exemplo os receptores [redacted] de citocinas que são associados a JAK, que é uma proteína cinase que fosforila, e é fosforilada por, STAT para ativar um complexo de sinalização intracelular

Favor não escrever no verso

Equilíbrio dinâmico, homeostase

Os compartimentos intracelulares são compostos por vários íons e moléculas. Embora as concentrações de água no líquido intra e extracelular sejam semelhantes, existem semelhanças determinantes em relação às concentrações de determinados íons. Estas diferenças são decorrentes da permeabilidade seletiva das membranas celulares, de forma que possam se tornar transitoriamente permeáveis a determinados íons decorrente da abertura de canais específicos após determinado estímulo. Estas diferenças de composição tornam o meio intracelular com pH levemente alcalino. (≈ 7,34). O meio intracelular apresenta maior concentração de K^+, Cl^-, Mg^{2+}, PO_4^-,... Enquanto que o líquido extracelular apresenta maiores concentrações de Na^+, Ca^{2+}, dentre outros. Essas concentrações causam diferenças [redacted] no potencial elétrico entre os meios intra e extracelulares gerando um gradiente eletroquímico que favorece o influxo e efluxo de íons de acordo com este potencial. Assim, vários mecanismos celulares dependem destes gradientes. Portanto, essas diferenças devem ser mantidas. Devido às pressões osmóticas, quando há entrada [redacted] ou saída de íons, há concomitantemente o influxo ou efluxo de água, o que poderia causar um edema ou diminuição do volume celular. Para evitar isso, os níveis de íons, de pH e água [redacted] nos líquidos intersticiais são constantemente monitorados e controlados por diferentes sistemas do organismo.

O balanço iônico é principalmente monitorado por quimiorreceptores que detectam as alterações que [redacted] colocam em risco o funcionamento adequado do organismo. Quando as concentrações de Na^+ estão muito altas no organismo é sinalizado

Favor não escrever no verso

aos rins a maior eliminação deste íon, concomitante ao aumento da sede para induzir maior ingestão de água. Na situação inversa, em que o Na^+ encontra-se em menor concentração, ocorre maior reabsorção deste íon, e maior eliminação de água.

Em se tratando de pH, durante a produção de energia pela célula há produção e eliminação de CO_2 para o meio extracelular. O CO_2 é prontamente convertido em bicarbonato no sangue, transportado pelas hemácias e liberado como CO_2 nos pulmões. Quando há o excesso de CO_2, o pH do sangue cai, podendo levar a um quadro de acidose. Em resposta, ocorre um aumento da ventilação nos pulmões para aumentar a eliminação de CO_2 e, assim, retornar o pH sanguíneo aos níveis ideais.

UFRJ

12 - Genes, ambiente e resposta biológica

A informação de todo o conjunto de proteínas, RNAs, além de como e quando devem ser expressos está armazenada no DNA. Cada região do DNA que dirige a geração de Transcritos de RNA que pode, ou não, ser Traduzido em proteína é conhecida como gene. Os genes de eucariotos apresentam uma região promotora, de ligação à RNA polimerase, uma ou mais regiões reguladoras, que podem estar anteposto ou posposto à região promotora, ou mesmo ao gene; uma sequência de iniciação da Transcrição, e uma região de parada da Transcrição. Além disso, as regiões codificantes de um gene podem ser intercaladas por regiões não-codificantes (os íntrons).

Mesmo que todos as células de um organismo multicelular, com exceção das células germinativas, tenham o mesmo material genético, elas podem diferir entre si substancialmente. Essas diferenças ocorrem devido a mudanças no padrão de expressão de conjuntos de genes durante o desenvolvimento, gerando células comprometidas com funções cada vez mais específicas.

A expressão de genes pode ser controlada em diferentes níveis, decorrente de vários estímulos diferentes. Células completamente diferenciados podem mudar o seu padrão de expressão gênica em resposta a alterações no meio em que se encontram. Por exemplo, recentemente foi demonstrado que astrócitos alteram seu genótipo dependendo do estímulo que recebem. Após lesão no sistema nervoso central ocorre a morte de células neurais gerando um ambiente inflamatório. Os astrócitos respondem a este ambiente aumentando a sua expressão para a proteína glial fibrilar ácida. Dependendo dos estímulos que recebem, estes astrócitos

Favor não escrever no verso

passam a expressar moléculas pró-inflamatórias, em especial a TNF-α, IL1α e C1q, assumindo, assim, o fenótipo chamado de A1. Contudo, os astrócitos podem ser modulados de forma a não expressar essas moléculas pró-inflamatórias, mas sim predominantemente anti-inflamatórios, como a IL10. Estas mudanças no mesmo tipo celular no padrão de expressão gênica dependem dos estímulos a que eles estão expostos.

Existem vários agentes que são capazes de alterar o estado de uma célula em termos de expressão gênica. O fator de crescimento transformante (TGF-β) por exemplo ativa uma cascata de sinalização que induz a ativação do fator Smad 4 a interagir com outros fatores nucleares para alterar o padrão de expressão gênica para um estado de crescimento e proliferação

Fatores de controle da expressão gênica podem alterar a expressão, tanto inibindo quanto ativando a transcrição ou tradução de um gene. Isto se incluem os fatores de transcrição e os RNAs não-codificantes

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho
Concurso para Professor Adjunto
MC-015 – Integração de Sistemas Biológicos
Edital nº 377 de 25 de maio de 2022, publicado no DOU nº 102 de 31 de maio de 2022 - consolidado com as alterações dos Editais nº 402 de 31 de maio de 2022 e nº 435 de 31 de maio de 2022

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 20

No. fl. 1

Favor não escrever no verso

Comunicação Intercelular

Provavelmente, uma das evidências mais primitivas da comunicação intercelular é o mecanismo de "quorum sensing" realizado a nível populacional por bactérias em resposta a alterações na densidade populacional. O acúmulo de sinais produzidos por células bacterianas promove alterações na resposta celular, mecanismo esse, evolutivamente essencial para a manutenção da homeostasia teidual em organismos multicelulares. Complexos circuitos de comunicação intercelular regulam os processos mais fundamentais que garantem a funcionalidade adequada do tecido, manutenção da sua estrutura, desenvolvimento e metabolismo. (~~Do ponto~~)

Do ponto de vista molecular os processos que permeiam as comunicações intercelulares envolvem a recepção de um sinal bidógico por receptores celulares e a subsequente transdução do sinal recebido através de cascatas de sinalização celulares que imputam alterações na resposta celular. ~~Os receptores~~

Os ~~esses~~ principais receptores celulares envolvidos com

Favor não escrever no verso

UFRJ

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 20

Transduções de sinais biológicas podem ser classificados em 3 tipos:

a) Receptores ionotrópicos

b) Receptores metabotrópicos

c) Receptores intracelulares / citoplasmáticos/ nucleares)

Os receptores ionotrópicos compreendem uma classe de receptores que atuam como proteínas canal para íons como K^+, Cl^-, Na^+ e Ca^{2+}. A interação com suas proteínas canal, pelo seu respectivo ligante, promove alterações conformacionais no receptor que permite a passagem de íons através da membrana plasmática. Muitos neurotransmissores atuam através desse mecanismo na fenda sináptica, abrindo canais de Na^+ em membranas pós-sinápticas, as quais estão sujeitas a despolarização do potencial de membrana. Esse fenômeno permite a disseminação de impulsos elétricos ou a contração de fibras musculares. Um exemplo de neurotransmissor seriam as catecolaminas.

Os receptores metabotrópicos englobam os receptores que direta ou indiretamente acionam enzimas e cascatas de sinalização intracelular durante o processo de transdução do sinal. Normalmente, os receptores metabotrópicos promovem alterações na resposta celular mais lentas, quando comparados aos receptores ionotrópicos. Em contraponto,

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA:

essas respostas são mais duradouras por envolverem circuitos de comunicação intracelulares mais complexos. Dentre os receptores pode-se citar os receptores catalíticos, os quais possuem subunidades ou domínios com atividade enzimática acoplados a sua estrutura, como os receptores tirosina cinases e serina/treonina cinases. Esses, possuem domínios com atividade de cinase que podem fosforilar resíduos de tirosina ou serina/treonina (~~em receptores duras~~) na porção citoplasmática do próprio receptor ou em proteínas adaptoras recrutadas durante o processo de ativação. Exemplificando ~~(podem)~~ pode-se citar receptores para citocinas e receptores do tipo Toll, TLRs.

Por fim, outra classe de receptores metabotrópicos inclui os receptores acoplados a proteína G, GPCRs. Esses receptores possuem uma estrutura bastante peculiar e característica, apresentando domínios hidrofóbicos que podem cruzar a membrana 7 vezes sobre a forma de α-hélices. A ativação desses receptores promove reorientações conformacionais que levam a substituição do GDP associado a subunidade Gα do heterotrímero (Gα: Gβ/γ) por um GTP. Essa alteração, por sua vez, reduz a afinidade da subunidade Gα pelo domínio Gβ/γ, levando a sua dissociação e interação com proteínas efetoras da membrana citoplasmática. A adenilato ciclase interage com $G\alpha_{i/s}$, enquanto $G\alpha_q$

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA:

pode interagir com fosfolipases C, culminando na geração de mensageiros intracelulares como o cAMP e Ca^{2+}, respectivamente. ~~Entorno~~ Historicamente, acreditava-se na teoria de que GPCRs ao se ligarem aos seus respectivos ligantes sofriam alterações conformacionais a partir de um receptor em orientação conformacional estática. Entretanto, atualmente, sabe-se que GPCRs possuem um estado de conformação dinâmico e a interação com receptores estabiliza um estado conformacional que melhor compleita a interação. Além disso, estudos recentes demonstraram a existência de subpopulações de GPCRs nos diferentes subcompartimentos celulares, os quais possuem estados conformacionais distintos e disparam respostas celulares igualmente seletivas.

Essa particularidade de GPCRs é importante dentro do contexto de comunicação intercelular, pois o mesmo sinal pode disparar respostas distintas em diferentes tipos celulares ou em função do subcompartimento celular envolvido com a recepção do sinal. Ex. Receptores de quimiocinas.

Os receptores intracelulares podem estar presentes no citoplasma ou na fração nuclear e transduzir sinais de moléculas solúveis a membrana plasmática como hormônios esteroides ou durante cenários de infecção intracelular, que pode disparar a ativação de receptores como NOD e NLRs.

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA:

Dentre os receptores citados os processos de comunicação intercelulares que acionam esses receptores podem ser classificados em 3 tipos:

a) Autócrinos
b) Parácrinos
c) Endócrinos
d) Junções comunicantes.

O âmbito do processo de comunicação intercelular autócrino envolve uma única célula, a qual é responsável pelo processo de emissão do sinal, recepção e transdução do mesmo. Estudos ~~(do grupo)~~ de Dey et al., 2018 mostram que no sítio da picada na pele do hospedeiro mamífero, ocorre uma infiltração acentuada de neutrófilos, a qual é promovida por sinais de dano teidual, componentes da saliva do inseto vetor e citocinas/quimiocinas produzidas durante a resposta inflamatória. Contudo, o influxo prolongado de neutrófilos é sustentado por um eixo autócrino de secreção de IL-1β, através do receptor catalítico IL-1R, o qual promove a ativação de neutrófilos para secretarem mais IL-1β, a qual, por sua vez, aumenta o influxo de células através da ativação endotelial.

A comunicação parácrina envolve a produção de sinais bioquímicos que se comunicam com células próximas através da matriz extracelular. Esses sinais

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA:

normalmente são curtos em meia vida e rapidamente eliminados por enzimas no tecido ou por células vizinhas. Um exemplo clássico de comunicação intercelular envolve a ativação endotelial do tipo I ou II, que pode ocorrer por GPCRs e receptores para TNF-α ou IL-1, respectivamente. Durante o processo de ativação do tipo I ocorre a mobilização de grânulos contendo P-selectina pré-formada nos vasículos conhecidos como grânulos de Weibel-Palade, esse processo não envolve a ativação da expressão de proteínas de novo. Já ativação do tipo II, mais lenta pode levar algumas horas e envolve a expressão de E-selectinas através de um mecanismo que envolve a ativação de NF-kB e MAP cinases. Macrófagos perivasculares localizados estrategicamente próximos a vênulas pós-capilares, quando ativados estão envolvidos com o recrutamento de neutrófilos para o tecido cutâneo inflamado, através da secreção de CXCL1/2. Em tempo, selectinas reconhecem oligossacarídeos fucosilados na superfície de granulócitos (P-selectina → PSGL-1; E-selectina → ESL-1), e essa interação permite o processo de rolamento, pois as forças resistivas hidrodinâmicas da corrente sanguínea superam a afinidade dessa ligação. Um segundo processo de comunicação intercelular permite a adesão forte dessas células ao endotélio através da secreção de quimiocinas por células endoteliais ativadas ou

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA:

células mieloides adjacentes que residem no tecido inflamado, como os macrófagos perivasculares ativados. A captação de quimiocinas como CXCL1/2 pelo seu receptor GPCR acoplado a proteína Gαq em neutrófilos altera a conformação de integrinas de superfície (Mac-1 e LFA-1), as quais irão estabelecer uma interação forte com as glicoproteínas ICAM-1 e ICAM-2 na superfície do endotélio ativado. A transmigração de neutrófilos ocorre por um mecanismo ainda pouco conhecido. Acredita-se que a forte adesão a integrinas vá também mediar a migração através das junções endoteliais, entretanto a secreção de proteases como elastase, metaloproteases e catepsinas parecem estar envolvidas com a degradação das junções e componentes da matrix extracelular.

Em tempo, estudos apontam que neutrófilos ICAM-1^{high} CXCR1^{low} podem realizar o mecanismo reverso e retornar a circulação pela ação de quimiorepelentes como o PGE-2 e por fissuras nas junções endoteliais promovidas por proteases neutrofílicas.

A ativação de neutrófilos pode promover o shedding de IL-6Rα, o qual uma vez solúvel (sIL-6Rα) poderá se ligar a IL-6 no meio e trans-ativar células vizinhas que expressem em sua superfície o co-receptor gp130, o qual é expresso de maneira ubíqua nos tecidos. Entretanto, a via clássica de ativação apenas ocorre em células

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA:

No. fl. 8

que expressam ambos IL-6Rα e gp130. A expressão de IL-6Rα está restrita a leucócitos, megacariócitos e hepatócitos.

Uma vez no sítio inflamatório neutrófilos podem desempenhar diversas estratégias microbicidas como a fagocitose, degranulação e produção de redes extracelulares de neutrófilos para conter a disseminação de patógenos e o estabelecimento de infecção. O consumo demasiado de neutrófilos, fruto do influxo intenso de células em infecções de grandes proporções pode gerar um desequilíbrio nos níveis homeostáticos dessas células no sangue. De modo que, uma resposta de comunicação endócrina é acionada, denominada granulopoiese emergencial. Os conceitos da comunicação endócrina serão descritos a seguir.

A comunicação endócrina requer a produção de sinais, mediadores ou hormônios que se disseminam através da circulação sanguínea. Esses sinais podem atuar em baixas concentrações e normalmente têm a meia vida mais longa do que sinais envolvidos com comunicações parácrinas.

~~(Dados da última década demonstraram que)~~

As citocinas envolvidas com o acionamento da granulopoiese na medula óssea são IL-3, IL-6 e principalmente o G-CSF. Dados da última década apontam que em modelo de endotoxemia ~~sepse~~ induzida por LPS, sinalizações mediadas pela proteína adaptora MyD88 estimulam a produção de G-CSF pela parede endotelial, o qual atua em pro-mielócitos na

Favor não escrever no verso

UFRJ

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 20

medula óssea.

Por fim, outro mecanismo de comunicação celular envolve junções comunicantes, as quais são realizadas por proteínas poro ou canais, formados por múltiplos domínios de proteínas ~~similar~~ iguais, as conexinas. Essa interação aproxima as membranas plasmáticas e criam nanoambientes que permitem a difusão de íons e peptídeos.

Recentemente, muita atenção tem sido dada a mecanismos de comunicação celular que envolvem exossomos e microvesículas. Enquanto os exossomos são derivados de invaginações que ocorrem na face luminal do endossomo formando corpúsculos microvesiculares que se fundem a membrana. Por outro lado, microvesículas são vesículas emitidas diretamente pela membrana plasmática. Estudos do grupo da Dr Shaden Kamhawi demonstraram, em colaboração com Martin Olivier, que exossomos produzidos por parasitas durante a infecção no vetor são co-inoculados no sítio da picada durante a transmissão da Leishmania por flebotomíneos na pele do hospedeiro mamífero. Esses exossomos contribuem para o estabelecimento da infecção através da indução de IL-17 e aumento do influxo de neutrófilos.

Mecanismos de comunicação intercelular por exossomos permitem também o intercâmbio de microRNAs e outros nucleotídeos.

Comunicações intercelulares convergem em efeitos na resposta celular

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA:

constitutiva ou na sua fisiologia que podem incluir alterações metabólicas, alterações no citoesqueleto, expressão gênica, secreção de proteínas e capacidade migratória, como foi possível evidenciar pelo conteúdo ~~secretado~~ supracitado.

Todas essas alterações convergem em mecanismos efetores em prol da manutenção da homeostasia, que pode ser definida como um estado de equilíbrio dinâmico.

