



**INSTITUTO NACIONAL DE NEUROCIÊNCIA TRANSLACIONAL**  
**Convergência da neurociência básica com a saúde e as doenças do cérebro**

**RELATÓRIO PARCIAL 2019-2021**

**INSTITUIÇÃO-SEDE:**

Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro

**COORDENADOR:**

**Roberto Lent** (CPF 289.369.497-72), Professor titular, Instituto de Ciências Biomédicas,  
Universidade Federal do Rio de Janeiro

**VICE-COORDENADOR:**

**Sergio T. Ferreira** (CPF 769.550.367-34), Professor titular, Instituto de Bioquímica Médica,  
Universidade Federal do Rio de Janeiro

**COMITÊ GESTOR:**

**Esper A. Cavalheiro** (CPF 763.105.668-49), Professor titular, Escola Paulista de Medicina,  
Universidade Federal de São Paulo

**Fernanda G. De Felice** (CPF 011.624.917-01), Professora associada, Instituto de Bioquímica Médica,  
Universidade Federal do Rio de Janeiro

**Fernando Cendes** (CPF 279.086.661-91), Professor titular, Faculdade de Ciências Médicas,  
Universidade Estadual de Campinas

**Flavia A. Gomes** (CPF 013.931.457-10), Professora titular, Instituto de Ciências Biomédicas,  
Universidade Federal do Rio de Janeiro

**Jorge Moll Neto**, Diretor-presidente, Instituto D'Or de Pesquisa e Ensino, Rio de Janeiro

**Vivaldo Moura Neto** (CPF 040.431.707-34), Diretor de pesquisa,  
Instituto Estadual do Cérebro Paulo Niemeyer, Rio de Janeiro

**INTRODUÇÃO**

A Neurociência e o seu foco principal de estudo – o cérebro – posicionam-se entre os grandes desafios da Ciência deste século. Compreender como se estabelecem e se mantêm as relações entre o sistema nervoso e a consciência é hoje o objeto de um enorme número de grupos de pesquisa em todo o mundo. Esse foco se justifica como problema científico *per se*, mas também porque o sistema nervoso é atingido por um grande número de doenças e transtornos que ainda não têm explicação, prevenção ou cura, e inviabilizam a vida útil de milhões de pessoas, onerando significativamente os programas de saúde. Congressos e reuniões científicas em todo o mundo se dedicam a discutir os vários aspectos dessa questão, e a Sociedade

Brasileira de Neurociência e Comportamento organiza sua reunião com 2 mil pessoas todos os anos, agora de modo virtual. Nos EUA, a recente iniciativa B.R.A.I.N. do governo federal americano se propõe a destinar, nos próximos anos, 6,6 bilhões de dólares a projetos de pesquisa em Neurociência, e o mesmo foi feito pela Comunidade Europeia por meio do Human Brain Project, com 1 bilhão de euros.

O Brasil tem dado alguns passos no fomento a esse esforço mundial, um deles representado pelo **Instituto Nacional de Neurociência Translacional (INNT)**, financiado desde 2009 pelo CNPq, inicialmente em conjunto com a FAPESP, atualmente com a FAPERJ. Os destaques da atuação do INNT no último biênio podem ser encontrados no presente Relatório. Apenas para dar uma ideia do vigor científico da equipe de pesquisadores do INNT, no biênio ora em finalização (2010-2014), o grupo publicou quase 400 artigos científicos em periódicos internacionais. Mais importante ainda do que o volume da produção científica do grupo é a alta frequência de publicações nos mais prestigiosos (e, conseqüentemente, de mais altos índices de impacto) periódicos nas áreas de atuação do grupo, incluindo, dentre outros, artigos originais publicados em *Nature Medicine*, *Cell Metabolism*, *Molecular Psychiatry*, *The Journal of Clinical Investigation*, *PNAS*, *Neurology*, *Brain*, *Cerebral Cortex*, *The Journal of Neuroscience*, *Diabetes*, *Stem Cells*, *Molecular&Cellular Proteomics*, e artigos de revisão e/ou editoriais em *Lancet*, *Science*, *Alzheimer&Dementia*, *Progress in Neurobiology*, *Reviews on Cancer*.

O INNT se organiza como uma matriz de laboratórios associados, envolvidos com projetos em colaboração conforme descrito abaixo. No último biênio, a integração foi propiciada por reuniões remotas anuais em função da pandemia, com a presença de todos os líderes de grupo e também dos pesquisadores, posdocs e estudantes de cada grupo. Destaca-se também o **Programa de Pós-Graduação em Neurociência Translacional (PGNET, Subprojeto 5)**, já aprovado pela CAPES e em pleno funcionamento. Trata-se de uma iniciativa pioneira e única entre os INCTs. Além de possibilitar a maior interatividade entre os grupos, propicia uma forte e institucionalizada atividade formadora de recursos humanos. Finalmente, vários pesquisadores do INNT desenvolvem intensa atividade de divulgação científica, estimulando o engajamento de novos pesquisadores nessas iniciativas.

## 1. DESENVOLVIMENTO E PLASTICIDADE DO SISTEMA NERVOSO

Em uma perspectiva translacional, o conhecimento básico dos determinantes moleculares e celulares da formação embrionária e pós-natal do Sistema Nervoso, bem como de sua capacidade de interagir com o meio ambiente (neuroplasticidade), é elemento essencial para bem embasar o estudo das doenças neuropsiquiátricas e seu enfrentamento. É desse ponto de vista que o INNT dedicou cinco de suas linhas de pesquisa a essa abordagem. Estudamos a embriologia e as malformações do sistema nervoso fetal (Linhas de pesquisa 1.1 e 1.2), bem como os diferentes aspectos de neuroplasticidade que caracterizam a formação do conectoma humano sob a influência do ambiente (Linha 1.3), sua reatividade frente a insultos mais graves (Linha 1.4), e as mudanças plásticas sutis que ocorrem na formação das memórias (Linha 1.5). Esta última linha de pesquisa, infelizmente, terá que ser descontinuada por motivo de falecimento de seu pesquisador principal.

**(1.1) Bases genéticas e moleculares das malformações do neuro-eixo embriônico-fetal** (Pesquisador responsável: José Garcia Abreu Junior (CPF 867768517-00), Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro)

**Contexto e justificativa:** Em todo o mundo, um de cada mil neonatos apresenta algum tipo de defeito no tubo neural (DTN). Nos últimos dez anos, no Brasil, foram registradas cerca de 6.500 mortes neonatais anuais, sendo cerca de 2.000 relacionadas a malformações congênitas, deformidades e anomalias cromossômicas relacionadas ao desenvolvimento do sistema nervoso. Embora ações preventivas tenham apresentado relativo sucesso, a predisposição genética ainda determina a maior parte dos riscos dos defeitos congênitos do neuroeixo. Os mecanismos que regem a formação da placa neural e o fechamento do tubo

neural humano ainda são controversos; porém, estudos em modelos animais apontam que a anencefalia e a espinha bífida resultam de falhas na neurulação. Estas são atribuídas a erros em vias de sinalização celular que especificam os centros organizadores desde o encéfalo até a medula espinhal, e a falhas celulares na extensão e convergência da placa neural, bem como no fechamento do tubo neural em fases precoces da embriogênese. A via de sinalização Wnt é essencial em todos estes eventos, e estudos recentes sugerem sua relação com o metabolismo de colesterol durante a formação do encéfalo. Assim, as seguintes questões foram alvo de investigação: (1) Existem alterações em componentes da via Wnt detectáveis em amostras de embriões humanos com defeitos no neuroeixo? (2) Qual o impacto da inibição da síntese de colesterol na expressão gênica durante o desenvolvimento do tubo neural? (3) É possível testar a funcionalidade destas alterações em organismos-modelo? As respostas a estas questões podem levar a um rastreamento de fatores de risco relacionados à predisposição para defeitos no neuroeixo embriônico-fetal.

#### **Objetivos propostos em 2018:**

- 1) Identificar mutações e alterações na expressão de componentes e genes-alvos da via de sinalização Wnt em amostras humanas com diagnóstico de DTN;
- 2) Investigar o papel do colesterol na regulação transcricional durante o desenvolvimento do tubo neural;
- 3) Analisar funcionalmente as alterações gênicas encontradas em humanos afetados por DTN no modelo de embriões de *Xenopus* através de experimentos de perda e ganho de função.

**Relatório 2019-2021:** No último período buscamos resposta para as seguintes questões: Como ocorre a interação entre os inibidores Tiki2, Notum e TMEM com a sinalização Wnt/ $\beta$ -catenina durante a indução neural? Mutações no gene Ric-8b estão relacionadas a DTN? É possível reproduzir fenótipos de DTN humana em embriões de *Xenopus*? Caracterizamos um novo gene tmem79, inibidor da via Wnt, expresso na placa e no tubo neural que é essencial para o comprometimento neural durante a neurulação. O camundongo mutante para o gene ric-8b apresenta defeitos no fechamento do tubo neural na região cefálica. Encontramos na base Uniprot, uma mutação que consiste em uma substituição de uma leucina por uma prolina na região central de CTNNB1, beta-catenina humana (L388P). Esta mutação humana quando inserida em embriões de *Xenopus* representa um ganho de função e provoca defeitos crânio-cefálicos (artigo em fase de redação).

**Referências de destaque:** (1) Chen M, Amado N, Tan J, Reis A, Ge M, Abreu JG, He X (2020) tmem-79/matrin defines a pathway for frizzled regulation and is required for *Xenopus* embryogenesis. *eLife* 9:e56793. | (2) Nagai MH, Xavier VPS, Gutiyama LM, Machado CF, Reis AH, Donnard ER, Galante PAF, Abreu JG, Festuccia WT, Malnic B (2020) Depletion of ric-8b leads to reduced MTORC2 activity. *PLoS Genetics* 16:e1008255.

**Informações adicionais:** <http://lattes.cnpq.br/1716020620865231>

**(1.2) Sinalização por dopamina e adenosina na retina em desenvolvimento: Modulação da sobrevivência neuronal** (Pesquisador responsável: Roberto Paes de Carvalho, CPF 543.663.727-20, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense)

**Contexto e justificativa:** A análise da diferenciação das diversas classes de neurônios e células gliais constituintes do sistema nervoso central (SNC) tem revelado uma multiplicidade de mecanismos envolvendo intrincadas vias de sinalização, regulação de fatores de transcrição e ativação gênica. Esses sistemas também envolvem vários fatores extracelulares, neurotransmissores/gliotransmissores e seus respectivos receptores. Estudar, de maneira integrada, os sistemas de comunicação intercelular na retina em desenvolvimento, utilizando técnicas bioquímicas e de biologia celular e molecular. Os resultados podem

levar à elucidação de mecanismos básicos de formação de circuitos neurais e dos processos de comunicação sináptica em condições normais e patológicas. A proposta pode ter impacto também no estudo das doenças neurodegenerativas, levando a métodos diagnósticos e terapias mais eficientes.

**Objetivos propostos em 2018:** Abordamos o desenvolvimento de sistemas de neurotransmissores no SNC, utilizando como modelo a retina de galinha. Diversos trabalhos têm mostrado que neurotransmissores e neuromoduladores como glutamato, dopamina, adenosina, óxido nítrico e ascorbato também são encontrados na retina, e sofrem uma regulação recíproca de sua atividade. Estudamos o desenvolvimento de sistemas de neurotransmissores em retinas *in vivo* e em cultura, com ênfase nos seguintes objetivos específicos:

1. Elucidar os mecanismos de controle da expressão dos receptores de adenosina A1 e A2a e os mecanismos de neuroproteção regulados por sua ativação.
2. Investigar a regulação por dopamina das vias de AMPc/PKA-EPAC, Src cinase e CREB e sua relação com a liberação de ascorbato e regulação do receptor NMDA.
3. Investigar os mecanismos de regulação dos transportadores de glutamato e do receptor NMDA por ascorbato e seu papel na excitotoxicidade neuronal.

**Relatório 2019-2021:** Obtivemos dados importantes relacionados a vias de sinalização desencadeadas por receptores D1 de dopamina (D1R) e suas interações com o sistema do glutamato (glut) e a vitamina C (vitC). Mostramos que a ativação de D1R produz inibição da Src cinase através da via AMPc/PKA/CSK que fosforila a Src em resíduo inibitório levando a uma inibição do receptor NMDA de glut, evidenciando um novo mecanismo de regulação destes receptores por dopamina no sistema nervoso central, o que é potencialmente importante em doenças neurológicas e psiquiátricas causadas por disfunções de ambos os sistemas de neurotransmissão. Mostramos também que a ativação de D1R induz liberação de vitC na retina através da via AMPc/EPAC. VitC modula o transporte de glut pelo bloqueio de EAAT3, aumentando o glut extracelular e o tráfego de subunidades do receptor NMDA para a membrana. Observamos que o receptor A3 de adenosina exerce um importante papel modulatório no equilíbrio redox na retina através da liberação de vitC.

**Referências de destaque:** (1) Socodato R, Felipe Santiago, Camila Portugal, Ivan Domith, Thaísa Encarnação, Erick Loiola, Ana Ventura, Marcelo Cossenza, João Relvas, Newton Castro, and Roberto Paes-de-Carvalho. Dopamine promotes NMDA receptor hypofunction in the retina through D1 receptor-mediated Csk activation, Src inhibition and decrease of GluN2B phosphorylation. *Science Reports* **7**, 40912; doi: 10.1038/srep40912 (2017). | (2) Domith I., Portugal CC, Socodato R, Munis AF, Duarte-Silva AT and Paes-de-Carvalho R. *Journal of Neurochemistry* **144**, 408-420 (2018) Vitamin C modulates glutamate transport and NMDA receptor function in the retina.

**Informações adicionais:** <http://lattes.cnpq.br/6093972827853331>

**(1.3) Reconexão de grandes circuitos e alterações de celularidade no sistema nervoso central, do desenvolvimento ao envelhecimento** (Pesquisador responsável: Roberto Lent, CPF 289.369.497-72, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro)

**Contexto e justificativa:** Ao longo do seu tempo de existência, desde a fase embrionária até o final da vida, o sistema nervoso é submetido a influências de vários tipos por parte do ambiente. Algumas são sutis (um simples evento externo percebido visualmente, por exemplo), e provocam fenômenos igualmente sutis na fisiologia das sinapses e na microestrutura dos neurônios. Outras são mais drásticas (lesões traumáticas, doenças degenerativas, transtornos do desenvolvimento, e outros). Nosso interesse foi abordar o último caso, no qual grandes mudanças na composição celular absoluta ocorrem no cérebro, por exemplo na

demência provocada pela doença de Alzheimer, e grandes alterações ocorrem na conectividade dos circuitos de longa extensão do cérebro, como é o caso da amputação de um membro ou da ausência congênita de um feixe com 200 milhões de fibras nervosas, o corpo caloso. Nosso objetivo foi comparar os estudos em humanos com modelos animais dessas condições patológicas, para identificar os mecanismos celulares da plasticidade detectada em humanos, bem como relacionar as técnicas de avaliação de celularidade com os métodos mais avançados de neuroimagem, neste caso com a finalidade de estabelecer um possível poder preditor da imagem por ressonância magnética sobre os eventos neuroplásticos acima referidos. Utilizamos sujeitos humanos normais e encéfalos obtidos por autópsia em condições altamente controladas, bem como modelos animais simuladores das condições patológicas observadas nos sujeitos.

