

UALGORITMO

A Ciência trocada por miúdos



4.2

Volume 4, Número 2 – Outubro 2022

- 03** **Introdução editorial**
José Bragança
- 04** **Papel da Gla Rich Protein (GRP) na saúde cardiovascular de doentes renais diabéticos - Respostas de um estudo clínico**
Catarina Marreiros, Carla Viegas, Joana Carreira e Dina Simes
- 09** **Discurso de ódio nos jogos e comunidades de jogo online: um estudo exploratório**
Raquel Costa, Mirian Nogueira, Bruno Mendes da Silva, Paulo Falcão Alves, Filipa Cerol, Beatriz Isca
- 13** **A valência emocional modula o reconhecimento da palavra? Um estudo comportamental manipulando a frequência**
Catarina Paulino, Milene Guerreiro, Luís Faísca, Alexandra Reis
- 17** **Identificação e caracterização dos dois primeiros doentes com mutações bialélicas no gene *BUB1***
Xavier Jorge, Sara Carvalhal
- 21** **Uso de Máscara Cirúrgica durante exercício Físico em Jovens Saudáveis**
Hugo Mendonça Café, Marta Leitão, Anya Freitas, Ana Marreiros
- 25** ***Aliens* nos estuários do sul de Portugal**
Pedro Morais, João Encarnação, Maria Alexandra Teodósio
- 33** **Otimização das condições de armazenamento da insulina a temperaturas negativas pelo método isocórico**
Eduardo Pinho Melo
- 40** **Expressão de *Pla2g16* na doença arterial periférica associada à resistência à insulina – O que faz uma proteína específica do tecido adiposo no músculo esquelético?**
Ana Luísa De Sousa-Coelho

UALGORITMO

A Ciência trocada por miúdos



EDIÇÃO

EDITOR

José Bragança, Professor Associado da Universidade do Algarve

EDITORES ASSOCIADOS

Álvaro Tavares, Professor Associado da Universidade do Algarve

Clévio Nóbrega, Professor Auxiliar da Universidade do Algarve

COMISSÃO EDITORIAL

Maria Alexandra Anica Teodósio, Vice-Reitora da Universidade do Algarve

Saúl Neves de Jesus, Professor Catedrático da Universidade do Algarve

Manuel Célio Conceição, Professor Associado da Faculdade da Universidade do Algarve

Salomé D'horta, Coordenadora Técnica da Biblioteca da Universidade do Algarve

André Botelho, Coordenador do Gabinete de Comunicação e Protocolo da Universidade do Algarve

Cristina Veiga Pires, Diretora executiva do Centro Ciência Viva do Algarve

Laura Alves, Assessora de imprensa da Universidade do Algarve

Título: Ualgoritmo

Editor: José Bragança

Editores associados: Álvaro Tavares e Clévio Nóbrega

Comissão editorial: Saúl Neves de Jesus, Maria Alexandra Teodósio, Manuel Célio Conceição, Salomé D'horta, André Botelho, Cristina Veiga Pires e Laura Alves.

Ilustração e design editorial: Sarita Camacho - Gabinete de Comunicação e Protocolo da Universidade do Algarve e José Bragança

ISSN

Versão papel: 2184-6472

Versão online: 2184-6170



Depósito legal: 462212/19

Para citar esta publicação: nome do(s) autor(es) (2022). Título do artigo. *Ualgoritmo* 4, vol. 12 pp. intervalo de páginas.

Acessível online em: <https://ualgoritmo.wixsite.com/website>

<http://hdl.handle.net/10400.1/12772>

<https://www.ualg.pt/revista-ualgoritmo>

A presença dos símbolos  ou  no final do Sumário/*Abstract* indica que existe um ficheiro áudio ou vídeo, feito pelos autores, que resume o artigo no portal internet do UALGORITMO.

Universidade do Algarve,
Campus de Gambelas,
8005-139, Faro, Portugal

Introdução editorial

Já lá vão três anos desde a publicação do primeiro número do UALGORITMO. O passa a correr!

Este ano como no ano passado, conseguimos a publicação de dois números com artigos sobre diversas áreas de investigação da Universidade do Algarve, incluindo quatro artigos sobre o tema da “insulina”, cuja descoberta foi feita à 100 anos.

Sem autores e revisores não há UALGORITMO, por isso agradecemos todos os que submeteram os artigos e todos os que os reviram com muita eficiência nas escolas secundárias do Algarve. O número de revisores e de escolas a participar aumentou, o que mostra o entusiasmo suscitado por este projeto. Obrigado a vocês.

Às questões sobre o impacto do UALGORITMO na comunidade e sobre os leitores desta revista, posso apenas dizer que o portal internet do UALGORITMO, só por si, foi visitado por milhares de pessoas. As visitas são sobretudo da região do Algarve, como era de esperar, mas muitas delas são provenientes de todo o território nacional, com mais afluência de pessoas localizadas em Lisboa e no Porto, e seus arredores. Há também visitas ao portal internet UALGORITMO de pessoas que se encontram fora de Portugal. Depois das localidades portuguesas, as visitas mais numerosas foram feitas a partir do Reino Unido, seguidas por visitas da França, da Espanha, da Alemanha, dos Estado Unidos e da Suécia. Na verdade, há visitas de muitos mais Países, de quase todos os continentes!

O UALGORITMO como instrumento de comunicação científica, foi apresentado num congresso, e descrito num artigo escrito com o apoio de Sónia Figueiredo, Carla Rego e Filomena Conceição, três Professoras de escolas secundárias do Algarve que colaboram na revisão de artigos desde o primeiro dia, e com o Professor Saul Neves da Universidade do Algarve. O artigo descreve os objetivos do UALGORITMO, e alguns métodos e estratégias implementados pelos revisores nas escolas secundárias para análise e revisão dos textos. O artigo de livre acesso no portal da editora, tem recebido inúmeras visitas e leituras, indicando o interesse que suscita na comunidade estrangeira.

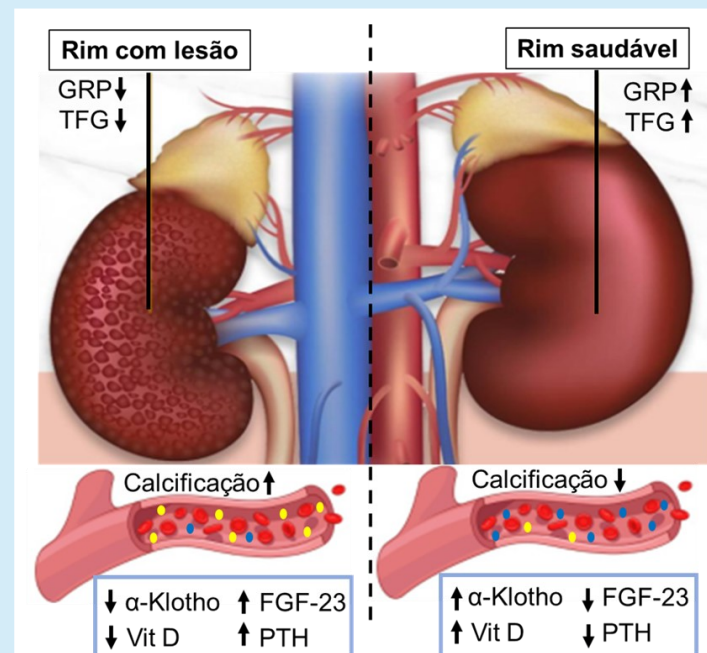
Por fim, nestes dois últimos números do UALGORITMO convidámos os autores a apresentar e resumir o artigo publicado em formato áudio ou vídeo. Alguns autores aceitaram o desafio e enviaram resumos áudio/vídeo muito bem executados, originais e sobretudo muito didáticos, para apresentar em poucos segundos a essência do artigo. Parabéns e obrigado aos autores que se prestaram a esta experiência piloto, que é um sucesso! Convido todos os leitores a ver esses resumos que são acessíveis no portal internet do UALGORITMO. Espero que o entusiasmo para criar este tipo de conteúdos audiovisuais se mantenha no futuro, e que possamos até ter a capacidade de criar novos canais de divulgação desses resumos noutras plataformas sociais, como o Youtube ou o Facebook por exemplo, para mais ampla divulgação das atividades de investigação e artes da Universidade do Algarve.

Sem mais tardar, desejo-vos uma boa leitura!

José Bragança



Papel da *Gla Rich Protein* (GRP) na saúde cardiovascular de doentes renais diabéticos - Respostas de um estudo clínico



Rim com lesão
GRP↓
TFG↓

Rim saudável
GRP↑
TFG↑

Calcificação↑
↓ α-Klotho ↑ FGF-23
↓ Vit D ↑ PTH

Calcificação↓
↑ α-Klotho ↓ FGF-23
↑ Vit D ↓ PTH

LEGENDA: ● GRP | ● Glóbulos vermelho | ● Minerais Cálcio e Fosfato
GRP: Gla-Rich Protein | VC: Calcificação Vascular
TFG: Taxa de Filtração Glomerular | PTH : Hormona da Paratiroide
FGF-23: Fator Crescimento Fibroblasto 23 | Vit D: Vitamina D

Rim com lesão vs rim Saudável. À medida que a Doença Renal Crónica (DRC) progride, o normal funcionamento dos rins decai e consequentemente a taxa de filtração glomerular (TFG) nos doentes renais diminui. A reduzida taxa de filtração glomerular conduz, entre outras situações, a uma ineficiente excreção de sais minerais de cálcio e fosfato na urina, levando à sua acumulação na corrente sanguínea, contribuindo para o distúrbio mineral e ósseo característico da DRC. Isto envolve uma desregulação hormonal que resulta na diminuição da proteína α -Klotho e Vitamina D (Vit D) e aumento do FGF-23 e PTH. Neste complexo mecanismo, quanto maior for o estadio da doença renal, menores são os valores de GRP detetados. Deste modo os doentes renais apresentam um extenso e progressivo endurecimento das paredes dos vasos sanguíneos, designado por calcificação vascular, que aumenta o risco cardiovascular nestes pacientes.

Autores

Catarina Marreiros, Carla Viegas, Joana Carreira e Dina Simes

Afilições

Centro de Ciências do Mar (CCMAR) – Universidade do Algarve, Grupo de Investigação Bioquímica Funcional e Proteómica. Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade do Algarve

Revisão

Escola: Escola Secundária Pinheiro e Rosa, Faro

Alunos: Turmas de 12º ano A e B

SUMÁRIO — A doença cardiovascular (DCV) é a principal causa de morte nos doentes renais e representa um enorme desafio clínico, devido à sua complexidade e ao facto dos fatores de risco tradicionais utilizados no diagnóstico (e.g. hipertensão, obesidade, idade) não explicarem de forma completa o risco cardiovascular nestes doentes. Por outro lado, a calcificação vascular (CV) é considerada como um fator de risco não tradicional, determinante na DCV. A *Gla-Rich Protein* (GRP) é uma proteína que circula no sangue e atua como inibidor da CV, tendo um enorme potencial como biomarcador da CV e do risco cardiovascular. Este estudo clínico, envolvendo uma população de doentes renais crónicos (DRC) com diabetes, permitiu determinar uma associação entre baixos níveis de GRP na circulação sanguínea e o aumento da CV, assim como com a perda da função renal. Estes dados apontam a GRP como um potencial biomarcador para o risco cardiovascular nestes doentes.



ABSTRACT — Cardiovascular disease (CVD) is the leading cause of death in renal disease patients representing an enormous clinical challenge due to its complexity, and the fact that traditional risk factors used in diagnosis (eg hypertension, obesity, age) do not fully explain cardiovascular risk among these patients. Thus, a new focus has been given to non-traditional risk factors such as vascular calcification (VC), known to be a determinant factor in CVD. Gla-Rich Protein (GRP) is a protein that circulates in the blood and acts as an inhibitor of VC having enormous potential as a VC biomarker and cardiovascular risk. This clinical study involving a population of chronic kidney patients with diabetes allowed us to determine an association between low levels of GRP in bloodstream and increased VC, as well as with the loss of renal function, indicating GRP as a new potential biomarker of cardiovascular risk in these patients.

Glossário

Calcificação Vascular

Processo caracterizado pela acumulação de mineral insolúvel de fosfato de cálcio, maioritariamente na forma de hidroxiapatite (formula química $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) nas paredes vasculares

Fatores de Risco

Situação que aumente a probabilidade de ocorrência ou agravamento de uma doença (os mais tradicionais são idade, sexo, colesterol, hipertensão, diabetes e tabagismo). A calcificação vascular é considerada um fator de risco não tradicional para a Doença Cardiovascular

Doença Cardiovascular

Termo genérico que engloba todas as alterações que afetam o coração e/ou vasos sanguíneos

Diabetes Mellitus

Doença na qual os níveis de açúcar no sangue (glicose) estão elevados, que conduz a várias complicações de longo prazo que afetam diversas áreas do corpo, entre elas os rins, a visão, o sistema nervoso e os vasos sanguíneos

Gla-Rich Protein (GRP)

Proteína dependente da vitamina K, caracterizada no ser humano, pela presença de 15 possíveis resíduos do aminoácido γ -carboxi-glutâmico (Gla), com grande afinidade de ligação ao ião cálcio ou minerais de cálcio e fosfato

FGF-23 e α -Klotho

α -Klotho, proteína sobretudo presente nas membranas das células dos tubos renais, que atua como recetor do Fator de Crescimento do Fibroblasto 23 (FGF-23) produzido pelos ossos, e regulando os níveis de fosfato e o metabolismo da vitamina D

Doença Renal e Calcificação Vascular (CV)

A doença renal é caracterizada por uma lesão ao nível do rim que conduz a uma perda da função deste órgão. Pode ser classificada como aguda quando a lesão é reversível e o doente tende a recuperar, ou como crónica quando a falência dos rins se produz de forma lenta, progressiva e sem possibilidade de recuperação. Uma das principais causas de lesões estruturais irreversíveis nos rins, e que culminam na doença renal crónica (DRC), é a **Diabetes Mellitus**.

A perda de função renal leva a uma deterioração da saúde destes doentes, com manifestações clínicas em vários outros órgãos, entre os quais se destacam os sistemas cardiovascular e ósseo, com o desenvolvimento do denominado distúrbio mineral e ósseo da doença renal crónica. Esta patologia altamente complexa resulta de uma desregulação no metabolismo do cálcio e fosfato e do seu sistema de controlo hormonal, envolvendo a **hormona da paratiroide (PTH)**, a **1,25 vitamina D**, o **fator de crescimento de fibroblasto 23 (FGF-23)** e o **α -Klotho**. Esta desregulação tem como consequência a diminuição da mineralização óssea e um aumento da calcificação vascular nos doentes.

A CV leva ao endurecimento e à perda da elasticidade das paredes dos vasos, levando ao aumento de complicações cardíacas (**AVC**, **enfarte do miocárdio** e **angina de peito**), encontrando-se entre as principais causas de morbidade, invalidez e **mortalidade** em Portugal. Um dos grandes problemas associados à CV é o facto de esta ser uma condição silenciosa, que apenas mostra sinais clínicos – maioritariamente cardiovasculares - já em fases mais avançadas da doença renal. Os exames médicos que existem para detetar a CV, para além de serem dispendiosos, apenas detetam depósitos de mineral de cálcio e fosfato nos vasos sanguíneos, o que infelizmente ocorre já num estado intermédio ou avançado desta doença. Existe assim, uma necessidade de se desenvolverem métodos de deteção mais precoce da CV, que permitam o seu diagnóstico nas fases iniciais da doença renal crónica.

Estudo Clínico

Neste sentido, os estudos clínicos realizados em seres humanos são ferramentas essenciais para a evolução da medicina e dos cuidados de saúde, uma vez que nos ajudam a descobrir novas formas de detetar, prevenir ou até mesmo tratar uma dada doença. Estudos de investigação anteriores do nosso grupo associaram a proteína **Gla-Rich**

Filtração Glomerular

Parâmetro usado para avaliar a função renal. Expressa o volume de sangue filtrado no rim por unidade de tempo (ml/min/1,73 m²). No corpo humano, rins saudáveis filtram em média 180 litros sangue por dia, cerca de 90 a 125 ml por minuto

Protein (GRP) a vários mecanismos envolvidos na CV, sobretudo pela sua capacidade de se ligar a minerais de cálcio e fosfato em circulação e nos vasos sanguíneos. Neste estudo clínico foram envolvidos 80 doentes diabéticos com doença renal, que consentiram participar no estudo (**Fig. 1**). O objetivo deste estudo é estudar a associação dos níveis de GRP presente na corrente sanguínea com alterações no metabolismo mineral, calcificação vascular e com a progressão da doença renal.