Homeostasia e Equilíbrio dinâmico

Claude Bernard foi um dos pioneiros nos estudos da homeostasia. Ele demonstrou em 1865 que possuímos mecanismos regulatórios que nos permitiam regular a temperatura do corpo e os níveis de glicose, de modo que permaneciam em um intervalo de equilíbrio. Ele postulou o aforismo de que "a capacidade de manter as condições do meio constantes, era pré-requisito para a condição de vida livre e independente."

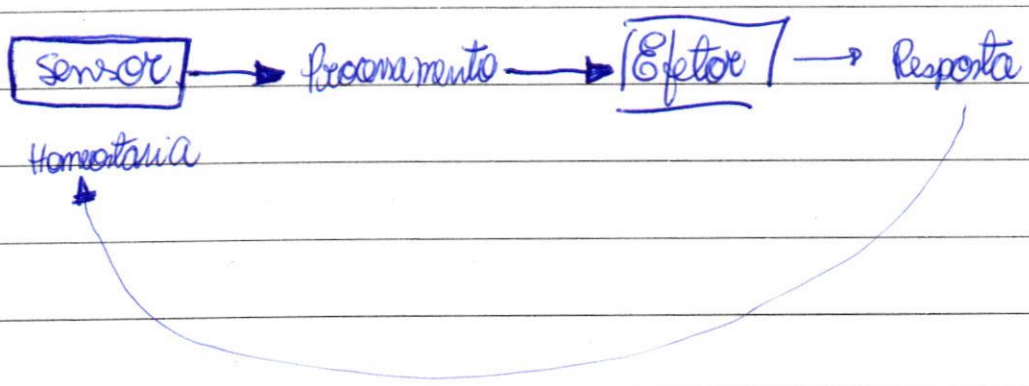
Virchow e Metchnikoff também fizeram importantes contribuições ao associarem a inflamação como um contraponto ao estado homeostático, ou um desvio do equilíbrio dinâmico tecidual, cujo objetivo é restabelecer as condições teciduais normais.

Embora contraintuitivo, a homeostasia não é um estado fixo e constante, mas sim a característica que um tecido ou órgão possui de alta responsividade, flexibilidade e

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA:

alterações do meio de modo a manter condições qualitativas do tecido adequadas e as quantitativas dentro de um intervalo esperado. O mecanismo básico de controle da homeostasia envolve um sensor, que detecta alterações no meio e processa esse sinal para o componente efetor, que irá induzir uma resposta que tem como objetivo restabelecer a homeostasia. Esse ciclo, esquematizado a baixo, pode ocorrer inúmeras vezes no tecido ao longo de um intervalo no espaço e no tempo:



A inflamação seria um dos componentes da resposta tecidual para restabelecer a homeostasia mediante dano tecidual ou invasão por microorganismos patogênicos. A IL-6 é uma das citocinas centrais no controle da homeostasia e pode induzir na segunda fase da resposta inflamatória caracterizada pela infiltração de monócitos, início da resolução da inflamação e ativação da proliferação de queratinócitos, por exemplo, o que permite a remodelação do tecido lesionado.

As principais células produtoras de IL-6 incluem macrófagos

Favor não escrever no verso

UFRJ

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA:

e células dendríticas, as quais atuam como sentinelas e possuem sensores ou receptores em sua superfície que podem identificar alterações teciduais como o dano e produtos microbianos.

A presença de produtos microbianos pode disparar receptores denominados receptores de reconhecimento de padrões ou PRRs. Esses, reconhecem padrões moleculares da superfície de microorganismos. Entretanto, nós estamos em contato com cerca de 10 mil espécies de microorganismos no ecossistema humano. A produção de genes codificantes da microbiota supera em 360x o número de genes expressos por nossas células. Estudos apontam na presença constante de microorganismos como bactérias, fungos e até insetos microscópicos alojados no interior de folículos capilares. Ora! Como esses microorganismos não disparam a ativação do sistema imune e a ativação da resposta inflamatória?

Não foi até a década de 90, que essa questão foi sanada pela pesquisadora Polly Matzinger que postulou a teoria do perigo ou "Danger theory". Matzinger postulou que existia um segundo "check-point" na ativação de uma resposta inflamatória, a presença de DAMPs. Essas moléculas sinalizam dano tecidual e amplificam a resposta inflamatória na presença de produtos microbianos ou modificam o perfil de citocinas do microambiente de modo a causar um

Favor não escrever no verso

UFRJ

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 20

um shift nessa resposta de um estado regulatório ou tolerogênico para um perfil mais regulatório. Esse fenômeno é essencial para a manutenção do equilíbrio entre o nosso organismo e a microbiota comensal.

De fato, a presença de S. epidermidis está associada com a formação de um repertório de linfócitos T residentes regulatórios nos folículos capilares e na derme que garantem a tolerância a microorganismos comensais.

Durante a minha experiência acadêmica em pesquisa pude observar também um mecanismo efetor de macrófagos na pele em resposta a hemorragia tecidual durante a picada de insetos vetores hematófagos. Nesse processo, a picada de vetores promove o extravazamento de hemácias no tecido, fator esse, potencialmente tóxico por conta da amplificação da geração de espécies reativas de oxigênio causada pelo heme livre liberado eritrócitos danificados. Essa condição coloca em risco o equilíbrio homeostático e existe uma resposta tecidual ativada para conter o estresse oxidativo do heme livre. Essa resposta é regulada pelo fator de transcrição central Nrf2 e aciona uma enzima importante para a catálise do heme, denominada heme oxigenase. Nós observamos que existe uma subpopulação especializada de macrófagos que pode ser identificada pelos marcadores CD163 e CD91, com a capacidade de realizar

Favor não escrever no verso

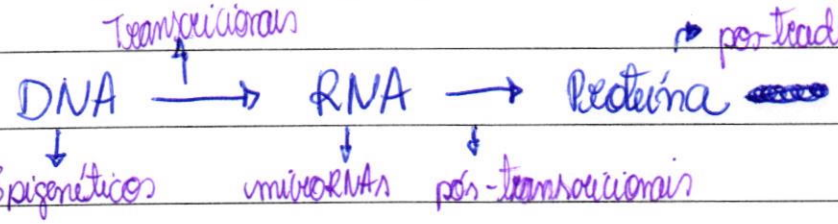
Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA:

a eritrofagocitose de hemácias no tecido e (captar) permite a captação do Fe na reação de Fenton, a qual resultaria em grave dano tecidual através da lipidoperoxidação, oxidação de proteínas e potencial dano direto ao DNA.

O dano oxidativo ao DNA pode promover mutações em regiões codificantes e alterar a expressão gênica e consequentemente respostas biológicas na ausência de um mecanismo eficiente de reparo do DNA.

Genes, ambiente e respostas biológicas

Existem cerca de 20 mil genes no genoma humano, os quais codificam para as mais diversas proteínas. Cerca de 25%. destes genes possuem função desconhecida. A expressão gênica controla todas as características teciduais mais fundamentais. Em eucariotos o controle da expressão gênica é feita principalmente por mecanismos epigenéticos e transcricionais. Entretanto ao longo do eixo que rege o dogma da biologia celular existem diversos "check points" que podem regular a função de uma proteína:



A nível gênico a regulação ocorre no DNA e inclui os mecanismos epigenéticos e transcricionais, aquele mediado por enzimas que imputam modificações como acetilações

Favor não escrever no verso

UFRJ

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA:

ou metilações na cromatina, e em envolvido como complexo proteicos que regulam a expressão gênica pela maquinaria de transcrição RNA pol II.

O estado de compactação da cromatina é dinâmico e pode ser caracterizado como heterocromatina, inacessível a transcrição, ou eucromatina, acessível a transcrição. A acetilação mediado por histona acetil-transferases (HAT) insere radicais acetil em resíduos de lisina de histonas. Esta modificação reduz a afinidade da histona ao DNA e "afrouxa" os nucleossomos. Em contraponto, metilações promovidas por metil transferases aumenta a compactação da cromatina e reduz a sua acessibilidade. Outras modificações epigenéticas que cooperam no estado dinâmico da cromatina e na atividade das transferases reguladas, inclui a fosforilação e ubiquitinação de histonas.

A fosforilação de histona desempenha papel importante no processo de descondensação da cromatina durante os eventos de mitose e meiose. Durante a divisão celular eventos raros de mutação podem ocorrer no DNA durante a sua replicação a nível somático ou germinativo.

Enquanto alterações no DNA a nível germinativo podem resultar em ~~alterações~~ patologias congênitas, as mutações somáticas podem resultar no desenvolvimento de neoplasias. Embora raro, as mutação somáticas podem ser perpetuar

UFRJ - CENTRO DE BIOFÍSICA CARLOS CHAGAS FILHO

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA:

No. fl. 16

adas para células vizinhas e ocorrer também mediante exposição a agentes físicos como a radiação UV e o estresse oxidativo. ~~As mutações pode~~

As mutações podem ser classificadas como:

a) mutações não sinônimas

b) " de perda de sentido (nonsense)

c) " sinônimas.

As mutações apontadas em a) e b) frequentemente resultam em perda de função protéica; no caso da mutação por perda de sentido ocorre a inserção de stop códons em regiões aleatórias que podem gerar proteínas truncadas ou não funcionais. A mutação não sinônima altera o codon de modo a causar substituição na sequência de aminoácidos. ~~Já ocorre também~~ Já as mutações sinônimas alteram o códon, mas não imputam alterações na sequência de aminoácidos, tendo em vista disso são entendidas como silenciosas ou evolutivamente neutras.

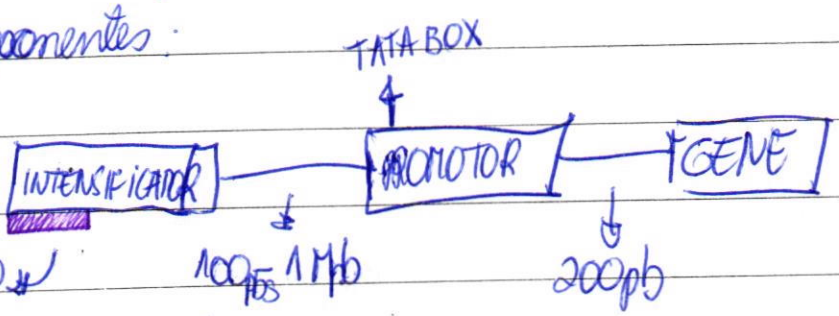
Entretanto, estudos recentes demonstraram que mutações sinônimas podem afetar a conformação, eficiência de tradução e o enderaçamento subcelular de proteínas, e ainda afetar sítios de modificações pós-traducionais.

Para que mutações imputem alterações às respostas celulares é necessário que ocorra a transcrição gênica.

Favor não escrever no verso

~~Regulação gênica em eucariotos~~

A região codificante do genoma de eucariotos possui os seguintes componentes:



Motivo comum reconhecido por fatores de transcrição

A transcrição de um gene em eucariotos requer a cooperação entre a maquinaria de transcrição RNA pol II e fatores de transcrição que se ligam a regiões comuns presentes em intensificadores a jusante ao gene. Essa ligação permite o aumento da atividade de transcrição da RNA pol II através da interação com o domínio de interação com proteínas co-ativadoras presentes em fatores de transcrição que irá gerar condições mais adequadas a transcrição a nível conformacional e recrutando proteínas que induzem modificações epigenéticas em histonas.

A ativação de fatores de transcrição como o NF-KB ocorre por sinais ambientais como a presença de patógenos ou sinais de dano celular. TLR4 por exemplo pode induzir a fosforilação e ubiquitinação de IKK-α/β, proteína reprimora do NF-KB no citoplasma, e liberar-se do

UFRJ

NF-KB, permitindo a translocação para núcleo e ativação da expressão de genes como IL-6, TNF-α pró-IL-1β. O NF-KB reconhece sítios em intensificadores chamados de "κB", os quais estão presentes em cerca de 10^4 regiões distintas no genoma humano.

A regulação gênica como respostas a alterações do meio é um dos mecanismos evolutivos mais conservados dentre os filos. Uma das descobertas da genética que revolucionaram a pesquisa, CRISPR/Cas9, consiste de um mecanismo de defesa de bactéria e também presente em arqueobactérias, que garante a defesa a infecções bacteriofágicas anteriores.

A infecção por fagos resulta na clivagem do DNA viral por Cas1 e Cas2 e a inserção de sequências precedidas pela sequência PAM: NGG. Essas sequências virais denominadas espaçadores são inseridas em uma região do DNA denominada CRISPR, e lá encontram-se flanqueadas a domínios palindrômicos repetidos. Mediante nova infecção a sequência viral invasora inserida na região CRISPR pode ser transcrita e transportada para a enzima Cas9, essa interação é ancorada pelo RNA tracrS, que funciona como uma chaperona e comporta o RNA do vírus invasor no sistema multimérico Cas9.

A sequência do vírus que for complementar ao RNA "guia"

UFRJ

será dirada pelos domínios com atividade nuclease desse sistema. O reconhecimento do "self" versus "non-self", ou melhor, a distinção entre o DNA invasor portador da sequência complementar do DNA com a mesma sequência na região CRISPR se dá por um domínio na Cas9 que reconhece a sequência PAM, ou NGG, resíduos N, guanina e guanina. De modo, que a clivagem apenas ocorre em sítios com a sua sequência e na região CRISPR as sequências de DNA viral estão flanqueadas por domínios palindrômicos em repetição que não possuem PAM.

A regulação gênica em resposta a sinais ambientais é fundamental para o controle da homeostasia e de fato é existente a nível teacidual através de análises de transcriptoma ou epigenética diversas alterações teciduais específicas a diversas condições ambientais adversas como infecção ou dano tecidual.

A tecnologia de CRISPR/Cas9 pode ser utilizada para alterações no DNA com intuito terapêutico para remoção de mutações quando há um fragmento de DNA para recombinação homóloga, ou para inserir modificações e construir animais knockout quando a modificação está sujeita a recombinação não homóloga após a clivagem em dupla fita inserida no DNA pela Cas9. A recombinação não homóloga pode inserir deleção e alterações no gene alvo. Logo compreender os mecanismos de regulação gênica é

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 20

é fundamental para geração de conhecimento e para a geração de melhorias nas opções de tratamento terapêutico.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho
Concurso para Professor Adjunto
MC-015 – Integração de Sistemas Biológicos
Edital nº 377 de 25 de maio de 2022, publicado no DOU nº 102 de 31 de maio de 2022 - consolidado com as alterações dos Editais nº 402 de 31 de maio de 2022 e nº 435 de 31 de maio de 2022

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 21

No. fl. 1

Favor não escrever no verso

- Comunicação intercelular

Organismos multicelulares e unicelulares desenvolveram mecanismos eficientes de coordenação de seu comportamento frente a diversos estímulos ambientais, uma das maneiras de coordenadação é através de mecanismos de comunicação célula-célula. Algumas possibilidades de comunicação envolvem contato direto entre as células, como por exemplo via ~~canais~~ junções tipo fenda (comunicantes), onde há compartilhamento de pequenas moléculas do citoplasma de duas células. Há também a possibilidade de secreção de moléculas para o meio extracelular - garantindo assim a comunicação entre células onde não há contato direto. Esse tipo de secreção pode ser autócrino, caso sejam secretados fatores que influenciarão a própria célula secretora, parácrino envolvendo a secreção de moléculas a curtas distâncias que afetarão células vizinhas, ou ~~endó~~ endócrinos, onde moléculas secretadas caminharão longas distâncias pela corrente sanguínea, por exemplo, no caso de hormônios.

Para este tópico, darei ênfase a um conjunto de moléculas secretadas para o ambiente extracelular de forma livre, ou associadas a vesículas extracelulares em comunidades microbianas. Moléculas de quorum-sensing, por exemplo, foram primeiramente identificadas em bactérias,

Favor não escrever no verso

próximo aos anos 1960's. Essas moléculas servem como sinalização frente à densidade populacional e regulam diferentes atividades celulares. Um pouco mais tardiamente (1969), essas moléculas também foram identificadas em fungos, porém os estudos deste tópico passaram a ser mais aprofundadamente explorados a partir dos anos 2000 para estes tipos celulares. Fungos possuem grande importância ambiental como decompositores, biotecnológicos com envolvidos em processos de fermentação e também possuem elevada importância médica.

A primeira molécula de quorum sensing identificada em fungos patogênicos foi o farnesol. Este mostrou-se altamente importante para a virulência de Candida albicans, patógeno oportunista, que possui grande importância em infecções de mucosas e também sistêmica. Farnesol foi identificada como uma molécula importante por regular o comportamento de células de C. albicans durante a transição morfológica entre leveduras a hifas. Essa transição é altamente relevante para invasão de tecidos pelo patógeno fúngico e também para ~~invasão~~ evasão do Sistema Imune atuando como um fator relevante para enquistrar os mecanismos de patogenicidade deste fungo.

Como exemplo de outra molécula de quorum sensing temos o ácido pantotênico, identificado em meio condicionado de outro patógeno fúngico Cryptococcus neoformans. Essa molécula atua também em processos de morfogênese neste fungo, ativando a formação das chamadas células gigantes (titânicas), que não podem ser facilmente reconhecidas pelo sistema imune. A ácido pantotênico também está

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 21 | No. fl. 3

evolvido na ativação de células dormentes em C. neoformans, que são consideradas importantes para a infecção latente deste modelo fúngico. A secreção dessa molécula de quorum sensing ~~estaria estão~~ por ~~evolvida na ativação~~ células ativadas estaria envolvida na ativação de outras células dormentes, que podem estar presentes no pulmão, ou mesmo no ~~otso~~ cérebro de indivíduos infectados, uma vez que esse fungo causa primeiramente uma infecção pulmonar, mas posteriormente pode atravessar a barreira hemato-encefálica e atingir o cérebro, causando a meningite criptocócica.