### **Objetivos propostos em 2018:**

- 1) Identificar os correlatos axônicos das alterações de substância branca (corpo caloso, especialmente) identificadas em pacientes com amputação de um dos membros, utilizando ratos amputados experimentalmente.
- 2) Identificar as mudanças nos circuitos axônicos do corpo caloso, identificadas por fascigrafia de ressonância magnética em pacientes com disgenesia calosa, e em camundongos BALBc (que apresentam incidência relativamente alta de indivíduos acalosos).
- 3) Correlacionar a celularidade do cérebro de indivíduos humanos e de animais durante o envelhecimento, com parâmetros da imagem por ressonância magnética obtida previamente.

**Relatório 2019-2021:** Os objetivos propostos foram preenchidos. Foram identificadas alterações nas fibras calosas em modelos animais de amputação, com dois artigos publicados. Os achados sugerem que a síndrome do membro fantasma de sujeitos humanos amputados pode ser devida às alterações plásticas de mielinização e morfologia das árvores terminais calosas nos seus alvos corticais. Além disso, foi possível também identificar alterações calosas em modelos animais de disgenesia do corpo caloso, revelando alguns dos feixes anômalos anteriormente descritos em pacientes discalosos, e além deles um conjunto de outros feixes ditos alternativos, inseridos na substância branca tanto de animais discalosos como também de animais típicos. Três artigos foram publicados a respeito no biênio passado. Os resultados sugerem a ocorrência de uma reserva conectômica no cérebro típico, conceito que está sendo desenvolvido em um artigo de revisão em fase de redação. Finalmente, foi possível otimizar a técnica do fracionador isotrópico e estendê-lo a oligodendrócitos, com dois artigos publicados a respeito. A celularidade do córtex cerebral de indivíduos durante o envelhecimento foi concluída, sendo objeto de uma tese de doutorado defendida, e de três artigos em fase de redação.

**Referências de destaque:** (1) Bahia CP, Vianna-Barbosa RJ, Tovar-Moll F, Lent R. (2019) Terminal arbors of callosal axons undergo plastic changes in early-amputated rats. *Cerebral Cortex* 29:1460-1472. | (2) Szczupak D, lack PM, Liu C, IRC5 Consortium, Tovar-Moll F, Lent R, Silva AC (2021) Direct interhemispheric cortical communication via thalamic commissures: A new white-matter pathway in the rodent brain. *Cerebral Cortex* doi: 10.1093/cercor/bhab112

**Premiações:** (1) Professor emérito da Universidade Federal do Rio de Janeiro em 2019 (R. Lent) | (2) Medalha Neurociência 2021, da Sociedade Brasileira de Neurociência e Comportamento, SBNeC (R. Lent) | (3) Senior Award, International Bureau of Education, Unesco 2019 (R. Lent) | (4) Bolsa de Produtividade 1A do CNPq | (5) Bolsa Cientistas do Nosso Estado da FAPERJ | (6) Membro do Comitê Científico do Museu do Amanhã (2021-2022), Rio de Janeiro | (7) Membro do Board da Dana Alliance for Brain Initiatives | (8) Membro do Comitê Consultivo do Global Science of Learning Education Network (GSoLEN)

**Destaques de divulgação para o grande público:** (1) Livro de divulgação científica: *O Cérebro Aprendiz – Neuroplasticidade e Educação* (ed. Atheneu, 2019) | (2) Artigos semanais para *O Globo* e *O Globo Online* desde 2019 (até o momento 123 artigos) | Artigo para crianças em periódico internacional (*Frontiers for*

Young Minds 8:522413) | 6 *white-papers* para professores, encomendados pelo International Bureau of Education, Unesco (<http://ibelearning.wpengine.com/articles/>)

**Informações adicionais:** <http://lattes.cnpq.br/5945879465310813>

**(1.4) Plasticidade no sistema nervoso central e periférico: desenvolvimento e sinalização em condições saudáveis e em disfunções neurológicas** (Pesquisador responsável: Ricardo A. de Melo Reis, CPF 401.143.091-91, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, UFRJ)

**Contexto e justificativa:** O sistema nervoso central, durante o desenvolvimento embrionário, é extremamente plástico, não só quanto à morfologia e à população de células, mas também em sua capacidade de transmitir informações neuroquímicas. Por outro lado, o sistema nervoso periférico (SNP) mantém até a idade adulta a capacidade de regenerar seus axônios, quando lesionados, empregando estratégias complexas que permitem o crescimento axônico com participação de fibroblastos, células endoteliais e de Schwann. Nos últimos 40 anos, encarando a retina como um modelo de estudo mais simples para o SNC, abordamos diversos circuitos neuroquímicos dessa estrutura, e observamos alterações bioquímicas consideráveis durante o desenvolvimento, focando nos sistemas dopaminérgico, peptidérgico e GABAérgico, entre outros. Esse modelo também tem sido utilizado para entender mecanismos fisiopatológicos, como os da doença de Parkinson. Neste sentido, a célula de Müller, principal gliócito da retina dos vertebrados, desenvolve um fenótipo dopaminérgico em cultura e restaura as funções motoras em modelo murino da doença de Parkinson. Além disso, diversas retinopatias desenvolvem-se mediante uma sinalização neuroglial alterada, principalmente envolvendo glutamato e GABA. Pretendemos avaliar o papel de transportadores GABAérgicos e sua regulação por glutamato. Pretendemos também explorar abordagens terapêuticas recentes que incluem o uso de moléculas, como peptídeos canabinóides, capazes de favorecer a geração de novos neurônios ou oligodendrócitos em nichos cerebrais, para a remodelagem de circuitos neurogliais, e a reprogramação de células gliais em neurônios.

**Objetivos propostos em 2018:**

- 1) Investigar se a glia de Müller pode ser reprogramada diretamente em neurônio, utilizando os genes pró-neurais *Neurog2* e/ou *Mash1*.
- 2) Identificar os subtipos neuronais gerados, após mudanças morfológicas com *Neurog2* e/ou *Mash1*.
- 3) Avaliar o desenvolvimento e a expressão de transportadores GABAérgicos (GATs) e sua regulação por glutamato.
- 4) Avaliar o papel de peptídeos canabinóides derivados da hemoglobina na sinalização e geração de neurônios e oligodendrócitos na zona subventricular de roedores.
- 5) Investigar a formação de um biomaterial associado a células de Schwann e células derivadas da medula óssea sobre filamentos de Poli- $\epsilon$ -Caprolactona para regeneração de nervos periféricos.
- 6) Investigar se a cafeína potencia a resposta de D-aspartato na liberação de GABA em células retinianas via ativação de receptores de NMDA e de adenosina.
- 7) Investigar as células de glia de Müller como fonte alternativa de dopamina no sistema retiniano embrionário.
- 8) Investigar os mecanismos de inativação da Colina-acetiltransferase por estresse oxidativo induzido por agonistas glutamatérgicos e/ou peptídeo A $\beta$ .

**Relatório 2019-2021:** (i) Revisão sobre o conceito de imageamento de cálcio em circuitos neurogliais; (ii) Revisão sobre o conceito de novos peptídeos canabinóides (hemopressina e derivados); (iii) O efeito de ácidos graxos poli-insaturados da família ômega-3 e ômega-6, o sistema endocanabinóide e a plasticidade sináptica; (iv) Efeito de drogas aditivas como a cocaína, e de moduladores como a cafeína em sistemas gabaérgicos em

circuitos centrais; (v) O papel da serotonina na retina de aves; (vi) Interação entre os sistemas purinérgicos e canabinóide na retina; (vii) Células olfativas como modelo de combate ao glioblastoma; (viii) Revisão sobre o conceito de Qualidade de Vida e um sistema endocanabinóide atuante (2021); (ix) O papel de receptores P2X7 na neuroinflamação (2021); (x) Neurog2 e Mash 1 induzem neurônios a partir de glia de Muller reprogramada; (xi) Cafeína regula transportadores de GABA via bloqueio de receptores A1 de adenosina; (xii) Neuroesferas de retina adulta adquirem o fenótipo dopaminérgico.

**Referências de destaque:** (1) De Melo Reis, R.A., Freitas, H.R., and De Mello, F.G. (2020). Cell Calcium Imaging as a Reliable Method to Study Neuron-Glial Circuits. *Frontiers in Neuroscience* 14, 569361. | (2) Isaac AR, De Velasco PC, Fraga KYD, Tavares-do-Carmo MDG, Campos RMP, Iannotti FA, Verde R, Martins DBG, Santos TA, Ferreira BK, De Mello FG, Di Marzo V, Andrade-da-Costa B, Reis RAM (2021) Maternal omega-3 intake differentially affects the endocannabinoid system in the progeny's neocortex and hippocampus: impact on synaptic markers: n-3 maternal diet sway progeny's synaptic markers. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 108782.

**Premiações:** Bolsa Cientista do Nosso Estado da FAPERJ (Ricardo A.M. Reis) | Bolsa de Produtividade 2 do CNPq (Ricardo Reis) | Bolsa Posdoc Nota 10 da FAPERJ (Luzia da Silva Sampaio) | Membro do Comitê organizador da reunião anual da American Society of Neurochemistry.

**Destaques de divulgação para o grande público:** O grupo tem um site de divulgação científica sobre os fitocanabinóides para o grande público, coordenado pela Dra. Luzia S. Sampaio  
<https://www.instagram.com/timecannabis/>

**Informações adicionais:** <http://lattes.cnpq.br/6046165866539973>

**(1.5) Mecanismos celulares e moleculares da memória** (Pesquisador responsável: Ivan Izquierdo, CPF 193.105.600-53, Centro da Memória, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul) **NOTA:** O Prof. Ivan Izquierdo faleceu durante o período, e os dados do relatório foram fornecidos por seus colaboradores.

**Contexto e justificativa:** As memórias sustentam a identidade dos indivíduos e são imprescindíveis para a sobrevivência e adaptação ao meio. Os modelos existentes sobre seu armazenamento propõem que este obedece a modificações estáveis das sinapses, levando a mudanças na atividade de circuitos neuronais específicos. Para que essas modificações ocorram, são necessárias a expressão gênica e a síntese de novas proteínas ribossomais e extra-ribossomais, processos modulados por drogas, neurotransmissores, hormônios e experiências prévias. Trabalhos do nosso grupo mostram que a formação e a extinção da memória de medo, da memória de reconhecimento de objetos e da memória espacial são moduladas por neurotransmissores (glutamato, acetilcolina, histamina, noradrenalina e dopamina). Além disso, mostramos pela primeira vez que a exposição à novidade é capaz de facilitar a extinção de memória, e que o estado neuro-humoral pode interferir na evocação da memória de extinção. Dessa forma, a continuidade dos trabalhos citados é importante para elucidar os mecanismos moleculares e celulares envolvidos na formação de memórias.

#### **Objetivos propostos em 2018:**

- 1) Elucidar a participação dos sistemas serotoninérgico e histaminérgico na formação das memórias de reconhecimento de objetos, reconhecimento social, memória espacial e extinção de memória aversiva.
- 2) Verificar os efeitos do metilfenidato sobre a formação da memória de reconhecimento social, memória espacial e extinção de memória aversiva.

- 3) Determinar a participação da via de sinalização Wnt na formação das memórias de reconhecimento social, memória espacial, condicionamento ao medo e extinção de memória aversiva.
- 4) Verificar quais são as proteínas responsáveis pela marcação sináptica (*Synaptic tagging*) durante o processo de facilitação da extinção da memória induzida pela exposição a novidade.
- 5) Investigar quais são os genes envolvidos no processo de facilitação da extinção da memória induzida pela exposição à novidade.
- 6) Investigar se é necessária a evocação da memória original para a formação da memória de extinção.
- 7) Determinar os mecanismos moleculares e celulares envolvidos na reconsolidação da memória de reconhecimento de objetos, memória espacial, e memória de medo sem a evocação da memória original.

**Relatório 2019-2021:** Mostramos que os circuitos cerebrais histaminérgicos e noradrenérgicos modulam a formação e a extinção de memórias de medo, principalmente via região CA1 do hipocampo dorsal e amígdala basolateral (BLA). Desvendamos alguns dos mecanismos envolvidos na facilitação da extinção da memória de medo pela exposição à novidade, tais como a participação dos receptores  $\beta$ -adrenérgicos, 5-HT<sub>1A</sub> serotoninérgicos e D<sub>1</sub> dopaminérgicos; entretanto, os receptores H<sub>2</sub> histaminérgicos, tão onipresentes nas funções relacionadas à memória no hipocampo, parecem não participar desse processo. Além disso, demonstramos que a presença de um coespecífico (suporte social) durante uma sessão de extinção é capaz de inibir a evocação de uma memória de medo mas não a sua extinção. Surpreendentemente, verificamos que o efeito do suporte social pode ser bloqueado pelos inibidores de síntese de proteínas, anisomicina e rapamicina, e pelo inibidor de expressão gênica 5,6-dicloro-1- $\beta$ -D-ribofuranosilbenzimidazol, quando infundidos imediatamente após uma sessão de extinção no córtex pré-frontal ventromedial, mas não na região CA1 do hipocampo. Assim, o suporte social leva a formação de uma memória que difere da extinção adquirida sem o suporte social, em termos das estruturas cerebrais envolvidas.

**Referências de destaque:** (1) Schmidt SD, Costa A, Rani B, Nachtigall E, Passani MB, Carta F, Nocentini A, de Carvalho Myskiw J, Furini CRG, Supuran CT, Izquierdo I, Blandina P, Provensi G (2020) The role of carbonic anhydrases in extinction of contextual fear memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 117:16000-16008. | (2) Farias CP, Furini CR, Nachtigall EG, Behling JA, Brasil E, Bühler L, Izquierdo I, de Carvalho Myskiw J (2019) Extinction learning with social support depends on protein synthesis in prefrontal cortex but not hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 116:1765-1769.

**Informações adicionais:** <http://lattes.cnpq.br/0862583266198572>

## 2. NEUROPTOLOGIA CELULAR E MOLECULAR

Neste segundo conjunto de linhas de pesquisa, o INNT enfrenta mais diretamente as bases neuropatológicas celulares e moleculares das doenças neuropsiquiátricas, incluindo o câncer do sistema nervoso. Essa abordagem é necessária para um conhecimento mais completo da gênese dessas doenças, de modo a embasar as alternativas terapêuticas que se colocarem. O estudo do câncer cerebral é especialmente importante, já que nele residem células-tronco responsáveis pela proliferação do tumor primário e suas metástases (Linha de pesquisa 2.1) e nele proliferam células gliais (microglia) que interferem na progressão tumoral (Linha 2.2) e que também participam da resposta à invasão por microrganismos (Linha 2.3). Em outras doenças, como Alzheimer e Parkinson, é da maior importância o papel das células gliais, especialmente os astrócitos, cuja função (e disfunção) alcança os mecanismos da transmissão sináptica central (Linha 2.4). O papel dos neurotransmissores, nesse contexto, é da maior relevância em regiões estruturalmente mais simples como a retina (linha 2.5).