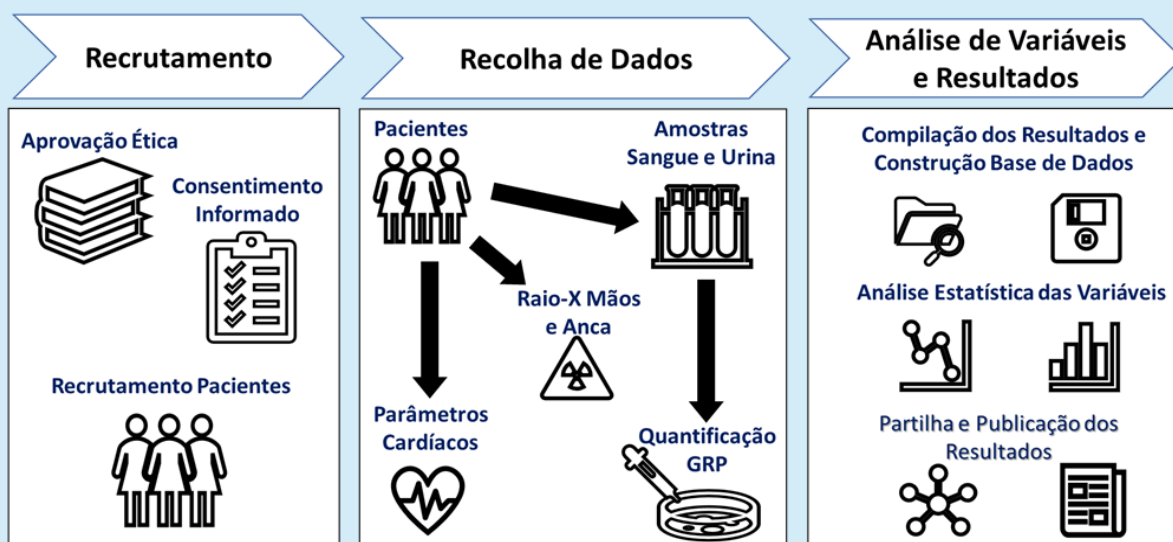


Figura 1. Desenvolvimento do estudo clínico. A fase inicial do estudo pressupõe a sua avaliação pelo comité de ética do hospital ou clínica, para garantir práticas clínicas eticamente corretas durante o estudo. Na fase de recrutamento os doentes assinam um consentimento informado, após esclarecimento sobre os objetivos da investigação por parte do seu médico. Segue-se a recolha dos dados, nomeadamente análises ao sangue e urina, exames médicos (raio-x e medição da pressão arterial) já previstos no âmbito da sua consulta de rotina. Por fim, é realizada a análise das variáveis presentes na informação laboratorial e clínica destes doentes.

Taxa de Risco Cardiovascular

Probabilidade que uma pessoa tem de vir a sofrer de uma doença cardiovascular. Depende de vários fatores, tal como a idade, a pressão arterial, os hábitos alimentares, mas também a calcificação vascular

Consentimento Informado

Documento que expressa a autorização do doente antes da sua submissão a um ato médico ou participação num estudo clínico. Inclui uma descrição breve do estudo e seus objetivos e pressupõe a compreensão e consentimento do doente quanto ao que se pretende fazer e o resultado esperado

Biomarcador

Substância que pode ser medida e usada como um indicador de um estado de saúde ou de uma doença particular, assim como de respostas farmacológicas a intervenções terapêuticas

Para isso, foram estudadas algumas variáveis, conhecidas por estarem associadas aos processos patológicos em estudo (**Tabela 1**), através das análises ao sangue e urina, e dos exames médicos que estes doentes realizaram durante as suas consultas de rotina.

Tabela 1. Análises das principais variáveis em estudo

ANÁLISES REALIZADAS	PRINCIPAIS VARIÁVEIS EM ESTUDO
ANÁLISES AO SANGUE	Quantificação da GRP Fosfato e Cálcio Cálcio (x) fosfato (CaxP) Vitamina D Proteína α -Klotho Hormona da Paratiroide (PTH) Fator de Crescimento de Fibroblasto 23 (FGF-23)
ANÁLISES À URINA	Cálculo da Taxa de Filtração Glomerular
EXAMES MÉDICOS Raio-X às mãos e anca Medição da Tensão Arterial	Cálculo da Calcificação Vascular Pressão Arterial

Níveis reduzidos de GRP estão associados a uma redução da função renal e aumento da calcificação vascular nos doentes renais

A taxa de **filtração glomerular** (TFG) é uma variável que expressa a função

Estádios da Doença Renal Crónica

A DRC caracteriza-se por cinco estádios que são determinados pelo valor da Taxa de Filtração Glomerular (TFG): Estádio 1: TFG ≥ 90 mL/min/1,73 m²; Estádio 2: TFG entre 60 a 89 mL/min/1,73 m²; Estádio 3: TFG entre 30 a 59 mL/min/1,73 m²; Estádio 4: TFG entre 15 a 29 mL/min/1,73 m²; Estádio 5: TFG <15 mL/min/1,73 m²

1,25 Vitamina D

É a forma biologicamente ativa de vitamina D, capaz de interagir com os seus recetores presentes no intestino delgado, onde estimula a absorção intestinal do cálcio para o sangue, nos ossos onde mobiliza cálcio e outros minerais do esqueleto para a circulação, e no rim, onde estimula a reabsorção de cálcio do filtrado glomerular para o sangue

PTH

A hormona da paratiroide, produzida pela glândula paratiroide e segregada na circulação sanguínea, é responsável por regular os níveis de cálcio no sangue

Acidente vascular cerebral (AVC)

Morte de células cerebrais causada por rompimento ou obstrução de um vaso sanguíneo que irriga o cérebro

Enfarte do miocárdio

Evento que ocorre quando uma das artérias do coração fica obstruída, o que faz com que parte do músculo do coração pare de funcionar por falta de oxigénio/nutrientes

Angina de peito

Angina é uma dor no peito que ocorre quando o músculo cardíaco não está a receber oxigénio suficiente

Morbilidade

Em epidemiologia indica a relação entre o número de pessoas sãs e pessoas doentes. É também um indicador da qualidade de vida associada a condições limitantes da independência e autonomia de um indivíduo, normalmente associada a consequências e complicações resultantes de uma doença

do rim. Quanto menor for a função do rim, menor a taxa de filtração glomerular e mais elevado é o estádio da doença renal, ou seja, a sua gravidade.

Este estudo clínico - compreendendo um total de 80 doentes renais sub-agrupados em 3 **estádios da DRC** - Estádio 2 (28,7%); Estádio 3 (48.7%) e Estádio 4 (22.6%) - demonstrou que quanto mais avançada for a perda da função dos rins, menores os níveis de GRP encontrados em circulação nos doentes. Relativamente à relação da GRP com a calcificação vascular, os resultados deste estudo clínico demonstraram que baixos níveis de GRP estão associados a um aumento da calcificação vascular detetada por raio-X, e a uma elevada pressão arterial nos 3 grupos. Por outro lado, a análise das variáveis recolhidas das amostras de sangue dos pacientes, demonstrou que níveis reduzidos de GRP estão associados a um aumento dos níveis de promotores de calcificação vascular, tais como o fosfato, FGF-23 e o produto CaxP, assim como à diminuição dos níveis de um inibidor da calcificação, a proteína α -Klotho. Estes resultados estão de acordo com o conhecimento atual sobre o modo de funcionamento da GRP como inibidor da calcificação vascular, e sugerem uma relação entre a GRP e o distúrbio mineral e ósseo da doença renal.

Conclusão

Este estudo clínico demonstrou que níveis reduzidos de GRP estão associados a um aumento da calcificação vascular e à perda da função renal nos doentes renais.

A capacidade anti-calcificante da GRP, aliada à sua relação com o comprometimento da função renal e calcificação vascular, permitem sugerir esta proteína como um excelente candidato a **biomarcador** precoce de risco cardiovascular em doentes com doença renal crónica.

Artigos originais

Silva AP, Viegas CSB, Mendes F, Macedo A, Guilherme P, Tavares N, Dias C, Rato F, Santos N, Faísca M, de Almeida E, Neves PL, Simes DC *Gla-Rich Protein (GRP) as an Early and Novel Marker of Vascular Calcification and Kidney Dysfunction in Diabetic Patients with CKD: A Pilot Cross-Sectional Study (2020) J. Clin. Med.*, 9, 635. <https://doi.org/10.3390/jcm9030635>



Biografia dos Autores

Dina Simes, Professora auxiliar na UAlg, Doutorada em Química especialidade em Bioquímica. Líder do grupo de investigação Bioquímica Funcional e Proteómica (FBP), do CCMAR-UAlg. CEO na empresa GenoGla Diagnostics.

Carla Viegas, Licenciada em Bioquímica pela Universidade do Algarve (UAlg), Doutorada em Bioquímica, especialidade em Biologia Molecular e Celular (UAlg), e investigadora auxiliar na UAlg no grupo FBP do CCMAR-UAlg. COO na empresa GenoGla Diagnostics.

Catarina Marreiros, Farmacêutica formada pela Universidade do Algarve. É aluna do Programa Doutoral em Ciências Biomédicas da Faculdade de Medicina e Ciências Biomédicas da Universidade do Algarve e bolsista FCT de doutoramento no FBP do CCMAR-UAlg.

Joana Carreira, Licenciada em Biologia pela Universidade de Lisboa, Mestre em Investigação Biomédica pela Universidade de Coimbra, e neste momento, Técnica Superior de Investigação no grupo FBP do CCMAR-UAlg.

Ligações internet relacionadas com o grupo de investigação

Centro de Ciências do Mar (CCMAR), Universidade do Algarve

<https://www.ccmар.ualg.pt/>

Grupo de Bioquímica Funcional e Proteómica no CCMAR

<https://www.ccmар.ualg.pt/group/functional-biochemistry-and-proteomics>

Ligações para informação adicional sobre os autores

Dina Simes, <http://orcid.org/0000-0002-5145-4753>

Carla Viegas, <https://orcid.org/0000-0002-5765-3665>

Catarina Marreiros, <https://orcid.org/0000-0001-5087-0627>

Joana Carreira, <https://orcid.org/0000-0003-3048-8820>

Ligações internet relacionadas com os cursos nos quais autores lecionam

Faculdade de Ciências e Tecnologias, Universidade do Algarve

<https://fct.ualg.pt/>

Licenciaturas

<https://fct.ualg.pt/licenciaturas>

Mestrados Integrados

<https://fct.ualg.pt/mestrados-integrados>

Mestrados

<https://fct.ualg.pt/mestrados>

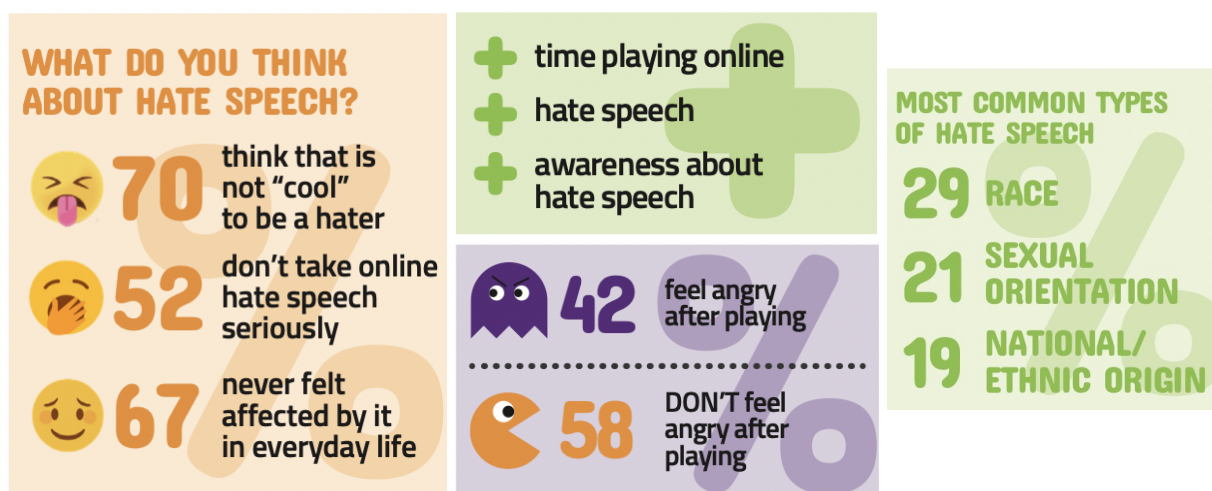


Os nossos revisores

Os nossos jovens revisores são alunos e alunas das turmas de 12º ano, **Escola Secundária Pinheiro e Rosa, Faro**, e foram orientados pelas **Professoras Magda Dias** (12º A) e **Gracinda Bento** (12º B). As turmas participantes frequentam o Curso de Ciências e Tecnologias, pretendendo, uma grande maioria de alunos, ingressar no ensino superior nas áreas da saúde e das engenharias.



Discurso de ódio nos jogos e comunidades de jogo *online*: um estudo exploratório



Autores

Raquel Costa, Mirian Nogueira, Bruno Mendes da Silva, Paulo Falcão Alves, Filipa Cerol, Beatriz Isca

Afiliações

Centro de Investigação em Artes e Comunicação da Universidade do Algarve

Revisão

Escola: Escola Secundária Tomás Cabreira, Faro

Alunos: Turma dos Cursos Profissionais de Gestão turma dos Cursos Profissionais de Gestão dos Equipamentos Informáticos (PGEI) e de Eletrónica, Automação e Computadores (PEAC) do 2º ano (2020/2023)

SUMÁRIO — Este artigo analisa a proliferação do discurso de ódio nos videojogos e comunidades online entre jovens jogadores. A imersão do jogador na arena simbólica do jogo, onde tudo se torna possível, levanta questões sobre a relação entre os videojogos no mundo virtual e o comportamento do jogador no mundo físico. Mostra-se que o anonimato e a criação de comunidades e grupos de jogos podem levar à exclusão e ataques a minorias. A comunicação por *chat* pode facilitar a partilha de interesses e técnicas de jogo, bem como insultos em momentos de tensão entre os jogadores, levando a uma reflexão fundamental sobre o papel das plataformas de jogo no controle do conteúdo partilhado. Considerando as possibilidades ilimitadas dos videojogos, este artigo também reflete sobre a literacia mediática e o potencial dos jogos enquanto ferramentas de aprendizagem. **ABSTRACT** — *This article proposes the study and analysis of the state-of-the-art in video game panorama, focusing on the tendency to use hate speech among young players. The immersion of the player in the symbolic arena of the game, where everything becomes possible, raises questions about the relationship between video games in the virtual world, and the player's behavior in the physical world. It is shown that anonymity and the creation of communities and game groups can lead to the exclusion of and attacks to minorities; chat communications can facilitate sharing interests and game techniques as well as insults in times of tension between players, leading to imperative reflection on the role of gaming platforms in the control of shared content. Considering the boundless possibilities of video games, this article also reflects on game literacy and on how games have the potential to become powerful learning tools.*

Glossário

Média

Suporte de difusão de informação que se constitui ao mesmo tempo como um meio de expressão e um intermediário na transmissão de uma mensagem

Twitch

Plataforma de transmissões e interação ao vivo, muito direcionada para os videojogos e competições *online*

Discord

Ferramenta de conversas via chat, vídeo e voz muito utilizada pelas comunidades de jogadores

Discurso de ódio

O discurso de ódio *online* também é conhecido como ciberódio, comportamento tóxico *online*, é definido como o incitamento público à violência ou ao ódio dirigido a grupos ou indivíduos com base em certas características, incluindo raça, cor, religião, descendência e origem nacional ou étnica

Escala de Likert

Tipo de escala para questionários, amplamente usadas para medir posturas e opiniões, com um retorno mais refinado e aprofundado que as escalas binárias de sim e não

Os videojogos representam um dos **média** mais influentes na cultura popular. Jogar *online* ou interagir numa comunidade de jogadores, como a **Twitch** ou o **Discord**, faz parte da vida quotidiana da maioria dos adolescentes. O **discurso de ódio** tem vindo a tomar conta do mundo virtual, incluindo o universo dos videojogos e das plataformas de jogo. O nosso artigo procura compreender este fenómeno, entre jovens e adolescentes, e debruça-se sobre as suas consequências dentro e fora do mundo virtual, procurando estratégias para criar um ambiente digital mais seguro. Baseamos o nosso estudo em três fases: 1.^a perceber como os jovens experienciam e lidam com o discurso de ódio *online*; 2.^a delinear estratégias para preveni-lo no ambiente de jogos; 3.^a criar um programa internacional de combate ao ódio *online* nos videojogos.

Enquadramento da investigação

O discurso de ódio *online* tem sido uma das preocupações do Conselho da Europa há já algum tempo. Em maio de 2016, com o objetivo de conter a proliferação de discursos de incitação ao ódio, a Comissão Europeia e quatro grandes empresas de Tecnologias de Informação (*Facebook, Microsoft, Twitter e YouTube*) assinaram um Código de Conduta, comprometendo-se a combater a difusão deste tipo de conteúdo na Europa. A avaliação do Código de Conduta, realizada anualmente por Organizações Não Governamentais (ONG) e órgãos públicos, mostra um aumento de quatro vezes nas notificações de discurso de ódio online, identificando como principais motivos de denúncia a xenofobia (17,8%) e o ódio antimuçulmano (17,7%).

Material e métodos do estudo

Para a realização deste trabalho, foi elaborado um inquérito por questionário, com questões fechadas, em **escala de Likert**, onde os participantes tinham de especificar o seu grau de concordância, frequência, importância e probabilidade em escala simétrica relativamente a uma série de afirmações sobre jogos e discurso de ódio. Os questionários foram aplicados em escolas básicas e secundárias de três países europeus, Portugal, Itália e Lituânia.

As respostas ao questionário foram analisadas estatisticamente e foram estabelecidas correlações entre as variáveis e as hipóteses. Posteriormente, foram implementadas entrevistas com pequenos grupos de jogadores, nos três países, com questões abertas, que permitiram trazer informações valiosas para a pesquisa sobre as experiências com discurso de ódio dos jovens jogadores. Foi, por exemplo, possível concluir que a maior parte dos participantes está de acordo com a política de censura e silenciamento das plataformas digitais, quando há denúncia de comportamentos. Por outro lado, percebeu-se que os jogadores indicam serem eles os responsáveis pela prevenção de discurso de ódio, embora tendam a vê-lo como algo impossível de controlar. Finalmente, os participantes demonstraram estar cientes das

consequências do discurso de ódio na saúde mental dos jogadores, no entanto alguns ainda sustentam que este tipo de fenómeno não tem consequências efetivas fora do mundo digital.