Nanopartículas secretadas pelos mais diferentes tipos celulares, conhecidas como vesículas extracelulares (VE) estão ganhando cada vez mais o interesse da comunidade científica - por serem consideradas os mediadores universais da comunicação intercelular. Essas partículas estão envolvidas em processos normais da fisiologia celular, mas também durante o desenvolvimento de diferentes patologias, como doenças cardiovasculares, neurodegenerativas, câncer, dentre outras. VE também estão envolvidas em doenças infecciosas, como as causadas por fungos e bactérias, por exemplo.

Essas partículas são estruturas nanométricas compostas por uma bicamada lipídica que contém ancorada à membrana diversas proteínas e glicoproteínas e em seu interior uma complexidade de moléculas - ~~envolvendo~~ lipídios, polissacarídeos, DNA, RNA, proteínas, pigmentos e pequenas moléculas, além de outras. Essas VE são classificadas majoritariamente como microvesículas (ou ectossomos),

UFRJ - INSTITUTO DE BIOFÍSICA CARLOS CHAGAS

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 21

No. fl. 4

e exossomos. Microvesículas são formadas à partir do brotamento direto da membrana plasmática e são maiores em tamanho, atingindo diâmetros de até 1000 nm. Exossomos são provenientes da via endossomal, com a formação de corpos multivesiculares, que se fundem com a membrana plasmática e liberam as vesículas de seu interior (intraluminais). Exossomos são VEs de menor diâmetro, aproximadamente 50 a 150 nm, comparadas às microvesículas. Além das vesículas indicadas, também existem outras partículas como corpos apoptóticos, liberados por células em morte celular. Existe uma grande complexidade na nomenclatura e classificação das vesículas extracelulares e novos estudos surgem diariamente a este respeito. Os tipos diferentes de vesículas se ~~diferem~~ distinguem não só em tamanho mas também em composição, o que implica muitas vezes em funções biológicas diferenciadas.

Durante minha pesquisa científica, vendo explorando diferentes tópicos associados às vesículas extracelulares - incluindo suas vias de ~~biogênese~~ biogênese, sua composição, e sua função frente às células do hospedeiro. Vesículas secretadas por fungos C. neoformans, por exemplo, contêm exposta em sua superfície externa diferentes manoproteínas, muitas GPI-ancoradas, que são altamente imunogênicas. Em modelos de infecção animal, essas vesículas mostram-se capazes de prolongar a sobrevida de camundongos infectados - representando bons modelos como plataformas vacinais. Nossos achados foram divulgados para ampla comunidade através de blogs científicos - ressaltando a importância dessas nanopartículas como novas estratégias de vacinação e também

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 21	No. fl. 5

como plataformas para entrega de ~~medicamentos~~ medicamentos. Uma vez que partículas secretadas por uma célula podem interagir e serem internalizadas pela célula alvo, ~~vetores~~ vesículas representam bons vetores para a distribuição de drogas ao facilitar e direcionar sua internalização a células ou tecidos de interesse.

Investigar a maneira como as células se comunicam é importante para explorarmos os mecanismos complexos associados a adaptação ao estresse ou a diferentes pressões seletivadas, como durante a exposição a antimicrobianos. Vesículas extracelulares vem ultimamente sendo estudadas como veículos para dissemineção de genes e moléculas associada a mecanismos de resistência a medicamentos. Dessa maneira, uma melhor compreensão de suas vias biossintéticas, da seleção de seu conteúdo, bem como da maneira como estas fundem e são internalizadas por células receptoras é fundamental para o entendimento da progressão de inúmeras doenças. (Continuação na página 14).

- Equilíbrio dinâmico e homeostasia.

Os diferentes tipos celulares coordenam suas respostas e atividades frente às variações ambientais de forma a garantir as condições fundamentais e a estabilidade para sua sobrevivência e proliferação. Essa coordenação comportamental visa garantir um equilíbrio dinâmico entre o meio interno e o meio externo. Através desse equilíbrio, nossas células e o próprio organismo consegue manter suas fisiologia e suas atividades vitais frente a diversos estresses ambientais, por exemplo. Alguns desses ~~estresse~~ podem incluir: temperatura, pressão,

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 21

No. fl. 6

pH, osmolaridade, disponibilidade de nutriente, dentre outros. Enfatizarei neste tópico exemplos de ajustes a nível de organismo para a privação de glicose e para resposta a stress ambientais e também darei exemplos de como leveduras lidam com estress osmótico e com mecanismos de evasão imune.

Durante o jejum, ou privação de glicose, nosso corpo entra em estado de hipoglicemia. No entato, após curtos momentos, os níveis de glicose são estabilizados na corrente sanguínea através de diversos ajustes no metabolismo de diversos órgãos e tecidos. No fígado, por exemplo, ocorre o processo de quebra de estoques de glicogênio para aumento da glicose. A glicogenólise é estimulada pelo hormônio glucagon, secretado pelas células α pancreáticas. O glucagon se liga a receptores na membrana de células alvo, que estão acoplados à proteína G. Esta ativação estimula a adenilato ciclase, aumentado os níveis de AMP cíclico, que ativam a proteína quina A (PKA). Esta, por sua vez, estimula a transcrição de diversos genes que estarão envolvidos em vias de glicogenólise e também de (gliconeogênese) nova síntese de glicose. Este sistema complexo de regulação também está associado a atuação do glucagon em eventos de lipólise no tecido adiposo, que transforma os estoques de triacilgliceróis (TAG) em ácido graxo e glicerol. Este ácido graxo formado serve para produção de energia em diferentes tipos celulares. No entanto, aquele que necessitam exclusivamente de glicose como o tecido nervoso, e células que não possuem atividade mitocondrial como as hemácias, necessitam de outros mecanismos para restabelecer a homeostase. As hemácias, por exemplo, realizam fermentação (o para realizarem β-oxidação).

UFRJ

lácteа, e o lactato produzido irá posteriormente ser convertido a pruvato, pela lactato desidrogenase, e então a glucose. Este exemplo de regulação dos níveis de glicose sanguínea é relevante para entendermos nossa homeostase em momentos de baixa glicemia.

Outro exemplo de homeostase associada a stresses ambientais é aquela controlada pelo eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA). As vias metabólicas reguladas pelo eixo HPA ~~eda~~ são, por exemplo, envolvidas na secreção de cortisol - que é um hormônio altamente importante para o nosso ciclo-circadiano. Alterações dos níveis de cortisol em períodos diurnos e noturnos são fundamentais para um bom funcionamento cognitivo, também para atividade imune, além de influenciar tantos outros comportamentos fundamentais de adaptação ao longo das mudanças ambientais, como exposição à luz/escuro.

Gostaria também de dar exemplos sobre o funcionamento celular de resposta a stresses ambientais para manutenção da homeostase. Para este utilizarei o modelo em leveduras, como Saccharomyces cerevisiae, ~~sendo~~ amplamente utilizado para estudos de fisiologia e biologia celular. Em situações de stresse osmótico (hiperosmótico), por exemplo, a pressão de turgor diminui, e o citoplasma celular se desloca da parede celular devido ao efluxo de água para o ambiente extracelular. Neste momento, é ativada a via conhecida como "high osmolarity glycerol" (HOG). Esta via ativa uma cascata de sinalização regulada por MAPK ~~e como resultado temos o direcionamento de um intermediário da via de glicólise para a formação de glicerol~~. e a regulação através da quinase

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 21

Hog 1 de inúmeros ~~eventos~~ genes importantes para o restabelecimento da homeostase celular. Uma consequência da ativação desta via é o direcionamento de um dos intermediários da glicólise para a produção de glicerol. O acúmulo de glicerol durante eventos de estresse osmótico é fundamental para a homeostase de leveduras. Nestes organismos, a presença da parede celular já confere certa resistência às variações de osmolaridade, no entanto a membrana plasmática e a própria parede celular sofrem ajustes físico-químicos, além de mecânicos para a manutenção do equilíbrio. Estudos recentes mostram a presença de diversos receptores que são mecanossensíveis à variações osmóticas. Estes estão associados a domínios lipídicos específicos na membrana plasmática de fungos, como os eisossomos, importantes para diferentes funções biológicas.

Ainda sobre leveduras, o ajuste de metabolismo para ~~uma~~ atingir um estado de homeostase também ocorre durante a interação com células hospedeiras, por exemplo. Sobre o patógeno Candida albicans, já descrito anteriormente, foi relatado que as células fúngicas ajustam seu metabolismo frente à interação com macrófagos ou monócitos para assim conseguir evadir do sistema imune. Após a ligação de moléculas de superfície da célula fúngica como β-glicanas a receptores na superfície de células hospedeiras, como dectina 1, ocorre um aumento da glicólise nestas células hospedeiras. Esse ajuste permite às células produção de citocinas pro-inflamatórias, por exemplo. Ao mesmo tempo, ocorre também a inibição da fosforilação oxidativa, sendo portanto fundamental manter os níveis de glicose para o

Favor não escrever no verso

metabolismo energético das células hospedeira. No entanto, as células fúngicas também aumentam sua atividade de glicólise, e usam derivados da célula hospedeira, como o lactato para mascarar as moléculas de superfície celulares, o que culmina com uma redução do recrutamento de neutrófilos e outras atividades imunomodulatórias. Dessa maneira, fungos ajustam seu metabolismo para utilização de outras fontes de carbono, e ao mesmo tempo, submetem células do hospedeiro à condições de privação de glicose nesse micro ambiente para assim conseguir evadir do sistema imune, proliferar e ocupar diferentes órgãos e tecidos.

De forma geral, a compreensão de eventos celulares e da interação entre tecidos e órgãos na manutenção da homeostase são fundamentais para o entendimento da fisiologia celular e do organismo. Estudos relacionados ao imunometabolismo de patógenos frente a ~~células~~ células hospedeiras, os processos metabólicos mediados por essa interação, por exemplo, podem ser utilizados como novos alvos para desenvolvimento de fármacos e anti-microbianos.

- Genes, ambiente e respostas biológicas.

Nas últimas décadas, estamos vivenciando inúmeros eventos de mudanças globais, entre ~~estes~~ esses as mudanças climáticas. A alteração da temperatura do planeta tem influenciado diferentes sistemas biológicos ao modificar habitats, reduzir a biodiversidade e gerar novas pressões seletivas, ~~determinando~~ podendo culminar com a emergência de novos patógenos. Neste tópico, serão explorados tópicos como o aumento da temperatura

UFRJ

global e também o aumento dos níveis de poluição ambiental causados por pesticidas e agrotóxicos. Em ambos os tópicos, darei ênfase a mecanismos de resistência a drogas que vêm surgindo em comunidades microbianas no ambiente que, posteriormente afetam a forma de tratamento a doenças infecciosas em diversos setores clínicos e hospitalares.

O aumento da temperatura global, por exemplo, já foi associado a aumentos de eventos de transmissão horizontal de genes (HGT) que conferem-dedos ambientais bacterianas. A aquisição de DNA vindo de outras células no ambiente pode se dar por transformação, quando DNA livre derivado de células lisadas entra em contato com novas células, também por transdução, envolvendo fagos que internalizam DNA externo em bactérias, além da conjugação pela formação de canais como "pili" onde o material genético pode ser transportado e também através de vesículas secretadas. A transmissão desses elementos genéticos móveis é altamente importante no contexto da rápida evolução e adaptação a antimicrobianos. Nesse contexto, moléculas descartadas no ambiente de maneira inapropriada, ou o próprio uso indiscriminado de antibióticos pode resultar no aparecimento de cepas resistentes no ambiente, como no microbioma de solos, por exemplo, que futuramente poderão infectar indivíduos, dificultando seu tratamento.

Os alarmantes contextos de resistência a antimicrobianos têm levado agências internacionais de pesquisa a apoiarem projetos específicos de monitoramento e vigilância dessa resistência. No entanto,

UFRJ

para doenças fungicas, pouca atenção tem se dado nos ultimos anos relacionado a este aspecto. Doenças fungicas são consideradas negligenciadas, por não terem a devida atenção e investimento dos órgãos públicos de saúde. No entato, elas são responsáveis por elevadas taxas de mortalidade anualmente, principalmente em populações de países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento. Muitas espécies fungicas habitam os mais diferentes habitats do planeta e poucas são capazes de causar doenças no homem. No entato, as mudanças globais tem influenciado as pressões seletivas ambientais e também o próprio status imunológico dos hospedeiros, o que levou espécies fungicas a serem incluídas na lista de patógenos que mais ameaçam a humanidade, pela Organização Mundial Saúde (OMS). Neste ano, a OMS incluiu espécies como Aspergillus fumigatus, Candida albicans e Cryptococcus neoformans como as mais ameaçadoras. Darei ênfase às duas primeiras para o entendimento das relações genes - ambiente - respostas biológicas.

O uso de pesticidas agrícolas para controle de fungos fitopatógenos que ameaçam as plantações, por exemplo, tem sido associado ao aumento de casos de resistência antimicrobiana no patógeno humano A. fumigatus, patógeno que pode causar doenças pulmonares altamente invasivas. Existem apenas 4 classes de antifungicos disponíveis para uso clínico: - azóis, polienos (anfotericina B), análogos de pirimidinas e equinocandinas. É importante ressaltar que não existe vacina disponível para uso clínico contra infecções fungicas. O maior problema de resistência tem sido identificado quanto ao uso de

UFRJ

diferentes azóis na agricultura. Azóis como fenconazol e o voriconazol são os mais amplamente utilizados no controle de A. fumigatus, no entanto, cepas resistentes no ambiente e também na clínica vêm sendo cada vez mais identificadas. O patógeno fungico torna-se persistente uma vez que é submetido a concentrações sub-inibitórias do antifúngico no ambiente, que pode promover mutações em genes alvo de ação dos antifúngicos. No caso de A. fumigatus, o gene CYP51A - ~~atuse~~ do, que codifica a enzima 14-alpha-demetilase, envolvida na biossíntese de ergosterol de membrana, vem sendo relatado como alvo de inúmeras mutações. Além disso, aneuploidias cromossômicas, mutações ou alteração de genes envolvidos no efluxo de drogas, como os transportadores ABC, dentre outros mecanismos, já foram identificados. Essas mutações levam a fenótipos ~~alto~~ altamente resistentes, que influenciam indiretamente o manejo dessas infecções em ambiente clínicos. Mecanismo de resistência a fármacos que possuem ação como fungistáticos, como é o caso dos azóis, é mais comum que aqueles que ~~##~~ possuem ação fungicida, como é o caso da anfotericina B.

No entanto, as mudanças ambientais têm levado ao aparecimento de cepas fúngicas resistentes a todos os antimicrobianos disponíveis - como é o caso de Candida auris. Este patógeno foi identificado em 2009 em um hospital no japão e desde então vem sendo relatado em surtos em hospitais de diferentes partes do mundo. Pesquisadores na área ~~assim~~ criaram hipóteses de que o aumento da temperatura global, como fenômeno universal, poderia ser a causa do surgimento

UFRJ

de cepas resistentes em ambientes tão distantes geograficamente. A resistência intrínseca de C. auris a diversas classes de antifúngicos é um problema alarmante e vem sendo tópico de pesquisa em vários laboratórios ao redor do mundo.

Mecanismos de transferência horizontal de genes não é tão comum em fungos, como acontece em comunidades ~~fúngicas~~ bacterianas. No entanto, trabalhos desse ano mostraram que A. fumigatus é capaz de fazer a transferência horizontal de genes em laboratório, o que abre portas de investigação de como este mecanismo também pode ocorrer no ambiente e como se dá sua regulação.

Uma maior vigilância de como estas alterações climáticas e o uso de pesticidas no ambiente podem afetar o microbioma de solos, por exemplo, é uma fonte importante de pesquisa. Na realidade, esta fonte está dentro das condições estabelecidas pela OMS como One Health (Saúde Única). Nesta perspectiva, devemos avaliar a saúde humana como intrinsecamente associada à saúde animal, vegetal e do meio ambiente. Trata-se de uma iniciativa transdisciplinar e multisetorial que visa integrar diferentes fontes de pesquisa para o entendimento da saúde de maneira holística.

Nesse contexto, entender como os microorganismos evoluem, suas interações com o ambiente e como isto acarreta em medidas de saúde pública é fundamental. Durante a pandemia de SARS-CoV-2, por exemplo, pudemos observar que a infecção pelo vírus alterou a maneira como outros microorganismos interagiam com os indivíduos,

Favor não escrever no verso

deixando-os, por exemplo, mais suscetíveis a infecções fúngicas oportunistas. Investimentos em pesquisa básica para o entendimento dessas relações, através do uso de estratégias tecnológicas de ponta como sequenciamento genômico em larga escala, integração de ômicas - como metaboloma, proteoma, transcriptoma, além de modelagem computacional para o entendimento dessas relações no ambiente serão de extrema importância.