**(2.1) Desvendando o papel de células-tronco tumorais em gliomas e estudos da resposta inflamatória no delírio pós-cirúrgico, reflexos moleculares da injúria e convulsões nos pacientes com tumor cerebral antes e após cirurgia** (Pesquisador responsável: Vivaldo Moura-Neto, CPF 040.431.707-34, Instituto de Ciências Biomédicas da UFRJ, e Instituto Estadual do Cérebro Paulo Niemeyer, Rio de Janeiro).

**Contexto e Justificativa:** Esta linha de pesquisa representa uma importante associação entre um instituto de pesquisa biomédica (Instituto de Ciências Biomédicas da UFRJ) e um hospital público de alta qualificação (Instituto Estadual do Cérebro Paulo Niemeyer do Rio de Janeiro), dispendo de bem equipados laboratórios envolvidos em pesquisa sobre doenças do cérebro. O foco principal do projeto são os tumores primários malignos do cérebro em adultos e crianças, resistentes aos tratamentos atuais e com um prognóstico desfavorável. Particularmente, glioblastomas (GBMs) e meduloblastomas (MBs) contêm células-tronco tumorais (CTTs), que são altamente resistentes a tratamentos com drogas como a temozolamida. O 2-hidroxi-glutarato (2HG), substrato da enzima isocitrato desidrogenase (IDH), em mutantes com superprodução de 2HG, é um indicativo para métodos diagnósticos não invasivos destes tumores. Os “HypoxamiRs”, uma classe de miRNAs com expressão aumentada na hipóxia, têm importante papel na agressividade e proliferação das CTTs. Dessa forma, 2HG e HypoxamiRs representam potenciais ferramentas para diagnóstico e prognóstico de pacientes com GBM e MB. Tumores contribuem para o rompimento de vasos e a fragilidade da barreira hematoencefálica, produzindo edema. “Delirium” é uma forma de disfunção cerebral aguda caracterizada por falhas cognitivas intermitentes. Sua prevalência chega a 90% em pacientes com câncer admitidos em UTI, e é associada à mortalidade aumentada em períodos pós-operatórios de neurocirurgias. Esta patologia é pouco entendida e parece resultar de inflamação cerebral com níveis alterados de interleucinas (IL) 2 e 6, fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ) e interferon gama (IFN- $\gamma$ ). A morbidade por convulsões epiléticas associadas a tumores cerebrais em pacientes é frequente em tumores de baixo grau e GBM: o quadro precisa ser tratado com drogas antiepiléticas (DAEs), como Levetiracetam, cujo mecanismo de ação não é completamente entendido, e seus efeitos celulares e moleculares merecem estudo.

**Objetivos propostos em 2018:**

1. Examinar a ação da citolisina Equinatoxina 2, com Temozolamida ou com VP16, sobre as CTTs de tumores humanos, xenotransplantadas em cérebros de roedores
2. Examinar o efeito de antineoplásicos como o irinotecano em células neurais do SN central e entérico, por abordagens *in vivo* e *in vitro*;
3. Silenciar com shRNA as proteínas chaves envolvidas na proliferação de populações celulares altamente tumorigênicas;
4. Verificar o “status” de IDH em GBM e MB, examinar a influência da superprodução de 2HG na agressividade destes tumores e implementar o uso de diagnóstico diferencial não invasivo com IDH;
5. Comparar a expressão de HypoxamiRs em amostras de sangue periférico e líquor entre pacientes com GBM e MB e pacientes com tumores de baixa malignidade e não-cerebrais, na busca de novos métodos diagnósticos;
6. Descrever a cinética de biomarcadores inflamatórios, produtos do metabolismo de hemoglobina e marcadores de dano neuronal, no período pós-operatório, dos compartimentos central e sistêmico de pacientes neurocirúrgicos;
7. Identificar o potencial de biomarcadores capazes de prever a progressão de pacientes com “delirium” pós-operatório neurocirúrgico;
8. Examinar os efeitos celular e molecular do Levetiracetam em células normais do cérebro, em GBM, MB e CTTs, *in vitro* e *in vivo*.

**Relatório 2019-2021:** Nossa equipe tem se dedicado ao entendimento das interações celulares que contribuem para o desenvolvimento harmônico do sistema nervoso. Nos últimos anos voltamos nosso foco para compreender a contribuição de fatores celulares que participam do desenvolvimento de tumores intracranianos. A demonstração da presença de células-tronco em tumores intracranianos humanos, especialmente em glioblastomas, o mais grave dos tumores foi uma informação relevante para entender a tumorigênese. A passagem das células-troncos às tumorais, ditas “diferenciadas” envolveu alterações metabólicas, particularmente a alteração da expressão de conexinas e SOX2. Mas, dois problemas marcam a tumorigênese: o controle da proliferação pelo emprego de fármacos. No caso do glioblastoma o antitumoral padrão ouro é a temozolamida. Entretanto, moléculas de resistência a drogas são capazes de eliminar parcialmente o fármaco, diminuindo a sua eficiência. Empregando a edição gênica e CRISPR cas 9, temos tido sucesso na modificação dos genes de algumas destas que pedem a eficiência de extrusão de temozolamida, tornando-a mais eficiente. Um segundo problema em câncer, é o bom diagnóstico do tipo tumoral. A biópsia líquida, mais empregada recentemente para diagnóstico de tumores sólidos ganha eficiência. Nosso grupo tem empregado tal metodologia para diagnóstico de tumores intracranianos, permitindo identificar as mutações que caracterizam tipos tumorais, como a mutação KRAS encontrada em adenoma de hipófise.

**Referências de destaque:** (1) Matias D, Dubois LG, Pontes B, Rosário L, Ferrer VP, Balça-Silva J, Fonseca ACC, Macharia LW, Romão L, Spohr TCLS, Chimelli L, Niemeyer P, Lopes MC, Abreu JG, Lima FR, Moura-Neto V. (2019) GBM-derived Wnt3a induces M2-like phenotype in microglial cells through Wnt/ $\beta$ -catenin signaling. *Molecular Neurobiology* 56:1517-1530. | (2) Muriithi W, Macharia L, Moura-Neto V (2020) ABC transporters and hallmarks of cancer: roles in cancer aggressiveness beyond multidrug resistance. *Cancer Biology and Medicine* 17:253-269.

**Premiações:** Grã-Cruz da Ordem Nacional do Mérito Científico do Governo Brasileiro, 2018 (Vivaldo Moura-Neto)

**Informações adicionais:** <http://lattes.cnpq.br/4692980070480625>

**(2.2) Células da microglia: o papel de fatores microgliais durante o desenvolvimento e na progressão tumoral** (Pesquisadora responsável: Flavia Lima, CPF 79423779620, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro)

**Contexto e justificativa:** Pouco se conhece sobre a resposta imune, especificamente as interações da microglia com o glioblastoma (GBM), um tumor altamente agressivo. Dentre os fatores reguladores da progressão tumoral estão a proteína príon celular (PrP<sup>c</sup>) e seu ligante, STI1. No cérebro normal, PrP<sup>c</sup> é altamente expressa e promove diferenciação de células neuronais. Investigamos o papel de PrP<sup>c</sup>-STI1 na microglia em desenvolvimento e na interação microglia-GBM. Demonstramos previamente que STI1 é secretada pela microglia, regula a atividade da metaloprotease MMP9 e promove proliferação/migração de células de GBM. Camundongos nocautes ou que superexpressam PrP<sup>c</sup> foram utilizados como modelo experimental em abordagens tanto *in vitro* como *in vivo*, com o objetivo de estudar a interação da microglia com as demais células do SNC durante o desenvolvimento e, num contexto patológico, a interação do GBM com o seu microambiente, em particular com a microglia, e as consequências desta interação para a progressão tumoral.

**Objetivos propostos em 2018:** Utilizando como modelo experimental animais nocautes para PrP<sup>c</sup> ou que superexpressam PrP<sup>c</sup>, pretendemos:

- 1) Estudar fatores secretados pela microglia que modulam a progressão tumoral.

- 1.1) Investigar a importância de PrP<sup>c</sup> e STI1 na interação microglia-glioblastoma.
- 1.2) Identificar fatores secretados pela microglia que possam induzir proliferação e/ou migração de células de GBM via PrP<sup>c</sup>-STI1.
- 1.3) Investigar se células de glioblastoma modulam a ativação microglial.
- 2) Estudar fatores secretados pela microglia envolvidos com eventos que ocorrem durante o desenvolvimento do SNC (diferenciação glial e neuronal, vascularização).

**Relatório 2019-2021:** Utilizando animais nocautes (KO) e que superexpressam PrP<sup>c</sup> (TG20), demonstramos em culturas de microglia que PrP<sup>c</sup> induz sobrevivência, proliferação e migração através da sinalização de ERK1/2 kinase. Também verificamos em cortes de retina ao longo do desenvolvimento utilizando microscopia confocal que PrP<sup>c</sup> afeta o brotamento de novos vasos, a remodelagem vascular e regula a densidade de células microgliais e sua ativação. No contexto do câncer, células da microglia mudam o seu fenótipo de ativação de M1 para M2 durante interação com o GBM. PrP<sup>c</sup> parenquimal parece ter um papel protetor durante a progressão tumoral. Através de xenotransplantes de células de GBM humano, com análises por ressonância magnética e histopatologia, verificamos que o tumor crescido no animal KO teve um volume duas vezes maior com alta expressão de STI1 do que aquele crescido no animal controle. Ao passo que no animal TG20, o tumor foi significativamente menor. Os artigos desses estudos estão em fase final de redação para serem submetidos.

**Referências de destaque:** (1) Amaral RF, Geraldo LHM, Einicker-Lamas M, Spohr TCLS, Mendes F, Lima FRS (2021) Microglial lysophosphatidic acid promotes glioblastoma proliferation and migration via LPA 1 receptor. *Journal of Neurochemistry* 156:499-512. | Geraldo LHM, Spohr TCLS, Amaral RF, Fonseca ACC, Garcia C, Mendes FA, Freitas C, Sos Santos MF, Lima FRS (2021) Role of lysophosphatidic acid and its receptors in health and disease: novel therapeutic strategies. *Signal Transduction and Targeted Therapy* 6 (1): 45.

**Premiações:** (1) Bolsa de Produtividade 1D do CNPq (Flavia Lima) | (2) Bolsa Cientista do Nosso Estado da FAPERJ (Flavia Lima) | (3) Bolsa de Doutorado FAPERJ Nota 10 (Felipe Leser) | Prêmio Melhor Tese de Doutorado Gerly Castro Brito do Programa de PG em Ciências Morfológicas (Luiz Henrique Geraldo)

**Destaques na divulgação para o grande público:** (1) Entrevista na mini-série Neurobastidores (<https://www.youtube.com/playlist?list=PLWYwRns72Lpi6K4CLNoaO8NDCN8QQXn-B>) | (2) Criação do Instagram do projeto Ciência sobre Rodas (@cienciasobrerodasufrj) | (3) Criação do Instagram do Laboratório de Biologia das Células Gliais (@lbcg.ufrj).

**Informações adicionais:** <http://lattes.cnpq.br/4125254830545309>

**(2.3) Resposta inflamatória do SNC a patógenos e prospecção farmacológica de compostos extraídos de plantas do Estado da Bahia** (Pesquisadora responsável: Silvia Lima Costa, CPF 405.897.115-68, Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia)

**Contexto e justificativa:** Células gliais são protagonistas na modulação da resposta do tecido nervoso a patógenos e no equilíbrio entre imunoproteção e neurodegeneração. Desenvolvemos modelos *in vitro* e *in vivo* para elucidar mecanismos de neurotoxicidade e glio-modulação causados por um endoparasita ou decorrentes da proliferação de células tumorais, testando os efeitos de compostos extraídos de plantas do semiárido da Bahia. Resultados obtidos em modelo de neuroinflamação induzida pela infecção de co-culturas glia-neurônio com *N. caninum* apontam para uma resposta imunoprotetora. Na linha de prospecção de agentes antitumorais, verificou-se que os flavonoides rutina e quercetina inibem o crescimento, induzem apoptose, modificam o fenótipo e regulam a secreção das citocinas proangiogênicas VEGF e TGFβ de células

derivadas de glioblastoma multiforme humano, induzindo também a liberação de fatores tróficos (TNF- $\alpha$  e óxido nítrico) em cultivos primários de astrócitos e microglia. Investigamos o papel da microglia na resposta aos patógenos e nos efeitos das drogas empregadas, de modo a determinar novos alvos moleculares para o desenvolvimento de fármacos com aplicação terapêutica em gliomas ou patologias que acometem o tecido nervoso.

**Objetivos propostos em 2018:** O objetivo principal consiste em avançar na caracterização da resposta inflamatória de células gliais normais e derivadas de linhagens tumorais frente a patógenos, e na prospecção de ações neuroprotetoras e antitumorais de flavonoides em modelos *in vitro* e *in vivo*. Para isso pretendemos realizar os seguintes objetivos específicos.

- 1) Esclarecer o papel da via da arginase no mecanismo de neuroproteção em cocultivos primários infectados por *N. caninum*;
- 2) Estabelecer parâmetros da resposta inflamatória ao endoparasita em modelo *in vivo*;
- 3) Avaliar a atividade antiproliferativa de compostos extraídos de plantas estudando vias de sinalização envolvidas nas mudanças morfológicas e funcionais em culturas primárias de astrócitos e glioblastoma;
- 4) Determinar o potencial antitumoral de flavonoides contra tumores gliais malignos, em um modelo de xenoinplantes em murinos, em busca de novas abordagens terapêuticas para o tratamento quimioterápico de gliomas malignos;
- 5) Estudar o potencial terapêutico de flavonoides e outros compostos extraídos de plantas em modelos experimentais de glioma maligno, Doença de Parkinson e lesão isquêmica.

**Relatório 2019-2021:** A resposta inflamatória a patógenos avançou com (i) esclarecimento da neuroproteção pela detecção da expressão de neurotrofinas em secretomas de culturas gliais infectadas com *N. caninum* com o qual cultivou-se neurônios e (ii) investigação do impacto da resposta inflamatória sobre catabolismo do triptofano. A prospecção da ação dos flavonoides apontou atividade antiinflamatória em modelos *in vitro* e *in vivo*, ação antioxidante e antitumoral. Flavonoides (Aghatisflavona) também têm ação neuro/mielinogênica. A caracterização de modelos *in vitro* e *in vivo* de doenças neurodegenerativas, também avançou com estudos pré-clínicos da ação de flavonoides

**Referências de destaque:** (1) Almeida MMA, Souza CS, Dourado NS, Silva AB, Ferreira RS, David JN, Costa MFD, Silva VDA, Butt A, Costa SL. (2020). Phytoestrogen agathisflavone ameliorates neuroinflammation induced by LPS and IL-1 $\beta$  and protects neurons in cocultures of glia/neurons. *Biomolecules* 10:562. | (2) Silva AB, Coelho PLC, Oliveira MN, Oliveira JL, Amparo JAO, Silva KC, Soares JA, Pitanga BPS, Santos Souza C, Faria GP, Silva VDA, Costa MFD, Juniner MP, Chneiweiss H, Moura-Neto V, Costa SL (2020) The flavonoid rutin and its aglycone quercetin modulate the microglia inflammatory profile improving antiglioma activity. *Brain Behavior and Immunity* 85:170-185

**Destaques na divulgação para o grande público:** O grupo desenvolve projetos de popularização da ciência em feiras e 2 escolas públicas do município de Salvador. Um total de 4 alunos do nível médio são orientados no Programa Iniciação Científica Jr. Vídeos destinados ao público leigo, especialmente escolares são desenvolvidos e postados na Plataforma Youtube com divulgação mais ampla nos períodos da Semana Nacional de C&T.