Conclusões

A análise dos dados permitiu mostrar que a exposição e vitimização do discurso de ódio online tem um impacto negativo sobre os jovens jogadores, correlacionado com emoções como a depressão, ansiedade, comportamento desviante e diminuição do bem-estar. O nosso estudo permitiu estabelecer uma ligação entre o tempo de jogo e o aumento da exposição ao discurso de ódio. Identificou-se também uma relação entre a exposição ao discurso de ódio e uma maior tendência para o praticar, a par do aumento da facilidade para identificar comunidades de ódio. Essa correlação entre a exposição e a tendência para praticar discurso de ódio confirma os sintomas do processo de dessensibilização (abordado em estudos anteriores): após repetir a exposição ao discurso de ódio, os jogadores banalizam ofensas e preconceitos, embora tenham consciência de seus efeitos fora do mundo virtual. As nossas constatações conduziram-nos ao desenvolvimento de uma estratégia: os videojogos são o problema, mas também podem ser a solução, ao criar contra-narrativas **gamificadas** que contribuam para uma vida digital mais saudável, através do aumento da literacia digital e educação para os Direitos Humanos.

Gamificação
Metodologia que aplica estratégias dos jogos a outras áreas, como os negócios ou a educação

Perspetivas Futuras

Tendo por base o estudo realizado e descrito neste artigo, está a ser criado um conjunto de ferramentas pedagógicas gamificadas, para professores, formadores e alunos, que permitam aumentar a consciencialização dos jovens e do público em geral sobre o discurso *online* de ódio e fortalecer a cooperação entre escolas, instituições de juventude e a indústria de videojogos para combater o discurso de ódio *online*.

Artigo original

Costa SR, Tavares M, Mendes da Silva B, Alves PF, Cerol F and Isca B (2020). Playing Against Hate Speech: How Teens See Hate Speech in Video Games and Online Gaming Communities. **Journal of Digital Media and Interaction** 3(6), 34-52. <https://doi.org/10.34624/jdmi.v3i6.15064>

Biografia dos Autores

Susana Costa é doutoranda em Arte Media-digital (Universidade Aberta/Universidade do Algarve). Atualmente é colaboradora em projetos do CIAC- Centro de Investigação em Artes e Comunicação. Colabora com escolas básicas e secundárias nas áreas de literacia, cidadania e inclusão.

Mirian Tavares é Professora Associada da Universidade do Algarve. É doutora em Comunicação e Cultura Contemporânea pela Universidade Federal da Bahia. Atualmente, é diretora do doutoramento em Média-Arte Digital e coordena o CIAC - Centro de investigação em Artes e Comunicação.

Bruno Mendes da Silva é coordenador do Departamento de Ciências da Comunicação da Escola Superior de Educação e Comunicação da Universidade do Algarve e Vice-coordenador do Centro de Investigação em Artes e Comunicação. É Professor Convidado na Saint Joseph University of Macau.

Biografia dos Autores (continuação)

Katerina Filipa Cerol é doutora em Comunicação (programa conjunto das universidades públicas de Sevilha, Cádiz, Huelva e Málaga, Espanha) e docente de Ciências da Comunicação na Universidade do Algarve. É investigadora do Centro de Investigação em Artes e Comunicação, onde coordena o grupo de trabalho em ciências da comunicação.

Beatriz Isca é licenciada em Design de Produto pela Universidade de Belas Artes de Lisboa e é atualmente bolsista de investigação no CIAC - Centro de Investigação em Artes e Comunicação, no âmbito do projeto "Play Your Role".

Informações adicionais sobre o projeto

<https://www.playyourrole.eu>

<https://www.ciac.pt/>



Os nossos revisores

Os nossos revisores foram os estudantes das turmas dos Cursos Profissionais de Gestão dos Equipamentos Informáticos (PGEI) e de Eletrónica, Automação e Computadores (PEAC) do 2º ano (2020/2023) da **Escola Secundária Tomás Cabreira, Faro**, representados por **Rodrigo Miguel da Silva Neves** (à direita na fotografia). Rodrigo Neves tem 17 anos, e as suas áreas de interesse são a informática, videojogos, música, cinema e TV. A coordenação da revisão foi feita pela **Professora Filomena Conceição** (à esquerda na fotografia).



BIOQUÓMICO

SABEM ME DIZER
COMO AS CÉLULAS
DO NOSSO ORGANISMO
COMUNICAM ENTRE
ELAS?

COM UM
TELEFONE
CELULAR ?!



A valência emocional modula o reconhecimento da palavra?

Um estudo comportamental manipulando a frequência



Autores

Catarina Paulino, Milene Guerreiro, Luís Faisca, Alexandra Reis

Afiliações

Faculdade de Ciências Humanas e Sociais, Departamento de Psicologia e Ciências da Educação, Universidade do Algarve

Centro para a Investigação em Tecnologias da Saúde e Sistemas de Informação (CINTESIS – polo UALG), Universidade do Algarve

Revisão

Escola: Escola Secundária de Silves

Alunos: Amber Watt-Dalston, Ana Catarina Braga, Inês Romaneiro, Diana Ribeiro, Erica Carvalho, Maria Norris, Lara Neves, Beatriz Silva, Fabiana Neves, Margarida Mourão, Lúcia Guerreiro, Vitalina Rubitel, Eva Lança, Iara Coelho, Matilde Dinis, Íris Rodrigues.

SUMÁRIO — Vários estudos observaram que o reconhecimento de palavras com valência emocional apresenta vantagem em comparação com palavras neutras. No entanto, ainda não é clara a vantagem de processamento das diferentes categorias de valência nem como esta vantagem pode ser modulada pela frequência da palavra. Para clarificar esta questão, 60 adultos realizaram uma tarefa de decisão lexical usando palavras de alta e de baixa frequência pertencentes a três categorias de valência emocional (60 positivas, 60 negativas, 60 neutras). Os resultados mostraram que as palavras positivas foram reconhecidas mais rapidamente e as negativas mais lentamente em comparação com as neutras. Além disso, o efeito da valência foi modulado pela frequência, afetando somente as palavras de baixa frequência. **ABSTRACT** — *Several studies have found an advantage of emotional words over neutral words. However, is still unclear the processing advantage of the different emotional valence categories, and how this advantage might be modulated by word frequency. To clarify this question, 60 adult participants performed a lexical decision task using high and low frequency words as stimuli, which were divided into three valence categories (60 positives, 60 negatives, 60 neutrals). Word frequency was manipulated into low and high conditions. The results showed that positive words were recognized faster and negative words slower than neutral ones. Furthermore, this valence effect was modulated by word frequency, affecting exclusively those words that take longer to be recognized (low-frequency words).*



Glossário

Valência emocional
valor afetivo associado a um estímulo e que se expressa num gradiente que varia desde agradável (positivo) a desagradável (negativo)

Frequência da palavra
número de vezes em que uma palavra é usada por uma determinada população

Qualquer pessoa com experiência de leitura reconhece de forma automática e sem esforço palavras escritas – é praticamente impossível impedir-nos de lê-las. Estudos experimentais têm mostrado que o reconhecimento visual das palavras demora algum tempo (na ordem das centenas de milissegundos), dependendo de fatores como a frequência com que a palavra é usada no quotidiano ou a existência de outras palavras com forma ortográfica semelhante.

Sabe-se que as palavras com **valência emocional** apresentam vantagem no seu reconhecimento, ou seja, o tempo de resposta necessário para reconhecer palavras negativas ou positivas é menor se comparado ao tempo de reconhecimento de palavras neutras. No entanto, existem resultados contraditórios na literatura relativamente à vantagem no reconhecimento de palavras com valência negativa. Enquanto alguns autores observaram que as palavras negativas, tal como as positivas, apresentam vantagem face às neutras, outros encontraram o resultado inverso (Kever et al., 2019). Este reconhecimento mais lento das palavras negativas tem sido enquadrado na Teoria da Vigilância Automática (Pratto & John, 1991), que sugere que o ser humano tem de avaliar rapidamente se os estímulos são negativos ou positivos para poder dar uma resposta comportamental adequada de evitamento ou de aproximação. Assim, os estímulos negativos captam de imediato a nossa atenção, a qual é mantida sobre eles por serem potencialmente perigosos, requerendo um esforço adicional para podermos desligar essa vigilância automática. Se os nossos recursos mentais estão ocupados a vigiar um estímulo negativo, qualquer resposta que nos seja solicitada nessa altura torna-se demorada.

Procedimento

Para tentar esclarecer a vantagem ou desvantagem no reconhecimento de palavras com valência emocional, foi realizada uma experiência recorrendo a uma tarefa de decisão lexical com 180 palavras emocionais (60 positivas, 60 negativas, 60 neutras) e 180 pseudopalavras. Devido à importância da **frequência da palavra** no seu reconhecimento, garantiu-se que metade das palavras tinha frequência alta e a outra metade baixa. A tarefa que os participantes tinham de realizar era decidir o mais rápida e acertadamente se os estímulos ortográficos apresentados sequencialmente no ecrã do computador correspondem ou não a palavras reais do português (Fig. 1).

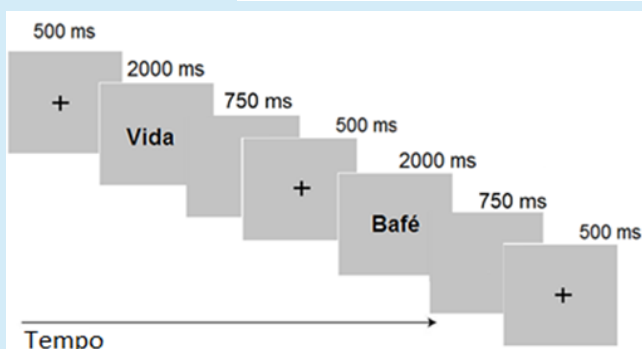


Figura 1. Exemplo de ensaios usados na tarefa de decisão lexical (“Vida” palavra com valência emocional positiva e “Bafé” pseudopalavra). O participante deverá responder carregando no botão “sim” relativamente ao primeiro estímulo e no botão “não” relativamente ao segundo.

Percepção de saúde organizacional
percepção dos trabalhadores sobre a forma como a sua organização funciona, tanto na vertente interna (por exemplo)

Foi medido o tempo da resposta dada a cada estímulo.

Resultados

Os resultados mostraram que as palavras de alta frequência foram mais rapidamente reconhecidas do que as de baixa frequência. Entre as palavras de alta frequência não se observou qualquer efeito da valência emocional no tempo de reconhecimento. Pelo contrário, quando as palavras eram de baixa frequência e demoravam mais tempo a ser reconhecidas, observou-se efeito da valência emocional: as palavras positivas foram reconhecidas mais rapidamente do que as neutras, enquanto as palavras negativas requereram tempos de reconhecimento mais longos (Fig. 2).

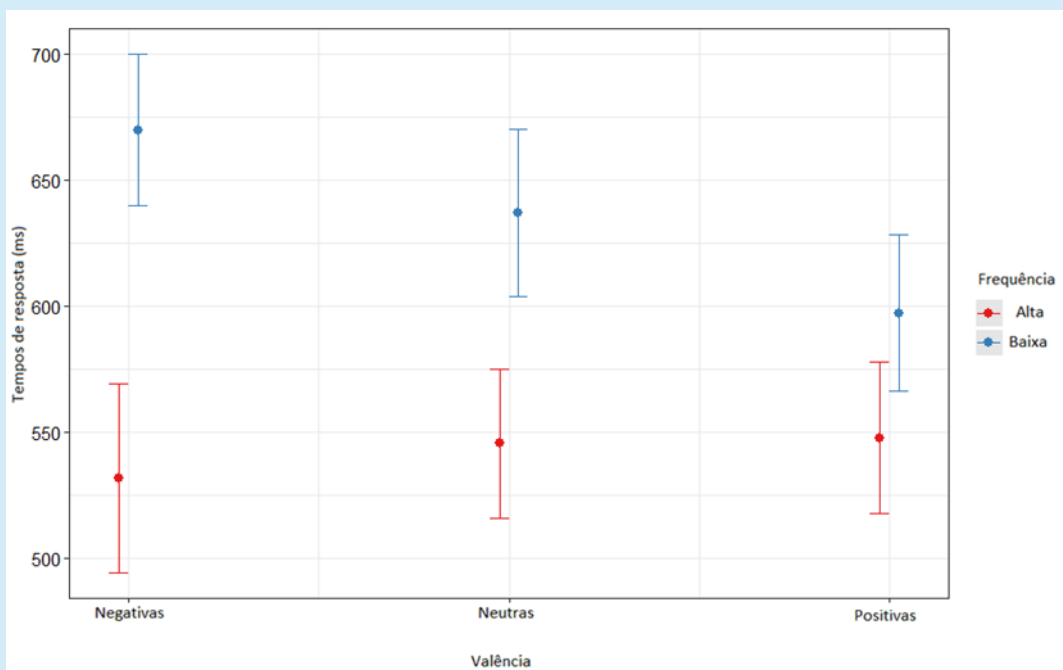


Figura 2. Interação entre os efeitos da valência emocional e da frequência nos tempos de resposta na tarefa de decisão lexical. Enquanto para as palavras de alta frequência o tempo resposta foi sempre semelhante (média ~ 542ms), para as palavras de baixa frequência o tempo de resposta apresentou diferenças estatisticamente significativas em função da valência emocional (positivas: 597 ms vs. neutras: 637ms, $p = 0.008$; negativas: 670ms vs. neutras: 637ms, $p = 0.022$).

Conclusão e implicação prática

Os resultados sugerem que a valência emocional tem efeito no tempo de reconhecimento de palavras, mas esse efeito apenas emerge quando as palavras demoram a ser reconhecidas (tal como no caso das palavras com baixa frequência). Nesta situação particular, as palavras positivas são reconhecidas mais rapidamente do que as neutras, enquanto as palavras negativas têm tempos de reconhecimento mais lentos. De acordo com a Teoria da Vigilância Automática, torna-se difícil retirar a atenção dirigida aos estímulos negativos devido à potencial ameaça que eles possam representar. Por essa razão, os nossos participantes não responderam tão rapidamente a palavras emocionalmente negativas na tarefa de decisão

lexical. Podemos ainda especular que as palavras positivas possam representar estímulos gratificantes, conduzindo a tempos de resposta mais curtos. No entanto, o efeito da valência emocional no reconhecimento de palavras poderá ser um processo cognitivo relativamente lento, pois não chega a afetar o rápido processamento das palavras de alta frequência.

Esta investigação poderá ser importante na medida em que o conteúdo emocional das palavras pode contribuir para a aquisição de vocabulário durante a aprendizagem da leitura em crianças no início da escolaridade.

Referências Bibliográficas

1. Kever A, Grynberg D, Szmalec A, Smalle E & Vermeulen N. (2019). “Passion” versus “patience”: The effects of valence and arousal on constructive word recognition. *Cognition and Emotion*, 33, 1302–1309.
2. Pratto F & John OP (1991). Automatic vigilance: The attention-grabbing power of negative social information. *Journal of Personality and Social Psychology*, 61, 380-391.

Artigo original

Barriga-Paulino CI, Guerreiro M, Faísca L, Reis A Does emotional valence modulate word recognition? A behavioral study manipulating frequency and arousal (2022) *Acta Psychologica* 223(2), 03484.

<https://doi.org/10.1016/j.actpsy.2021.103484>

Biografia dos Autores

Catarina Paulino é doutorada em Psicologia pela Universidade de Sevilha. Atualmente é bolsista de Pós-Doutoramento na Universidade do Algarve, interessada no papel que a valência emocional exerce sobre o processamento de palavras escritas.

Milene Guerreiro é mestre em Neurociências Cognitivas e Neuropsicologia pela Universidade do Algarve e Neuropsicóloga no Projeto Neurofocus.

Luís Faísca é Professor Associado de Psicologia na Universidade do Algarve, interessado no processamento da linguagem escrita, processos de memória e em métodos de análise de dados.

Alexandra Reis é Professora Catedrática em Neurociências Cognitivas e Neuropsicologia na Universidade do Algarve, interessada no processamento da linguagem escrita e suas perturbações.

Os nossos revisores

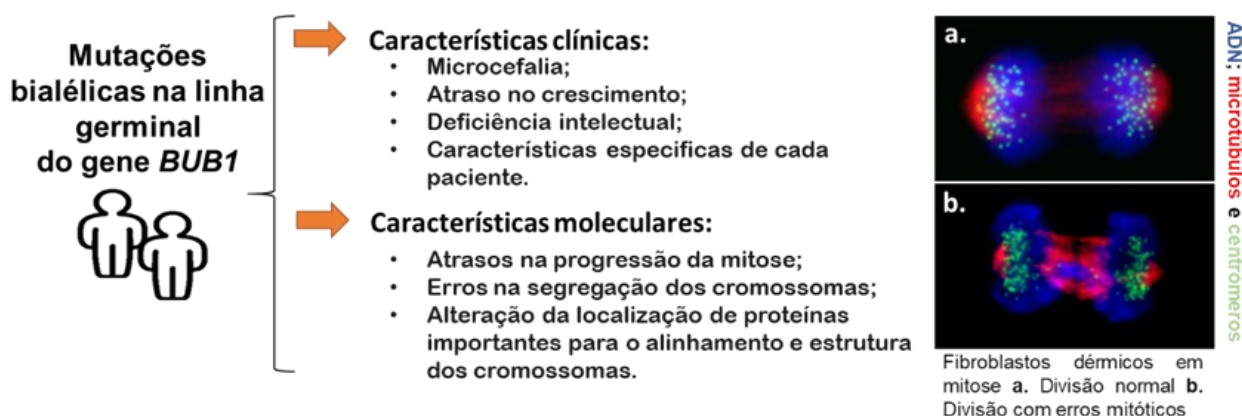
Os nossos revisores vêm da **Escola Secundária de Silves**, e são **Amber Watt-Dalston, Ana Catarina Braga, Inês Romaneiro, Diana Ribeiro, Erica Carvalho, Maria Norris, Lara Neves, Beatriz Silva, Fabiana Neves, Margarida Mourão, Lúcia Guerreiro, Vitalina Rubitel, Eva Lança, Lara Coelho, Matilde Dinis, Íris Rodrigues** (11º ano). A coordenação da revisão foi feita pela **Professora Maria Irene Ferreira**.