Continuação comunicação intercelular

A comunicação através de vesículas extracelulares em células fúngicas, está associada a diferentes respostas biológicas, como:- transporte de fatores de virulência que tornaram cepas avirulentas capazes de causar danos ao hospedeiro, regulação do morfogênese celular como na transição entre as formas de levedura a hifas, ativação de células hospedeiras, atuando na liberação de citocinas e outras moléculas efetoras e também na susceptibilidade a antifúngicos e na formação de biofilmes celulares. Essa multiplicidade de funções biológicas mediadas por vesículas extracelulares é de extrema relevância para o entendimento da comunicação célula-célula. No entanto, novas plataformas e tecnologias para o estudo de nanopartículas isoladas, moléculas expostas de superfície e identificação de marcadores são essenciais para o desenvolvimento desta área de pesquisa. O uso de técnicas como "Nanotracking analysis" (NTA) e a nanocitometria de fluxo têm auxiliado no estudo de partículas isoladas. Novas tecnologias estão sendo

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 21

No. fl. 15

exploradas para ~~isso~~ estudos mais aprofundados dessas partículas não apenas *in vitro*, mas também durante processo de infecção no hospedeiro, por exemplo, atuando na comunicação não apenas entre células, mas também entre diferentes tecidos no desenvolvimento de doenças.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho
Concurso para Professor Adjunto
MC-015 – Integração de Sistemas Biológicos
Edital nº 377 de 25 de maio de 2022, publicado no DOU nº 102 de 31 de maio de 2022 - consolidado com as alterações dos Editais nº 402 de 31 de maio de 2022 e nº 435 de 31 de maio de 2022

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 22

No. fl. 1

Favor não escrever no verso

Genes, Ambiente e Respostas Biológicas

Dentro deste tema, o tópico abordado será a influência de fatores ambientais, externos e internos, na expressão gênica, fazendo uma breve descrição também sobre os processos de transcrição e tradução do código genético e de como essas alterações induzidas pelo ambiente podem mudar o comportamento e respostas das células e indivíduos. Todas as informações hereditárias são armazenadas nas células vivas em moléculas de DNA localizadas no núcleo celular, nas células eucariontes. As moléculas de DNA consistem em longos polímeros formados por sequências de 4 nucleotídeos, que por sua vez consistem em um açúcar chamado desoxirribose, um grupo fosfato e uma base nitrogenada, que pode ser uma citosina (C), guanina (G), timina (T) ou adenina (A). Na molécula de DNA, os açúcares dos nucleotídeos se ligam através dos seus grupos fosfato formando uma "fita" com as bases se projetando dela. As bases de uma fita se ligam de modo complementar específico (A-T) e (C-G) nas

UFRJ

bases de outra fita de DNA, formando uma fita dupla torcida, forma de hélice. Sequências de DNA de tamanhos variados específicos codificam proteínas específicas, são os chamados genes, que contêm então o código genético. Ao determinar quais as proteínas serão sintetizadas e expressas nas células, os genes contêm então toda as características morfológicas e funcionais das células, fazendo com que tenham especialidade características e respostas particulares. As ligações entre as bases na molécula de DNA não são fortes e as fitas podem se abrir, o que é necessário para os processos de transcrição e replicação do DNA. O código genético é transcrito para uma molécula de RNA mensageiro (RNAm) de modo que uma fita-molde de DNA forma uma fita simples de RNAm com sequência de bases complementar à da fita molde. Sendo que no RNAm, o açúcar dos nucleotídeos é a ribose e as bases nitrogenadas são as mesmas do DNA, exceto pela timina que é substituída pela uracila (U) no RNA, complementando a adenina. O código carregado no RNAm é então traduzido nos ribossomos, onde moléculas de RNAt reconhecem o RNAm e iniciam a síntese proteica. Cada trinca de nucleotídeos no RNAm é chamada de códon e codifica 1 tipo de aminoácido (AAC). Vários códons diferentes codificam

os mesmos AAC. Dessa forma, o RNAt se liga ao RNAm através de uma sequência anti-códon complementar a um códon específico e na outra extremidade "carrega" o aminoácido codificado pelo códon "lido". Dessa forma, os AAC vão sendo organizados p/ formar as ptns (chamado de tradução). Todo esse processo de transcrição e tradução dos genes é chamado de expressão do gene, ou gênica. Em cada célula humana, existem cerca de 30.000 genes, mas diferentes tipos celulares expressam genes diferentes, o que torna as células especializadas. Isso significa que a expressão gênica pode se diferenciar e por isso pode ser regulada. No DNA, existem sequências chamadas promotoras que antecedem as sequências dos genes e é onde a RNA Polimerase se liga p/ iniciar a transcrição. Existem também regiões não-codificantes reguladoras. Nessas regiões podem se ligar fatores reguladores da transcrição, que podem inibir ou ativar a transcrição dos genes. Esses fatores podem ser sintetizados pelas células e regulados por sinais do meio interno e externo por processos de sinalização celular. Portanto, a expressão gênica pode ser regulada e influenciada por muitos fatores ambientais externos, como dieta, drogas, toxinas, luz solar, radiação, agentes mutagênicos, etc.

e também por fatores do ambiente interno, como hormônios e metabolismo. Esses fatores ambientais podem alterar a expressão dos genes através de alterações na sequência do DNA, causando mutações e alterações ao aumentando as taxas de mutação que ocorrem naturalmente ao longo da vida. Esses agentes são chamados mutagênicos. Outros fatores, podem alterar a expressão gênica através de alterações a nível de transcrição ou tradução, sem alterar a seq. do DNA, do gene. Os agentes mutagênicos podem ser químicos, como solventes, subst. presentes no tabaco, agrotóxicos, e podem alterar as bases, por exemplo causando desaminação de bases no DNA, ou agindo como intercalantes de DNA, como o brometo de etídio, que pode ocasionar na adição de pares de bases durante a replicação. Agentes mutagênicos físicos como raios UV e radiação ionizante (raios-X), por exemplo, podem causar diretamente quebras nas fitas de DNA, lesão cruzada de bases, erros que as células, ao tentarem corrigir, podem acarretar na deleção de grande porção do DNA, contendo vários genes. Há também processos celulares endógenos, intrínsecos, que podem ser mutagênicos, como o dano causado ao DNA pelo stress oxidat

Favor não escrever no verso

tivo pelos radicais livres formados pelo próprio metabolismo celular. Ao longo da vida, as células passam por inúmeras divisões, e mutações podem e ocorrem naturalmente durante esse processo. No entanto, as células possuem um amplo repertório de mecanismos de reparo para corrigir esses "erros" de replicação. No entanto, a eficácia desses mecanismos diminui com o envelhecimento e também pode ser afetada por esses fatores ambientais, como os agentes mutagênicos. Muitos agentes mutagênicos são carcinogênicos, estimulando a expressão de proto-oncogenes e suprimindo a expressão de genes supressores de tumor.

Muitos fatores ambientais podem causar alterações epigenéticas, que não alteram a sequência dos genes, mas afetam a forma como esses genes são transcritos e traduzidos. Essas alterações são transmitidas hereditariamente e, em relação às alterações genéticas, são mais dinâmicas e muitas vezes reversíveis dependendo da presença do fator externo. Dentre as principais alterações epigenéticas causadas por diversos fatores ambientais, estão a metilação do DNA, alterações nas proteínas histonas e pequenos RNAs não-codificantes.

Favor não escrever no verso

A metilação do DNA consiste na transferência de um radical metil para o carbono 5 de uma citosina (C) que geralmente é seguida por uma guanina (G) no DNA, os dinucleotídios CpG. Mais da metade dos genes possuem regiões promotoras associadas à essas "ilhas CpG", de modo que a hipermetilação dessas regiões geralmente está associada à inibição da transcrição gênica e a hipometilação, à ativação. Compostos químicos como resveratrol, chá-verde são muito utilizados na dieta como substâncias que podem ter benefícios para a saúde geral ou na prevenção de doenças, como câncer, por influenciar nos níveis de metilação do DNA. Alterações das histonas, que são ptns que estão envolvidas na condensação da cromatina, também podem alterar a forma como as fitas de DNA são expostas p/ o processo de transcrição. Essas alterações incluem fosforilações, acetilações e metilações das histonas. Outros fatores que tem sido muito estudados são os microRNAs, que são pequenas moléculas de RNA não-codificantes, que atuam como inibidores pós-transcricionais, impedindo a tradução de moléculas de RNAm. Diversos fatores ambientais podem alterar essas moléculas. Indivíduos de uma

Favor não escrever no verso

mesma espécie, com genótipos diferentes, respondem diferente a um mesmo fator ambiental. Isso é chamado interação gene-ambiente e pode representar uma suscetibilidade, fator de risco à doenças, por exemplo. Mas, como esse fator ambiental é determinante e pode se modificado, o ambiente pode ser decisivo para o desenvolvimento de patologias e para as respostas dos indivíduos.

Equilíbrio dinâmico, homeostasia

Dentro deste tema, vou falar sobre os mecanismos que geram as diferenças básicas entre os meios interno e externo das células, e que mantem tais diferenças num estado de estabilidade dinâmica, essencial para o funcionamento de todo o organismo. Cerca de 60% do corpo humano adulto é formado por líquidos, uma mistura aquosa de íons e moléculas. A maior parte desse líquido está no interior das células e é chamado de líquido intracelular (LIC). 1/3 desse líquido é encontrado fora das células e é chamado de líquido extracelular (LEC). O LEC é formado pelo plasma, a parte fluida do sangue, e pelo líquido intersticial,

que preenche os espaços intercelulares nos tecidos. O LEC ~~[illegible]~~ é constantemente movimentado por todo o corpo, através do sistema circulatório, no sangue e nos capilares nos tecidos, há uma troca bidirecional entre o plasma e o líquido intersticial, fazendo com que o LEC se misture e percorra todo o corpo, mantendo certa homogeneidade em todos os tecidos. A composição do LEC e do LIC são bem diferentes, embora possam ter variações específicas em determinados tecidos, há padrões bastante semelhantes. O LEC contém uma alta concentração de Na^+, Cl^-, íons bicarbonato, nutrientes: glicose, AAC, ácidos graxos, O_2, ou seja, íons e nutrientes essenciais para o funcionamento das células. O LEC funciona como uma zona de transição, de tamponamento entre o meio externo e o LIC, e por isso o LEC é chamado de "meio interno" do corpo. Em geral, as células não toleram mudanças muito significativas nas concentrações ~~desde~~ das substâncias do LEC, precisam que o meio interno tenha uma certa constância para funcionar adequadamente. Essa manutenção do meio interno numa constância é chamada de homeostasia. A homeostasia consiste na verdade num estado de desequilíbrio estável, ou numa estabilidade

UFRJ - CCS - INSTITUTO DE BIOFÍSICA CARLOS CHAGAS FILHO

de dinâmica. Dinâmica porque as variáveis homeostáticas são mantidas dentro de faixas de valores que podem ter alguma flutuação, não são fixos; e porque as substâncias estão em constante movimento entre os compartimentos (LEC e LIC). Estabilidade e não equilíbrio porque a composição dos compartimentos não é igual, mas as diferenças são mantidas estáveis.

O transporte de H_2O entre o LEC e o LIC é determinado pela diferença de pressão osmótica entre eles. Na membrana das células, a água pode se difundir principalmente através de canais iônicos especializados chamados aquaporina. A osmolaridade do LEC e do LIC difere o movimento de H_2O entre eles.

A manutenção da composição iônica dos meios dentro de valores estreitos é essencial para o potencial de membrana, para o transporte de íons e moléculas e para os eventos de sinalização. O transporte de íons ocorre por proteínas transportadoras especializadas. As diferenças de concentração iônica mais marcantes e importantes entre o LEC e LIC são dos íons Na^+ e K^+. O Na^+ geralmente mais concentrado no LEC e o K^+, no LIC. Essas diferenças são geradas e mantidas pela bomba

Favor não escrever no verso

Na^+-K^+ ATPase que está presente na membrana de todas as células. Essa bomba transporta 3 íons Na^+ para fora das células e 2 K^+ p/ dentro, utilizando a energia liberada pela hidrólise do ATP. Esse gradiente gerado para esses íons é altamente importante pra impulsionar também o movimento de diversos outros íons e moléculas através das membranas. A bomba também tem efeito eletrogênico; ao transportar 2 cátions p/ dentro e 3 p/ fora, contribui p/ gerar uma diferença de potencial elétrico através da membrana, com a face interna mais eletronegativa.

No repouso, a maioria das células tem uma ddp através da membrana, determinada pela permeabilidade ao K^+. Muitos canais de vazamento de K^+ abertos permitindo que o pot. de membrana seja próximo ao pot. de equilíbrio do K^+, logo negativo. Essa voltagem é especialmente importante em células excitáveis como os neurônios e os músculos, para a condução dos Potenciais de ação, que são inversões transitórias do potencial de repouso. As células são capazes de regular o seu volume celular mediante alterações nas composições do LEC, da osmola

ridade do LEC. Alterações podem causar murchamento ou inchamento das células, o que pode causar lesão ou morte celular. Por isso, as células possuem mecanismos ativos p/ bombear osmólitos p/ dentro e p/ fora, para regular a pressão osmótica e manter o volume celular adequado diante de variações na osmolaridade do LEC.

Para manter a homeostasia, é preciso haver o equilíbrio de massa, ou seja, para que uma substância se mantenha constante no organismo, qualquer perda ou ganho, deve ser igualmente compensado. Todos os dias, ingerimos alimentos e líquidos sem que haja mudanças significativas no volume e composição do LEC. Para isso o organismo tem mecanismos de excreção de substâncias ou metabolização em outras substâncias. Quando uma variável homeostática se altera para longe dos seus valores ótimos, são ativados mecanismos de controle homeostáticos, que podem ser locais ou de longa distância. Os mecanismos locais funcionam num mesmo tecido ou grupo de células. Por exemplo, quando na $[O_2]$ em um tecido específico ↓ as células adjacentes podem secretar sinais que aumentam

UFRJ

a dilatação dos vasos sanguíneos no local p/ levar mais irrigação e O2. Alterações sistêmicas geralmente incluem um sinal de entrada, um centro integrador e um sinal de saída para um ou vários efetores que tentam "trazer" aquela determinada variável p/ os valores normais. Geralmente o sistema nervoso e o sistema endócrino exercem esse papel de centro integrador. Os mecanismos de ~~controle~~ controle homeostáticos geralmente funcionam por alças de feed-back negativo. Todos os sistemas do corpo contribuem para a manutenção da homeostasia, equilibrando as diversas variáveis homeostáticas dentro dos seus valores ideais. Quando uma variável altera de modo significativo, os mecanismos de controle são ativados. Quando são bem sucedidos, a homeostasia é restaurada. Se falham, podem resultar em doenças e até morte.

Comunicação intercelular

As células dos organismos multicelulares se comunicam umas com as outras, detectando

UFRJ - CHTN - INSTITUTO DE BIOFÍSICA CARLOS CHAGAS

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 22

No. fl. 13

e respondendo a diferentes tipos de sinais que controlam o a divisão, proliferação e migração durante o desenvolvimento e todo o funcionamento durante a fase adulta. A comunicação entre as células se dá geralmente ~~por~~ através de moléculas de sinalização extracelulares que são reconhecidas por receptores, gerando respostas intracelulares que alteram o comportamento celular. Existem 4 tipos básicos de comunicação intercelular: comunicação dependente de contato, ~~onde~~ comunicação parácrina, sináptica e endócrina. A sinalização de comunicação dependente de contato envolve moléculas sinalizadoras presentes na membrana das células que são reconhecidas por receptores em outras células mediante contato físico entre elas. Exemplo são as funções aderentes, onde moléculas de caderina fazem ligação homofílica com moléculas de caderina em célula adjacente e podem funcionar como receptor transmitindo sinais p/ o citoesqueleto. A comunicação parácrina envolve a liberação de ~~[illegible]~~ moléculas sinalizadoras que atuam como mediadores locais, em células próximas. Em alguns casos, a

UFRJ

própria célula sinalizadora possui receptores para responder ao sinal, caracterizando a sinalização autócrina. Na comunicação sináptica, ocorre a comunicação entre uma célula neuronal, que libera moléculas químicas sinalizadoras, chamadas neurotransmissores, que atuam em receptores presentes em células neuronais, musculares ou endócrinas, que podem estar próximas ao neurônio ou em partes distantes do corpo. Já na sinalização endócrina, subst. químicas chamadas hormônios, são secretadas na corrente sanguínea e atuam em células localizadas em qualquer parte do corpo = longo alcance. As moléculas sinalizadoras podem ser de diferentes naturezas: aminoácidos, peptídios, ácidos graxos derivados de, proteínas, gases e até mesmo fótons de luz. As células ficam expostas a uma variedade muito grande de sinais e as diferentes combinações de sinais e concentrações, determinam respostas diferentes. Uma mesma molécula sinalizadora pode ter efeitos diferentes, gerar respostas diferentes dependendo do tipo de receptor e do tipo celular envolvido na comunicação. As moléculas sinalizadoras durante o desen