**Informações adicionais:** <http://lattes.cnpq.br/8965253841041518>

**(2.4) Papel dos astrócitos no funcionamento e déficit sinápticos** (Pesquisadora responsável: Flavia A. Gomes, CPF 013.931.457-10, Instituto de Ciências Biomédicas, UFRJ)

**Contexto e justificativa:** A transmissão sináptica constitui a base para a maior parte dos eventos de transferência de informação no sistema nervoso central. A acuidade e complexidade desses processos durante o desenvolvimento humano formam o substrato para atividades superiores como aprendizado, memória, percepção e cognição. Déficits no estabelecimento e nas funções sinápticas podem acarretar uma série de distúrbios neurológicos incluindo autismo, epilepsia, esquizofrenia e doenças neurodegenerativas, como as doenças de Alzheimer e Parkinson. Durante a última década, a Neurociência foi cenário de uma mudança de paradigma, caracterizada pelo surgimento crescente de evidências de que as células gliais, especialmente os astrócitos, são componentes ativos no funcionamento e nas patologias das sinapses. Recentemente, nosso grupo demonstrou que astrócitos controlam o balanço entre sinapses excitatórias e inibitórias do córtex cerebral através da síntese e secreção de fatores solúveis e ativação de vias de sinalização específicas. No entanto, os determinantes moleculares e celulares envolvidos nesses eventos ainda não são completamente conhecidos. Embora os nossos dados e de outros autores afirmem a propriedade sinaptogênica da glia, permanece inexplorado se esse é um princípio geral que se aplica a todos os tipos de astrócitos (e neurônios) em diferentes regiões cerebrais e, mais ainda, se é uma propriedade conservada evolutivamente nos mamíferos, incluindo o homem. Outra questão que permanece sem esclarecimento é qual o impacto de disfunções gliais nas distúrbios neurológicos associadas a déficits sinápticos. Desta forma, compreender os mecanismos de formação dos circuitos neuronais e estabelecimento de sinapses funcionais é essencial para o sucesso de abordagens terapêuticas capazes de recuperar o sistema nervoso humano doente.

**Objetivos propostos em 2018:** Nosso objetivo central é examinar o papel de astrócitos murinos e humanos na formação e disfunção das sinapses no SNC, contribuindo para entender os mecanismos de envolvimento da glia nos seguintes eventos: (i) evolução, heterogeneidade e desenvolvimento cerebral e (ii) distúrbios neurológicos associados a disfunções sinápticas. Neste contexto, destacam-se os objetivos abaixo.

- 1) Investigar os mecanismos moleculares e celulares envolvidos na sinaptogênese induzida por astrócitos:
  - 1.1) investigar estrutural e funcionalmente as diferenças entre as sinapses e sua correlação com os astrócitos durante o desenvolvimento, período adulto e envelhecimento, em modelo murino;
  - 1.2) investigar a heterogeneidade astrocitária, perfil transcricional (secretoma) e sua correlação com o potencial sinaptogênico da glia de diferentes regiões do cérebro;
- 2) Investigar as propriedades sinaptogênicas de astrócitos humanos e sua correlação com aquisições evolutivas;
- 3) Estudar a relação das disfunções astrogliais e o estabelecimento e desenvolvimento de doenças com déficits cognitivos (Alzheimer e Esquizofrenia) em modelos pré-clínicos, *in vitro* e em células derivadas de pacientes;
  - 3.1) investigar o efeito de astrócitos nas disfunções sinápticas na Doença de Alzheimer, utilizando modelos experimentais *in vitro* e *in vivo*;
  - 3.2) investigar o efeito de astrócitos nas disfunções sinápticas da Esquizofrenia.

**Relatório 2019-2021:** (1) Caracterizamos os mecanismos celulares e moleculares do envelhecimento em modelos animais. Identificamos que o envelhecimento em camundongos e humanos é acompanhado por uma drástica redução na densidade sináptica hipocampal e alterações morfológicas e funcionais nos astrócitos; (2) Identificamos biomarcadores teciduais em roedores e humanos, associados à senescência celular e à doença de Alzheimer, incluindo TGF- $\beta$ 1 (fator de crescimento transformante beta 1) e a proteína nuclear, lamina B1; (3) Identificamos mecanismos celulares e moleculares comuns que envolvem as células gliais, microglia e astrócitos, em doenças neurodegenerativas e neuroinflamatórias, como doença de Alzheimer, Parkinson, esclerose múltipla e doenças virais/bacterianas. Identificamos um novo mecanismo, via Nogo-A, pelo qual a mielinização influencia a função astrocitária; (4) Caracterizamos diferenças na ativação de vias de sinalização glutamatérgicas e de fatores de crescimento em astrócitos em resposta a diferentes insultos e seu impacto para doenças neurodegenerativas.

**Referências de destaque:** (1) Espírito-Santo S, Coutinho V, Dezzone R, Stipursky J, Rodrigues A, Baptista C, Carvalho RP, Fuss B, Gomes FCA (2021) Astrocytes as a target for Nogo-A and implications for synapse formation in vitro and in a model of acute demyelination. *Glia* 69:1429-1443. | (2) Diniz LP, Matias ICP, Araujo APB, Garcia MN, Barros-Aragão F, Alves-Leon SV, Marcondes J, Foguel D, Figueiredo CP, Braga C, Romão LF, Gomes FCA (2019)  $\alpha$ -synuclein oligomers enhance astrocyte-induced synapse formation through TGF- $\beta$ 1 signaling in a Parkinson's disease model. *Journal of Neurochemistry* 150:138-157.

**Premiações:** (1) Presidente da International Society for Neurochemistry (ISN) 2021-2023 (Flavia A. Gomes) | (2) Menção Honrosa na XLII Jornada Giulio Massarani de Iniciação Científica da UFRJ (aluna Laís da Silva Neves) | (3) Travel Award ISN-Flagship School, International Society for Neurochemistry (aluna posdoc Isadora Matias) | (4) Bolsa Mestrado Nota 10 da FAPERJ 2020 (aluna Isabella V. Dinamico) | (5) Menção Honrosa Prêmio Juarez Aranha Ricardo, SBNeC 2020 (aluna Isabella Vivarini) | (6) Sanofi Travel Award American Society for Neurochemistry 2020 (aluno Luan Diniz) | (7) Bolsa Mestrado Nota 10 da FAPERJ 2019 (aluna Juliana M. de Paula).

**Divulgação para o grande público:** (1) Conversa com Neurocientistas, SBNeC e Dana Foundation, celebrando a X Semana Nacional do Cérebro e a Brain Awareness Week 2021 | (2) Instagram #GomesLab (desde 2020).

**Informações adicionais:** <http://lattes.cnpq.br/5282347749032952>

**(2.5) Papel de neuromediadores na retina normal e doente** (Pesquisadora responsável: Karin Calaza, CPF 028.719.687-99, Instituto de Biologia da Universidade Federal Fluminense)

**Contexto e justificativa:** O contínuo aumento da expectativa de vida aliado ao estilo de vida atual são fatores que favorecem o aumento da incidência de diversas doenças. Várias destas doenças, que levam a déficits oftalmológicos e reduzem a eficiência visual por afetar a integridade da retina, são acompanhadas de isquemia. Uma dessas doenças é o *diabetes mellitus* que, segundo estimativa da OMS, tem cerca de 170 milhões de pacientes no mundo. Nosso grupo mostrou que o óxido nítrico (NO), assim como hiperglicemia, hipoglicemia e isquemia modulam a liberação de GABA na retina de pinto. A hiperglicemia também está associada ao aumento do estresse oxidativo na retina. Um dos mais importantes antioxidantes das células é a glutatona, cuja síntese depende do transportador  $x_c^-$ . Porém, não há na literatura nenhum relato do impacto da hiperglicemia e isquemia no funcionamento deste sistema tão importante.

**Objetivos propostos em 2018:**

- 1) Investigar o papel do NO na modulação da liberação de GABA na hiperglicemia e na isquemia.
- 2) Avaliar a expressão e a atividade do sistema  $x_c^-$  na retina de ratos diabéticos e na isquemia, bem como o impacto na produção de glutatona celular.
- 3) Avaliar o papel dos canabinoides na isquemia da retina.

**Relatório 2019-2021:** Em modelos de retinopatia diabética (RD), demonstramos alterações neurais precoces, com inflamação e estresse oxidativo (EO). Mesmo curtos períodos de hiperglicemia aumentam óxido nítrico (NO), inibindo a liberação de GABA. Na RD, há redução da ação de Nrf2, levando a diminuição do sistema  $x_c^-$ , glutatona e aumento do EO. A diminuição do sistema  $x_c^-$ , aumento do NO/EO e redução do tônus inibitório poderia contribuir para a morte celular em períodos precoces da RD. Nossos dados também apontam para o receptor TRPA1 como um sensor precoce de EO crucial para morte celular em eventos isquêmicos agudos e modelo de glaucoma. Finalmente, nosso grupo demonstrou que exposição a cafeína induz alterações neuroquímicas que tornam a retina, numa fase tardia do desenvolvimento, mais resistente a isquemia.

**Referências de destaque:** (1) Araujo DM, De Logu F, Adembri C, Rizzo S, Janal MN, Landinni L, Magi A, Mattei G, Cini N, Pandolfo P, Geppetti P, Nassini R, Calaza KC (2020) TRPA1 mediates damage of the retina induced by ischemia and reperfusion in mice. *Cell Death & Disease* 11(8):633. | (2) Pereira-Figueiredo D, Brito R, Araujo DSM, Nascimento AA, Lyra ESB, Cheibub AMSS, Netto ADP, Ventura ALM, Paes-de-Carvalho R, Calaza KC (2020) Caffeine exposure ameliorates acute ischemic cell death in avian developing retina. *Purinergic Signalling* 16:41-59.

**Destaques de divulgação para o grande público:** (1) Coordenação de um projeto de extensão na UFF (cerca de 40 palestras até o momento) sobre viés implícito, estereótipos e processamento cerebral | (2) Membro do Comitê de diversidade e inclusão da SBNeC | (3) Artigos sobre estereótipos na ciência.

**Informações adicionais:** <http://lattes.cnpq.br/5859948736421528>

### 3. BASES PARA A COMPREENSÃO DAS DOENÇAS NEUROPSIQUIÁTRICAS

Avançando mais diretamente a uma abordagem de doenças crônicas de grande prevalência no Brasil e no mundo, o INNT pretende enfrentar os mecanismos da doença de Alzheimer (Linhas de pesquisa 3.1 e 3.2), crescentemente entendida, em anos recentes, como resultante de uma disfunção sináptica relacionada à inibição da sinalização neuronal por insulina. Por essa razão, torna-se importante estudar a resistência cerebral à insulina (Linha 3.3) e a homeostase glicêmica (Linha 3.4), para revelar possíveis alvos terapêuticos que possam prevenir ou curar a DA, o diabetes e a obesidade mórbida. Dentre as doenças neurodegenerativas de alta prevalência, a doença de Parkinson será também estudada, em sua forma comórbida com depressão (Linha 3.5). Finalmente, um transtorno de grande importância neuropsiquiátrica, a epilepsia do lobo temporal mesial será abordada (Linhas 3.6 e 3.7) visando a identificar seus determinantes etiopatogênicos. Os grupos de pesquisa envolvidos neste subprojeto empregam distintas abordagens e metodologias, desde a biologia molecular e a bioquímica utilizando modelos animais, até a neuroimagem de seres humanos, o que representa um conjunto bastante abrangente, capaz de produzir conhecimento o mais completo possível sobre essas doenças.

**(3.1) Bases fisiopatológicas da doença de Alzheimer** (Pesquisador responsável: Sergio T. Ferreira, CPF 769.550.367-34, Instituto de Bioquímica Médica, Universidade Federal do Rio de Janeiro)

**Contexto e justificativa:** Com o envelhecimento da população mundial, tanto nos países desenvolvidos quanto nos que estão em processo de desenvolvimento, a incidência de doenças neurodegenerativas, e em particular da demência, vem aumentando significativamente. A doença de Alzheimer (DA) responde por mais de 50% dos casos de demência na população acima dos 65 anos de idade. Originalmente associada à presença de placas senis e emaranhados neurofibrilares como lesões histopatológicas características nos cérebros dos pacientes, a DA vem sendo reconhecida como uma doença associada à falha sináptica. Um crescente conjunto de evidências acumuladas nos últimos 15 anos indica que oligômeros solúveis do peptídeo amiloide- $\beta$  (A $\beta$ Os), que se acumulam em quantidades elevadas no cérebro DA, são as toxinas que impactam diretamente as sinapses levando à sua progressiva disfunção e à perda de memória na doença. Portanto, para além da compreensão detalhada da fisiopatologia da doença, elucidar os mecanismos moleculares e celulares pelos quais os oligômeros levam à disfunção sináptica poderá iluminar o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas e/ou preventivas para a DA.

**Objetivos propostos em 2018:**

Elucidar os mecanismos moleculares e celulares pelos quais oligômeros de A $\beta$  levam à disfunção sináptica e à perda de memória na DA.

- 1) Investigar a possibilidade de que A $\beta$ Os induzam ativação microglial para um fenótipo pró-inflamatório, resultando na secreção de citocinas pró-inflamatórias que disparam vias de sinalização indutoras de inibição da plasticidade ou alterações estruturais nas sinapses.
- 2) Investigar alterações transcricionais, traducionais ou na atividade do proteossomo induzidas pelo ataque das sinapses por oligômeros de A $\beta$ .
- 3) Considerando que pacientes DA apresentam significativas alterações no padrão de sono, determinar se A $\beta$ Os afetam a estrutura de sono em modelos animais da DA, e se a desregulação do ciclo sono/vigília potencializa o déficit sináptico e de memória induzido pelos A $\beta$ Os.

**Relatório 2019-2021:** Demonstramos que oligômeros do peptídeo A $\beta$ , toxinas que se acumulam no cérebro de pacientes com a doença de Alzheimer, promovem ativação da micróglia e liberação de citocinas pró-inflamatórias que causam comportamento depressivo em camundongos. Descobrimos que o vírus ZIKV infecta neurônios maduros em cérebros humano e de camundongos, ativam a micróglia levando à produção e liberação exacerbada de TNF $\alpha$ , e que a micróglia ativada engolfa e fagocita sinapses, levando a déficits de memória nos animais infectados. Além disso, demonstramos que a ativação, por via genética ou farmacológica, da síntese de proteínas no cérebro, é capaz de prevenir ou mesmo reverter déficits de funcionamento das sinapses e perda de memória em camundongos modelo da doença de Alzheimer. Por fim, estabelecemos que pacientes com demências, especialmente com doença de Alzheimer, apresentam riscos altamente elevados de infecção pelo vírus SARS-CoV-2, de agravamento da infecção e de morte por COVID-19.