A equipa editorial do UALGORITMO agradece os **Professores Conceição Ferreira, Eduardo Silva, e Florbela Reis Cabrita** que coordenaram a ligação com os editores e os revisores da Escola de Silves.



Identificação e caracterização dos dois primeiros doentes com mutações bialélicas no gene *BUB1*



Autores

Xavier Jorge^{1,2} e Sara Carvalho^{1,2,3}

Afiliações

¹ ABC – RI, Algarve Biomedical Center – Research Institute

² Universidade do Algarve

³ Instituto Gulbenkian de Ciência

Revisão

Escola: Escola Secundária José Belchior Viegas, São Brás de Alportel

Alunos: Artur Vilhena, Beatriz Chaveca, Beatriz Rodrigues, Bernardo Faria, Carla Veiga, Carolina Rodrigues, Catarina Alves, Catarina Guerreiro, Catarina Cavaco, Diogo Morais, Filipa Santiago, Filipe Meleiro, Gonçalo Cavaco, Hugo Alfarra, João Rodrigues, João Martins, João Santos, João Veríssimo, Lara Guerreiro, Leonor Adanjo, Mariana Romeira, Marta Scotto, Rita Soares

SUMÁRIO — *BUB1* (do inglês *Budding uninhibited by benzimidazoles 1*) é uma enzima que participa em diversos processos da mitose e que pode levar a erros na segregação dos cromossomas. No artigo Carvalho *et al.* 2022, publicado na revista *Science Advances*, descrevemos os dois primeiros pacientes identificados com mutações bialélicas no gene *BUB1*. Ambos os pacientes apresentam características clínicas comuns como microcefalia, atraso no desenvolvimento e problemas na mitose. Estes problemas incluem mitoses prolongadas com erros na segregação dos cromossomas e nos mecanismos que auxiliam a segregação. Os fenótipos clínicos e celulares destes pacientes assemelham-se aos fenótipos observados nas síndromes raras como coesinopatia, aneuploidia variegada em mosaico e microcefalia primária autossómica recessiva. **ABSTRACT** — *BUB1 (Budding uninhibited by benzimidazoles 1) is an enzyme that participates in several processes of mitosis and can lead to erroneous chromosome segregation. In the article Carvalho et al 2022, published in the journal Science Advances, we described the first two patients identified with biallelic mutations in BUB1 gene. Both patients have common clinical features such as microcephaly, developmental delay and mitosis problems. Problems include prolonged mitoses with errors in chromosome segregation and in the mechanisms that help segregation. The clinical and cellular phenotypes of these patients resemble the phenotypes seen in rare syndromes such as coesinopathy, mosaic variegated aneuploidy, and autosomal recessive primary microcephaly.*

Glossário

Aneuploidia

Número anormal de cromossomas. Células com um cromossoma a mais chama-se trissomia, um cromossoma a menos, monossomia e nulossomia se par de cromossomas está ausente

Aneuploidia variegada em mosaico

Síndrome rara caracterizada por aneuploidias em apenas algumas células do corpo (fenómeno conhecido como mosaicíssimo) que leva a uma variedade de anomalias fenotípicas

Coesina

Complexo de proteínas que formam uma estrutura em anel. A coesina é responsável por manter unidos os cromátidos irmãos, durante o processo da divisão celular até a formação das células filhas

Mutações bialélicas:

mutações presentes em ambas as cópias do gene (cópia materna e cópia paterna)

Gene BUB1

Codifica a enzima cinase serina/treonina BUB1, que tem funções em diversos checkpoints mitóticos

TOP2A

Topoisomerase II alfa é uma enzima envolvida no controlo da topologia do ADN, participa em processos como condensação dos cromossomas, separação dos cromátidos e alívio do estresse de torção do DNA

Microcefalia

Malformação que pode ser ou não congénica. A microcefalia é caracterizada por uma cabeça menor que a média (face ao seu género e idade)

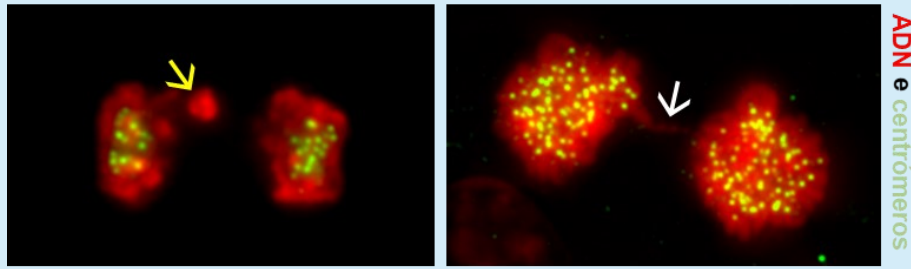
Microcefalia primária autossómica recessiva

Síndrome rara caracterizada por uma mutação com caráter autossómico recessivo (ambos os alelos necessitam estar mutados para a doença se manifestar). É uma microcefalia congénita, isto é, na qual o bebé já nasce com microcefalia

A segregação de cromossomas é o processo pelo qual ocorre a separação dos cromátidos irmãos durante a mitose. Este processo é extremamente bem regulado de modo a garantir que cada célula filha recebe exatamente a correta quantidade de material genético da célula mãe. Erros neste processo levam a células com alterações no material genético, nomeadamente **aneuploidia** que é quando existe um maior ou menor número de cromossoma nas células formadas. A aneuploidia está associada ao desenvolvimento de doenças como o cancro e doenças neurodegenerativas. A proteína BUB1 é frequentemente alterada no contexto tumoral. O **BUB1** é uma cinase serina/treonina que garante a estabilidade genética ao participar em vias de sinalização do SAC (do inglês *spindleassembly checkpoint*) e do EC (do inglês *error correction*), estas vias sinalizam a má orientação dos cromossomas que serão herdados pelas células-filhas, assim como corrigem os defeitos sinalizados. O BUB1 também participa na qualidade da estrutura dos cromossomas ao regular o recrutamento e localização de importantes componentes estruturais destes, nomeadamente a **coesina**, SGO-1 (do inglês *Shugoshin 1*) e a **TOP2A** (do inglês *Topoisomerase II alpha*). Estas duas funções da enzima BUB1 torna-a numa proteína crucial para a manutenção da correta passagem do número de cromossomas. Alterações ao nível da proteína ou da sequência do **BUB1** já foram descritas em inúmeros cancros, e correlacionado com abortos espontâneos pelo que se pensava que mutações no gene **BUB1** era incompatíveis com a vida. No estudo Carvalhal et al. 2020 descreve-se os dois primeiros doentes com **mutações bialélicas** na sequência do gene **BUB1**.

Resultados e discussão

Ambos os pacientes foram recrutados através da base de dados GeneMatcher, a qual combina pacientes de acordo com as mutações que apresentam. A nível clínico estes doentes partilham a presença de **microcefalia**, atraso no crescimento e deficiência intelectual. Foram também descritos problemas específicos para cada paciente, nomeadamente no paciente 1 ao nível respiratório. Fibroblastos dérmicos de ambos os pacientes foram obtidos para a realização de estudos complementares à sequenciação de DNA e assim perceber o impacto destas mutações a nível celular e molecular. Esses estudos levaram a concluir que a mutação presente no paciente 1 leva praticamente a expressão de níveis de proteína quase nulos, não obstante à preservação da sua função como cinase. Mutações do paciente 2 conduzem à expressão de uma proteína em que ocorreu o desalinhamento da sequência (*exon skipping*), o que resulta num transcrito com uma deleção de 54 aminoácidos no domínio da cinase. Células do paciente 2 expressam níveis reduzidos de BUB1, porém esta proteína comporta-se como uma enzima sem atividade de cinase. Dada a dicotomia entre níveis de proteína e atividade enzimática nas células destes dois pacientes, e o facto do BUB1 ser importante para a estabilidade cromossómica das células, foi avaliado o impacto destas mutações na fidelidade mitótica. Técnicas de microscopia, incluindo em células vivas,



Cromossomas lagging

ADN bridges

Figura 1. Durante a anáfase (parte da mitose onde os cromossomas começam a ser divididos) podemos observar **cromossomas lagging**, os quais são cromossomas individualizados que ficaram atrasados na sua divisão (do inglês lag) entre as duas massas de ADN (ácido desoxirribonucleico) que depois serão incorporadas por cada célula filha. Este erro (indicado pela seta amarela) é causado por problemas no tipo de alinhamento dos cromossomas quando se preparam para dividir. **ADN bridges** são erros na segregação dos cromossomas no qual existe uma ligação de ADN entre as duas massas de ADN ligando assim as duas células filhas que se vão formar (indicado pela seta branca).

Cromossoma lagging
erro de segregação cromossômica, definido como a presença de um cromossoma entre as duas massas de cromossomas durante a anáfase, podendo ser definido como um cromossoma "atrasado" no processo de migração para os polos

ADN bridge
erro de segregação cromossômica, definido como uma cadeia de ADN que se estende entre as duas massas de cromossomas durante a anáfase, formando uma "ponte" entre ambas as massas de ADN, a sua origem deriva de entrelaçamentos de ADN não resolvidos

Aurora B
Enzima cinase serina/ treonina muito importante para a correta segregação dos cromossomas, nomeadamente através de funções no checkpoint mitótico e no alinhamento correto dos cromossomas

revelaram que ambos os pacientes apresentam atrasos no tempo de alinhamento dos cromossomas e erros na segregação cromossômica. Os tipos de erros observados em ambas as células dos pacientes foram distintos. Embora ambos tenham células com problemas ao nível de **cromossomas lagging**, as células do paciente 2 têm maioritariamente **ADN bridges** (Fig. 1). Esta diferença provavelmente advém do impacto que as mutações de cada paciente têm ao nível da expressão de proteína e da sua atividade enzimática, as quais deverão afetar de modo distinto as vias de sinalização em que o BUB1 participa na mitose, e conseqüentemente causar diferentes erros na segregação. De acordo com esta previsão, Carvalho e os seus colegas encontraram que os problemas de segregação do tipo 'cromossomas lagging' não eram causados ao nível do SAC, mas sim no recrutamento e localização de duas proteínas responsáveis pelo alinhamento e orientação dos cromossomas (o passo que antecede a divisão destes entre as duas células filhas). Estas análises relevaram que as células do paciente 1 têm maioritariamente problemas ao nível da proteína BUBR1 (do inglês *budding uninhibited by benzimidazole-related 1*) e as do paciente 2 ao nível da proteína **Aurora B**. Aquando do estudo das proteínas que são responsáveis por manter a estrutura dos cromossomas, encontrou-se que as células do paciente 1 têm problemas de recrutamento ao nível da proteína TOP2A e não apresentam problemas de recrutamento da coesina, enquanto as células do paciente 2 têm problemas em ambas as proteínas. Em conjunto, estas análises ao nível celular e molecular, demonstraram como é que estas mutações alteram as vias de sinalização que são responsáveis por manter uma divisão células fidedigna.

Conclusão

Neste estudo foram identificados e caracterizados a nível clínico e molecular os dois primeiros pacientes com mutações bialélicas na linha germinal do gene *BUB1*. Estas mutações levam à expressão de BUB1 a diferentes níveis de proteína e de atividade enzimática, no entanto partilham problemas no neuro desenvolvimento, nomeadamente microcefalia.

Coesinopatia
Conjunto de síndromes resultante de anomalias na coesina ou nos seus reguladores. Atualmente consideram-se que existem quatro tipos de coesinopatias

Síndrome rara
Doença que afeta menos de 5 em cada 10 000 pessoas (de acordo com a Comissão Europeia)

As suas características clínicas e moleculares são semelhantes à observada em outras síndromes, nomeadamente nas **síndromes raras coesinopatias**, aneuploidias variegadas em mosaico e microcefalia primária autossómica recessiva. Assim, consideramos que estes pacientes estão na interseção destas síndromes e o gene *BUB1* deverá ser considerado um gene de diagnóstico quando a nível clínico se considerar estas síndromes. Porém desconhece-se o impacto destas mutações a nível tumoral. Esperamos que num futuro próximo mais pacientes com mutações bialélicas no *BUB1* sejam identificados para melhor delinear as características moleculares em que o *BUB1* participa no desenvolvimento humano, nomeadamente neuronal.

Artigo original

Carvalho S, Bader I, Roomans MA, Oostra AB, Balk JA, Feichtinger RG, Beichler C, Speicher MR, van Hagen JM, Waisfisz Q, van Haelst M, Buijn M, Tavares A, Mayr JA, Wolthuis RMF, Oliveira RA and de Lange J. *Biallelic BUB1 mutations cause microcephaly, developmental delay, and variable effects on cohesion and chromosome segregation*. *Sci Adv.* (2022) 8, eabk0114. <https://www.science.org/doi/10.1126/sciadv.abk0114>

Biografia dos Autores

Sara Carvalho – Investigadora no ABC - RI formada em Bioquímica na Faculdade de Ciência da Universidade de Lisboa, onde também realizou o seu mestrado em Bioquímica Médica. Depois de trabalhar durante um ano em Espanha, começou o seu doutoramento na prestigiada Universidade de Dundee no Reino Unido. Durante o seu doutoramento trabalhou em mitose e meiose usando células humanas e ratinhos. Durante este tempo trabalhou também num projeto colaborativo na Alemanha. Após o seu doutoramento fez um pós-doutoramento no Instituto Gulbenkian de Ciência, onde aprofundou os seus conhecimentos em microscopia e divisão celular, uma área que trabalhou desde o seu mestrado. Em 2020 juntou-se à Universidade do Algarve para incorporar o novo instituto de investigação do Algarve Biomedical Center (ABC-RI). No ABC-RI pretende usar os seus conhecimentos e perceber como é que a mitose está alterada em síndromes raras. A Sara está dedicada a 100% à sua investigação e ao seu laboratório, mas é convidada para partilhar o seu conhecimento em divisão celular, microscopia e técnicas laboratoriais em aulas lecionadas para estudantes de mestrado da Faculdade de Medicina e Ciências Biomédicas da Universidade do Algarve.

Xavier Jorge – Licenciado em Bioquímica pela Universidade do Algarve (2020) e encontra-se atualmente no segundo ano de mestrado em Oncobiologia – Mecanismos moleculares do cancro na Universidade do Algarve. Na sua dissertação de mestrado estuda a mitose num subtipo de coesinopatia.

Ligações internet relacionadas com o grupo de investigação

Laboratório da Sara Carvalho — <https://abc-ri.pt/research-groups/sara-carvalho-phd/#menu>

Curriculum Vitae de Sara Carvalho — <https://www.ualg.pt/bio/sibandarra>

Os nossos revisores

Os nossos jovens revisores são alunos e alunas de Biologia, do **12º ano, das turmas B e C, da Escola Secundária José Belchior Viegas, São Braz de Alportel**, e foram orientados pela **Professora Helena Gonçalves**. São estudantes com elevada curiosidade científica, espírito crítico e que gostam de desafios. São eles: **Artur Vilhena, Beatriz Chaveca, Beatriz Rodrigues, Bernardo Faria, Carla Veiga, Carolina Rodrigues, Catarina Alves, Catarina Guerreiro, Catarina Cavaco, Diogo Morais, Filipa Santiago, Filipe Meleiro, Gonçalo Cavaco, Hugo Alfarra, João Rodrigues, João Martins, João Santos, João Verissimo, Lara Guerreiro, Leonor Adanjo, Mariana Romeira, Marta Scotto, Rita Soares**.



Uso de Máscara Cirúrgica durante exercício Físico em Jovens Saudáveis

Autores

Hugo Mendonça Café^{1,2}, Marta Leitão¹, Anya Freitas³, Ana Marreiros²

Afiliações

¹ Hospital Particular do Algarve, Gambelas, Portugal

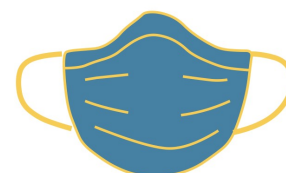
² Faculdade de medicina e Ciências Biomédicas da Universidade do Algarve

³ Centro de Saúde de Faro, Portugal

Revisão

Escola: Escola Secundária de Silves

Alunos: Alexandre Ramalho, Mariana Sequeira, Francisco Correia, Margarida Belo, Tomás Ataíde, Eva Gonçalves, Mariana Guerreiro, Maria Newton, Inês Rocha, Joana Gomes, Beatriz Aveiro, Carolina Cruz, Sara Teixeira, Beatriz Costa, Ana Felícia, Duarte Silva, Simão Benedito, Rivaldino Veiga, Miguel Meireles.