UFRJ

vdesmento embrionário são chamadas de morfógenos. e as diferenças de [] delas determinam a formação celular. A maioria dos mdic. de sinal. intracelulares são reconhecidas por receptores de superfície de membrana, embora algumas sejam pequenas e hidrofóbicas o suficiente p/ entrar nas células e atuar em receptores localizados no citosol ou no núcleo. Existem 3 tipos básicos de receptores de superf. celular: ionotrópicos, metabotrópicos e catalíticos. Ao reconhecerem o sinal, esses receptores fazem a transdução do sinal extracelular em um sinal intracelular que altera o comportamento da célula, envolvendo canais iônicos, fatores de transcrição, citoesqueleto e componentes de vias metabólicas. As proteínas de sinalização intracelular podem ser 2º mensageiros, que são pequenas moléculas que são produzidas em grandes quantidades em resposta ao sinal e se difundem pra dentro da célula, amplificando o sinal. Podem ser ptns que sintetizam 2º msg; muitas funcionam como comutadores moleculares, alternando entre estado ativo e inativo. Essa regulação pode ser

Favor não escrever no verso

por fosforilação. Muitas vezes a própria proteína sinalizadora intracel é uma Kinase e quando fosforilada, ativa outras cinases, gerando cascatas de quinases. Existem tb ptns de ligação a GTP, monoméricas ou teiméricas, que quando ligadas a GTP são ativas e GDP, inativas. Essas ptns são reguladas por GEFs e GAPs que ativam e desativam essas ptns, respectivamente. Muitas ptns sinalizadoras intracelulares formam complexos proteicos dentro das células, o que facilita sua aproximação e ativação. Receptores: os receptores ionotrópicos são canais iônicos regulados por ligante, cuja principal função é transformar o sinal químico em um sinal elétrico. Esses receptores são ativados por neurotransmissores diversos e estão muito presentes na comunicação sináptica. São constituídos por ptns transmembrana formadas por diferentes subunidades que atravessam a membrana formando um poro aquoso, que permite a passagem exclusivamente passiva e seletiva de íons a favor de seus gradientes eletroquímicos. O poro do canal estreita gradualmente e na porção mais estreita há o filtro de seletividade

dade, onde os íons para passar, devem perder toda sua camada de solvatação e interagir de modo íntimo com as paredes do poro. Daí a seletividade. Esses receptores tem sua abertura e fechamento regulados pelo ligante e eles podem estar localizados na membrana ou organelas internas. Os receptores metabotrópicos são a maior classe de receptores de superfície celular. São ptns transmembrana com 8 domínios transmembrana que estão acoplados à PtnG trimérica na face citosólica, quando ativado pelo sinal. Podem ser ativados por neurotransmissores, peptídeos, fótons de luz. Mediam a fototransdução, transdução gustativa e olfativa também. A presença do ligante causa uma mudança conformacional nos receptores que então se acopla à PtnG dentro da célula. Ela é formada por três subunidades: α, β e γ, que juntas quando inativada. A sub. α é uma GTPase. Quando ligada ao GDP - a ptn G está inativa e as sub. unidas. O receptor metabotrópico atua como uma GEF, ativando a sub. α que troca GDP por GTP, se dissocia do complexo β-γ e ambos tem

função sinalizadora, podendo regular canais iônicos e ptns efetoras. Muitas das ptns efetoras ativadas por esses receptores produzem 2º mensageiros, como AMPc, GMPc, Óxido nítrico, IP3 e DAG. Ex: a adenilciclase é ativada pela PtnG → sintetiza AMPc → ativa uma ptn Kinase chamada PKA, que se liga ao CREB que atua como fator de transcrição no núcleo ao se ligar a seq. CRE que regula a transcrição de mtos genes. O processo de sinalização desses receptores pode ser interrompido por adaptação e dessensibilização quando o ligante permanece por muito tempo: podem ser inativado por fosforilação, podem ser internalizados e depois retornar à membrana e podem ts ser destruídos nos lisossomos.
A fosforilação dos receptores cria um sítio de ancoragem pra arrestina que pode impedir a ligação da PtnG e ts recrutar ptns p/ via endocítica. Os receptores catalíticos são ptns transmembrana com apenas 1 subunidade que funcionam geralmente como dímeros, e possuem na sua cauda citoplasmática, atividade catalítica, ou estão associados diretamente

Favor não escrever no verso

com enzimas citosólicas. São ativados especialmente por fatores de crescimento e são classificados de acordo com a atividade catalítica que realizam ~~~~ - tirosina Kinase, associados à tirosina Kinase, serina-treonina Kinase, guanililciclase, são exemplos. Os mecanismos de ação e ativação dos receptores catalíticos tirosina Kinase (TRK) são os mais bem conhecidos. Esses receptores dimerizam na presença do ligante, se transautofosforilam, o que aumenta a sua atividade catalítica e também cria sítios de ancoragem para proteínas adaptadoras e sinalizadoras que são alvo dos receptores. Um exemplo de via de sinalização ativada por estes receptores é a ativação da PLCδ → fosfolipase C, que cliva um fosfolipídio de membrana chamado fosfatidil inositol bifosfato (PIP2) gerando 2 mensageiros: DAG (diacilglicerol) que permanece na membrana; e IP3 (inositol 3 fosfato), que se difunde pelo citosol e ativa canais de Ca^{2+} na membrana do retículo endoplasmático, liberando os estoques de Ca^{2+} para o citosol. No citosol, o Ca^{2+} inicia ativação de uma Kinase chamada PKC, que se liga ao DAG na membrana, o que conclui sua ativação.

UFRJ

A PKC pode se difundir e fosforilar muitos alvos. Os receptores TRK também podem ativar uma via clássica de sobrevivência celular, a via da PI3-K-AKT. Essa Kinase fosforila o PIP2 da membrana, permitindo a ligação e ancoragem das proteínas PDK1 e AKT. Próximas, a PDK1 fosforila a AKT, que tb é fosforilada pelo complexo mTOR II. Uma vez ativa, a AKT fosforila alvos intracelulares. Um especial é o BAD, que ao ser fosforilado pela AKT, libera a sinalização anti-apoptótica na célula. Receptores TRK tb ativam ptns G monoméricas, como a Ras e Rho, que se ligam a GTP. A ativação da Ras permite a ativação de uma cascata de MAPK que consiste na fosforilação e ativação sequencial da Ras → Raf → MEK → ERK = todas Kinases. A ERK participa de uma grande diversidade de processos da célula. Efrinas tb atuam por receptores TRK que ativam Rho, que está envolvida com regulação do citoesqueleto e colapso do cone de crescimento em células neuronais. Receptores TRR-like (associados a tirosina Kinase) não possuem atividade catalítica, mas associam intracelularmente a tirosina Kinases. Um exemplo é a sinalização de citocinas, subst. liberadas por

UFRJ

células imune e tb por células neurais, que ativam "TRK-like", que se ligam a ptns chamadas JAK, que fosforilam uma a outra, fosforilam as caudas intracelulares dos dímeros do receptor, criando sítios de ancoragem para as STATs, que se ligam e são fosforiladas pelas JAKs, e se tornam ativas e podem se dimerizar ao núcleo e regular a transcrição de genes.

Voltando aos receptores metabotrópicos: outros exemplos de vias de sinalização intracelulares ativadas por esses receptores: guanililciclase, que sintetiza GMPcíclico, que atua como 2° mensag. e pode ativar a ptn PKG. Os nucleotídeos cíclicos AMPc e GMPc podem controlar canais iônicos e alterar a permeabilidade da membrana. Nos processos de transdução olfativa e visual eles são necessários. Os receptores metabotrópicos tb podem ativar a fosfolipase Cβ, que atua na mesma via descrita anteriormente para a PLC γ, produzindo DAG e IP3. O DAG pode ser clivado pela fosfolipase A, gerando importantes mediadores inflamatórios. Outras moléculas importantes atuam como 2° mensageiros, como o Ca^{2+}. Por regular a atividade de diversos alvos, as concentrações intracelulares

UFRJ

de cálcio são altamente reguladas. Um dos principais alvos intracelulares do Ca^{2+} é uma proteína citosólica chamada calmodulina. O complexo Ca^{2+}-calmodulina regula várias proteínas dentro da célula e fb na membrana. Um dos alvos mais estudados e conhecidos é a Rinase dependente de Ca^{2+}-calmodulina II, a CAMK II, que tem função muito importante no tráfego de receptores glutamatérgico e nos mecanismos de plasticidade sináptica no sistema nervoso.

Além dos receptores de superfície celular, as moléculas sinalizadoras utilizadas na comunicação entre as células também podem atuar em receptores intracelulares. É o caso de hormônios esteroides, por exemplo. Essas moléculas sinalizadoras, hidrofóbicas, são transportadas na corrente sanguínea por proteínas carreadoras, das quais se dissociam para entrar nas células-alvo. Os receptores intracelulares podem estar localizados no citosol e no núcleo, e geralmente, na ausência do ligante, ficam inativados por um complexo proteico, do qual se dissociam na presença do ligante. Em alguns casos, sem o ligante o receptor está ativo e é inativado por ele, como ocorre

Favor não escrever no verso

com hormônio da tireóide. O complexo ligante + receptor pode ir ao núcleo e regular transcrição de genes.

Muitas dessas vias de sinalização e outras podem se ativadas por diferentes receptores e pode haver uma comunicação cruzada entre elas dentro das células, ativando determinadas vias mesmo em um ligante específico. A ativação dos efetores e 2º mensageiros dentro das células, amplifica o sinal do mensageiro extracelular, que geralmente se dissipa dos receptores rapidamente, gerando um sinal que pode se perpetuar dentro da célula por mais tempo.

A velocidade ~~~~ da resposta das células nos processos de comunicação celular depende do tipo de receptor ativado – receptores ionotrópicos tem resposta mais rápida, pois só abrem e fecham permitindo a passagem dos íons. Já os metabotrópicos e os catalíticos exigem mais etapas de ativação e portanto demoram mais; e ts depende das vias intracelulares ativadas – abertura de canais iônicos será mais rápida do que uma resposta de transcrição gênica.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho
Concurso para Professor Adjunto
MC-015 – Integração de Sistemas Biológicos
Edital nº 377 de 25 de maio de 2022, publicado no DOU nº 102 de 31 de maio de 2022 - consolidado com as alterações dos Editais nº 402 de 31 de maio de 2022 e nº 435 de 31 de maio de 2022

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 23

No. fl. 1

Favor não escrever no verso

O corpo humano é composto por um conjunto de sistemas biológicos formados por diferentes órgãos, que são constituídos de diferentes tecidos formados por aglomerados de células. As células são as menores unidades fundamentais da vida de um organismo e são capazes de formar quatro tecidos básicos: epitelial, conjuntivo, nervoso e muscular. A integração dos sistemas biológicos é essencial para a manutenção da homeostasia por meio do trabalho coordenado entre os diferentes órgãos, tecidos e células.

A Sociedade Americana de Fisiologia definiu 10 sistemas biológicos distintos: sistema cardiovascular, endócrino, renal, respiratório, esquelético, nervoso, reprodutivo, muscular, locomotor e imunológico. Nenhum orgão funciona de forma independente, há integração dos sistemas biológicos, com atuação de diferentes orgãos em sistemas distintos. Um exemplo dessa integração é a atuação do sistema cardiovascular que é responsável pelo transporte de oxigênio e nutrientes para todo o corpo por meio da circulação sanguínea. O sangue transporte hormônios do sistema endócrino e células do sitema imune como os leucócitos que controlam ou eliminam infecções patogênicas. Além disso, quando o sangue passa pelos orgãos do sistema renal e digestivo, o rim

Favor não escrever no verso

e o intestino delgado são capazes de filtrar nutrientes, absorver o que for útil para a maquinaria celular e eliminar resíduos celulares. Há também integração do sistema cardiovascular com o sistema respiratório, já que o sangue transporta oxigênio e gás carbônico (CO_2) para os pulmões, além disso, há o transporte de oxigênio para o cérebro, e o cérebro regula as funções fisiológicas como a pressão arterial. O Laboratório de Fisiologia da Respiração do Programa Temático de Fisiologia e Biofísica Celular do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho (IBCCF) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), ~~fundado~~ coordenado pelo professor emérito Walter Zin, autor do livro "Fisiologia Respiratória Aplicada", foi pioneiro no estudo da função pulmonar, alterações sistêmicas em diferentes organismos causados por toxinas ou poluentes ambientais, além de mecanismos relacionados à dor e inflamação por meio de modelos experimentais em animais com ventilação mecânica e modelos matemáticos de alterações biológicas.

Claude Bernard foi um médico francês que no século XIX definiu a homeostase como uma tendência de manter o ambiente interno estável e relativamente constante. Por meio de estudos de medicina experimental, Claude Bernard percebeu a estabilidade das funções fisiológicas como a pressão arterial, temperatura corporal e frequência cardíaca. No século seguinte, em XX (século vinte), o fisiologista americano designou a palavra "homeostase" em 1929, Walter Cannon descreveu o que Claude Bernard havia chamado de "milieu intérieur". Cannon ainda explicou que o uso de duas palavras gregas "homeo" e "stasis" foram escolhidos para representar "parecido, similar" e "estável" respectivamente. Não foi

utilizado a palavra "homo" que significa "igual", já que a homeostase é um equilíbrio dinâmico, e não estático, que permite a regulação de diversos eventos no organismo dentro de uma faixa estreita de valores. O equilíbrio dinâmico é fundamental para a manutenção das atividades biológicas, representando a integração dos sistemas biológicos para regular as funções fisiológicas e manter o organismo com estabilidade para realizar diferentes atividades.

Existem muitos mecanismos para controlar o ambiente interno devido às alterações sistêmicas causadas por diferentes fatores abióticos (luz, vento, água, solo), assim como, causadas por infecções patogênicas que alteram a maquinaria celular e função fisiológica dos organismos.

A osmoregulação, termoregulação e regulação química são três mecanismos padrões que controlam a homeostase por meio da concentração de íons no ambiente extracelular e intracelular, regulação de temperatura via comandos hierárquicos (hipotálamo) e regulação via enzimas que participam do metabolismo. Mecanismos de retroalimentação (feedback) negativo e positivo são utilizados para controlar alterações, contrabalanceando em oposição ao estímulo (feedback negativo) ou estimulando ainda mais o estímulo (feedback positivo).

A retroalimentação negativa é o mecanismo mais utilizado responsável por estabelecer o equilíbrio dinâmico em diversas alterações biológicas como a concentração de glicose no sangue, concentração de oxigênio dissolvido e temperatura corporal. Quando a concentração de gás carbônico está elevada no ambiente, ~~a detecção~~ dissolvido na corrente sanguínea, ocorre a

Favor não escrever no verso

detecção desse desbalanço e essa informação é transmitida ao cérebro (bulbo) que vai permitir a indução de vias efetoras, aumentando assim, a frequência respiratória para eliminar mais gás carbônico e equilibrar a concentração de oxigênio e gás carbônico no organismo para que as atividades biológicas não sofram alterações estruturais que afetem a homeostase. Um outro exemplo de regulação homeostática via retroalimentação negativa é o controle da temperatura corporal. Sabemos que os seres humanos possuem temperatura corporal de 36,5°C a 37°C, assim, alterações no ambiente externo podem modificar a temperatura, que terá mecanismos de controle. Quando a temperatura está elevada em um ambiente, sensores (neurônios), localizados na pele e cérebro, detectam essa alteração e levam essa informação para o centro de controle da temperatura no cérebro (hipotálamo) que induz vias efetoras como as glândulas sudoríparas e vasodilatação que levam a liberação de calor para o meio externo, permitindo assim, a manutenção da temperatura corporal.

Um outro mecanismo de retroalimentação negativa é a regulação da concentração de glicose no sangue (glicemia). Quando os níveis de glicose no sangue estão elevados, logo após uma refeição, há produção de insulina pelas células beta pancreáticas que levam a glicose para abastecimento dos tecidos, diminuindo a glicemia e a produção de insulina. A insulina também armazena glicose na forma de glicogênio em células hepáticas e adiposas. Já quando os níveis de glicose no sangue estão baixos, há produção do hormônio glucagon pelas células alfa pancreáticas responsáveis pela quebra de glicogênio hepáticos para aumentar a glicemia. Esse aumento na glicemia

UFRJ - CCS - BIOFÍSICA

diminui a produção de glucagon e auxilia na manutenção da concentração de glicose no sangue por meio da retroalimentação negativa.

A retroalimentação positiva é menos frequente do que a negativa, e um exemplo clássico desse mecanismo é durante o parto. Durante o parto, o hormônio oxitocina é produzido pela hipófise para induzir a contração uterina que estimula a produção de mais oxitocina, sendo que esse processo continua até o nascimento. A produção de leite pelo hormônio prolactina é semelhante ao mecanismo de retroalimentação negativa da oxitocina no parto. A integração de múltiplos sistemas de retroalimentação é responsável pela homeostasia, com atuação de diferentes órgãos e tecidos para garantir o equilíbrio dinâmico. O controle homeostático antecipatório é um sistema que permite a regulação da alteração biológica antes mesmo do estímulo externo. Um exemplo desse controle antecipatório é o reflexo da salivação. Sentidos como a visão e olfato estimulam a salivação e produção de ácido clorídrico (HCL) no estômago, recursos utilizados para preparar o organismo (antecipatório) para a digestão do alimento que será ingerido. Outra forma de controlar e regular diferentes atividades biológicas é por meio da sinalização celular, que permite a troca de informações através de sinais elétricos e químicos. A diabetes é uma doença que afeta a retroalimentação negativa de regulação da glicemia. O Laboratório de Glicoproteína estrutural e funcional do Programa Temático de Fisiologia e Biofísica celular do IBCCF da UFRJ, coordenado pelo professor Celso Neves, possui experiência no estudo do metabolismo da glicose e busca de mecanismos de regulação da homeostase,

por meio das vias metabólicas de degradação da glicose.