**Referências de destaque:** (1) Figueiredo CP, Barros-Aragão F, Neris RLS, Frost OS, Zamberlan D, Antonio LMS, Soares C, Souza AS, Guimarães ALA, de Souza JM, Alves-Leon SV, De Felice FG, Assunção-Miranda I, Clarke JR, Da Poian AT, Ferreira ST (2019) Zika vírus replicates in adult human brain tissue and impairs synapses and memory in mice. *Nature Communications* 10(1):3890. | (2) Oliveira MM, Lourenço MV, Kasica N, Yang W, Ureta G, Ferreira DDP, Mendonça PHJ, Bernalles S, Ma T, De Felice FG, Klann E, Ferreira ST (2021) Correction of eIF2-dependent defects in brain protein synthesis, synaptic plasticity and memory in mouse models of Alzheimer's disease. *Science Signaling* 14(668):eabc5429.

**Premiações:** (1) IBRO Early Career Award 2021 (Mychael Lourenço) | (2) Co-Chair do Comitê de Programação Científica da Alzheimer's Association International Conference, 2020 (Sergio Ferreira)

**Destaques de divulgação para o grande público:** Entrevistas e reportagens sobre o trabalho do grupo:  
 (1) <https://g1.globo.com/globonews/estudio-i/video/estudo-brasileiro-traz-esperanca-para-tratamento-do-alzheimer-9244014.ghtml>  
 (2) <http://www.abc.org.br/2021/02/10/recuperacao-da-memoria-e-favorecida-por-sintese-proteica-cerebral/>  
 (3) <https://istoe.com.br/memoria-preservada-2/>  
 (4) <https://www.alzforum.org/news/research-news/make-proteins-save-memory-cellular-stress-response-and-synapses>  
 (5) <https://www.nia.nih.gov/news/mouse-study-suggests-repairing-brain-protein-production-could-counteract-alzheimers-disease>

**Informações adicionais:** <http://lattes.cnpq.br/6999749984515755>

**(3.2) Inibição da sinalização cerebral por insulina na doença de Alzheimer** (Pesquisadora responsável: Fernanda De Felice, CPF 011.624.917-01, Instituto de Bioquímica Médica, UFRJ)

**Contexto e justificativa:** Estudos epidemiológicos indicam que pacientes diabéticos apresentam maiores chances de desenvolver a doença de Alzheimer (DA) e que, reciprocamente, a prevalência de diabetes é maior em pacientes com Alzheimer. Pacientes com DA apresentam níveis diminuídos de receptores de insulina no cérebro e a doença cursa com uma resistência cerebral à insulina similar à observada periféricamente no diabetes tipo 2. Temos buscado identificar mecanismos envolvidos na disfunção da sinalização de insulina em modelos celulares e animais da doença de Alzheimer. Demonstramos que, nesses modelos, ocorre a remoção dos receptores de insulina das membranas neuronais e a corrupção de vias intracelulares de sinalização, bloqueando a sinalização de insulina. Por outro lado, a ativação do receptor de insulina é capaz de atenuar a toxicidade neuronal observada nestes modelos, levando à proteção das sinapses. Identificamos também que fármacos antidiabéticos, tais como exendin-4 e liraglutida, normalizam a via de sinalização da insulina e previnem os prejuízos cognitivos em modelos experimentais da DA. Como a sinalização por insulina desempenha papéis fundamentais em diversas funções do sistema nervoso central, incluindo a plasticidade sináptica, é importante compreender e identificar como a sinalização de insulina se encontra prejudicada na DA.

**Objetivos propostos em 2018:**

- 1) Investigar se a desregulação da sinalização neuronal por insulina hipocampal e cortical na doença de Alzheimer é mediada por mecanismos semelhantes aos causadores de resistência periférica à insulina no diabetes e síndrome metabólica.
- 2) Investigar se o estresse metabólico e a inflamação no hipotálamo fazem parte da fisiopatologia da doença de Alzheimer e se estão associados à desregulação metabólica periférica.
- 3) Investigar a associação entre dislipidemia e doença de Alzheimer, identificando se uma dieta rica em gordura leva ao aumento de ácidos graxos saturados (como o palmitato) no cérebro, e caracterizar vias moleculares alteradas no hipocampo que estejam associadas ao déficit cognitivo. Investigar se o palmitato induz neuropatologia semelhante à presente na doença de Alzheimer e quais os efeitos desse ácido graxo livre na sinalização neuronal por insulina.

**Relatório 2019-2021:** 1. Demonstramos que a irisina, um hormônio liberado pelo músculo em resposta ao exercício, tem ações neuroprotetoras em modelos animais da doença de Alzheimer. Nossos resultados demonstraram pela primeira vez a existência de uma comunicação músculo-cérebro e indicam que a irisina pode ter relevância terapêutica para a doença de Alzheimer. 2. Demonstramos que o palmitato, um ácido graxo muito presente em dietas ricas em gordura e alimentos industrializados, induz neuroinflamação e causa danos à cognição e memória em camundongos. Esses resultados indicam um mecanismo pelo qual dietas não saudáveis impactam o cérebro e podem levar a problemas de memória.

**Referências de destaque:** (1) Lourenço MV, Frozza RL, de Freitas GB, Zhang H, Kincheski GC, Clarke JR, Ribeiro FC, Beckman D, Staniszewski A, Berman HL, Guerra LA, Forny-Germano L, Meier S, Abisambra JF, Wilcock DM, Prado VF, Prado MAM, de Souza JM, Alves-Leon SV, Tovar-Moll F, Mattos P, Arancio O, Ferreira ST, De Felice FG. (2019) Exercise-linked FND5/irisin rescues synapse and memory defects in Alzheimer's models. *Nature Medicine* 25:165-175. | (2) Melo HM, Seixas da Silva GDS, Sant'Ana MR, Teixeira CVL, Clarke JR, Miya Coreixas VS, de Melo BC, Fortuna JTS, Forny-Germano L, Ledo JH, Oliveira MS, Figueiredo CP, Pardossi-Piquard R, Checler F, Delgado-García JM, Gruart A, Velloso LA, Balthazar MLF, Cintra DE, Ferreira ST, De Felice FG. (2020) Palmitate is increased in the cerebrospinal fluid of humans with obesity and induces memory impairment in mice via pro-inflammatory TNF- $\alpha$ . *Cell Reports* 30:2180-2194.

**Premiações:** (1) Inge Grundke-Iqbal Award for Alzheimer's Research – Alzheimer's Association USA Prêmio conferido ao autor correspondente do estudo de maior impacto na área de Alzheimer entre 1 de janeiro de 2019 a 31 de dezembro de 2020 (Fernanda De Felice)

**Destaques na divulgação para o grande público:**

- (1)<https://oglobo.globo.com/saude/bem-estar/o-exercicio-uma-terapia-para-cerebro-afirma-neurocientista-25165108>
- (2)<https://oglobo.globo.com/saude/cientistas-brasileiros-descobrem-como-prevenir-alzheimer-23352037>
- (3)<https://oglobo.globo.com/saude/alzheimer-um-diabetes-que-ocorre-no-cerebro-diz-pesquisadora-da-ufrj-17486989>
- (4)<https://oglobo.globo.com/saude/alzheimer-um-diabetes-que-ocorre-no-cerebro-diz-pesquisadora-da-ufrj-17486989>
- (5)<https://oglobo.globo.com/saude/cientistas-da-ufrj-descobrem-um-caminho-para-deter-mal-de-alzheimer-21474904>
- (6)<https://www.elsevier.com/life-sciences/neuroscience/journals/editors-in-the-spotlight/fernanda-g.-de-felice>
- (7)<https://www1.folha.uol.com.br/fsp/ciencia/fe0302200901.htm>
- (8)<https://www1.folha.uol.com.br/fsp/ciencia/fe1509201001.htm>
- (9)<https://m.folha.uol.com.br/ciencia/2010/09/799036-alzheimer-pode-ser-diabetes-cerebral-diz-pesquisa-da-ufrj.shtml>
- (10)<https://emails.estadao.com.br/noticias/geral,remedio-para-diabete-pode-tratar-alzheimer,317261>
- (11)<http://g1.globo.com/Noticias/Ciencia/0,,MUL983329-5603,00-TRATAMENTO+CONTRA+DIABETES+ATACA+MAL+DE+ALZHEIMER+MOSTRA+ESTUDO+BRASILEIRO.html>
- (12)<https://g1.globo.com/ciencia-e-saude/noticia/2020/02/20/estudo-liderado-por-brasileiros-aponta-relacao-entre-perda-de-memoria-excesso-de-peso-e-substancia-presente-em-comidas-gordurosas.ghtml>
- (13)<https://g1.globo.com/ciencia-e-saude/noticia/2019/01/07/pesquisa-liderada-por-brasileiros-aponta-que-hormonio-pode-reverter-perda-de-memoria-causada-pelo-alzheimer.ghtml>

**Informações adicionais:** <http://lattes.cnpq.br/9646923479627457>

**(3.3) Fatores ambientais e resistência cerebral à insulina** (Pesquisador responsável: Luis V. Portela, CPF 260.778.920-68, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul)

**Contexto e justificativa:** O alto conteúdo calórico na alimentação e o sedentarismo estão associados à resistência periférica e cerebral à insulina. Atualmente, é bem reconhecido que os receptores de insulina no cérebro regulam o metabolismo energético, exercem efeitos neurotróficos e modulam a neurotransmissão glutamatérgica. Por outro lado, a deficiência da sinalização cerebral desencadeia alterações intracelulares associadas ao início e progressão da doença de Alzheimer (DA). Nesse sentido, dietas ricas em açúcares simples e gorduras saturadas (hiperpalatáveis) causam resistência periférica à insulina, acompanhada de alterações em mecanismos cerebrais envolvidos na regulação da homeostasia energética, apoptose, produção de espécies reativas de oxigênio, sobrevivência neuronal e memória. Temos direcionado esforços no sentido de entender os mecanismos celulares e moleculares pelos quais dietas hiperpalatáveis e sedentarismo contribuem para essas anormalidades. Como intervenção preventiva ou terapêutica, buscamos identificar alvos moleculares em astrócitos e neurônios, que sejam capazes de proporcionar um fenótipo neuroprotetor em resposta ao exercício físico ou à administração de extratos de plantas da flora brasileira.

**Objetivos propostos em 2018:** O foco central do trabalho consiste em identificar mecanismos moleculares associados à resistência cerebral à insulina induzida por dietas hiperpalatáveis e desvendar o efeito protetor do exercício físico e extratos de plantas nestes mecanismos. Os objetivos mais específicos são os seguintes.

- 1) Avaliar o efeito da resistência à insulina na interação glia-neurônio via transferência de energia pelos transportadores de monocarboxilatos (MCT1, MCT2 e MCT4).

- 2) Avaliar o efeito da resistência à insulina na conectividade neuronal, no tráfego de vesículas sinápticas glutamatérgicas e proteínas associadas à transmissão glutamatérgica (expressão de transportadores gliais e de subunidades de receptores NMDA e suas proteínas cinases).
- 3) Investigar se o exercício físico ou os extratos de *C. baccatum* atenuam a resistência cerebral à insulina, via aumento das interações metabólicas entre os transportadores de monocarboxilados (MCTs) e da atividade mitocondrial.
- 4) Investigar a expressão de proteínas pro-apoptóticas e pro-sobrevivência neuronal e o efeito das intervenções acima (item 3) nessas proteínas.

**Relatório 2019-2021:** Entre os principais avanços conseguidos, podemos ressaltar: (1) o nosso laboratório demonstrou pela primeira vez que a insulina é capaz de promover uma ativação persistente da microglia e a expressão de COX-2/IL-1 $\beta$  em roedores jovens mas não em velhos, o que representa um novo mecanismo de resistência cerebral à insulina associado ao envelhecimento; (2) Com o apoio do INNT implementamos o primeiro laboratório de estudos translacionais em trauma crânio-encefálico (TCE) do Brasil, o que tem permitido desenvolver parcerias com hospitais públicos e de referência em neurotrauma no sul do Brasil; (3) Demonstramos em um modelo experimental de TCE grave que o hormônio testosterona atenua mecanismos que favorecem a neurodegeneração, e que a deficiência de insulina e hiperglicemia aumentam a mortalidade após um trauma; e (4) Ampliamos as colaborações com centros de referência internacionais em pesquisa básica e clínica em TCE, o que resultou em oportunidades para melhorar a formação dos pós-graduandos nesta área de pesquisa ainda incipiente no Brasil .

**Referências de destaque:** (1) Haas CB, de Carvalho AK, Muller AP, Eggen BJL, Portela LV. (2020) Insulin activates microglia and increases COX-2/IL-1 $\beta$  expression in young but not in aged hippocampus. *Brain Research* 1741:146884. (2) Nedel WL, Kopczynski A, Rodolphi MS, Strogulski NR, De Bastiani M, Montes HM, Abruzzi Jr J, Galina A, Horvath TL, Portela LV (2021) *Intensive Care Medicine Experimental* 9(1):39.

**Destaques na divulgação para o grande público:** Instagram do Laboratório de Neurotrauma e Biomarcadores ([www.instagram.com/neurotrauma/](http://www.instagram.com/neurotrauma/))

**Informações adicionais:** <http://lattes.cnpq.br/1044603525620701>

**(3.4) Regulação central do balanço energético e da homeostase glicêmica** (Pesquisador responsável: José Donato Jr., CPF 264.588.638-88, Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo)

**Contexto e justificativa:** A obesidade e o diabetes mellitus tornaram-se epidemias mundiais. Estas doenças aumentam a incidência de problemas cardiovasculares, alguns tipos de câncer e diversos distúrbios que comprometem significativamente a qualidade e a expectativa de vida, e produzem elevados custos sociais e para o sistema nacional de saúde. Apesar da importância da obesidade, os tratamentos são limitados e com pouca eficácia em longo prazo. No que se refere ao diabetes, embora as terapias atuais consigam controlar a glicemia dos pacientes, a mortalidade e a morbidade ainda são elevadas. Assim, torna-se essencial o conhecimento de novas vias moleculares que possam ser alvos mais eficazes de fármacos no tratamento da obesidade e do diabetes mellitus. Estudos recentes têm apontado vias neurais específicas que podem ser manipuladas a fim de tratar eficientemente a obesidade e o diabetes mellitus. Essas vias envolvem neurônios sensíveis ao hormônio leptina e que são capazes de regular a ingestão alimentar, o gasto energético, aspectos hedônicos da alimentação, a produção hepática de glicose e o controle sistêmico da glicemia. Temos concentrado esforços em elucidar mecanismos com potencial de tornarem-se novas vias terapêuticas no tratamento da obesidade e do diabetes mellitus.