SUMÁRIO — No contexto da pandemia de COVID-19, o uso de máscaras cirúrgicas tornou-se o novo normal. A utilização destes dispositivos na prática de exercício físico tem sido defendida com o objetivo de reduzir os contágios, mas existem algumas preocupações quanto ao seu impacto na aptidão física e na segurança da sua utilização. Em particular, se o uso de máscara durante o exercício pode causar diminuição da capacidade funcional ou hipoxemia (diminuição de oxigénio) perigosa é algo que ainda não é claro. No nosso estudo realizámos provas de esforço máximo (em passadeira) a 12 indivíduos jovens saudáveis, com e sem uso de máscara cirúrgica, e medimos a capacidade de exercício, saturação de oxigénio (repouso, pico de exercício e pós-exercício) e alterações eletrocardiográficas. A capacidade de exercício e os níveis de saturação de oxigénio diminuíram no pico de exercício versus repouso de maneira estatisticamente significativa quando a máscara foi usada. Alterações eletrocardiográficas, embora não significativas, estiveram presentes em 3 indivíduos quando a máscara foi usada e desapareceram quando o teste foi feito sem máscara. Concluímos que o exercício com máscara tem o potencial de causar diminuição da capacidade de exercício e saturação de oxigénio e inclusive existe o potencial de causar erros de diagnóstico em exames médicos.

ABSTRACT — *In the context of the COVID-19 pandemic, the use of surgical masks has become the new normal. The use of these devices in exercise and medical situations has been advocated with the purpose of reducing contagions, but some concerns exist regarding its impact of physical fitness and safety of use. If the use of mask while exercising can cause decreased functional capacity or dangerous hypoxemia is still something we know little of. Therefore, we performed maximal treadmill stress tests in 12 healthy young subjects, with and without surgical mask use, and measured exercise capacity, oxygen saturation (rest, peak exercise and post-exercise) and electrocardiographic changes on a standard treadmill test. Exercise capacity and oxygen saturation levels decreased in peak exercise vs rest in a statistically significant manner when mask was used. ECG changes, although not significant, were present in 3 subjects when mask was used and disappeared when the test was made unmasked. We concluded that masked exercise has the potential to cause decreased exercise load and oxygen saturation and potentially cause diagnostic errors in medical exams.*

Glossário

Capacidade funcional
quantidade de exercício realizado

Estatisticamente significativo
diz-se dos dados que, quando comparados por métodos matemáticos, apresentam uma relação demonstrada entre eles

Prova de esforço
exame diagnóstico cardíaco que implica a realização de exercício numa passadeira rolante enquanto vários parâmetros (como a Tensão Arterial, batimentos Cardíacos e actividade eléctrica do coração) são avaliados

Eletrocardiograma (ECG)
exame diagnóstico cardíaco que avalia o funcionamento eléctrico cardíaco

Explicação

O uso de máscara cirúrgica é parte das recomendações das autoridades de saúde. Que implicações tem o seu uso em contexto da realização de actividade física?

Cada voluntário realizou a prova duas vezes, uma com máscara e outra sem máscara (após um teste COVID negativo). Desenhámos uma fórmula para estimar a progressão do exercício realizado na **prova de esforço**. Avaliámos a quantidade de exercício, o oxigénio no sangue (antes do exercício, no esforço máximo e após o exercício) e avaliámos igualmente as alterações de **electrocardiograma (ECG)**.

Observámos que quando o exercício era realizado com máscara havia uma diminuição de oxigénio no esforço máximo, uma menor capacidade de exercício e, em algumas pessoas, alterações no ECG.

Concluimos que o uso de máscaras cirúrgicas durante a realização de exercício físico provoca alterações fisiológicas claras, devendo ser ponderado se a sua obrigatoriedade neste contexto não é contraproducente.

Artigo original

Mendonça Café H, Leitão M, Freitas A, Marreiros A. Surgical Mask Use in Physical Exercise in Young Healthy Subjects Summe Trial. *Central European Journal of Sport Sciences and Medicine* (2021) 35, 117–125.
<https://wnus.edu.pl/cejssm/en/issue/1210/article/19275/>

Biografia dos Autores

Hugo de Mendonça Café, é Médico Cardiologista Regente da Unidade Curricular Ciências Básicas e Clínicas 3 do Mestrado Integrado em Medicina da Faculdade de Medicina e Ciências Biomédicas da Universidade do Algarve. Obteve um Master em Ecocardiografia Clínica, a Certificação em Ecocardiografia Transtorácica e Transesofágica pela Sociedade Europeia de Cardiologia. É também coordenador do Laboratório de Ecocardiografia do HPA- Gambelas. As suas áreas de especialização: Ecocardiografia, Insuficiência Cardíaca, Cardiologia Desportiva

Anya Freitas, é Licenciada em Enfermagem com Pós-Graduação em Gestão de Unidade de Saúde e mestranda do mesmo curso. Tem competências acrescidas na área de Cardiologia de Intervenção, Emergência Pré-Hospitalar, Via-Verde Coronária, Cuidados em Hemodiálise e actualmente desempenha funções na área de Cuidados de Saúde Primários da ARS Algarve. Tem particular interesse sobre a área de Investigação Clínica, tendo desempenhado funções como Enfermeira de Investigação no Reino Unido no Cardiac Research Department dos Hampshire Hospitals, NHS Foundation Trust, entre 2013 - 2016, em estudos internacionais da especialidade de Cardiologia: CANTOS, PARADIGM HF, PARADIGM HF EXTENSION, PARAGON HF, RELAX HF 2, PIONNER AF, LATITUDE, LATITUDE EXTENSION, ROSE-ACS, ISCHEMIA, REVIVED and IDDEA HF.

Marta Catarina Cardoso Leitão é Licenciada em Cardiopneumologia na Escola Superior Dr. Lopes Dias, onde também concluiu uma Pós-graduação em Ventilação Mecânica não Invasiva em 2013. De momento encontra-se a exercer a profissão na área da Cardiologia, no Hospital Particular do Algarve – Unidade de Gambelas, no qual é Coordenadora Técnica do Laboratório de Ecocardiografia. Presentemente está também na Universidade do Algarve como Monitora convidada do Laboratório de Aptidão de Competências – Mestrado Integrado em Medicina.

Ana Marreiros tem uma carreira académica em Estatística e Investigação Operacional, e em Métodos Quantitativos. Tem mais de 20 anos de experiência em tratamento de dados e docência nas áreas da estatística e da investigação operacional. Actualmente, é Professora Auxiliar da Faculdade de Medicina e Ciências Biomédicas e coordena a Unidade de Educação Médica e tem desenvolvido investigação clínica nas áreas de reumatologia, cardiologia, neurologia e oncologia. O seu interesse de investigação centra-se no desenvolvimento de algoritmia multivariada aplicada à investigação clínica e à educação médica.

Os nossos revisores

Os nossos revisores vêm da Escola Secundária de Silves, e são Alexandre Ramalho, Mariana Sequeira, Francisco Correia, Margarida Belo, Tomás Ataíde, Eva Gonçalves, Mariana Guerreiro, Maria Newton, Inês Rocha, Joana Gomes, Beatriz Aveiro, Carolina Cruz, Sara Teixeira, Beatriz Costa, Ana Felícia, Duarte Silva, Simão Benedito, Rivaldino Veiga, Miguel Meireles (11º ano). A coordenação da revisão foi feita pela Professora Maria Irene Ferreira.



A equipa editorial do UALGORITMO agradece os **Professores Conceição Ferreira, Eduardo Silva, e Florbela Reis Cabrita** que coordenaram a ligação com os editores e os revisores da Escola de Silves.

Universidade do Algarve

ESTUDAR ONDE É BOM VIVER

- > Licenciaturas
- > Mestrados Integrados
- > Pós-Licenciaturas
- > Pós-Graduações
- > Mestrados
- > Doutoramentos
- > Cursos Técnicos Superiores Profissionais

Áreas:

- > Artes, Comunicação e Património
- > Ciências e Tecnologias da Saúde
- > Economia, Gestão e Turismo
- > Ciências Exatas e Naturais
- > Ciências Sociais e da Educação
- > Engenharias e Tecnologias



www.ualg.pt

Aliens nos estuários do sul de Portugal



Autores

Pedro Morais*, João Encarnação, Maria Alexandra Teodósio

* Autor para correspondência - pmorais@ualg.pt

Afiliações

Centro de Ciências do Mar (CCMAR) – Universidade do Algarve

Revisão

Escola: Escola Secundária Pinheiro e Rosa, Faro

Alunos: Turmas de 10º ano C e D

SUMÁRIO — Nos estuários e mar do sul de Portugal podes encontrar inúmeros *aliens* subaquáticos. Mas acredita que não estamos a falar de seres extraterrestres! Neste artigo, vamos explicar quem são estes *aliens*, também chamados de espécies exóticas ou não-indígenas, porque são estudadas, como muitas espécies se tornam numa espécie exótica, e como é que algumas espécies exóticas se tornam numa espécie invasora. Na Universidade do Algarve estamos a tentar arranjar maneira de impedir a dispersão de algumas espécies invasoras comestíveis de garfo e faca. Podes também ajudar-nos a saber por onde andam espécies invasoras e tropicais ao colaborar com o projeto de ciência cidadã NEMA – Novas espécies Marinhas do Algarve, NEMAlgarve.com. **ABSTRACT** — *In the estuaries and sea of southern Portugal, you can find numerous underwater aliens. But we are not referring to aliens from outer space! In this article, we will explain what are these aliens, which are also called exotic species or non-indigenous species, why they are studied, how many species become exotic species, and how a few exotic species become invasive. At the University of Algarve, we are trying to avoid the dispersion of invasive species with kitchen forks and knives. You can also help us know where invasive and tropical species are in the Algarve by joining a citizen science project called NEMA – New Marine Species of the Algarve, NEMAlgarve.com.*



Glossário

Ciência cidadã

Ciência desenvolvida com base na colaboração entre cientistas e indivíduos da população em geral. Existem projetos de ciência cidadã de vários tipos, tais como arqueologia, astronomia, biologia ou oceanografia

Espécies não-nativas (ou espécies não-indígenas)

espécie que vive em ecossistemas distantes da sua região de distribuição natural e que transpôs barreiras geográficas intransponíveis graças à intervenção humana para aí chegar

Espécies nativas (ou espécie indígena)

espécie que se encontra na sua região de distribuição natural onde evoluiu e viveu durante milhares de anos

Área de distribuição

Regiões do globo ocupadas por uma espécie

Água de lastro

água transportada dentro de um navio para o estabilizar. Quando os navios estão a carregar carga, a água de lastro é despejada para evitar que o navio fique demasiado pesado. O processo inverso ocorre quando o navio está a descarregar carga num porto

Ecossistema

Área que apresenta características distintas onde animais, plantas, e outros organismos interagem entre si e com o ambiente que os rodeia. Estuários, desertos, e florestas são exemplos de alguns dos muitos ecossistemas existentes

Espécies invasoras

Espécie que vive afastada da sua área de distribuição natural e cuja população atinge números bastante elevados e assim prejudicando as espécies nativas e alterando o funcionamento do ecossistema onde vive

O QUE SÃO ESPÉCIES EXÓTICAS?

Quando ouvimos falar de *aliens* pensa-se imediatamente em seres extraterrestres. Contudo, estes *aliens* são também chamados de **espécies exóticas ou não-indígenas**. Estas espécies estão um pouco por todo o lado. As espécies exóticas são espécies que vivem distantes da sua **área de distribuição natural**, onde evoluíram durante milhares de anos, e onde são denominadas **espécies nativas ou indígenas**. Apenas com a intervenção humana, uma espécie exótica consegue ultrapassar barreiras geográficas intransponíveis, tais como montanhas, oceanos ou desertos. Algumas espécies exóticas são introduzidas intencionalmente numa zona não-nativa. A ameijoia japonesa foi introduzida intencionalmente por mariscadores na Ria Formosa. Contudo, a maioria das espécies são introduzidas acidentalmente. Algumas chegam à boleia de outras espécies exóticas, como algas agarradas às conchas de amêijoas ou ostras. Outras espécies chegam nas **águas de lastro** de navios transoceânicos (p.ex., alforreca negra) ou incrustadas no casco de navios (p.ex., craca triangular). Já outras foram o animal de estimação de alguém, tais como a tartaruga-de-orelha-vermelha ou o peixe dourado, ou até mesmo alguma planta usada na decoração de aquários, como a elódea-brasileira.

ALIENS NO SADO, MIRA E GUADIANA

Nos principais estuários do sul de Portugal – Sado, Mira, Guadiana – existem dezenas e dezenas de espécies exóticas. Quando uma espécie exótica chega a um novo **ecossistema** é provável que não encontre condições ideais e por isso a maioria não sobrevive ou estabelece uma pequena população. Outras espécies sentem-se em casa nesse novo ecossistema, a população aumenta, e expandem-se para áreas vizinhas do local de introdução. Nestas situações as espécies exóticas passam a denominar-se **espécies invasoras** e muitas vezes prejudicam espécies nativas e alteram o funcionamento dos ecossistemas. Nos estuários do sul de Portugal, as espécies invasoras mais emblemáticas são a amêijoia asiática, a alforreca negra, o caranguejo azul e a corvina americana (**Fig. 1**).

As espécies invasoras têm várias características em comum. Muitas espécies conseguem viver em ecossistemas com condições ambientais extremas e também se reproduzem em grande número. Quando ocorre alguma alteração significativa num ecossistema que diminui as populações de todas as espécies, as espécies invasoras conseguem, por norma, recuperar mais rapidamente do que as espécies nativas e ocupam os habitats deixados vazios por estas espécies devido à ausência de competição por espaço e alimento. Muitas espécies invasoras são bem-sucedidas porque os parasitas e/ou predadores que as afetam nas regiões nativas não existem no ecossistema que colonizaram na região não-nativa. Outras espécies invasoras também têm poucos inimigos naturais e, frequentemente, até nem têm qualquer inimigo no ecossistema que acabaram de colonizar. A maioria dos predadores nativos não reconhecem as espécies exóticas como potenciais presas. Contudo, os potenciais predadores nativos podem aprender a reconhecer as espécies exóticas como uma presa e assim abrandarem ou pararem a expansão duma espécie invasora.



Figura 1. (A) Amêijoia asiática *Corbicula fluminea* (O. F. Müller, 1774), (B) alforreca negra *Blackfordia virginica* (Mayer, 1910), (C) caranguejo azul *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) e (D) corvina americana *Cynoscion regalis* (Bloch & Schneider, 1801). Ilustrações feitas por Sarita Camacho.

CONTROLAR POPULAÇÕES DE ESPÉCIES INVASORAS

O nosso trabalho com espécies exóticas tem dois grandes objectivos. O primeiro objectivo é monitorizar as populações de espécies exóticas do sul de Portugal enquanto tentamos detectar precocemente o aparecimento de novas espécies. Assim, para além da realização de trabalhos de campo, estamos a desenvolver um projecto de ciência-cidadã chamado NEMA (Novas Espécies Marinhas do Algarve, NEMAAlgarve.com) para recebermos os registos de espécies exóticas e tropicais feitos por qualquer cidadão. Se encontrares alguma das espécies presentes na **Figura 2** então entra em contacto connosco (NEMAAlgarve@gmail.com).

PROCURADAS



Pretendemos com a sua ajuda compreender melhor a distribuição destas espécies ainda pouco conhecidas no Algarve! Se avistar ou pescar alguma no Algarve, ou outra fora do comum ou “estranha”, envie-nos uma **fotografia**, a **localização**, **data** e **método de captura**.

Contacte-nos por e-mail para NEMAlgarve@gmail.com ou nas nossas redes sociais. Saiba mais em www.NEMAlgarve.com

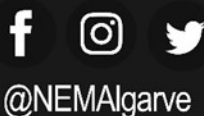


Figura 2. O projecto de ciência cidadã NEMA (Novas Espécies Marinhas do Algarve) anda à procura duma série de espécies exóticas, como o caranguejo azul e a corvina americana, e outras de origem tropical. Precisamos da ajuda de todos os cidadãos, tal como tu. Se encontrares um verme de fogo, peixe-balão ou o rascasso da Madeira **não** lhes toques pois são venenosos.

O nosso segundo objetivo consiste em desenvolver estratégias de controlo das populações de espécies invasoras para diminuir a pressão exercida sobre as espécies nativas e ecossistemas invadidos. Os trabalhos de monitorização mostraram que a quantidade de água libertada pelas barragens e época do ano em que acontecem é determinante para controlar a população de alforreca negra nos estuários. Esta espécie é nociva porque diminui a abundância de larvas de peixe e impede os pescadores de trabalharem porque as redes ficam cheias de alforrecas em poucos minutos. Se as barragens replicarem

Caudal natural as variações de caudal dum rio são impostas exclusivamente pela precipitação ao longo da sua bacia hidrográfica. No caso oposto, o caudal dum rio diz-se regularizado quando barragens aprisionam água e impedindo assim que o caudal do rio reflita a variação da precipitação

o **caudal natural** dos rios e se fizerem pequenas descargas de água durante o Verão, então é possível controlar as populações desta espécie. Esta estratégia diminui a quantidade de alforrecas, aumenta o número de larvas de peixe e os pescadores poderão continuar a trabalhar durante todo o ano. Este tipo de descargas de água também diminui a probabilidade de espécies exóticas recém-chegadas se estabelecerem. Porém, a água aprisionada nas barragens tem múltiplos usos (consumo humano, irrigação agrícola, produção de energia elétrica) por isso a quantidade de água reservada para manter saudáveis os ecossistemas a jusante – incluindo os estuários – é insuficiente. Outra solução comum para o controlo de espécies exóticas é a realização de ações de remoção esporádicas, mas estas não são eficazes para a maioria das espécies invasoras aquáticas. Por isso, temos vindo a propor o controlo de espécies invasoras comestíveis com o uso de garfo e faca. Ou seja, se pescadores profissionais puderem pescar espécies invasoras comestíveis, sem prejudicarem as espécies nativas, então poderemos controlar a abundância de caranguejo azul e corvina americana, ou minimizar os impactos da amêijoia asiática, enquanto contribuimos para a recuperação dos recursos pesqueiros tradicionais que estão maioritariamente sobreexplorados.