A comunicação intercelular é marca registrada dos organismos multicelulares, capazes de enviar e receber uma variedade de sinais bioquímicos que mediam a sinalização celular. O estudo da transdução de sinal biológico é caracterizado por duas moléculas proteicas distintas: ligante e receptor. O ligante, também chamado de molécula-sinal ou sinalizadora, se liga com receptores específicos na superfície da célula-alvo para induzir uma resposta biológica. A combinação de múltiplos sinais biológicos, interação ligante-receptor, é o que permite que a célula desempenhe uma função específica como proliferação, diferenciação, migração, secreção, contração e outros. Na ausência de sinais, como em uma placa de cultura, ocorre morte celular por apoptose. O Laboratório de Neurogênese do Programa Temático de Neurobiologia do IBCCF da UFRJ, coordenado pelo renomado professor Rafael Linden, possui larga experiência em morte celular programada. Por meio da utilização de modelos de animais experimentais como ratos Lister Hooded e camundongos da linhagem C57/BL6, o Laboratório de Neurogênese é capaz de estudar diferentes vias de sinalização da morte celular programada com técnicas diversas para compreender como ocorre a neurodegeneração de células da retina. Desde cirurgias para o esmagamento do nervo óptico afetando as células retinianas, até técnicas de bancada como Western Blot, imunohistoquímica e imunofluorescência, o laboratório chefiado pelo professor Rafael Linden ganhou notoriedade e destaque para o estudo da morte celular programada e doenças neurodegenerativas, como o glaucoma que é causado pelo aumento da pressão ocular e morte das

UFRJ

células ganglionares da retina.

Dependendo do local e da distância da comunicação celular existem quatro mecanismos: dependente de contato, sinalização parácrina, sináptica e endócrina. A comunicação intercelular dependente do contato direto é importante no início do desenvolvimento e para o sistema imune em que há contato de células imunológicas para identificação e processamento de antígenos. A interação celular via contato direto possui junções comunicantes ou ocludentes (do inglês "gap junctions") que conectam o citoplasma das células permitindo a troca de íons inorgânicos e pequenas moléculas. A sinalização parácrina ocorre quando uma célula produz e libera uma molécula-sinal no espaço extracelular para uma outra célula vizinha. Já a sinalização autócrina ocorre quando uma célula libera uma molécula sinalizadora para ela mesma, como são diversas citocinas. Um exemplo de molécula com sinalização parácrina é a histamina que é um mensageiro químico importante nas alergias e inflamação.

Enquanto a sinalização parácrina possui efeito local, as sinalizações endócrina e sináptica possuem ação a longas distâncias. A sinalização endócrina ocorre a partir da liberação de mensageiros químicos, conhecidos como hormônios, no sangue. Já a sinalização sináptica ocorre por meio da liberação de ~~mensageiros~~ moléculas bioquímicas, conhecidos como neurotransmissores, transportados ao longo do axônio de neurônios para a fenda sináptica com liberação do neurotransmissor que vai induzir diferentes funções biológicas dependendo do neurotransmissor e da célula alvo. As respostas celulares efetoras não dependem exclusivamente da natureza do ligante,

UFRJ

dependem da combinação dos diferentes estímulos, da célula-alvo e outros. Um exemplo clássico que ilustra a capacidade de células diferentes reagirem ao mesmo ligante, é o caso da acetilcolina. A acetilcolina pode se ligar a diferentes receptores de células distintas e induzir respostas efetoras distintas. A acetilcolina reduz a velocidade e força de contração das células musculares cardíacas, no entanto, aumenta a contração nas células musculares esqueléticas, e ainda estimula a secreção de glândulas secretórias. A sinalização endócrina é mais lenta do que a sináptica, devido à difusão e fluxo sanguíneo. As ações da sinalização sináptica são geralmente rápidas, sendo chamados de neurócrinas, ou neuromodulares caso seja lenta a sinalização sináptica. Diversas doenças endócrinas são encontradas em humanos, como a diabetes e doenças nos hormônios tireoideanos (T_3 e T_4). Os diferentes ligantes ou moléculas sinalizadoras podem ser peptídeos, aminoácidos, nucleotídeos, derivados de ácidos graxos, e até gases dissolvidos como o óxido nítrico (NO) e monóxido de carbono (CO) que atuam na sinalização intracelular ativando a enzima guanilato ciclase.

Os receptores são proteínas que possuem estrutura e funcionalidade distintas dependendo do tipo celular, sendo classificados em quatro tipos: receptores acoplados a canais iônicos, acoplados a proteína G, acoplados a enzimas e receptores nucleares. Os receptores do tipo I são receptores ionotrópicos semelhantes a canais iônicos, são comuns na sinalização sináptica, e atuam como "portões" que abrem ou fecham dependendo do estímulo do ligante. Como exemplos de receptores ionotrópicos, o receptor nicotínico de acetilcolina nas células musculares e o receptor gabaérgico nas células neuronais que

UFRJ

atua via neurotransmissor GABA inibitório que induz a despolarização de membrana. Já os receptores de tipo II são os receptores acoplados à proteína G, conhecidos pela sigla "GPCRs", são receptores heptaelicoidais (atravessam sete vezes a membrana plasmática) que permitem a ativação da enzima adenilato ciclase, responsável pela síntese de AMP cíclico (cAMP). GPCRs são a maior família de receptores, estão relacionados com diversas doenças endócrinas, são receptores metabotrópicos acoplados a proteína trimérica G que possui três subunidades (alfa, beta e gama). Quando ocorre a ligação da molécula sinalizadora na porção (domínio) extracelular, há dissociação das subunidades da proteína G, e o complexo GTP com a subunidade alfa da proteína G é capaz de ativar a adenilato ciclase. Quando as subunidades alfa, beta e gama estão ligadas a GDP, o receptor acoplado a proteína G encontra-se inativo. A enzima adenilato ciclase atua na fosforilação de diversas proteínas intracelulares, fazendo parte da cascata sinalização intracelular por meio de segundos mensageiros como o cálcio, cAMP, cGMP, diacilglicerol (DAG) e inositol trifosfato (IP3). O cálcio é um importante segundo mensageiro que é responsável por regular muitas atividades celulares diretamente ou indiretamente pela ligação com a Calmodulina. O AMP cíclico (cAMP) foi o primeiro segundo mensageiro a ser descoberto, e está envolvido com a ativação de proteínas com capacidade enzimática de fosforilar (adicionar grupo fosfato) outras proteínas, chamadas de Quinases, como é o caso da proteína quinase A (PKA) que é dependente de cAMP. Os GPCRs são receptores com alto poder terapêutico e o avanço da biologia molecular permitiu que esses receptores fossem estudados profundamente.

UFRJ

Os receptores tipo III são os receptores acoplados à enzimas, são largamente estudados, entre eles: tirosina-quinase, serina-treonina quinase, tirosina fosfatase e histidina quinase. Os receptores tirosina-quinase são os mais estudados, possuem capacidade de fosforilar resíduos de tirosina ativando ou inibindo a função efetora de muitas proteínas. A pesquisa científica recente aborda diferentes métodos de estudo desses receptores com aplicação terapêutica, dois métodos utilizados são a utilização de anticorpos monoclonais para bloquear a interação ligante-receptor, e inibidores de tirosina-quinase que atuam bloqueando a ação intracelular de fosforilação. Os receptores tipo IV são receptores nucleares, localizados no citoplasma ou núcleo. Alguns exemplos desses receptores nucleares são os hormônios esteroides, ácido retinoico e vitamina D_3. Quando uma molécula lipossolúvel entra na célula, como um hormônio esteroide (testosterona, estrogênio), é levado ao núcleo onde poderá atuar se ligando diretamente ao DNA ou ativando fatores de transcrição, como o NFkB (NF Kappa B) que regula a expressão gênica e transcrição de diversas citocinas.

As citocinas são moléculas pleiotrópicas com ação pró ou anti-inflamatória que atua em muitos mecanismos de regulação de resposta imune (duração e intensidade). O Laboratório de Imunologia Viral do Instituto Oswaldo Cruz (IOC) da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) possui experiência na pesquisa de citocinas relacionadas à resposta inflamatória de arbovírus (Dengue, Zika e outros). Em 2014, o grupo coordenado pela pesquisadora Dra [redacted] Elzinandes Leal de Azeredo, em colaboração com a tecnologista da FIOCRUZ Dra Mariana Gandini foi capaz de identificar

UFRJ

a indução de TRAIL em células Natural Killer (NK) após a infecção pelo vírus Dengue (DENV). As células NK possuem diferentes receptores que podem atuar estimulando ou inibindo a citotoxicidade. Receptores como NKG2A inibe a citotoxicidade, já receptores NKG2D ativam ou estimulam a ação das células NK. O Laboratório de Biomarcadores e Monitoração do Centro de Pesquisas René Rachou, coordenado pelo renomado pesquisador imunologista Dr Olindo Assis de Martins, possui ampla experiência em identificar biomarcadores relevantes para o diagnóstico e prognóstico de doenças crônicas e degenerativas a partir de técnicas de imunoensaios como ELISA, ensaios multiplex (Luminex) para identificação de mediadores inflamatórios como citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento. As integrinas também possuem um papel relevante na sinalização, interconectando o meio extracelular e intracelular por meio da ligação com proteínas da matriz extracelular e do citoesqueleto.

A interação entre o meio ambiente e a genética tem recebido muita atenção devido aos avanços na Biologia Molecular. A alteração de sistemas biológicos devido aos estímulos externos afeta a fisiologia, sinalização celular e a homeostasia, assim como, a genética. Um exemplo dessa interação entre o ambiente e a genética é a mutação no gene NAT-2 que pode levar ao câncer de bexiga em fumantes. Cabe ressaltar que não é apenas uma alteração gênica que é capaz de causar o câncer na bexiga, é o somatório entre a mutação no gene NAT-2 e o comportamento de fumar cigarro que possui diferentes produtos tóxicos. Agentes poluentes, contaminação por toxinas e outros fatores externos podem

UFRJ

Favor não escrever no verso

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 23

levar a modificações genéticas, como "assinaturas" químicas no material genético. Essas modificações são chamadas de epigenéticas, alterações reversíveis e hereditárias que alteram a estrutura química do DNA. A metilação do DNA é realizada por metilases (adicionam grupo metil - CH_3) e geralmente inibem a expressão gênica. As modificações de histonas mais estudadas são a acetilação, fosforilação e ubiquitinação. Enquanto a metilação impede a expressão gênica, a acetilação relaxa a estrutura dos nucleossomos, a partir da adição de grupo acetil ($H_3C(O)$).

Receptores Toll-like (TLRs) são receptores encontrados em células do sistema imunológico e atuam semelhante aos padrões de reconhecimento dos macrófagos e células dendríticas, reconhecendo padrões moleculares de antígenos. Em humanos, há 10 TLRs identificados, sendo o TLR-2 e TLR-4 os mais estudados. Se uma mutação no receptor TLR resultar na inativação do receptor, por exemplo devido à metilação, o indivíduo provavelmente terá problemas relacionados ao sistema imune, no reconhecimento de antígenos. Mutações nos receptores Toll-like estão relacionados a doenças autoimune como o lúpus eritematoso sistêmico e a artrite reumatóide. O Laboratório de Imunologia Viral da FIOCRUZ possui experiência na ativação e inibição de diferentes vias relacionadas aos TLRs, estudando a importância de cada via de sinalização e o efeito desse estímulo para o controle de infecções virais in vitro, utilizando cultura de células e inibidores de TLR. A técnica de citometria de fluxo é importante nesse contexto para analisar fenotipicamente e funcionalmente o papel das células do sistema imunológico via marcação de superfície e

Favor não escrever no verso

marcações intracelulas. O Laboratório de Radioisótopos Eduardo Penna França do Programa Temático de Biofísica ambiental do IBCCF da UFRJ possui experiência na interação ambiente-genética de diferentes organismos, laboratório coordenado pelo professor emérito Olaf Malm, a partir de técnicas de cromatografia líquida de alta e ultra eficiência e cromatografia gasosa acoplada a diferentes mecanismos para o estudo de contaminações ambientais e humanas, além de toxinas que alteram os sistemas biológicos resultando em modificações genéticas.

Portanto, é possível perceber que há integração dos sistemas biológicos que trabalham de maneira coordenada para garantir o equilíbrio dinâmico e que funções biológicas atuem corretamente. As respostas aos estímulos externos alteram a homeostase, induzem adaptações nessas de sinalização celular e modificações epigenéticas para regular e controlar as diversas funções fisiológicas e atividades biológicas.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho
Concurso para Professor Adjunto
MC-015 – Integração de Sistemas Biológicos
Edital nº 377 de 25 de maio de 2022, publicado no DOU nº 102 de 31 de maio de 2022 - consolidado com as alterações dos Editais nº 402 de 31 de maio de 2022 e nº 435 de 31 de maio de 2022

Bacharelado em Ciências Biológicas-Biofísica ICB/CCS UFRJ

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 24

No. fl. 01

TEMA 04: COMUNICAÇÃO INTERCELULAR

TÓPICO : SINAPSE QUÍMICA - FORMA DE COMUNICAÇÃO ENTRE NEURÔNIOS

A principal forma de comunicação entre neurônios ocorre em locais especializados de contato, chamados sinapses. Existem dois meios de comunicação entre os neurônios : i) elétrica e ii) química - a forma mais comum.

A sinapse é dita "química" pois envolve a liberação de moléculas (químicas), chamadas "neurotransmissores" (NT). Essas moléculas serão liberadas do neurônio e irão agir sob moléculas receptoras específicas na célula alvo (neurônio ou órgão - efetor).

A estrutura da sinapse envolve um neurônio "pré - sináptico" e um neurônio "pós - sináptico" (que também pode ser uma célula muscular, por exemplo). Essas duas células estão separadas

por um espaço virtual, chamado fenda sináptica – diferente da sinapse elétrica na qual as células se comunicam através das junções comunicantes (tipo "gap") onde as células estão unidas umas às outras.

A célula pré-sináptica possui a maquinaria necessária para a síntese, armazenamento (e liberação) das moléculas neurotransmissoras. Para que a informação seja passada adiante, uma série de mecanismos precisam acontecer. O impulso nervoso (isto é, o potencial de ação) chegará no terminal axonal. Ali, em decorrência da despolarização, canais de cálcio (Ca^{++}) dependentes de voltagem irão se abrir, permitindo influxo de Ca^{++} na célula. O Ca^{++} irá interagir c/ proteínas nas membranas das vesículas sinápticas, permitindo que o NT seja liberado na fenda sináptica. Por exemplo, as proteínas do complexo SNARE fazem c/ que a vesícula se aproxime da membrana plasmática em lugares específicos; o Ca^{++} muda a configuração dessas proteínas, e a proteína sinaptotagmina garante a fusão das membranas (vesicular e plasmática), fazendo c/ que o NT armazenado seja liberado.

Os NT classificados como "Transmissores de molécu-

das pequenas" são sintetizados no próprio terminal axonal e armazenados nas vesículas. Outros NT são classificados como "neuropeptídeos": são sintetizados no corpo neuronal, armazenados em grânulos secretores, e transportados até o terminal axonal.

Quando liberados, os NT irão se ligar à receptores presentes na membrana pós-sináptica, no qual promoverá alterações na permeabilidade da membrana (e consequentemente, aumentará - ou diminuirá - a probabilidade de o estímulo ser transmitido). Os receptores podem ser do tipo ionotrópico, no qual a própria molécula receptora é o canal iônico; ou podem ser do tipo metabotrópico, onde o receptor está acoplado à proteína G, e a ligação do NT ao receptor pode levar a ativação da ptn G com consequente alterações enzimática e formação de segundos mensageiros que abrirão canais iônicos. O fluxo de íons através dos canais podem levar a uma despolarização da membrana pós-sináptica (culminando em um potencial excitatório pós-sináptico - PEPS) ou a uma hiperpolarização (culminando em um potencial inibitório pós-sináptico - PIPS). Uma outra categoria de receptores inclui os "autoreceptores" que estão presentes na membrana pré-sináptica. A

ativação desses receptores é capaz de modular a ativação do próprio neurônio pré-sináptico, controlando, por exemplo, a quantidade de NT liberada.

Uma vez que o NT atua sobre o receptor, ele precisa ser removido da fenda para que sua ação seja interrompida. O NT pode difundir-se para longe da sinapse, sofrer degradação enzimática, ou ser recaptado pelo próprio terminal ou por astrócitos (a presença dos astrócitos junto aos elementos sinápticos configura a chamada "sinapse Tripartite").

Alguns exemplos de sistemas de comunicação:

① neurônios colinérgicos = usam o neurotransmissor acetilcolina (Ach). Ela é sintetizada a partir da acetilcoenzima A com colina, sob ação da enzima acetiltransferase. Os receptores nicotínicos (ionotrópicos) estão presentes nas junções neuromusculares e na membrana dos neurônios pós-ganglionares do sistema nervoso visceral; os receptores muscarínicos (metabotrópicos) estão presentes nas membranas dos órgãos-alvo para ação do sistema nervoso parassimpático. Após a ação nos receptores, a ACh sofre ação da enzima acetilcolinesterase. A colina é transportada de volta ao terminal sináptico.