### **Objetivos propostos em 2018:**

- 1) Identificar potenciais vias terapêuticas para o tratamento da obesidade e do diabetes mellitus:
  - 1.1) Investigar a participação da proteína intracelular SOCS3 na predisposição à obesidade e na resistência à insulina induzida pela dieta ou durante o envelhecimento;
  - 1.2) Estudar o potencial de antagonistas da prolactina como drogas no tratamento da obesidade e do diabetes;
2. Esclarecer os mecanismos neurofisiológicos da ação da leptina:
  - 2.1) Compreender a importância da resistência à leptina como causa da obesidade e do diabetes mellitus;
  - 2.2) Investigar possíveis efeitos colaterais de condições que aumentam a sensibilidade à leptina;
  - 2.3) Estudar as consequências da falta de sinalização por leptina durante o período de desenvolvimento do sistema nervoso.

**Relatório 2019-2021:** No que se refere ao objetivo de identificar potenciais vias terapêuticas para o tratamento da obesidade e do diabetes mellitus, conseguimos demonstrar que a administração de antagonistas do receptor de prolactina é capaz de melhorar a resistência à insulina em modelos de animais geneticamente obesos. Além disso, diversos estudos de nosso grupo de pesquisa demonstraram que a proteína SOCS3 é responsável por alterações metabólicas em diversas situações patológicas e fisiológicas. Em relação ao objetivo de esclarecer os mecanismos neurofisiológicos da ação da leptina, demonstramos que a falta de sinalização por leptina durante o período de desenvolvimento causa alterações metabólicas permanentes. Ainda, demonstramos que a leptina age em diferentes populações neurais para regular o metabolismo.

**Referências de destaque:** (1) Wasinski F, Pedroso JAB, Dos Santos WO, Furigo IC, Garcia-Galiano D, Elias CF, List EO, Kopchick JJ, Szawka RE, Donato Jr J (2020) Tyrosine hydroxylase neurons regulate growth hormone secretion via short-loop negative feedback. *Journal of Neuroscience* 40:4309-4322. | (2) Wasinski F, Barrile F, Pedroso JAB, Quaresma PGF, Dos Santos WO, List EO, Kopchick JJ, Perelló M, Donato J (2021) Ghrelin-induced food intake, but not GH secretion, requires the expression of the GH receptor in the brain of male mice. *Endocrinology* 162:bqab097

**Premiações:** 2021 Michael Harbuz Prize for Early Career Researchers (prêmio oferecido pela British Society of Neuroendocrinology a Isadora C. Furigo) | Society for Endocrinology 2021 Journal Award (Isadora C. Furigo).

### **Destaques na divulgação para o grande público:**

- (1) <https://www1.folha.uol.com.br/ciencia/2021/09/estudo-mostra-como-o-hormonio-do-crescimento-age-no-cerebro-e-ajuda-a-estimular-o-apetite.shtml>
- (2) <https://ww3.icb.usp.br/hormonio-do-crescimento-tambem-e-responsavel-por-causar-a-fome/>
- (3) <http://www.tribunadonorte.com.br/noticia/estudo-mostra-como-a-hormo-nio-do-crescimentoa-age-no-ca-rebro-e-ajuda-a-estimular-apetite/521461>
- (4) <https://jornal.usp.br/ciencias/estudo-mostra-como-o-hormonio-do-crescimento-age-no-cerebro-e-estimula-o-apetite/>

**Informações adicionais:** <http://lattes.cnpq.br/0230773470450062>

**(3.5) Transtornos dos núcleos da base** (Claudio Da Cunha, CPF 269.236.371-04, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná)

**Contexto e justificativa:** Disfunções dos núcleos da base ou de sua modulação dopaminérgica estão implicadas em várias doenças neuropsiquiátricas, entre elas a doença de Parkinson com comorbidade de depressão (DP/D). A dopamina exerce um papel chave na motivação e na seleção de ações motoras. Modelos da DP em ratos (e.g., infusão de MPTP ou 6-hidroxidopamina na parte compacta da substância negra, SNC) mimetizam o quadro depressivo associado à DP. Recentemente, mostramos que ratos tratados com MPTP apresentam déficits de aprendizagem motivada por estímulos aversivos, mas não por estímulos apetitivos. A compreensão do papel dos núcleos da base na aprendizagem, seleção e desempenho de ações motivadas é crítica para formular novas estratégias de tratamento dos transtornos dos núcleos da base. Com esse objetivo, estudamos respostas emocionais de vocalização ultrassônica e a liberação fásica de dopamina frente a estímulos apetitivos e aversivos no modelo do MPTP, e testamos as hipóteses de que os neurônios do corpo estriado dorsal codificam (iniciam) ações de partes específicas do corpo direcionadas a um objeto (“*body-part go cells*”) e neurônios do estriado ventral iniciam ações de aproximação a um lugar específico (“*place-to-go cells*”).

### **Objetivos propostos em 2018:**

- 1) Testar a hipótese de que existem *body-part go cells* no estriado dorsolateral (EDL) de roedores.
- 2) Testar a hipótese de que existem *place-to-go cells* no núcleo acumbente (NAc) de roedores.
- 3) Estudar a liberação fásica de dopamina durante a emissão de respostas de vocalização ultrassônica em ratos tratados com MPTP frente a estímulos apetitivos ou aversivos.
- 4) Realizar estudos pré-clínicos sobre a eficácia e mecanismos de ação de drogas com potencial terapêutico para o tratamento da DP/D, avaliando a reversão/normalização de:
  - 4.1) Anedonia no teste de preferência de sacarose.
  - 4.2) Desespero comportamental no teste de natação forçada.
  - 4.3) Vocalizações ultrassônicas de alta frequência frente a estímulos apetitivos.
  - 4.4) Ritmo circadiano da atividade locomotora de ratos com parkinsonismo e comportamento tipo depressivo.
  - 4.5) Neurogênese hipocampal em ratos com parkinsonismo e comportamento tipo depressivo.

**Relatório 2019-2021:** Mostramos que durante a locomoção em busca de uma recompensa os neurônios do núcleo acumbente (NAc) se ativam em padrões compatíveis com a hipótese de que controlam o vigor da locomoção: um subgrupo se ativa como se aumentasse a velocidade da fase de aceleração, outro se ativa como se reduzisse a velocidade para que o animal pare no local da recompensa e um terceiro é inibido durante toda a locomoção. Mostramos que a liberação fásica de dopamina no NAc é inibida por benzodiazepinas e neuroesteróides e que essas drogas bloqueiam o aumento na liberação de dopamina induzida por anfetamina e cocaína. Além disso, mostramos que benzodiazepinas e neuroesteróides também bloqueiam comportamentos tipo disfóricos (hiperambulação e estereotipias) e associados ao aumento da motivação (vocalizações na faixa de 50 kHz) em ratos tratados com cocaína ou anfetamina. Essas descobertas sugerem os sítios alostéricos do receptor GABA-A como novos alvos para o tratamento do transtorno de uso de estimulantes.

**Referências de destaque:** (1) Sanchez WN, Pochapski JA, Jessen LF, Ellenberger M, Schwarting RK, Robinson DL, Andreatini R, Da Cunha C. (2021) Diazepam attenuates the effects of cocaine on locomotion, 50-kHz ultrasonic vocalizations and phasic dopamine in the nucleus accumbens of rats. *British Journal of Pharmacology* doi: 10.1111/bph.15658. | (2) Levick D, Sugi AH, Pochapski JA, Baltazar G, Pulido LN, Villas-Boas C, Aguiar-Rivera M, Fuentes-Flores R, Nicola SM, Da Cunha C (2021) Nucleus accumbens neurons encode reward approach locomotion. *eNeuron* (aceito para publicação).

**Informações adicionais:** <http://lattes.cnpq.br/6408257624509628>

**(3.6) Mecanismos subjacentes à epileptogênese e antiepileptogênese** (Pesquisador responsável: Esper Cavalheiro, CPF: 763.105.668-49, Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo)

**Contexto e Justificativa:** A Epilepsia do Lobo Temporal Mesial (ELTM) é um distúrbio neurológico progressivo e o tipo mais frequente de epilepsia em adultos, potencialmente devastadora e associada a alta morbidade e mortalidade. Atualmente, o controle das epilepsias baseia-se, exclusivamente, na supressão dos seus sintomas (crises epilépticas), com sucesso em até 70% dos pacientes. A cirurgia de ressecção é a única cura existente, o que ressalta a busca urgente por terapias modificadoras da doença de atuação efetiva na epilepsia subjacente. A ELTM é frequentemente precedida por algum insulto inicial (traumatismo crânio-encefálico, estado de mal epiléptico) que, após um período de latência, culmina em crises espontâneas e recorrentes. Este período latente é pré-sintomático (epileptogênese), quando o encéfalo passa por alterações progressivas que levam às crises espontâneas, e representa uma janela de oportunidade. Terapias para evitar a epilepsia ou reduzir a epileptogênese são inexistentes. A necessidade premente de desenvolver novas terapias implica uma profunda compreensão dos mecanismos biológicos subjacentes à epileptogênese. No entanto, esse processo ainda é pouco compreendido. Assim, uma questão fundamental emerge: quais são os mecanismos subjacentes à epileptogênese e antiepileptogênese?

**Objetivos propostos em 2018:**

- 1) Elucidar os mecanismos naturais de proteção homeostática dos roedores neotropicais *Proechimys*, que apresentam resistência atípica ao desenvolvimento de epilepsia, e mecanismos antiepileptogênicos endógenos.
- 2) Determinar os principais mecanismos da múltipla resistência às drogas (MRD) no cérebro de ratos com crises persistentes (modelo pilocarpina); utilizar terapias farmacológicas (melatonina e rapamicina) para o entendimento do papel da MRD na epilepsia, e determinar o padrão de morte celular nas condições de fármaco-resistência e não resistência.
- 3) Examinar o sistema inibitório/excitatório de animais com epilepsia treinados e a susceptibilidade à ocorrência de crises após um insulto inicial (*status epilepticus*) depois de um programa de atividade física.
- 4) Elucidar as alterações cerebrais morfológicas, proteicas e genéticas na prole de ratas epilépticas submetidas a insultos hipóxico-isquêmicos durante a vida intrauterina, provocados pelas convulsões maternas, utilizando o modelo da pilocarpina.
- 5) Desenvolver uma classificação estatística dos sinais eletrofisiológicos (atividade epiléptica ictal e crise a partir dos potenciais de campo), utilizando métodos lineares e não-lineares
- 6) Investigar o papel mútuo do núcleo tegmentar pedúnculo-pontino e da substância negra *pars compacta* durante o sono de movimentos oculares rápidos como um potencial sistema antiepileptogênico durante o ciclo sono-vigília.
- 7) Correlacionar atividade sináptica, alterações neuroquímicas e perda celular em amostras de tecidos humanos provenientes de cirurgias para tratamento da epilepsia, com os dados clínicos e de neuroimagem dos pacientes operados.

**Relatório 2019-2021:** Os principais achados nesse período podem ser assim resumidos: (1) Estudos com tecido humano obtido por ressecção da região hipocampal para tratamento de pacientes com epilepsia refratária mostrou que cada subregião hipocampal (CA1-4 e giro dentado) apresenta padrões epileptiformes diferentes e processa a atividade elétrica de uma maneira específica, uma vez que uma faixa de frequência da atividade epileptiforme foi observada para cada área do hipocampo. (2) Estudos em animais de laboratório com epilepsia evidenciaram que as oscilações rápidas, nomeadamente ondas gama e beta 2, são predominantemente moduladas na atividade cerebral durante as crises. Ambas as abordagens indicam que os microcircuitos locais não respondem uniformemente ao fenômeno epileptogênico e que, por esta razão, as características clínicas de cada crise epiléptica e as comorbidades associadas poderiam ser devidas a

alterações próprias de cada microcircuito cuja atividade ativaria redes neuronais diversas levando a padrões diversos.

**Referências de destaque:** (1) Reyes-Garcia SZ, Scorza CA, Araujo NS, Ortiz-Villatoro NN, Jardim AP, Centeno R, Yacubian EMT, Faber J, Cavalheiro EA (2018) Different patterns of epileptiform-like activity are generated in the sclerotic hippocampus from patients with drug-resistant temporal lobe epilepsy. *Scientific Reports* 8(1) 7116. | (2) Pinheiro DJLL, Oliveira LF, Souza INO, Brogin JAF, Bueno DD, Miranda IA, Da Poian AT, Ferreira ST, Figueiredo CP, Clarke JR, Cavalheiro EA, Faber J (2020) Modulation in phase and frequency of neural oscillations during epileptiform activity induced by neonatal Zika vírus infection in mice. *Scientific Reports* 10(1) 6763.

**Premiações:** Professor emérito da Escola Paulista de Medicina (2020), Universidade Federal de São Paulo (Esper Cavalheiro)

**Destaques na divulgação para o grande público:** (1) Realização anual da Escola Latinoamericana de Verão em Epilepsia | (2) Número especial comemorativo do 15º aniversário da Escola, pela revista *Seizure (European Journal of Epilepsy)* ([https://www.seizure-journal.com/issue/S1059-1311\(21\)X0006-4](https://www.seizure-journal.com/issue/S1059-1311(21)X0006-4)).

**Informações adicionais:** <http://lattes.cnpq.br/9867636928092492>

**(3.7) Estudo multimodal e integrado de alterações em neuroimagem e vias moleculares relacionadas aos distúrbios de memória em modelos animais de epilepsia do lobo temporal mesial** (Pesquisador responsável: Fernando Cendes, CPF 279.086.661-91, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas)

**Contexto e justificativa:** Como mencionado acima, as epilepsias afetam aproximadamente 1-2% da população mundial, sendo a epilepsia do lobo temporal mesial o subtipo mais frequente. A ELTM frequentemente se associa a lesões estruturais na porção mesial do lobo temporal, sobretudo a esclerose hipocampal (EH), o que leva a disfunções de memória verbal e espacial em um grande número de pacientes. Ferramentas multimodais de neuroimagem associadas a estudos neuropsicológicos / comportamentais contribuem cada vez mais para a melhor compreensão da ELTM em geral e, especificamente, do comprometimento dos processos cognitivos dependentes de estruturas límbicas. Entretanto, seguem incompletos: (i) o conhecimento acerca da evolução temporal do comprometimento cognitivo observado na ELTM; (ii) os mecanismos moleculares responsáveis por estas alterações; (iii) a extensão dos circuitos neurais comprometidos na ELTM; e (iv) os mecanismos pelos quais drogas antiepilépticas podem modificar o desempenho cognitivo na ELTM. Desta forma, estudos longitudinais de neuroimagem em modelos animais de ELTM, associados à investigação de mecanismos moleculares envolvidos nas alterações da função do sistema nervoso, empregando-se ferramentas que geram grande volume de informação biológica e de maneira integrada, podem trazer informações relevantes na compreensão destes mecanismos, permitindo o desenvolvimento de melhores opções terapêuticas para esses pacientes.

**Objetivos propostos em 2018:**

- 1) Explorar os mecanismos moleculares envolvidos no comprometimento da função das estruturas mesiais temporais em diferentes modelos animais de ELTM.
- 2) Correlacionar o desempenho em testes comportamentais e de memória com alterações funcionais e estruturais detectadas por diferentes técnicas de imagem de ressonância magnética (RM) quantitativas.