Erradicar ou impedir o avanço de espécies invasoras aquáticas é uma tarefa difícil, e por isso precisamos da tua ajuda. Se estiveres interessado em participar no projeto de ciência-cidadã NEMA consulta a informação presente na **Figura 2** e entra em contacto connosco. Quem sabe, se juntos não impedimos que uma nova espécie exótica se espalhe pelos estuários e praias do sul de Portugal.

Agradecimentos

Este trabalho foi publicado no âmbito do projeto do Fundo Ambiental ALFCORAZUL. João Encarnação tem uma bolsa de doutoramento (SFRH/BD/140556/2018) financiada pela Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT, Portugal) Este trabalho recebeu fundos nacionais através do projeto UIDB/04326/2020 (FCT, Portugal) e internacionais pelo projeto Horizon Europe (HORIZON) 101071300 - *Sustainable Horizons -European Universities designing the horizons of sustainability (SHEs)*. Por fim, agradecemos também aos alunos das turmas 10B e 10C da Escola Secundária Pinheiro e Rosa, Faro (ano letivo 2021-2022) pelos comentários e correções que fizeram em versões iniciais deste artigo.

Artigo original

Encarnação J, Baptista V, Teodósio MA, Morais P. *Low-cost citizen science campaign effectively monitors the rapid expansion of a marine invasive species.* *Frontiers in Environmental Science* (2021) 9, 752705. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2021.752705>

Referências Bibliográficas adicionais

Cerveira I, Baptista V, Teodósio MA, Morais P (2022) What's for dinner? Assessing the value of an edible invasive species and outreach actions to promote its consumption. *Biol Invasions* (2022) 24:815–829 <https://doi.org/10.1007/s10530-021-02685-3>

Chícharo MA, Leitão T, Range P, Gutierrez C, Morales J, Morais P, Chícharo L (2009). Alien species in the Guadiana Estuary (SE-Portugal/SW-Spain): *Blackfordia virginica* (Cnidaria, Hydrozoa) and *Palaemon macrodactylus* (Crustacea, Decapoda): potential impacts and mitigation measures. *Aquatic Invasions* 4(3): 501-506.

Referências Bibliográficas adicionais — continuação

Encarnação J, Morais P, Baptista V, Cruz J, Teodósio MA (2019) New evidence of marine fauna tropicalization off the southwestern Iberian Peninsula (southwest Europe). *Diversity* 11(4): 48.

Encarnação J, Teodósio MA, Morais P (2021) Citizen science and biological invasions: a review. *Frontiers in Environmental Science* 8: 602980.

Morais P, Cerveira I, Teodósio MA (2017). An update on the invasion of weakfish *Cynoscion regalis* (Bloch & Schneider, 1801) (Actinopterygii: Sciaenidae) into Europe. *Diversity* 9(4): 47.

Morais P, Dias E, Cruz J, Chainho P, Angélico MM, Costa JL, Barbosa AB, Teodósio MA (2017) Allochthonous-derived organic matter subsidizes the food sources of estuarine jellyfish. *Journal of Plankton Research* 39: 870-877.

Morais P, Miguel G, Garel E, Baptista V, Cruz J, Cerveira I, Leitão F, Teodósio MA (2019). The Atlantic blue crab *Callinectes sapidus* Rathbun, 1896 expands its non-native distribution into the Ria Formosa lagoon and the Guadiana estuary (SW-Iberian Peninsula, Europe). *BioInvasions Records* 8(1): 123-133.

Morais P, Parra MP, Marques R, Cruz J, Angélico MM, Chainho P, Costa JL, Barbosa AB, Teodósio MA (2015) What are jellyfish really eating to support high ecophysiological condition? *Journal of Plankton Research* 37: 1036-1041.

Morais P, Teodósio J, Reis J, Chícharo MA, Chícharo L (2009) The Asian clam *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) in the Guadiana River Basin (southwestern Iberian Peninsula): Setting the record straight. *Aquatic Invasions* 4(4): 681-684.

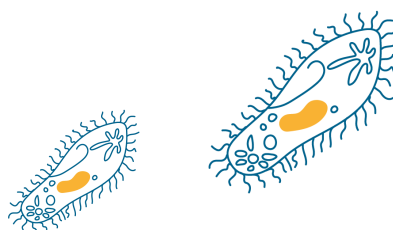
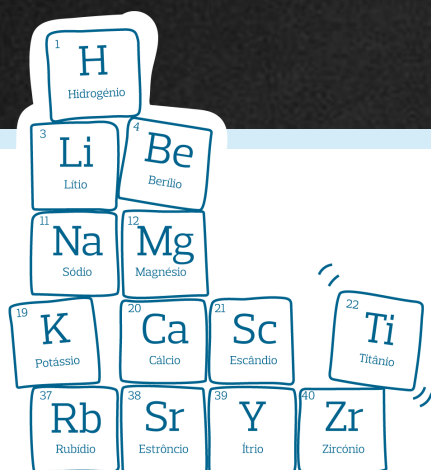
Morais P, Teodósio MA (2016) The transatlantic introduction of weakfish *Cynoscion regalis* (Bloch & Schneider, 1801) (Sciaenidae, Pisces) into Europe. *BioInvasions Records* 5(4): 259-265.

Biografia dos Autores

PEDRO MORAIS

www.pedro-morais.com

A minha paixão por biologia marinha começou quando eu tinha sete anos e fui de férias para Olhos de Água com os meus pais e irmã. Sempre que podia, ia procurar peixes, caranguejos, camarões, e anêmonas nas rochas durante a maré baixa. Já estudei todos os tipos de organismos marinhos (bactérias, algas microscópicas, alforrecas, amêijoas, caranguejos, aves, peixes, e até baleias e golfinhos) e em ecossistemas tão distintos como o oceano, lagoas costeiras, estuários, rios e ribeiras. No meu tempo livre gosto de dançar tango, fotografia, arranjar e restaurar coisas antigas, e fazer a minha árvore genealógica.



Biografia dos Autores — continuação



JOÃO ENCARNAÇÃO

Desde que me lembro, o oceano tem sido o meu quintal e parque de diversões. Desde muito cedo comecei a gostar de pescar e de desportos de ondas, depois comecei a olhar para o mundo subaquático com mais atenção. Essa paixão levou-me ao meu primeiro curso de mergulho em 2009. Ao mesmo tempo, a fotografia subaquática foi-se tornando numa outra grande paixão! Enquanto isso, terminei o meu curso em biologia marinha para poder identificar todas as espécies de peixes que via debaixo de água. Estudei também os impactos das barragens nas espécies estuarinas e os efeitos das nascentes naturais de água doce na biodiversidade costeira. Agora estou a terminar o meu doutoramento sobre espécies invasoras aquáticas no Sul de Portugal.



MARIA ALEXANDRA TEODÓSIO

Nasci numa pequena vila do sul de Portugal, rodeada de salinas e do estuário do Guadiana, em Vila Real de Santo António. Desde cedo aprendi a gostar do cheiro da baixa-mar e da cor escura do estuário, e descobri que há tesouros incríveis escondidos debaixo d'água. Quando era adolescente, segui o meu pai para resgatar um barco afundado no estuário. Depois, a vida seguiu o seu curso, e como um rio encontra sempre o mar, entrei na Universidade do Algarve para estudar Biologia Marinha. Nos últimos 30 anos, tenho sido professora na Universidade do Algarve e investigadora no seu centro Ciências do Mar (CCMAR). Gosto de ensinar e investigar a ecologia estuarina e a oceanografia biológica. Os meus interesses específicos de investigação incluem estudar a condição nutricional dos organismos marinhos e como as alterações globais afetam a biodiversidade marinha. Por diversão, gosto de pintar tudo, desde móveis a paredes e, às vezes, até mesmo "pinturas a sério".

Os nossos revisores

Os nossos jovens revisores são alunos das turmas de 10^º ano, **Escola Secundária Pinheiro e Rosa, Faro**, e foram orientados pelas **Professoras Magda Dias (10^º C)** e **Carla Rêgo (10^º D)**. As turmas participantes frequentam o Curso de Ciências e Tecnologias, pretendendo, uma grande maioria de alunos, ingressar no ensino superior nas áreas da saúde e das engenharias.



EQUIPA UALG

**Universidade do Algarve
2022/23**

***Palestras e atividades
para alunos e professores
das escolas básicas e
secundárias***

Consulta as palestras disponíveis em
www.ualg.pt/equipa-ualg-palestras

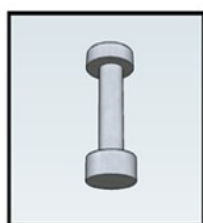
Palestras *online* e *presenciais*



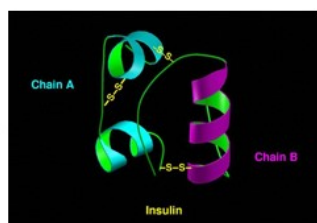


100 anos da descoberta da insulina

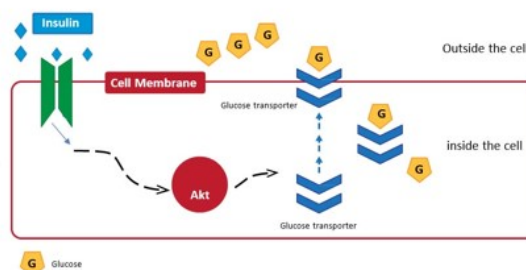
Otimização das condições de armazenamento da insulina a temperaturas negativas pelo método isocórico



Arrefecimento isocórico



Estrutura Nativa da insulina



Avaliação da função da insulina em células humanas HepG2

Autor

Eduardo Pinho Melo

Afiliações

Centro de Ciências do Mar (CCMAR) – Universidade do Algarve

Revisão

Escola: Escola Secundária Tomás Cabreira, Faro

Alunos: Turma dos Cursos Profissionais de Gestão turma dos Cursos Profissionais de Gestão dos Equipamentos Informáticos (PGEI) e de Eletrónica, Automação e Computadores (PEAC) do 2º ano (2020/2023)

SUMÁRIO — A otimização de formulações proteicas a temperaturas negativas é necessária para várias etapas da indústria farmacêutica, tais como armazenamento, transporte e liofilização. Usando arrefecimento em condições isocóricas (volume constante) é possível atingir temperaturas negativas sem ocorrer formação de gelo. Alterações na estrutura das proteínas são muito mais prováveis de ocorrer numa solução líquida do que numa matriz de gelo porque continua a existir liberdade conformacional e difusional que pode conduzir à desnaturação das proteínas e eventualmente à sua agregação. Assim, o arrefecimento isocórico pode ser usado para otimizar a formulação de proteínas na indústria farmacêutica muito mais rapidamente do que em condições de congelamento clássicas, como é demonstrado neste estudo para a hormona peptídica insulina. A perda de estrutura da insulina foi avaliada através de um evento de sinalização induzido pela insulina em células humanas de carcinoma hepático mostrando uma perda de função de 22% após 15 dias a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ após arrefecimento isocórico. A inclusão de 0.6M do crioprotetor sacarose na formulação da insulina preveniu esta perda de função.

ABSTRACT — Optimization of protein formulations at subzero temperatures is required for many applications in the pharmaceutical industry, such as storage, transport and lyophilization. Using isochoric cooling (constant volume) is possible to reach subzero temperatures without freezing aqueous solutions. Protein damage is accelerated in liquid solutions compared to an ice matrix as diffusional and conformational freedom is still present leading to cold denaturation and eventually protein aggregation. Therefore, the use of isochoric cooling can be used to faster optimization of protein formulation in the pharmaceutical industry as demonstrated in this study for the peptide hormone insulin. Insulin damage (loss of function) after isochoric cooling to -20 °C was evaluated through a signalling event elicited on human hepatocyte carcinoma cells showing a lost of 22% of its function after 15 days. Formulation containing 0.6 M of the cryoprotectant sucrose prevented insulin damage.

Glossário

Arrefecimento isocórico
também chamado de arrefecimento isovolumétrico porque ocorre em condição de volume constante

Insulina
hormona responsável pela redução da taxa de glucose no sangue ao promover a sua entrada nas células

Formulação de proteínas terapêuticas
composição do meio onde as proteínas terapêuticas são armazenadas/administradas

Estrutura nativa de proteínas
estrutura tridimensional de proteínas responsável pela sua função

Enzimas cinases
tipo de enzima que transfere grupos fosfato entre moléculas

A produção e comercialização de proteínas terapêuticas requer o controlo da sua estabilidade, já que estas são submetidas a vários processos desde a produção até ao armazenamento e administração nos pacientes (Cleland et al., 1993). De facto, a otimização da formulação para o armazenamento, dosagem e administração de proteínas terapêuticas constitui um constrangimento importante no desenvolvimento de novos produtos proteicos por via biotecnológica (Nayar e Manning, 2002). A **insulina** é uma das proteínas terapêuticas produzidas em maior escala. Esta atua como hormona responsável pela redução da taxa de glucose no sangue, promovendo a sua entrada nas células a partir do sangue (Dagasan e Erbas, 2020). Devido à sua utilização terapêutica em pacientes diabéticos, o valor global anual do mercado de insulina aproxima-se dos 30 biliões de dólares. É produzida em grandes quantidades por técnicas de ADN (ácido desoxirribonucleico) recombinante pela indústria farmacêutica e é armazenada a temperaturas negativas por longos períodos (Baeshen et al., 2014).

Sendo a insulina uma proteína, a sua função depende da sua estrutura tridimensional, também chamada de estrutura nativa. A perda de **estrutura nativa** de uma proteína pode resultar do seu desenrolamento (*unfolding*), agregação, enrolamento incorreto (*misfolding*) e alterações químicas como a oxidação, entre outras (Fersht, 2017). Quando a insulina perde a sua estrutura nativa durante o armazenamento, não consegue exercer a sua função quando administrada no organismo. Portanto, é fundamental otimizar as condições físico-químicas, isto é, o tipo de tampão, o valor de pH, a concentração de sal, a adição de compostos estabilizadores de proteínas, etc., que permitem manter a estrutura nativa da insulina durante o seu armazenamento a temperaturas negativas. O problema que se coloca nesta otimização tem a ver com a dificuldade em testar o efeito das condições de armazenamento na estrutura nativa da insulina. Após congelamento, pode demorar meses ou mesmo anos até a insulina ou qualquer outra proteína terapêutica perder gradualmente a sua estrutura nativa e consequentemente a sua função (Bhatnagar et al., 2008). A seleção das condições ótimas de armazenamento pode assim demorar um período de tempo incompatível com as necessidades da indústria farmacêutica.

Neste artigo, demonstra-se a utilidade do método isocórico (processo isocórico é aquele que ocorre a volume constante) para acelerar o processo de perda de estrutura nativa da insulina a temperaturas negativas e deste modo poder otimizar, num período de tempo razoável, as condições físico-químicas que melhor preservam a estrutura nativa/função da insulina. O método isocórico permite testar o efeito de compostos crioprotetores na formulação de preparações de proteínas terapêuticas, exemplificado neste estudo para a insulina como modelo de proteína terapêutica.

Resultados e Discussão

No método isocórico, caracterizado como um processo que ocorre a volume constante, um recipiente resistente à pressão foi completamente cheio com a solução de insulina e, após ter sido hermeticamente fechado, foi colocado a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (**Fig. 1**). Como o recipiente foi completamente cheio com a solução de insulina, não existe espaço livre para ocorrer aumento de volume e, conseqüentemente, a solução aquosa de insulina não congela. O gelo ocupa mais volume que a água líquida e, não havendo espaço livre no interior do recipiente, não ocorre formação de gelo. Portanto, com o método isocórico podemos estudar o que acontece à função da insulina quando esta é colocada a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ em diferentes condições físico-químicas sem ocorrer formação de gelo.