UFRJ - CCS - INSTITUTO DE BIOFÍSICA CARLOS CHAGAS FILHO

② neurônios glutamatérgicos: usam o glutamato (Glu) como neurotransmissor. Através da ação da glutaminase, a glutamina é convertida em Glu, o principal NT excitatório do sistema nervoso central. Quando liberado na fenda sináptica, o Glu age nos receptores ionotrópicos (AMPA, NMDA e cainato) e em receptores metabotrópicos (mGluR). Sua ação é interrompida pois o Glu é recaptado pl dentro dos astrócitos, que sob ação da enzima glutamina sintetase, é convertido em glutamina. A glutamina é liberada e captada pelos neurônios (pré-sinápticos), dando início a nolo ciclo.

③ sistema endocanabinóide: em circunstâncias de intensa atividade celular, canabinóides endógenos são produzidos a partir da anandamida, por exemplo. Os canabinóides podem agir em receptores presentes na membrana pré-sináptica, CB1, que por atividade hiperpolarizante, diminuem a liberação de NT pela própria célula, controlando a atividade sináptica.

UFRJ

TEMA 07: EQUILÍBRIO DINÂMICO, HOMEOSTASIA

TÓPICO: O SISTEMA NERVOSO VISCERAL E SEU PAPEL NA HOMEOSTASIA

Para manutenção das atividades dos sistemas biológicos, ajustes são necessários para que as condições sejam mantidas dentro de limites fisiológicos. Essa manutenção é chamada homeostasia, garantindo funcionamento adequado do corpo. Canon, em 1929, já sinalizava a importância desse controle fino, para que não houvesse grandes flutuações nos parâmetros fisiológicos, como temperatura, pressão, e osmolaridade. É um agente importante para controle é o sistema nervoso visceral (SNV).

O SNV, junto como sistema nervoso somático (SNS), compreende a divisão eferente (motora) do sistema nervoso. No entanto, ambos apresentam diferenças morfofuncionais: i) o SNV tem ação ampla, difusa e mais distribuída, enquanto que o SNS tem ação mais específica; ii) o SNV funciona através de um balanço entre atividade excitatória e inibitória, enquanto que o SNS tem ação principal excitatória; iii) a estrutura do SNS é altamente especializa-

Favor não escrever no verso

da (junções neuromusculares), enquanto que no SNV as terminações axonais formam varicosidades e são pouco especializadas.

O SNV compreende duas divisões funcionais: o SN simpático e o SN parassimpático. A divisão simpática está envolvida em respostas principalmente de "luta/fuga". Os neurônios pré-ganglionares estão localizados na medula espinal tóraco-lombar e usam Ach como NT. Os neurônios pós-ganglionares estão localizados nos gânglios simpáticos, adjacentes à medula espinal. Na superfície apresentam receptores nicotínicos, e usam como NT noradrenalina. Os receptores adrenérgicos (α e β) estão presentes na superfície da célula do órgão-alvo. Por essas características, os neurônios pré-ganglionares são curtos e os pós-ganglionares são longos.

A divisão parassimpática está envolvida com as respostas de "repouso/recuperação". Os neurônios pré-ganglionares estão localizados no tronco encefálico e medula espinal cervical e sacral, e usam Ach como NT. Os neurônios pós-ganglionares estão localizados próximos ao (ou no próprio) órgão-alvo. Na superfície, apresentam receptores nicotínicos, e usam

como NT a Ach. Os receptores colinérgicos (muscarínicos) estão presentes na membrana da célula do órgão-alvo. Essas características conferem os neurônios com axônio pré-ganglionar longo e axônio pós-ganglionar curto.

Uma terceira divisão do SNV inclui o sistema nervoso entérico. Esses neurônios estão presentes ao longo do trato gastrointestinal (TGI) e arranjados em: i) plexo miocentérico, envolvido no controle da camada muscular, e ii) plexo submucoso, envolvido no controle químico e glandular do TGI. Esses neurônios não funcionam de forma autônoma, independente – estão em alça condenada dos sistemas simpático e parassimpático.

De modo geral, o SNV atua em conjunto com os sistemas endócrino e de controle de comportamentos, fornecendo informações necessárias para ajustes reflexos locais e de contextos mais complexos (por exemplo, contextos ameaçadores).

As informações aferentes dos receptores sensoriais viscerais são transmitidas para núcleos da formação reticular e do hipotálamo. O corpo neuronal dos receptores está localizado nos gânglios dorsais, e o axônio termina no corno lateral e no corno

Favor não escrever no verso

dorsal da medula espinal, onde estão presentes os segundos neurônios que constituem a via (sistema) ântero-lateral. Esses neurônios alcançam o núcleo do trato solitário, que se comunicam com os núcleos motor dorsal do vago, ambíguo e parabraquial. A informação é, então, retransmitida p/ centros autonômicos integradores e "pré-motores", incluindo hipotálamo, amígdala, ínsula e córtex pré-frontal medial (mPFC).

Desta forma, o SNV participa do controle de diversas funções corporais, como controle na pressão arterial e controle da micção.

Mudanças na pressão arterial (PA) são detectadas pelos barorreceptores, presentes principalmente nos grandes vasos e coração. Um aumento da PA é detectado pelo barorreceptor, aumentando a taxa de disparo que chega no núcleo do trato solitário. Essa estimulação inibe a ação adrenérgica simpática, diminuindo a força de contração cardíaca. Em paralelo, há ativação da ação colinérgica parassimpática, diminuindo a frequência cardíaca (FC). Juntas, os efeitos resultarão em diminuição da PA. Por outro lado, quando a PA cai, diminui a taxa de disparo do barorreceptor. Desta maneira

ura, há uma estimulação do SN simpático e inibição do controle parassimpático. O aumento da força de contração d aumento da FC resultarão em aumento da PA. A atuação das divisões simpática e parassimpática no coração exemplificam a ação antagônica desse sistema.

Por outro lado, a ação dos sistemas pode ser sinérgica, como no controle da micção. A bexiga é composta por um músculo (m. detrusor) que está sob comando do sistema parassimpático. Para exercer sua função de armazenamento de urina, o m. está relaxado (e o SN parassimpático, inibido). Receptores de estiramento estão presentes na parede da bexiga. Em baixos volumes, pouca atividade é detectada, e o m. esfíncter interno permanece contraído (sob ação do sistema simpático). Quando os receptores aumentam sua atividade (i.e., quando a bexiga está cheia), a informação chega na medula espinal e ativa o sist. parassimpático e inibe o sistema simpático. Assim, o m. detrusor contrai e o esfíncter interno relaxa, permitindo que a urina saia. No entanto, como o m. esfíncter externo está sob controle voluntário somático, a inibição (e relaxamento deste) só irão ocorrer quando o indivíduo

estiver nas condições adequadas para urinar.

Vale ressaltar que nem todos os órgãos estão sob dupla ação (simp. e parassimp). Por exemplo, as glândulas sudoríparas e os vasos sanguíneos estão sob controle único do sistema simpático.

TEMA 12: GENES, AMBIENTE E RESPOSTAS BIOLÓGICAS

TÓPICO: MEDO CONDICIONADO E MODIFICAÇÕES PELO AMBIENTE

A sobrevivência do organismo está associada à detecção de pistas ambientais e a condenação de respostas adequadas. Detectar pistas ameaçadoras é fundamental: estas irão promover o engajamento do sistema defensivo e levarão aos comportamentos defensivos, de esquiva e as emoções de medo e ansiedade podem ser observadas.

As respostas de medo podem ser inatas (i.e., não dependem da experiência vivida pelo indivíduo) ou aprendidas (dependentes das experiências prévias vividas pelo indivíduo). Uma vez aprendidas, essas memórias devem ser armazenadas para serem duradouras, pois garante que organismo irá responder de forma rápida e adequada sem

que a ameaça for detectada.

Em laboratório, uma das maneiras de se estudar as respostas de medo é através do paradigma de condicionamento de medo Pavloviano. Neste paradigma um estímulo inicialmente neutro é apresentado repetidas vezes d um estímulo aversivo, capaz de deflagrar uma resposta de medo condicionada. Após o pareamento, a apresentação do estímulo que era neutro (estímulo condicionado) sem mais o estímulo aversivo (estímulo incondicionado) é capaz de deflagrar a resposta de medo condicionada.

Estudos em roedores mostraram que a amígdala é uma região chave para o armazenamento da memória emocional e p/ a resposta condicionada. A amígdala é uma região composta de diversos núcleos morfofuncionalmente distintos, incluindo os núcleos lateral, central, basomedial e basolateral. O núcleo lateral recebe as informações sensoriais, e integra as aferências. O núcleo central constitui a principal via de saída da amígdala.

Trabalhos utilizando ressonância magnética funcional mostram que outras regiões também participam da memória (consolidação e evocação) condicio

da. Em uma metanálise (FULLANA et al., 2016) foi observado que ínsula, córtex somatossensorial secundário (S2), córtex parietal posterior, córtex cingulado anterior dorsal (dACC) e estriado ventral estão envolvidos.

No entanto, detectar pistas de segurança são fundamentalmente importantes. Sinais que predizem ausência ou término do perigo promovem engajamento do sistema apetitivo e emoções positivas podem ser esperadas.

Seguindo os paradigmas de condicionamento, o indivíduo pode aprender que um estímulo passa a ser seguro. Os paradigmas envolvem a discriminação condicionada, inibição condicional e extinção do medo. Neste último, o estímulo condicionado é apresentado repetidas vezes sem mais a apresentação do estímulo aversivo. Nessa nova configuração, o estímulo (CS-) passa a predizer ausência de perigo.

Em uma série de trabalhos do grupo do pesquisador Brian Dias, os autores mostraram que a experiência vivida pelos pais (roedores) antes mesmo do nascimento da sua prole, levava a alterações epigenéticas, com consequente mudanças estruturais e funcionais no SN central, tanto dos pais (F0), quanto dos filhos (F1) e netos

(F2). De modo interessante, a extinção da resposta condicionada promoveu reversão dessas alterações epigenéticas e morfofuncionais nos filhotes (F1).

A persistência das respostas de medo, mesmo em ambientes seguros, é característica cardinal em transtornos mentais, incluindo o Transtorno de Estresse Pós-Traumático (TEPT). O TEPT pode acontecer (i.e., se desenvolver) em indivíduos que passaram por um evento traumático envolvendo agressão grave, violência sexual ou ameaça de morte. Além dos sintomas clínicos, definidos pelo Manual de Diagnósticos de Transtornos Mentais (DSM), os pacientes apresentam alterações psicofisiológicas, que podem ter efeito nocivo. Por exemplo, a baixa variabilidade da FC é associada à inadequada resposta imunológica, inflamação e doenças cardiovasculares. Além disso, a falha de engajamento em pistas de segurança é apontada como um biomarcador desse transtorno (JOVANOVIC et al., 2009; 2010).

O histórico familiar de TEPT tem sido associado a maior vulnerabilidade ao desenvolvimento do transtorno ao longo da vida. Em um recente estudo, em humanos (STENSON et al., 2021) mostrou que filhos de mães c/ história de trauma e sinto

mas de TEPT apresentavam alterações nas respostas de medo. Essas crianças apresentavam potencialização do reflexo de sobressalto em um contexto aversivo e também no contexto seguro, mostrando já a incapacidade de engajar nessas pistas de segurança.

A falha de engajamento em pistas de segurança em indivíduos adultos com TEPT também foi demonstrada em paradigmas sem condicionamento. Uma das minhas linhas de pesquisa envolveu o estudo desta população quando confrontados d um contexto seguro, mais naturalística, sem a necessidade de aprendizado anterior (aversivo). Demonstramos, através de ressonância magnética funcional, que diferente de indivíduos saudáveis, os pacientes d TEPT continuam a recrutar áreas cerebrais que processam estímulos aversivos, e não atenuam a atividade dessas regiões mesmo em um contexto seguro.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho
Concurso para Professor Adjunto
MC-015 – Integração de Sistemas Biológicos
Edital nº 377 de 25 de maio de 2022, publicado no DOU nº 102 de 31 de maio de 2022 - consolidado com as alterações dos Editais nº 402 de 31 de maio de 2022 e nº 435 de 31 de maio de 2022

Nº DE INSCRIÇÃO INTERNA: 26

No. fl. 1

Favor não escrever no verso

Comunicação intercelular

As células do organismo atuam sempre de maneira coordenada. Para isso, elas empregam mecanismos de sinalização de curto ou longo alcance, que podem atuar em receptores celulares, provocando diversas reações na célula-alvo. Um exemplo de comunicação intercelular fundamental ocorre entre neurônios e células da glia (gliócitos).

Os neurônios e os gliócitos formam verdadeiras redes celulares, em circuitos complexos que sustentam o funcionamento do cérebro. Os astrócitos participam ativamente das sinapses neuronais através de dois mecanismos centrais: 1) Eles removem o excesso de glutamato, prevenindo a toxicidade desse composto quando acumulado na fenda sináptica; 2) Através de correntes internas de Ca^{++}, os astrócitos também podem liberar moléculas que participam ativamente da sinapse. As moléculas mais conhecidas são o glutamato e aspartato, sendo outras menos conhecidas, e ainda assim importante, a D-serina.

A D-serina produzida pelos astrócitos atua como co-agonista no sítio da glicina, nos receptores NMDA. Trabalhos prévios do nosso grupo demonstraram que a administração de D-serina é capaz de promover uma melhora na memória e no aprendizado de camundongos

UFRJ

Além da comunicação entre astrócitos e neurônios, a comunicação entre os neurônios também pode ser bastante complexa. Os neurônios se comunicam através de sinapses, na qual um estímulo elétrico pode ser convertido em um estímulo químico e novamente em um sinal elétrico no neurônio-alvo. No caso das sinapses químicas, a despolarização da membrana neuronal na zona de disparo (através da abertura de canais de Na^+), leva à formação de um potencial de ação. Esse potencial de ação irá se propagar através da membrana do axônio até o terminal sináptico. A direção do potencial de ação ocorre rumo ao terminal, uma vez que no núcleo o potencial despolarizante precisa ser maior e, uma vez iniciado no axônio, ele segue uma direção única devido à hiperpolarização (e inativação) dos canais de Na^+ anteriores.

Quando o potencial de ação chega ao terminal sináptico, ele provoca a abertura de canais de Ca^{++} dependentes de voltagem. Essa alteração, por sua vez, leva a uma liberação de vesículas contendo neurotransmissores e neuromoduladores na fenda sináptica. A fenda sináptica é o espaço entre o neurônio pré-sináptico e pós-sináptico. As moléculas sinalizadoras lançadas na fenda pelo neurônio pré-sináptico podem agir em receptores específicos no neurônio pós-sináptico, ou no próprio neurônio pré-sináptico, como mecanismo de autoregulação. Essa sinalização também pode ser retrógrada, ou seja, o neurônio pós-sináptico pode liberar neuromoduladores como gases (ex. CO, NO) ou lipídios (ex. endocanabinóides como a anandamida) que irão atuar no neurônio pré-sináptico, difundindo-se livremente através da membrana.

UFRJ - INSTITUTO DE BIOFÍSICA CARLOS CHAGAS FILHO

Toda essa atividade das células neurais exige uma enorme quantidade de energia. Estima-se que o cérebro consuma cerca de 20% da energia do organismo, ainda que represente somente cerca de 2% do peso corporal. A maior parte da energia consumida é utilizada na bomba de sódio e potássio (aproximadamente 25-35%) e na sinalização celular. No entanto, o estoque de energia no cérebro é mínimo, e portanto é necessário que haja um mecanismo eficiente de aporte energético. Esse mecanismo é o acoplamento neurovascular.

A vascularização cerebral é bastante ramificada, sendo cerca de 85% da rede composta por capilares. Para se ter uma ideia da eficiência da vascularização, estima-se que todos os neurônios e todos os gliócitos estejam a uma distância aproximada de 15 micrômetros dos capilares, não estando portanto nenhuma célula desassistida pelo aporte sanguíneo. O acoplamento vascular, nesse sentido, se deve à comunicação da necessidade energética pelos neurônios e pelos astrócitos, que vai levar a um aumento do fluxo sanguíneo através da rede de capilares.

A unidade neurovascular, composta por neurônios, astrócitos, células endoteliais dos capilares e pericitos (células contráteis presentes nas paredes dos capilares) é portanto um outro excelente exemplo de comunicação intercelular. Quando ocorre um aumento da necessidade energética, os astrócitos liberam CO e ácido araquidônico que vão atuar nos capilares, assim como a estimulação dos pericitos. Ambos os fenômenos, junto a outros ainda pouco

Favor não escrever no verso

compreendidos, irão alterar o fluxo sanguíneo local, causando um aumento no aporte de glicose e oxigênio.

O metabolismo neural ainda é fonte de controvérsias, mas hoje acredita-se que a maior parte do metabolismo da glicose ocorre nos astrócitos através de glicólise aeróbica. A glicose é convertida em lactato e transportada até os neurônios, onde será convertida em piruvato e este entrará na fosforilação oxidativa. Proposta pela primeira vez há muitos anos, hoje a hipótese do lactato como principal fonte energética nos neurônios é bem aceita, ainda que os neurônios também possam utilizar a glicose, uma vez que possuem receptores específicos para ela e até de maior afinidade (GLUT-3).