3) Investigar os processos biológicos alterados em diferentes componentes do sistema hipocampal através da análise global do epigenoma, transcriptoma, proteoma e metaboloma de tecido obtido das estruturas límbicas de diferentes modelos animais de ELTM.

4) Investigar o efeito de intervenção farmacológica sobre os processos biológicos identificados como envolvidos no comprometimento da função do sistema límbico em modelos animais de ELTM.

**Relatório 2019-2021:** Nossas observações e publicações têm ajudado a elucidar a relação entre lesão ou disfunção neuronal, atrofia das estruturas temporais e extratemporais, déficit neuropsicológico, e extensão da zona epileptogênica. Demonstramos que há um espectro de alterações neuronais e gliais na ELT, associado à farmacorresistência, sendo maior na EH do lado esquerdo e menos severo na ELT com ressonância magnética negativa. Nosso grupo também investigou processos biológicos alterados no sistema hipocampal através da análise global do epigenoma, transcriptoma, proteoma e metaboloma de tecido obtido das estruturas límbicas de diferentes modelos animais de ELT. Nossos resultados indicam que existem diferenças nos perfis proteômicos de diferentes camadas do hipocampo (célula granular e molecular), bem como de diferentes regiões, do giro denteado (GD ventral e dorsal) em um modelo de estimulação elétrica de EH. Identificamos novas vias de sinalização e proteínas presentes em camadas e regiões específicas do DG, como PARK7, RACK1 e conexina 31/gap-junction. Também encontramos duas vias de sinalização principais que são comuns a todas as camadas e regiões: inflamação e metabolismo energético.

**Referências de destaque:** (1) do Canto AM, Vieira AS, H B Matos A, Carvalho BS, Henning B, Norwood BA, Bauer S, Rosenow F, Gilioli R, Cendes F, Lopes-Cendes I. Laser microdissection-based microproteomics of the hippocampus of a rat epilepsy model reveals regional differences in protein abundances. (2020) *Scientific Reports* 10(1):4412. | (2) Pimentel-Silva LR, Casseb RF, Cordeiro MM, Campos BAG, Alvim MKM, Rogerio F, Yasuda CL, Cendes F. Interactions between in vivo neuronal-glia markers, side of hippocampal sclerosis, and pharmacoresponse in temporal lobe epilepsy. (2020) *Epilepsia* 61:1008-1018.

**Premiações:** Prêmio Jovem Pesquisador, do World Congress on Brain, Behavior and Emotions (aluno de IC Marcelo E. Ramos Barbosa).

**Destaques na divulgação para o grande público:** (1) Agência FAPESP: <https://agencia.fapesp.br/study-identifies-306-genetic-variants-linked-to-brain-structure-and-predisposition-to-certain-diseases/33403/> | (2) Perfil na revista Lancet Neurology (Fernando Cendes): <https://www.brainn.org.br/the-lancet-neurology-publica-perfil-de-fernando-cendes/>

**Informações adicionais:** <http://lattes.cnpq.br/4754944655427183>

#### 4. NOVAS PROPOSTAS PARA A CLÍNICA DE DOENÇAS NEUROPSIQUIÁTRICAS

Este último subprojeto chega mais perto do diagnóstico e das terapias, seja prospectando drogas com possibilidades terapêuticas para as epilepsias (Linha 4.1), alternativas para o tratamento de transtornos psiquiátricos complexos, como a esquizofrenia, com base na reprogramação de células-tronco de pluripotência induzida (Linha 4.2), o estudo das bases neurais da emocionalidade e comportamento social humano, com implicações para o entendimento de transtornos neuropsiquiátricos, notadamente as sociopatias (Linha 4.3), e o desenvolvimento de biomarcadores para o diagnóstico precoce de demências (Linha 4.4). Neste caso, o INNT estabelece uma ponte com a prática hospitalar, mediante um convênio com a Rede D'Or de Hospitais, no Rio de Janeiro, que já utiliza protocolos provenientes de nossas linhas de pesquisa. O desenvolvimento dessa linha de ação, evidentemente, possibilitará, também, a chegada destas inovações ao Sistema Único de Saúde (SUS), beneficiando boa parte da população brasileira.

**(4.1) Aspectos translacionais dos mecanismos não-sinápticos nas epilepsias** (Pesquisador responsável: Antonio-Carlos Guimarães Almeida, CPF 485.400.136-49, Departamento de Engenharia de Biosistemas da Universidade Federal de São João del Rey)

**Contexto e justificativa:** O substrato iônico em que está imersa a circuitaria sináptica é constituído pela rede glial, a matriz extracelular e a solução iônica extracelular. A homeostase iônica é regulada por mecanismos não-sinápticos, tais como cotransportadores, trocadores de íons e bombas eletrogênicas, presentes nas membranas neuronais e gliais. A matriz extracelular, por conter em sua estrutura uma plêiade de sítios negativos, também exerce papel regulador sobre os cátions. Alterações nesses mecanismos podem resultar em modificações transitórias na composição iônica extracelular, modulando as atividades da circuitaria sináptica e resultando em paroxismos que podem levar à instalação de condições favoráveis a crises epilépticas recorrentes e até mesmo à morte súbita. A complexidade da dinâmica não-linear dos processos envolvidos torna essencial utilizar a simulação computacional para analisar e propor medidas experimentais. Esse tipo de abordagem é altamente promissor no estudo das epilepsias refratárias aos medicamentos disponíveis. Conjectura-se que a identificação de estratégias de interferência sobre a homeostase iônica possa oferecer grandes chances para o reequilíbrio da homeostase iônica. Com esse tipo de investigação, pretende-se o restabelecimento da atividade normal da rede neuronal, favorecendo o curso do desenvolvimento cerebral.

**Objetivos propostos em 2018:**

O foco desta linha de pesquisa consiste em identificar a dinâmica complexa da homeostase iônica durante a instalação e o estabelecimento das crises epilépticas, visando estratégias para a prevenção e supressão das epilepsias refratárias aos medicamentos disponíveis.

- 1) Investigar alterações na expressão e função de mecanismos não-sinápticos envolvidos no controle da homeostase iônica, tais como enzimas co-transportadoras (NKCC, KCC), trocadores (Na/H, Na/HCO<sub>3</sub>), e a bomba Na-K/ATPase, nos diferentes modelos experimentais de epilepsia e em situações potencialmente capazes de desencadear eventos trágicos (morte súbita);
- 2) Investigar o efeito dessas alterações sobre a homeostase iônica nas diferentes situações experimentais;
- 3) Prospectar drogas ou toxinas de ação anti-epileptogênica e com alvos não-sinápticos;
- 4) Desenvolver um modelo computacional que permita entender e prever alterações da homeostase iônica nas regiões envolvidas nas crises epilépticas.

**Relatório 2019-2021:** O entendimento atual das funções cerebrais está centrado em propriedades da circuitaria sináptica. Mecanismos não-sinápticos, ou seja, não diretamente associados ao processo de neurotransmissão sináptica, são negligenciados. Entretanto, trabalhos do nosso grupo de pesquisa mostraram que os mecanismos de regulação iônica, as conexões não-sinápticas (efeito de campo elétrico, efeito efáptico e gap-junctions), bem como todo processo de metabolismo e a regulação do pH, são altamente influentes sobre o estado da circuitaria sináptica. Nosso grupo mostrou que as epilepsias, em especial as do lobo temporal, bem como o fenômeno da depressão alastrante, investigadas por meio de modelos experimentais, demonstram alterações funcionais e histológicas da estrutura não-sináptica. Experimentos eletrofisiológicos em fatias de hipocampo, avaliações morfológicas (imuno-histoquímica com microscopia confocal) do tecido e simulações computacionais são utilizados nos estudos. Os trabalhos foram inicialmente concentrados no estudo das epilepsias e depressão alastrante. Os resultados alcançados mostraram que o entendimento sobre os mecanismos não-sinápticos poderia ser extrapolado para estudos em redes neurais realísticas (detalhamento da estrutura eletroquímica de redes de neurônios às mais modernas “spiking neural networks”). Esses achados tiveram impacto tanto sobre o entendimento das patologias estudadas, quanto em aplicações tecnológicas para sistemas de reconhecimento de padrões e mineração de dados.

**Referências de destaque:** (1) Rodrigues AM, Silva DB, Miranda MF, Silva SCB, Santos LEC, Scorza FA, Scorza CA, Moret MA, Almeida ACG (2021) The effect of low magnesium concentration on ictal discharges in a non-synaptic model. *International Journal of Neural Systems* 31:2050070. | (2) Depannemaecker D, Canton Santos LE, Rodrigues AM, Scorza CA, Scorza FA, Almeida ACG (2020) Realistic spiking neural network: Non-synaptic mechanisms improve convergence in cell assembly. *Neural Networks* 122:420-433.

**Premiações:** (1) Menção honrosa do Prêmio Capes de Teses 2019 (aluna Keite Lira A. França) | (2) Prêmio Candido Pinto de Melo do Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica 2018 (1º lugar, aluna Samyra G. Cecilio)

**Destaques na divulgação ao grande público:** Documentário em 2 partes: “Cérebro: Entendendo o Caos e as Crises Epilépticas”, na série HPC Spotlight – Pesquisa e Ciência no Brasil (<https://www.youtube.com/watch?v=4RuliOKkn2U> e <https://www.youtube.com/watch?v=VhGD1bvC36Q>)

**Informações adicionais:** <http://lattes.cnpq.br/2815105916715425>

**(4.2) Mecanismos fisiopatológicos e novos tratamentos para esquizofrenia a partir de reprogramação celular** (Pesquisador responsável: Stevens Rehen, CPF 025.873.817-03, Instituto de Ciências Biomédicas da UFRJ e Instituto D’Or de Pesquisa e Ensino do Rio de Janeiro)

**Contexto e justificativa:** A esquizofrenia é um distúrbio do neurodesenvolvimento que acomete 1% da população mundial, abrangendo sintomas cognitivos (déficits na atenção, memória ou planejamento), positivos (alucinações e delírios) e negativos (inabilidades na fala ou na expressão de emoções), que podem aparecer de forma isolada ou combinada. A esquizofrenia se encontra entre as dez maiores causas de incapacidade em todo o mundo. No Brasil, impõe gastos diretos ao SUS em torno de 200 milhões de reais por ano e custos indiretos incalculáveis, uma vez que afeta familiares e indivíduos no auge de sua vida produtiva. Atualmente, não há tratamentos que modifiquem a história natural deste transtorno mental (*tratamentos modificadores de doença*). Células-tronco de pluripotência induzida (iPS) são um excelente modelo para estudar doenças do neurodesenvolvimento, incluindo a esquizofrenia. Recentemente, nosso laboratório obteve êxito na geração de células iPS de controles e pacientes com esquizofrenia, na diferenciação destas células em progenitores neurais e neurônios pós-mitóticos, e na utilização destas células em estudos fenotípicos relacionados ao metabolismo do oxigênio e das defesas celulares antioxidantes e de alterações nos níveis de zinco e potássio. Culturas tridimensionais de organoides cerebrais (minicérebros) recapitulam o desenvolvimento normal e anormal do cérebro humano, de modo a facilitar o estudo de doenças do sistema nervoso central. Na presente proposta, avançamos na caracterização de fenótipos moleculares e celulares associados à esquizofrenia, estudando a neurogênese e a diferenciação de tipos celulares neuronais e gliais em minicérebros gerados a partir de células iPS de pacientes esquizofrênicos e controles.

**Objetivos propostos em 2018:** O foco consiste em estabelecer uma plataforma translacional para o estudo de mecanismos fisiopatológicos e o desenvolvimento de *tratamentos modificadores de doença* para esquizofrenia, através da caracterização de organoides cerebrais humanos diferenciados a partir de células-tronco de pluripotência induzida (iPS), combinada a técnicas de biologia molecular e varredura de alto conteúdo (*high content screening*).

O projeto contemplará:

- 1) expansão do banco de células iPS de pacientes esquizofrênicos e controles, a partir de amostras da pele e urina, para a geração de culturas de neurônios e organoides cerebrais humanos;

- 2) comparação de características morfológicas, estruturais (organização de regiões cerebrais) e de neurodesenvolvimento em minicérebros derivados de células obtidas de pacientes com esquizofrenia e controles;
- 3) investigação citogenética e estudos de proteômica para a identificação de vias moleculares específicas associadas à esquizofrenia em minicérebros;
- 4) identificação de fenótipos celulares associados à esquizofrenia que possam ser utilizados em plataforma de triagem de alto conteúdo para o desenvolvimento de novos tratamentos que revertam o(s) fenótipo(s) identificado(s).

**Relatório 2019-2021:** Derivamos linhagens de células-tronco de pluripotência induzida (hiPSC) de 19 indivíduos saudáveis e 9 pacientes com diagnóstico de esquizofrenia (SZP). Realizamos 3 diferentes testes de qualidade nas hiPSC geradas: 1. Teste para ausência de Micoplasma; 2. Teste de estabilidade genômica e; 3. Teste de pluripotencialidade. As linhagens foram depositadas no Biobanco Nacional ([www.biobancoips.org](http://www.biobancoips.org)). Posteriormente, foram diferenciadas em células-tronco neurais (NSC), neurônios e organoides cerebrais que mimetizam o neurodesenvolvimento. Identificamos que 228 genes têm expressão gênica alterada durante a neurogênese associada à esquizofrenia. Finalmente, observamos que NSC SZP apresentam desequilíbrio na secreção e expressão de diversos fatores angiogênicos, migram menos e seu meio condicionado é menos eficaz na indução da migração e angiogênese *in vitro* e *in vivo*. Nossos achados sugerem uma interação defeituosa entre NSC e células endoteliais durante a formação do nicho neuroangiogênico.

**Referências de destaque:** (1) Zuccoli G, Nascimento J, Rehen S, Martins-de-Souza D. (2019) Subcellular proteome analysis of iPSC-derived neural cells from schizophrenia patients reveals alterations related to neurodevelopment. *Biological Psychiatry* 85:S279-S280. | (2) Casas BS, Vitória G, Costa MN, Madeiro da Costa R, Trindade P, Maciel R, Navarrete N, Rehen SK, Palma V (2018) hiPSC-derived neural stem cells from patients with schizophrenia induce an impaired angiogenesis. *Translational Psychiatry* 8:1-15.

**Destaques na divulgação ao grande público:** (1) Apresentador do Podcast Trip com Ciência desde 2019 | (2) Programa no Podcast Trip com Ciência em 2020 (<https://revistatrip.uol.com.br/trip-cast/o-poder-da-conexao-para-lidar-com-transtornos-mentais>) | Artigos e comentários no G1 e UOL (mais de 100 até o momento), alguns deles lidos por mais de 100 mil internautas | Consultor científico do programa “Conversa com Bial (desde 2017) | Participação na criação do coletivo ArtBio (divulgação de ciência com uma perspectiva artística).