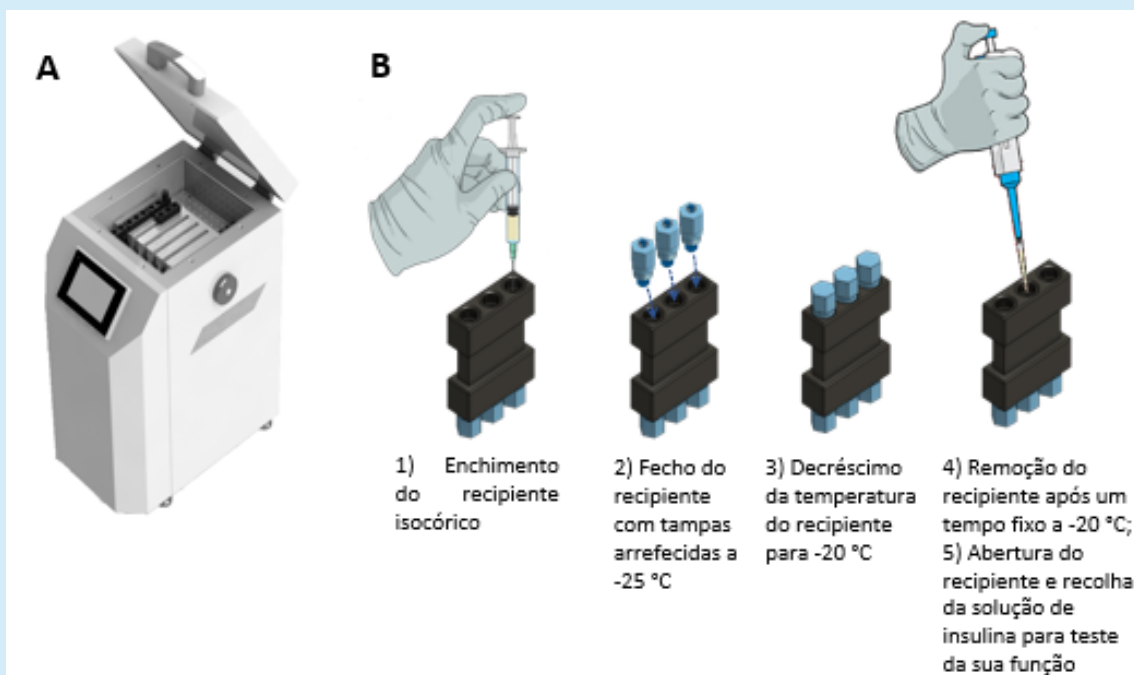


Figura 1. Representação esquemática do sistema “Cold Stability Accelerated System” desenvolvido pela Smartfreez Lda (A), usado para efetuar o arrefecimento em condições isocóricas (B).

A solução permanece líquida e os processos que conduzem à perda da estrutura nativa da insulina e conseqüentemente da sua função, devido à temperatura de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, tornam-se muito mais rápidos numa solução líquida do que numa matriz de gelo. Esta circunstância permite otimizar as condições físico-químicas de armazenamento da insulina num período de tempo muito mais curto comparado com o que aconteceria se ocorresse formação de gelo. Para estudar a função da insulina fresca (sem ser submetida a baixas temperaturas) e após armazenamento a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ em condições isocóricas, usou-se a linha celular de células humanas hepáticas HepG2 isoladas de um cancro do fígado. O fígado é um dos principais órgãos onde a insulina, produzida no pâncreas, atua. Esta linha celular tem algumas funções do fígado humano e tem sido muito usada para estudar o efeito da insulina *in vitro* (Huang et al., 2015). Quando entra nas células humanas, a insulina, se estiver funcional, provoca a fosforilação da enzima cinase Akt1 (p-Akt1) (Kim et al., 1999).

Usando a técnica de *western blot* é possível medir a quantidade relativa de Akt1 fosforilada e compará-la com a quantidade total de cinase Akt1 que existe nas células. A razão p-Akt1/Akt1 nas células HepG2 é assim uma medida da

Western blot método em biologia molecular e bioquímica para detetar proteínas numa amostra biológica, baseado numa eletroforese em gel, transferência para membrana e deteção da proteína alvo por anticorpos específicos

efetividade da função da insulina nas células HepG2. Para a insulina fresca, a quantidade de p-Akt1, medida através da intensidade da banda da p-Akt1 no *western blot*, é proporcional à concentração de insulina aplicada às células HepG2 na gama de 0 a 300 nM (**Fig. 2A** e painel superior de **Fig. 2B**).

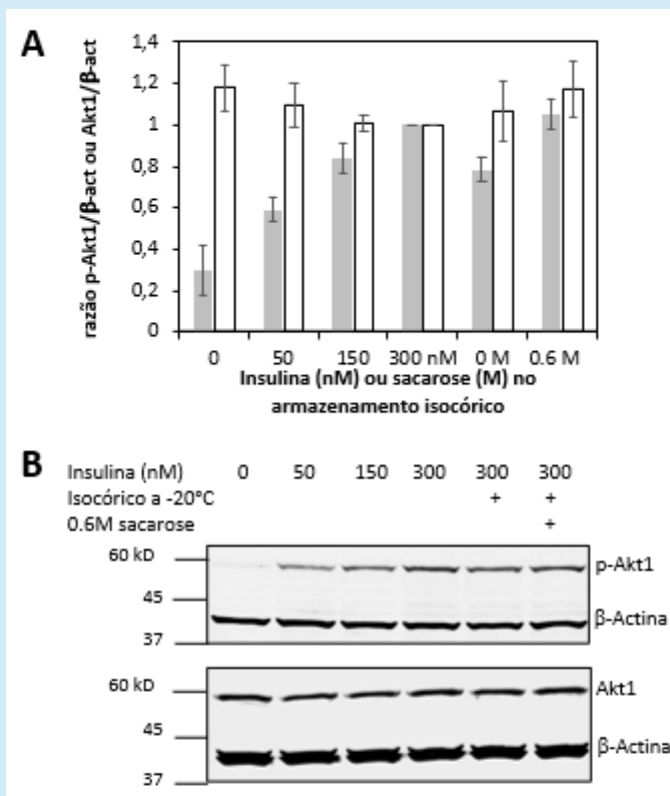


Figura 2. (A) Quantidade relativa da cinase Akt1 fosforilada (p-Akt1 – barras cinzentas) e da Akt1 total (barras brancas) medidas por densitometria do “*western blot*” após tratamento da linha celular hepática humana HepG2 com insulina. A proteína do citoesqueleto celular β-actina foi usada como controlo da quantidade de proteína carregada no gel de SDS-Page. A insulina foi usada fresca em diferentes concentrações (nM), sem ser submetida a abaixamento de temperatura, ou após armazenamento em condições isocóricas (300 nM de insulina) durante 15 dias a -20 °C na ausência e presença de 0.6M de sacarose. A quantidade relativa de Akt1 total foi usada como controlo biológico da homeostase celular (é independente da concentração de insulina funcional) e a quantidade de p-Akt1 depende da concentração de insulina funcional (Kim et al., 1999). A comparação das quantidades relativas de Akt1 e p-Akt1 assume 100% para a condição 300 nM de insulina (faixa 4 em (B)). **(B)** “*Western blot*” para a deteção de p-Akt1 (em cima) e Akt1 total (em baixo), um dos 4 replicados usados para a quantificação e cálculo do desvio padrão apresentados no gráfico de barras em (A).

No *western blot* também se mediu os níveis da proteína β-actina do citoesqueleto celular. Sendo a β-actina uma proteína estrutural, a sua quantidade não varia com o estado metabólico da célula (**Fig. 2B**) e por isso pode ser usada como controlo para provar que a quantidade de proteína carregada no gel foi igual em todas as faixas do gel. Além disso, mediu-se ainda no *western blot* a quantidade total de Akt1 como indicador da homeostase celular (estabilidade e equilíbrio necessário para a célula efetuar as suas funções). A quantidade de Akt1 total não varia com a concentração de insulina aplicada às células, indicando que as células HepG2 estão saudáveis (em homeostase) nas várias condições estudadas (**Fig. 2A** e painel inferior de **Fig. 2B**). Sabendo que a quantidade de p-Akt1 reflete a função da insulina e que a quantidade total de Akt1 é um indicador da homeostase celular, avaliou-se o efeito do armazenamento em condições isocóricas a -20°C durante 15 dias na função da insulina. Testou-se o armazenamento da insulina em duas formulações diferentes, na ausência e presença de 0.6 M de sacarose, para demonstrar a utilidade do método isocórico na otimização das condições físico-químicas de armazenamento num período de tempo aceitável para a indústria farmacêutica. A utilização do açúcar sacarose como composto que estabiliza a estrutura nativa das proteínas foi anteriormente descrita em várias publicações (Baptista et al., 2000; Melo et al., 2010; Estrela et al., 2015). O armazenamento da insulina em condições isocóricas a -20°C durante 15 dias resulta num decréscimo da função da insulina nas células HepG2, medido através do decréscimo da quantidade de p-Akt1 (barras cinzentas na **Fig. 2A** e *western blot* superior em **Fig. 2B**). Este decréscimo é prevenido por adição de

0.6 M de sacarose. É possível ainda concluir que as células HepG2 incubadas com as diferentes amostras de insulina estavam todas nas mesmas condições homeostáticas já que a quantidade total de Akt1 não variou como mostram as barras brancas na **Fig. 2A** e o western blot inferior na **Fig. 2B**.

Referências Bibliográficas

Baeshen, N.A., M.N. Baeshen, A. Sheikh, R.S. Bora, M.M.M. Ahmed, H.A.I. Ramadan, K.S. Saini, E.M. Redwan (2014) Cell factories for insulin production. *Microb. Cell Fact.* 13: 141.

Baptista, R.P., J.M.S. Cabral, E.P. Melo (2000) Trehalose delays the reversible but not the irreversible thermal denaturation of cutinase. *Biotechnol. Bioeng.* 70: 699-703.

Bhatnagar, B.S., M.J. Pikal, R.H. Bogner (2008) Study of the individual contributions of ice formation and freeze-concentration on isothermal stability of lactate dehydrogenase during freezing. *J. Pharm. Sci.* 97: 798-814.

Cleland, J.L., M.F. Powell, S.J. Shire (1993) The development of stable protein formulations: a close look at protein aggregation, deamidation, and oxidation. *Crit. Rev. Ther. Drug. Carrier Syst.* 10: 307-377.

Dagasan, S., O. Erbas (2020) Insulin structure, function and diabetes models in animals. *J. Exp. Basic Med. Sci.* 1: 96-101.

Estrela, N., H.G. Franquelim, C. Lopes, E. Tavares, J.A. Macedo, G. Christiansen, D. Otzen, E.P. Melo (2015) Sucrose prevents protein fibrillation through compaction of the tertiary structure but hardly affects the secondary structure. *Proteins* 83: 2039-2051.

Fersht, A., *Structure and Mechanism in Protein Science*. Singapore, World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., 2017. Huang, Q., L. Chen, H. Teng, H. Song, X. Wu, M. Xu (2015) Phenolic compounds ameliorate the glucose uptake in HepG2 cells' insulin resistance via activating AMPK. *J. Funct. Foods* 19: 487-494.

Kim, Y.B., S.E. Nikoulina, T.P. Ciaraldi, R.R. Henry, B.B. Kahn (1999) Normal insulin-dependent activation of Akt/protein kinase B with diminished activation of phosphoinositide 3-kinase in muscle in type 2 diabetes. *J. Clin. Invest.* 104: 733-741.

Melo, E.P., N. Estrela, C. Lopes, A.C. Matias, E. Tavares, V. Ochoa-Mendes (2010) Compacting proteins: Pros and Cons of osmolyte-induced folding. *Curr. Protein Pep. Sci.* 11: 744-751.

Nayar, R., M.C. Manning, High throughput formulation: Strategies for rapid development of stable protein products. In: Carpenter, J.F., Manning, M.C. eds. *Rational Design of Stable Protein Formulations*. New York, Kluwer Academic, 2002: 177-198.

Artigo original

Correia C, Tavares E, Lopes C, Silva JG, Duarte A, Gerales V, Rodrigues MA, **Melo EP**. *Stability of protein formulations at subzero temperatures by isochoric cooling*. *J. Pharm. Sci.* (2020) 109: 316-322. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022354919304204>

Biografia dos Autores

Eduardo P. Melo - Doutorado em Biotecnologia conferido pelo Instituto Superior Técnico, Lisboa, na área da estrutura-função de enzimas. Este interesse na relação estrutura-função de proteínas, evoluiu para o estudo de uma questão crucial na Biologia: os mecanismos de enrolamento (*folding*) e estabilidade de proteínas. Diversas colaborações, nomeadamente com a Universidade de Aalborg na Dinamarca, contribuíram para a investigação nesta área. Em 2003, uma licença sabática no Instituto de Neuropatologia da Universidade Hospital de Zurique, permitiu iniciar estudos sobre as doenças priónicas que, à semelhança da doença de Alzheimer e de Parkinson, resultam do enrolamento incorreto (*misfolding*) e agregação de proteínas. A investigação na área do *misfolding* proteico expandiu-se, suportada por licenças sabáticas em Nova York (Skirball Institute of Biomolecular Medicine, Universidade de Nova York) e em Cambridge (Cambridge Institute for Medical Research, Universidade de Cambridge). Vários aspetos relacionados com o *misfolding* e agregação de proteínas têm sido abordados nos últimos anos, tais como, fatores celulares de stress oxidativo, formação de ligações estabilizadoras de proteínas e mecanismos celulares de desagregação de proteínas.

Ligações internet relacionadas com o investigador

Centro de Ciências do Mar (CCMAR)

<https://www.ccmarmar.ualg.pt/user>

ORCID

<https://orcid.org/0000-0002-0974-8977>

ResearchGate

<https://www.researchgate.net/profile/Eduardo-Pinho-Melo>



Os nossos revisores

Os nossos revisores foram os estudantes das turmas dos Cursos Profissionais de Gestão dos Equipamentos Informáticos (PGEI) e de Eletrónica, Automação e Computadores (PEAC) do 2º ano (2020/2023) da **Escola Secundária Tomás Cabreira, Faro**, representados por **Rodrigo Miguel da Silva Neves** (à direita na fotografia). Rodrigo Neves tem 17 anos, e as suas áreas de interesse são a informática, videojogos, música, cinema e TV. A coordenação das atividades de revisão foi feita pela **Professora Filomena Conceição** (à esquerda na fotografia).



Welcome to the international conference

Ageing With]Out[Borders

that will be held in Faro on 6-7th December 2022.

AGEING without BORDERS

AP EVA SENSES HOTEL
FARO, PORTUGAL

6-7 DECEMBER 2022
Save the date!

Mais informação no portal <https://awbfaro2022.wixsite.com/website>

IMPULSOS PRR



120

cursos livres e de pós-graduação

2400

Vagas

Bolsas

de Incentivo

UAlg+Skills4Life em colaboração com parceiros regionais e nacionais

Toda a informação em: www.ualg.pt/impulsos-prr

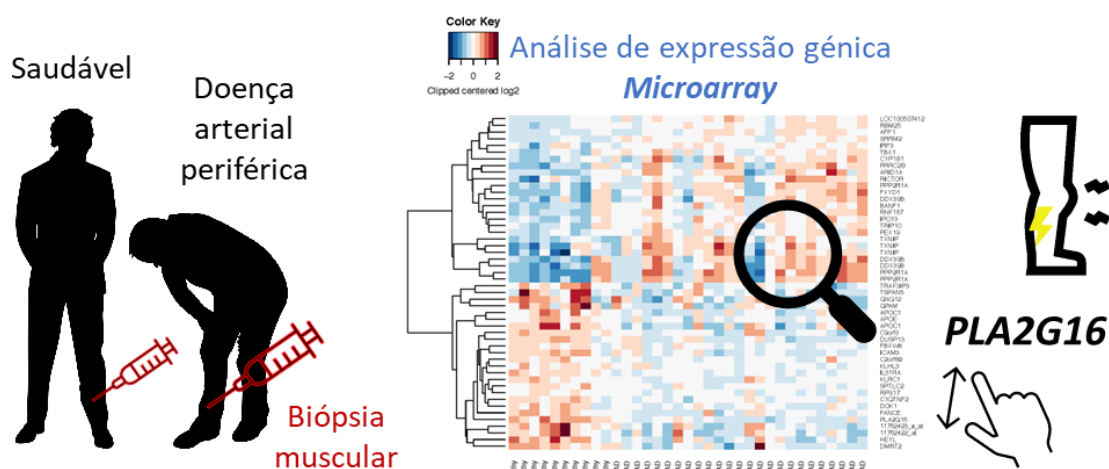


Funded by the
European Union
NextGenerationEU



100 anos da descoberta

Expressão de *Pla2g16* na doença arterial periférica associada à resistência à insulina – O que faz uma proteína específica do tecido adiposo no músculo esquelético?



Autor

Ana Luísa De Sousa-Coelho

Afiliações

Escola Superior de Saúde da Universidade do Algarve
Algarve Biomedical Center - Research Institute

Revisão

Escola: Escola Secundária Tomás Cabreira, Faro

Alunos: Carolina Coelho, Joana Mendes, Joana Passos, Maria Brito e Mariana Ribeiro

SUMÁRIO — Os sintomas da doença arterial periférica (DAP) podem resultar da limitação do fluxo sanguíneo nas artérias que irrigam os membros, ou de fatores metabólicos no tecido músculo-esquelético, que podem contribuir para o desconforto nas pernas e prejudicar a capacidade de locomoção. Através de um estudo de caso-controlo para determinar se a expressão génica no músculo está alterada na DAP, identificamos uma redução da expressão do gene *PLA2G16*¹, que codifica a proteína “fosfolipase A2 específica do tecido adiposo” (AdPLA), em pacientes com DAP. Enquanto a expressão de *Pla2g16* não se alterou em ratos insulino-resistentes, houve uma redução significativa da sua expressão na perna isquémica, obtida por ligação da artéria femoral, de ambos ratos controlo e diabéticos, mas com maior redução nos diabéticos. A redução de AdPLA pode contribuir para o comprometimento da capacidade de locomoção em pacientes com DAP através de efeitos no metabolismo do músculo.

¹Os símbolos dos genes devem ser representados em itálico, sendo que se nos referimos ao gene humano representa-se em maiúsculas (ex: *PLA2G16*), mas se for de rato é em minúsculas (ex: *Pla2g16*). Este símbolo especificamente, refere-se ao nome do gene que codifica a proteína chamada “fosfolipase A2 específica do tecido adiposo”, do inglês *adipose tissue-specific phospholipase A2*, a qual também pode ser referida abreviadamente como AdPLA.