Apesar das controvérsias em relação ao metabolismo de neurônios e astrócitos, o que se sabe com toda certeza é que o aumento de fluxo sanguíneo causa um aumento na disponibilidade de O_2, e que essa aumento de disponibilidade é muito maior do que o aumento na utilização de fato desse O_2. Esse fato é importante, sendo justamente a base para o sinal BOLD (blood oxygen level dependent), sinal utilizado na ressonância magnética funcional (RMf).

O sinal BOLD é baseado na quantidade de oxigenação cerebral utilizando uma medida física baseada nas propriedades magnéticas da hemoglobina. A hemoglobina oxigenada (oxi-hemoglobina) é diamagnética, enquanto a desoxihemoglobina é paramagnética, ou seja, "rouba" o sinal da RMf. Portanto, a RMf, através do

sinal BOLD, é uma medida indireta da atividade neural, que busca estimar quantidade de oxigênio local e relacionar com o aumento de atividade neural local. A RMf possui uma excelente resolução anatômica, sendo possível estimar (em mm) de onde está vindo o sinal, técnica muito útil para estimar atividade em regiões subcorticais, que outras técnicas (como o EEG) não permitem. A resolução temporal do sinal BOLD, no entanto, é ruim, sendo uma resposta lenta de cerca de alguns segundos (o pico do sinal ocorre 6 segundos após o início de um estímulo).

Em relação à função neuronal associada ao sinal BOLD, estima-se que ele esteja mais associado aos "local field potentials" do que ao disparo neuronal. Também não é possível garantir que todo o sinal BOLD seja relacionado somente à ativação excitatória neural, ou se sinapses inibitórias também contribuam igualmente para o aumento do sinal BOLD. Portanto, a área de "ativação" e "desativação" de regiões cerebrais ainda é controversa no campo da neuroimagem e necessita de melhorias na técnica.

Tenho utilizado a técnica de RMf em estudos sobre motivação, emoção, e sobre o estado de repouso cerebral nos últimos dez anos. Uma área promissora para a compreensão do funcionamento cerebral "basal" e quais as redes neurais integradas nas mais diversas funções cognitivas (ou na ausência delas), é a área de estudo da Rede Neural de Modo Padrão ("Default Mode Network").

A "Default Mode Network" tem sido implicada na mais vari-

Favor não escrever no verso

ada gama de doenças cerebrais, de psicopatologias até problemas metabólicos, e o seu estudo só é possível devido à intrincada rede de comunicação intercelular entre neurônios, gliócitos, células endoteliais e toda a unidade neurovascular que dá origem ao sinal BOLD. Muitos avanços na técnica estão acontecendo [redacted] para melhorar o nosso conhecimento sobre as redes de comunicação cerebrais em humanos e em outros animais in vivo. Nesse sentido, além da pesquisa, temos realizado cursos e oficinas abertas ao público sobre RMf.

Equilíbrio dinâmico, homeostasia

A homeostasia se refere a uma série de ajustes, frequentes e constantes, de forma a manter um equilíbrio dinâmico no organismo, em [redacted] pontos de ajuste necessários à sobrevivência. Esse equilíbrio ocorre através da integração de sinais periféricos do organismo até o hipotálamo no sistema nervoso central.

O hipotálamo é o regulador da homeostasia, possuindo diversas fibras aferentes (que chegam até ele) e eferentes (que saem do hipotálamo rumo a alvos regulatórios). Um dos sinais periféricos do organismo chega através do sangue ao hipotálamo. Para isso, a existência dos órgãos circunventriculares é fundamental. Geralmente, os vasos sanguíneos do sistema nervoso central são envoltos por uma barreira hematoencefálica, composta por junções oclusivas entre as células do endotélio. Isso torna a barreira bastante seletiva. No entanto, nas pequenas localizações dos órgãos circunventriculares,

esses capilares são fenestrados, permitindo uma maior troca de substâncias entre o sangue e o sistema nervoso. Nem todas essas estruturas se localizam no hipotálamo, mas a sua existência próxima à região hipotalâmica permite que essas trocas sanguíneas ocorram de forma facilitada através das fenestrações.

O hipotálamo irá, portanto, integrar e interpretar os sinais periféricos de modo que promova a regulação das funções corporais. Os mecanismos homeostáticos podem envolver controle da temperatura, controle hídrico (sede) e controle da ingesta alimentar (fome e saciedade).

Como exemplo desse mecanismo em prática, podemos utilizar o mecanismo mais simples dentre os três citados anteriormente: a regulação da temperatura corporal. Uma analogia utilizada é que o controle da temperatura ocorreria através de um servomecanismo, que possui um ponto ótimo (em torno de 37°) e estratégias para chegar a esse ponto de ajuste. No caso da temperatura, o hipotálamo anterior é sensível à temperaturas mais quentes, enquanto o hipotálamo posterior é mais sensível a alterações relacionadas ao frio.

Os sinais periféricos do controle térmico podem vir do sangue, e também das mucosas respiratórias e digestivas. Esses sinais chegam ao hipotálamo e este envia sinais regulatórios através de suas fibras descendentes, passando pela medula. A regulação irá ocorrer através do sistema nervoso autônomo. No caso de

reações ao calor, o sistema nervoso autônomo irá provocar aumento da frequência respiratória (taquipneia), vasodilatação e sudorese. No caso de uma resposta ao frio, o sistema nervoso autônomo irá provocar um aumento do metabolismo da tireóide e lipídico, vasoconstricção e tremores musculares, tudo de forma a gerar calor.

Um exemplo mais complexo de regulação homeostática, é a regulação da fome e saciedade. Nesse caso, não parece haver um servomecanismo óbvio, uma vez que o ponto de ajuste é variado entre as pessoas, e até mesmo em uma mesma pessoa ao longo do tempo. O envolvimento da regulação alimentar com o circuito circadiano também está se mostrando bastante complexo, assim como as influências dos hábitos alimentares nessa regulação. Apesar de mais complexa, a regulação homeostática da fome também envolve sinais periféricos e sinais centrais.

Os sinais periféricos relacionados à fome geralmente envolvem algum controle do estoque de energia do organismo. Um primeiro sinal, nesse sentido, poderia ser o nível de glicose circulante (hipótese glicostática) e também a quantidade de gordura do organismo (hipótese lipostática). De fato, muitos sinalizadores periféricos foram descobertos, e envolvem uma extensa rede de órgãos e sistemas.

Assim que o alimento chega na boca, ocorre uma estimulação da fome. Sinais periféricos também chegam ao hipotálamo partindo do nível de distenção da parede estomacal, assim como de

Favor não escrever no verso

substâncias secretadas pelo sistema gastrointestinal, como a grelina (orexígeno, causa fome) e o CCK (colecistocinina, anorexígeno, estimula saciedade). A insulina e a serotonina serão estímulos [redacted] de saciedade, assim como a leptina, que é produzida pelo tecido adiposo. Finalmente, também serão produzidos peptídeos hipotalâmicos para participar dessa sinalização, como o neuropeptídeo Y [redacted], que é [redacted] orexígeno.

A complexidade desse circuito homeostático de fome e saciedade não está apenas nos diferentes níveis de ajuste, ou nos múltiplos órgãos envolvidos nessa regulação (pâncreas, estômago, intestino, cavidade oral e tecido adiposo são alguns). Além dessa ampla rede reguladora, [redacted] tem sido demostrado que pistas ambientais de comida (visuais ou olfativas) são capazes de contornar essa regulação homeostática [redacted] interna, causando a sensação de fome mesmo em condições que seriam de saciedade. Além disso, longos períodos de jejum ou episódios de [redacted] comer compulsivo, podem desregular drasticamente essa regulação entre hormônios de fome e saciedade.

Em resposta à complexidade do comportamento alimentar, alguns estudos tem separado esse sistema motivacional entre os conceitos de "fome homeostática" e "fome hedônica". A ideia da fome hedônica vem de estudos mostrando respostas neurais a pistas visuais de comida em indivíduos que deveriam estar em condição de saciedade. É uma proposta que parte não da disponibilidade energética do organismo, [redacted] sim das propriedades recompensadoras

Favor não escrever no verso

do alimento.

Sabemos que o sistema homeostático hipotalâmico é integrado ao sistema dopaminérgico via feixe prosencefálico basal e outras conexões estudadas atualmente através de tractografia por tensor de difusão (DTI). Essa integração entre sistema homeostático e motivacional é relevante para todos os comportamentos citados anteriormente. Por exemplo, a regulação de temperatura não envolve somente o sistema autônomo. Também é necessário buscar abrigo, agasalho, ligar ou diminuir o ar-condicionado, etc. No caso da alimentação, um estado homeostático de fome envolve a busca por alimentos e o aumento da saliência visual de pistas alimentares ambientais. A sensação de prazer ao vestir um casaco ou comer algo, portanto, é necessária para que os comportamentos motivados ocorram.

Porém, a proposta inicial da "fome hedônica" é que podem existir mecanismos regulatórios dopaminérgicos, guiados por pistas de recompensa alimentar, que funcionariam de maneira independente dos mecanismos homeostáticos. A fome hedônica, segundo alguns estudos, seria a resposta para compreender excessos alimentares relacionados à compulsão alimentar e à obesidade.

Essa hipótese da recompensa alimentar sobrepondo sinais homeostáticos ganhou muito destaque com trabalhos de neuroimagem funcional mostrando maior ativação do estriado ventral e do núcleo accumbens em obesos com compulsão alimentar, quando comparados com indivíduos de peso normal e sem compulsão.

Favor não escrever no verso

A hipótese dos excessos alimentares guiados por uma percepção de recompensa aumentada via sinalização do estriado ventral foi hegemônica na neurociência e na neuroimagem até recentemente, quando alguns estudos começaram a questionar a robustez e a reprodutibilidade dos achados da área. Revisões e meta-análises de estudos de neuroimagem funcional em obesos demonstram uma alta variabilidade das regiões cerebrais encontradas, com baixa consistência tanto nos resultados quanto nos métodos. Alguns estudos recentes também tem apontado para uma possível existência de uma "high-road" e uma "low-road" da recompensa alimentar. A via superior seria estimulada por propriedades palatáveis, enquanto a via inferior seria estimulada por nutrientes e microbiota presentes no trato gastrointestinal. Portanto, tem ocorrido recentemente uma busca de integração entre homeostasia e recompensa.

Um trabalho atual do nosso grupo busca utilizar neuroimagem funcional para investigar a relação entre o sistema de recompensa na compulsão alimentar, em condições de saciedade homeostática. Todos os participantes realizaram um café da manhã antes do experimento de ressonância magnética funcional (RMf), no próprio laboratório. Todos indicaram saciedade e ambos os grupos possuíam o mesmo índice de massa corporal, diferindo somente, portanto, no diagnóstico de compulsão alimentar. Nesse estudo, demonstramos que justamente a região hipotalâmica estava mais ativada em indivíduos com compulsão alimentar comparados aos controles,

com ambos os grupos em condição de saciedade. Nossos resultados apontam para uma integração entre os sistemas dopaminérgicos e regulatórios na regulação da saliência da recompensa alimentar.

Novas perguntas surgem frente a esses achados: as diferenças neurais ocorrem somente após a compulsão alimentar estar instalada? Haveria alguma predisposição neural, hormonal e/ou genética para o surgimento desses problemas alimentares? Para responder a essas perguntas, é necessário utilizar desenhos de estudo longitudinais, capazes de estabelecer direcionalidade entre os efeitos biológicos e comportamentais. É nisso que tenho trabalhado agora, na coorte brasileira de alto risco para transtornos mentais. A coorte é uma iniciativa do INPD (Instituto Nacional de psiquiatria do desenvolvimento) e acompanha 2.500 crianças (6-12 anos) há 10 anos (atualmente com 16-22 anos). Estou analisando dados de neuroimagem, genética e eventos estressores ambientais para compreender o início e a manutenção dos transtornos alimentares.

Uma vez que a área de comportamento alimentar afeta diretamente os adolescentes (estima-se que problemas alimentares não diagnosticados, conceitualizados como "comer transtornado", afetem 30% - aproximadamente - dos jovens), promovemos um projeto de extensão na UFRGS, para lidar com questões de saúde mental e dados científicos em escolas públicas de Porto Alegre. O projeto Nono Sapiens busca discutir questões

UFRJ

de saúde mental, algumas associadas à alimentação, com dados da coorte de alto risco, envolvendo trajetórias de desenvolvimento em saúde mental através de análise de dados com os estudantes.

Genes, ambiente e respostas biológicas

As proteínas são as grandes efetoras do organismo, compondo membranas, sendo sinalizadoras, neurotransmissores, receptores e enzimas capazes de catalizar reações. As proteínas são codificadas por sequências de bases no DNA (3 bases formam um aminoácido e aminoácidos formam proteínas). Portanto, sabendo a sequência do DNA, é possível saber o RNA, o aminoácio e qual a proteína. Através da informação, do formato, da proteína, é possível ter uma ideia da sua função.

O dogma central foi, por muito tempo, que o fluxo de informação ocorre do DNA para a proteína. No entanto, o DNA não decide o que será transcrito em proteínas, essa informação está em outro lugar e é regulada por fatores externos a ele. A surpresa de que 95% do DNA é não codificante foi seguida da informação de que é justamente nessas regiões não-codificantes em que se encontra o controle da transcrição. São regiões promotoras ou inibidoras da transcrição gênica. E nessas sequências reguladoras vão atuar fatores de transcrição. Os fatores de transcrição também são proteínas, e é através deles que o ambiente poderá modificar várias respostas biológicas.

Favor não escrever no verso

Para se ter uma ideia da importância dos fatores de transcrição, a maior parte das mutações ocorridas no nosso DNA, e que estão nos 2% que nos diferencia dos chimpanzés, ocorreram justamente em genes que codificam para fatores de transcrição. Esses fatores podem se ligar em diferentes sequências de promotores, ativando verdadeiras redes genéticas associadas com funções e comportamentos complexos.

Como dito anteriormente, os fatores de transcrição podem ser estimulados pelo ambiente. Por ambiente, pode ser tanto o meio celular que sinaliza necessidade energética e, através de fatores de transcrição, pode ativar produção de proteínas para captação de glicose; quanto o meio externo ao organismo, sendo um exemplo feromônios liberados pelo filhote que vão estimular secreção de ocitocina na mãe.

Um ponto importante é que, para que os fatores de transcrição cheguem ao DNA, as sequências de promotores precisam estar expressas e disponíveis. Aqui, surge toda uma nova possibilidade de influência do ambiente nos genes: mecanismos de metilação de DNA e empacotamento de cromatina. Alguns fatores ambientais, portanto, podem tornar o DNA não disponível ou mais disponível para transcrição. Essa é a área da epigenética. Um exemplo desse tipo de mecanismo ocorre no ambiente intra-uterino. Algumas pesquisas mostram que o estresse materno pode levar a uma maior responsividade ao estresse na prole

UFRJ - CHEFE - INSTITUTO DE BIOFÍSICA CARLOS CHAGAS

através de mecanismos epigenéticos.

Dentre as possíveis mutações no DNA em si, algumas diferentes possibilidades podem acontecer. É possível que ocorra deleções ou inserções, essas mais raras e com consequências muitas vezes devastadoras para o organismo. No entanto também é possível que ocorram trocas entre bases únicas, que podem modificar - ou não - a função das proteínas. Essas pequenas mutações em uma única base tem sido o foco dos estudos genéticos populacionais (GWAS - genome wide association studies).

Através de análise dos polimorfismos de nucleotídeo único (snps), é possível verificar o quanto a variação nesses snps corresponde à variação de uma determinada característica na população, criando escores poligênicos de risco para diversas condições. Os escores poligênicos são baseados na influência de muitos genes (centenas ou milhares) que contribuem com efeitos fracos e aditivos para a compreensão de fenótipos complexos.

O exemplo de uma área que tem utilizado bastante a área de GWAS é a área de psicopatologia. No passado, a única maneira de compreender contribuições entre ambiente e genética nos transtornos mentais eram estudos com gêmeos ou com crianças adotadas para estimar a herdabilidade de uma condição psiquiátrica. Hoje, com os estudos de GWAS, sabemos que a herdabilidade dos transtornos mentais é relativamente alta e que existe uma alta correlação entre diferentes

condições psiquiátricas. Por exemplo, uma publicação recente do Brainstorm Consortium, com centenas de milhares de pacientes, demostrou uma alta correlação entre diferentes transtornos mentais, sugerindo uma etiologia comum entre eles. Nesse estudo, a correlação entre o escore poligênico de risco para bipolaridade e esquizofrenia, por exemplo, foi de cerca de 0,6 - 0,7. Como são condições com alta comorbidade, esses estudos podem ajudar a compreender suas bases biológicas.

Realizo atualmente análises de GWAS na Coorte de Alto Risco para transtornos mentais, em colaboração com o departamento de genética da UFCSPA e com a UFRGS, buscando um escore poligênico de risco para comportamentos excessivos associados a recompensas comportamentais (comida, jogos e transtornos mentais externalizantes). Os dados genéticos, aliados às informações sobre o ambiente da criança e dados de neuroimagem, podem auxiliar na compreensão e enfrentamento dos transtornos mentais do ponto de vista de políticas públicas de saúde e do ponto de vista da ciência básica.