**Informações adicionais:** <http://lattes.cnpq.br/3274735424220270>

### **(4.3) Bases neurais das motivações sociais e valores humanos através de ressonância magnética de alta resolução** (Pesquisador responsável: Jorge Moll Neto, Instituto D’Or de Pesquisa e Ensino do Rio de Janeiro)

**Contexto e justificativa:** A experiência emocional e o comportamento social humanos dependem de uma complexa interação entre emoções, motivações e valores culturalmente esculpidos, implementados fisiologicamente através de representações neurais distribuídas em regiões fronto-temporo-subcorticais. Tais circuitos são responsáveis por comportamentos motivados de diferentes naturezas, incluindo sociais, alimentares, sexuais e financeiros. O comportamento social, em especial, destaca-se na espécie humana pela sua alta complexidade, incluindo emoções e valores morais e mecanismos de cooperação com indivíduos não aparentados. A disfunção de diferentes componentes destes circuitos está associada à gênese de sintomas e comportamentos anormais observados nos transtornos neuropsiquiátricos. Portanto, é de grande importância a caracterização destes circuitos utilizando modelos humanos para que se possa

maximizar a translação do conhecimento neurocientífico em melhorias diagnósticas e terapêuticas. Postula-se que as emoções morais, em especial as chamadas emoções afiliativas, possuem um papel fundamental no comportamento social, possivelmente envolvendo circuitos parcialmente segregados daqueles responsáveis por aspectos mais gerais de motivação e recompensa. O avanço neste campo depende fundamentalmente, portanto, de novas abordagens que permitam explorar os efeitos comuns e específicos de diferentes experiências emocionais e motivações. A utilização de tarefas e estímulos de maior validade ecológica – por exemplo, imagens complexas, filmes, música, odores e tomada de decisão com consequências reais – constitui uma estratégia promissora para a investigação das bases neurais destes processos de alta complexidade. Do ponto de vista metodológico, três novas vertentes promissoras para o avanço nesta área do conhecimento merecem destaque: (1) os modelos de codificação e decodificação, que permitem uma caracterização muito mais refinada das respostas neurais a diferentes classes de estímulos; (2) o emprego de tarefas decisórias envolvendo recompensas sociais e não-sociais “reais”; e (3) a combinação de técnicas que permitem alta resolução espacial (ressonância magnética funcional [RMf] de alta resolução) e temporal (eletroencefalografia [EEG] e RMf em “tempo real”). Investigaremos os mecanismos neurais das respostas hedônicas, recompensas e comportamentos sociais humanos através dos métodos e conceitos supracitados. Acreditamos que os frutos do presente projeto refletirão não somente no avanço do conhecimento, como em desenvolvimento de métodos e ferramentas de análise que poderão ser disponibilizadas a toda a comunidade científica. Esperamos também que os resultados apontarão para novos paradigmas para a investigação de mecanismos neurais subjacentes a um número de doenças psiquiátricas associadas a disfunções sociais e emocionais.

#### **Objetivos propostos em 2018:**

- 1) Determinar as regiões cerebrais que respondem de maneira semelhante e particular a diferentes tipos de motivação e recompensa, incluindo recompensas de caráter afiliativo, sexual e alimentar apresentadas através da modalidade visual.
- 2) Investigar as respostas cerebrais na modalidade olfativa através de um olfatômetro especialmente customizado para utilização em ambiente de RMf, utilizando odores específicos (grãos torrados de café) de valor hedônico variável, e análise sensorial.
- 3) Investigar o comportamento de cooperação através de mecanismos de tomada de decisão social envolvendo pertencimento a grupos sociais e seu efeito na circuitaria cerebral afiliativa e de recompensa.
- 4) Desenvolver modelos preditivos de codificação e decodificação sobre as representações neurais relacionadas a diferentes classes de experiências emocionais utilizando RMf-EEG e classificação multivariada dos dados.
- 5) Utilizar medidas psicométricas para explorar padrões estáveis de diferenças individuais de perfis emocionais e motivacionais e sua expressão na atividade cerebral.
- 6) Implementar ferramentas de software para aquisição e processamento de dados de RMf e EEG, combinando a alta resolução espacial da RMf e a alta resolução temporal do EEG.
- 7) Promover transferência de conhecimento para o setor privado, com o registro de patentes e geração de novos serviços (ex., predição de preferências musicais e alimentares através de RMf e EEG).

**Relatório 2019-2021:** (i) Foi realizada uma prova de conceito que demonstrou ser possível empregar um protocolo de Neurofeedback (NFB) para a tarefa de regulação emocional (ternura e angústia) utilizando ressonância magnética funcional (RMf). O efeito esperado de indução de ambas as emoções foi atingido. (ii) Através de estímulos imersivos (vídeos) e adaptação de uma tarefa de respostas a recompensas para RMf, observamos uma maior resposta da região septo-hipotalâmica para recompensas afiliativas, enquanto o nucleus accumbens respondeu à antecipação de recompensas afiliativas e não-afiliativas. (iii) Ao investigarmos as bases neurais do comportamento altruísta de doação, o grupo que recebeu a Estimulação

Elétrica Transcraniana (EET) real apresentou uma maior quantificação de GABA média, indicando um dos possíveis mecanismos de efeito da EET. (iv) Com o estudo de odores de café, a ativação no nucleus accumbens mostrou surpreendente robustez, com os maiores efeitos estatísticos, o que indica que o aroma do café é especialmente capaz de recrutar o sistema de recompensa do cérebro com uma força inesperada.

**Referências de destaque:** (1) Bortolini T, Melo B, Basilio R, Fischer R, Zahn R, de Oliveira-Souza R, Knutson B, Moll J (2021) Striatal and septo-hypothalamic responses to anticipation and outcome of affiliative rewards. *NeuroImage* 243:118474 | (2) Botvinik N, Holzmeister R, Camerer F, Dreber CF, ..., Schonberg T (2020) Variability in the analysis of a single neuroimaging dataset by many teams. *Nature* 582:84-88.

**Premiações:** (1) Bolsa Cientista do Nosso Estado FAPERJ (renovada em 2020) – Jorge Moll | (2) Bolsa de Produtividade CNPq (progressão para 1C em 2019) – Jorge Moll | (3) Bolsa Pós-doutorado Nota 10 da FAPERJ – Tiago Bortolini.

**Destaques na divulgação para o grande público:** (1) Entrevista para *O Globo* sobre o IDOR na difusão da ciência (<https://oglobo.globo.com/saude/idor-reafirma-seu-papel-na-difusao-da-ciencia-no-brasil-24325482>) | (2) Entrevista para *Veja* sobre a iniciativa de pesquisa em Biologia Quântica (<https://veja.abril.com.br/saude/idor-se-une-a-ucla-para-desenvolver-area-de-biologia-quantica-no-brasil/>) | (3) Elaboração e lançamento da iniciativa e site IDOR Saúde Mental (<https://saudemental.idor.org/sobre/>) | (4) Elaboração, lançamento e participação do podcast de saúde mental (IdorCast)

**Informações adicionais:** <http://lattes.cnpq.br/5113998301069032>

**(4.4) Doença de Alzheimer: do diagnóstico clínico aos biomarcadores** (Pesquisador responsável: Paulo Caramelli, CPF 050.950.038-21, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais)

**Contexto e justificativa:** A doença de Alzheimer (DA) é a doença neurodegenerativa mais frequente e a principal causa de demência no mundo, responsável por mais da metade das demências que ocorrem em idosos. No Brasil e em outros países em desenvolvimento nos quais o envelhecimento populacional tem ocorrido de forma acelerada, a demência da DA vem se tornando um sério problema de saúde pública. No entanto, sabe-se que a fase demencial da doença é precedida por um longo período assintomático (DA pré-clínica) e de comprometimento cognitivo leve (DA prodrômica), com duração de cerca de 15 anos. A detecção da doença nas fases pré-demenciais é um dos grandes desafios das pesquisas na atualidade. Nesse sentido, inúmeros biomarcadores (no sangue, líquido cefalorraquidiano-LCR, de neuroimagem estrutural e funcional) e outros instrumentos diagnósticos (testes de avaliação cognitiva) têm sido investigados com esta finalidade. O diagnóstico mais precoce e específico poderá permitir a testagem de novas intervenções terapêuticas, com maior potencial de efetividade por serem instituídas em estágios precoces da doença.

**Objetivos propostos em 2018:**

1. Investigar a acurácia de testes de avaliação cognitiva e funcional para o diagnóstico precoce da Doença de Alzheimer na população brasileira, particularmente na fase de comprometimento cognitivo leve.
2. Investigar o potencial diagnóstico de biomarcadores e de mediadores inflamatórios no sangue e no LCR nas fases de comprometimento cognitivo leve e de demência da DA.

3. Investigar o potencial diagnóstico de novas técnicas e análises de imagem estrutural por ressonância magnética na DA.

**Relatório 2019-2021:** Foram realizados estudos investigando a acurácia de diferentes instrumentos de avaliação cognitiva (ex. Bateria Breve de Rastreamento Cognitivo, Addenbrooke's Cognitive Examination-Revised, *Short-Term Memory Binding*, *Social and Emotional Assessment*) e funcional (ex. *Direct Assessment of Functional Performance* e *Disability Assessment for Dementia*) para o diagnóstico da DA em fases iniciais e sua diferenciação com outras demências, especialmente demência frontotemporal (DFT). Além disso, realizamos estudos caso-controle investigando o valor diagnóstico de biomarcadores periféricos (ex. micropartículas derivadas de plaquetas, leucócitos, células endoteliais e neurônios; angiotensina 1-7, interleucina-6, TNF, anexina A1) e no LCR (beta-amiloide-42, tau total e tau fosforilada; interleucinas, TNF, TGF- $\beta$ 1, anexina A1) para diferenciação de DA com controles saudáveis e indivíduos com DFT. Finalmente, realizamos estudos com ressonância magnética utilizando medidas volumétricas e de tractografia na investigação de correlatos estruturais do desempenho cognitivo em pacientes com DA e idosos saudáveis, e sua associação com o nível educacional.

**Referências de destaque:** (1) Amaral-Carvalho V, Lima-Silva TB, Mariano LI, de Souza LC, Guimarães HC, Bahia VS, Nitrini R, Barbosa MT, Yassuda MS, Caramelli P. (2021) Brazilian version of Addenbrooke's Cognitive Examination-Revised in the differential diagnosis of Alzheimer's disease and behavioral variant frontotemporal dementia. *Archives of Clinical Neuropsychology* doi: 10.1093/arclin/acab071. | (2) Lyra e Silva NM, Gonçalves RA, Pascoal TA, Lima-Filho RAS, Resende EPF, Vieira ELM, Teixeira AL, de Souza LC, Peny JÁ, Fortuna JTS, Furigo IC, Hashiguchi D, Miya-Coreixas VS, Clarke JR, Abisambra JF, Longo BM, Donato J, Frasaer PE, Rosa-Neto P, Caramelli P, Ferreira ST, De Felice FG. Pro-inflammatory interleukin-6 signaling links cognitive impairments and peripheral metabolic alterations in Alzheimer's disease. (2021) *Translational Psychiatry* 11(1)251.

**Premiações:** (1) Melhor trabalho no 46º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas em 2019 | Prêmio UFMG de Teses 2018 (aluna Carolina A. Magalhães)

**Destaques na divulgação para o grande público:** Entrevista ao programa Globo Repórter em 2/8/2019 sobre a influência da prática musical sobre a atenção e a memória.

**Informações adicionais:** <http://lattes.cnpq.br/0807993828734491>

## 5. O PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIA TRANSLACIONAL

**Contexto e justificativa:** Ao pleitear a renovação do INNT por mais 4 anos, consideramos que, em conjunto com o desenvolvimento das linhas de pesquisa acima descritas, a formação de pessoal qualificado deve ser um ponto fundamental. Essa compreensão nos levou a propor à CAPES em 2011 a criação de um Programa de Pós-Graduação em Neurociência Translacional (PGNET), no qual os estudantes terão sua formação, exclusivamente em nível de Doutorado, garantida pela rede de laboratórios e pesquisadores do Instituto. Por essa concepção, que envolve, entre outros aspectos inovadores, a co-orientação dos alunos por orientadores de diferentes grupos de pesquisas e/ou de diferentes instituições, os doutorandos poderão contribuir de modo fundamental para a integração das atividades do INNT. A proposta foi aprovada pela CAPES em 2012, mas não foi implementada pela incerteza quanto à continuidade do programa dos INCTs no País, e pela dificuldade em implementar, naquela ocasião, um programa de mobilidade de estudantes e

orientadores que garantisse a concepção estratégica da proposta. Neste momento, essa dificuldade deixa de existir com a possibilidade de continuidade do INNT e, além disso, com a colocalização das Coordenações do INNT e do PGNET no Rio de Janeiro. Inicialmente, o projeto PGNET será responsabilidade imediata dos pesquisadores do INNT Vivaldo Moura-Neto (CPF 040.431.707-34) e Flavia A. Gomes (CPF 013.931.457-10), do Instituto de Ciências Biomédicas da UFRJ. Ambos têm ampla experiência como Coordenadores (anterior e atual, respectivamente) do Programa de PG em Ciências Morfológicas desse instituto. O primeiro foi o autor do projeto aprovado pela CAPES.

**Objetivos propostos em 2018:** O projeto do PGNET tem os seguintes eixos principais:

1. Orientação conjunta de cada aluno por 2-3 pesquisadores-líderes do INNT, idealmente de diferentes instituições.
2. Concepção das teses (apenas Doutorado) em temas integrativos da Neurociência.
3. Formação do aluno de modo rotatório nos diferentes laboratórios associados do INNT.
4. Disciplinas oferecidas preferencialmente através de meio eletrônico ou virtual, utilizando ferramentas como *Skype*, Moodle, e outras.
5. Ativa mobilidade dos pesquisadores do INNT (orientadores credenciados do PGNET) para atividades como cursos, workshops, seminários e supervisão de atividades experimentais entre os diferentes laboratórios do instituto.
6. Publicação de todas as teses em periódicos de alto índice de impacto.
7. Grande inserção internacional, com a participação dos parceiros estrangeiros do INNT, inclusive como co-orientadores formais ou informais de teses.

**Relatório 2019-2021:** A Pós-Graduação de Neurociência Translacional (PGNET) tem formado doutores em neurociência com base na saúde e doenças do sistema nervoso. O PGNET nasceu do Instituto Nacional de Neurociência Translacional (INNT), como uma rede de pesquisadores universitários e de Institutos em todo o País. Sediado na UFRGS, UFSC, USP, UNIFESP, UFBA, UFMG, UFPE, UFRJ e no Instituto Estadual do Cérebro Paulo Niemeyer, tem seu NÚCLEO COORDENADOR na UFRJ. Entregou o relatório dos seus primeiros quatro anos à avaliação da CAPES. O PGNET conta hoje com 15 docentes. Seu primeiro objetivo é a formação de doutores qualificados em Neurociência. Ao fim do primeiro quadriênio (2017-20) da avaliação da CAPES, o PGNET mostra metade dos seus discentes com Doutorado. Sete de seus alunos são autores e coautores de 21 artigos publicados de 2017 a 2020, o que se traduz em um bom desempenho de alunos em fase de formação. O PGNET criou sua Escola Internacional de Estudos Avançados no final do quadriênio, mas por dificuldades de recursos financeiros, só poderá implementá-la este ano com recursos obtidos com a FAPERJ.