ABSTRACT — Symptoms of peripheral arterial disease (PAD) can result from limited blood flow in the arteries that supply the limbs, or from metabolic factors in musculoskeletal tissue, which can contribute to leg discomfort and impair walking ability. Through a case-control study to determine whether muscle gene expression is altered in PAD, we identified a reduction in the expression of the *PLA2G16* gene, which encodes adipose tissue-specific phospholipase A2 (*AdPLA*) protein, in patients with PAD. While *Pla2g16* expression did not change in insulin-resistant mice, there was a significant reduction in its expression in the ischemic leg, obtained by ligation of the femoral artery, in both control and diabetic mice, but with a greater reduction in diabetic mice. Decreased *AdPLA* may contribute to impaired walking ability in patients with PAD through effects on muscle metabolism.

Glossário

Doença arterial periférica (DAP) nas pernas ou extremidades inferiores é o estreitamento ou bloqueio dos vasos que transportam o sangue do coração para as pernas. É causada principalmente pela acumulação de placas de gordura nas artérias (aterosclerose). A DAP pode ocorrer em qualquer vaso sanguíneo, mas é mais comum nas pernas do que nos braços

Estenose aterosclerótica a aterosclerose pode causar estreitamento de qualquer uma das artérias do corpo. Este estreitamento/oclusão é denominado estenose e pode ocorrer nas artérias nas pernas ou, mais raramente, nos braços

Microarray um microarray é uma ferramenta de laboratório usada para detetar a expressão de milhares de genes ao mesmo tempo. Para realizar este tipo de análise, as moléculas de RNA mensageiro (mRNA) são extraídas de uma amostra experimental (indivíduo com uma determinada doença) e de uma amostra de referência (indivíduo saudável). Os dados obtidos através de *microarrays* podem ser usados para criar perfis de expressão génica, que mostram mudanças simultâneas na expressão de muitos genes em resposta a uma determinada condição

Biópsia do músculo colheita de um tecido biológico, neste caso, do músculo humano. As biópsias musculares são obtidas após anestesia local, onde aproximadamente 100-150 mg de tecido é normalmente recolhido, usando uma agulha de biópsia muscular percutânea de 5 mm

Gastrocnémio refere-se ao grande músculo que temos da parte posterior da perna, vulgarmente chamado de gêmeos

Isquemia a isquemia é uma condição na qual o fluxo sanguíneo (e, portanto, também o oxigénio) se encontra restrito ou reduzido numa parte específica do corpo

Isquémica que está sujeita a ou que é derivada de uma situação de isquemia

A **doença arterial periférica (DAP)** afeta quase 10% das pessoas com 65 anos de idade ou mais, e mais de 200 milhões de pessoas em todo o mundo. Aproximadamente 10-30% dos pacientes com DAP tem claudicação intermitente, que é definida como um desconforto muscular da perna que ocorre durante uma caminhada e que se resolve em repouso. Vários indivíduos com DAP apresentam a sua capacidade de caminhar afetada, que se caracteriza por percorrerem distâncias mais curtas e andarem com uma velocidade mais lenta. A claudicação intermitente pode resultar, em parte, da diminuição da perfusão ao músculo esquelético em exercício, devido à existência de **estenose aterosclerótica**, o que limita o fluxo sanguíneo. Mas por outro lado, verificou-se que a realização de exercício físico melhora a distância percorrida nos pacientes com DAP, isto sem aumentar o fluxo dos vasos sanguíneos. Portanto, poderá haver outros fatores envolvidos no seu desenvolvimento, como um metabolismo muscular esquelético deficiente, de nutrientes como a glucose e os ácidos gordos, o que limitaria a obtenção da energia necessária para o músculo funcionar corretamente. Com este estudo, pretendemos identificar as alterações na expressão de genes no músculo esquelético, que pudessem estar a contribuir para a claudicação intermitente e/ou para a redução da capacidade de marcha nos pacientes com DAP.

Impacto da DAP na expressão génica do músculo esquelético

Para a realização da análise de expressão génica através de **microarray**, foram obtidas **biópsias do músculo gastrocnémio** de pacientes com DAP e de controlos saudáveis. As diferenças na expressão entre os grupos foi avaliada, e o nível de significância foi traçado em relação à mudança de expressão relativa entre os grupos, como se pode verificar na representação do gráfico de vulcão (**Fig. 1A**). Entre virtualmente todos os genes do genoma, a análise bioinformática identificou *PLA2G16* como o gene mais bem classificado, que demonstrou uma redução de 69% na expressão em DAP, em comparação com os controlos (**Fig. 1B**), a qual foi confirmada através de análise quantitativa por **PCR em tempo real (Fig. 1C)**.

Impacto da resistência à insulina e lesão isquémica na expressão muscular de *Pla2g16*

Sabendo que a DAP está associada com a resistência à insulina e redução da captação de glucose no músculo esquelético [1,2], e que a resistência à insulina pode estar associada à diminuição da função muscular [3], avaliamos a expressão de *Pla2g16* no músculo do membro posterior de ratos resistentes à insulina.

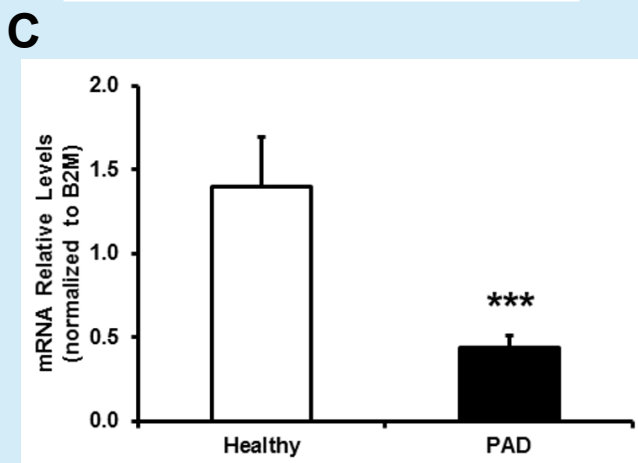
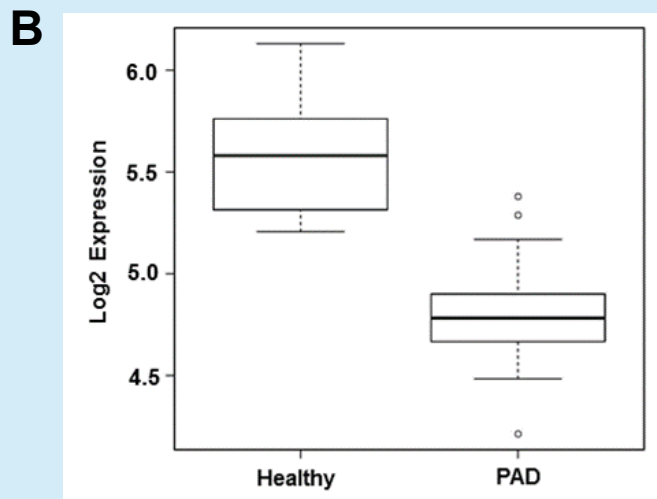
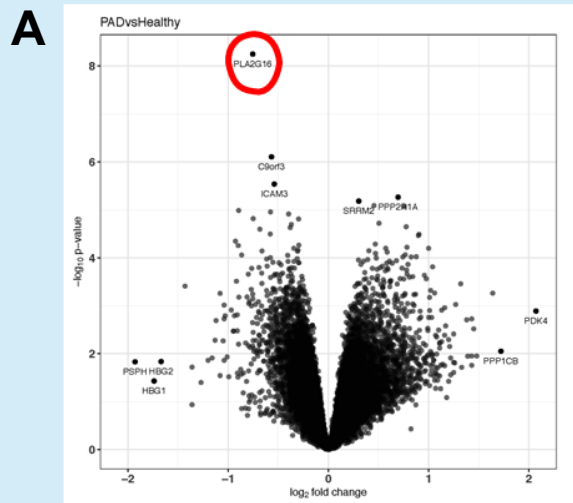


Figura 1. Expressão diferencial de *PLA2G16*. (A) Gráfico vulcão da expressão gênica. Dos 49396 conjuntos de sondas analisados no *microarray*, apenas um conjunto de sondas atingiu nosso limite de significado estatístico para expressão diferencial entre indivíduos com DAP (*PAD*) e indivíduos saudáveis (*Healthy*). (B) Expressão do gene *PLA2G16* em indivíduos saudáveis e pacientes *PAD*. (C) Análise quantitativa da expressão de *PLA2G16* em biópsias de músculo gastrocnêmio de indivíduos saudáveis (*Healthy*, n=9) e indivíduos DAP (*PAD*, n=15), normalizado para Beta-2-Microglobulina (B2M). *** significa que o resultado é estatisticamente significativo, ou seja, existem diferenças na expressão de *PLA2G16* entre os grupos.

PCR quantitativo em tempo real
técnica de análise quantitativa da expressão gênica baseada no princípio da reação de cadeia da polimerase (PCR, *polymerase chain reaction*), acoplado a um sistema de detecção e quantificação do produto obtido durante os ciclos de amplificação. Os níveis de expressão do gene estudado devem sempre ser normalizados pela expressão de um outro gene cuja expressão não varie devido às nossas condições experimentais, para validação dos resultados. Neste trabalho usamos os genes que codificam a Beta-2-Microglobulina (B2M) (Fig. 1), a Ciclofilina ou a Hipoxantina fosforibosiltransferase 1 (Hprt) (Fig. 2)

Modelos db/+ e db/db
os ratos db/db são utilizados como um modelo animal de obesidade, resistência à insulina e diabetes. Os ratos db/+ não se tornam diabéticos em nenhum momento durante a sua vida, sendo por isso utilizados como o grupo controle

Tecido adiposo
gordura que temos no nosso corpo. Este é composto maioritariamente por células chamadas adipócitos, ricas em gordura

A expressão de *Pla2g16* não diferiu no músculo isolado de nenhum dos modelos testados, os quais incluíram ratos com **obesidade induzida pela dieta rica em gorduras** (Fig. 2A), ratos com resistência à insulina induzida pela infusão de um inibidor do receptor da insulina (Fig. 2B), e ratos diabéticos **db/db** (Fig. 2C – Membro não lesado, círculos abertos). Para testar o impacto da **isquemia** na expressão de *Pla2g16*, realizamos a **ligação da artéria femoral**, que reduziu de forma aguda o fluxo sanguíneo na perna afetada em ambos grupos de ratos controle (**db/+**) e diabéticos (db/db). Verificou-se que a recuperação do fluxo sanguíneo após a intervenção foi significativamente menos bem-sucedida nos ratos diabéticos em comparação com o grupo controle. Em ambos os grupos, verificou-se a expressão significativamente reduzida de *Pla2g16* no músculo da perna sujeita a lesão **isquêmica** aguda, em comparação com a perna não intervencionada (Fig. 2C). A redução na expressão de *Pla2g16* na perna sujeita à ligação da artéria femoral foi significativamente maior em ratos diabéticos em comparação com ratos controle, mais notavelmente no dia 3, mas esta diferença desapareceu no dia 31 (Fig. 2C – Membro lesado, círculos fechados).

Conclusões

Neste trabalho identificamos que pacientes com DAP têm regulação

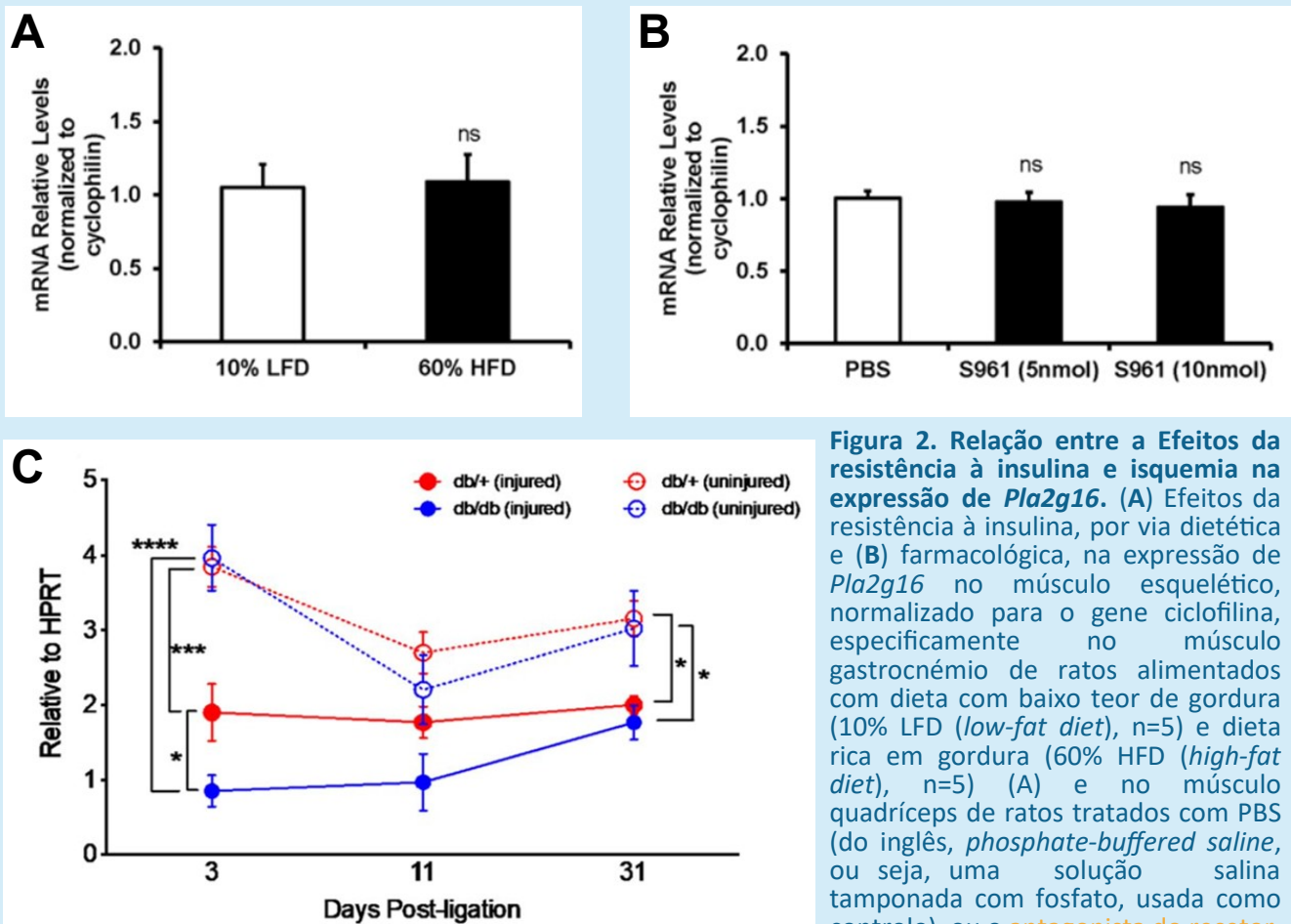


Figura 2. Relação entre a Efeitos da resistência à insulina e isquemia na expressão de *Pla2g16*. (A) Efeitos da resistência à insulina, por via dietética e (B) farmacológica, na expressão de *Pla2g16* no músculo esquelético, normalizado para o gene ciclofilina, especificamente no músculo gastrocnêmio de ratos alimentados com dieta com baixo teor de gordura (10% LFD (*low-fat diet*), n=5) e dieta rica em gordura (60% HFD (*high-fat diet*), n=5) (A) e no músculo quadríceps de ratos tratados com PBS (do inglês, *phosphate-buffered saline*, ou seja, uma solução salina tamponada com fosfato, usada como controle), ou o antagonista do recetor

da insulina S961, usado em duas doses diferentes (B). O resultado do teste t de $p > 0,05$ significa que não se encontraram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos (ns, não significativo). (C) Análise quantitativa da expressão de *Pla2g16* no músculo gastrocnêmio da perna lesada (*injured*) e não lesada (*uninjured*) de ratos db/+ (não diabéticos) e db/db (diabéticos), submetidos ou não à ligação da artéria femoral, após 3 (n=11-13), 11 (n=5-6) e 31 dias (n=4-7), normalizado para o gene hipoxantina fosforibosiltransferase 1 (Hprt). Os asteriscos indicam que o resultado é estatisticamente significativo, ou seja, existem diferenças significativas entre os grupos assinalados pelas chavetas planas: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$.

Resistência à insulina

a ação da insulina é a consequência da união da insulina ao seu recetor de membrana plasmática e é transmitida através da célula por uma série de interações proteína-proteína. A resistência à insulina é definida clinicamente como a incapacidade da insulina aumentar a captação e a utilização de glucose num indivíduo tanto quanto na população considerada normal. Quando as células dos músculos não respondem bem à insulina (isto é, são resistentes), não podem usar a glucose do sangue para a obtenção de energia.

Obesidade induzida pela dieta rica em gorduras

O modelo de obesidade induzida por dieta imita de perto a disponibilidade de alimentos ricos em gordura na sociedade moderna, que são os principais contribuintes para a tendência da obesidade em humanos. Isso mimetiza os distúrbios metabólicos humanos que são observados na obesidade, porque quando alimentados sem restrições com uma dieta rica em gordura, os ratos desenvolvem obesidade, hiperinsulinemia, e hiperglicemia

negativa significativa de *PLA2G16*, o gene que codifica a fosfolipase A2 específica do tecido adiposo (AdPLA) [4], no músculo esquelético dos seus membros inferiores. Verificamos também que a indução experimental direta de isquemia resulta na inibição de *Pla2g16*, já que os níveis de expressão de *Pla2g16* encontram-se reduzidos em ratos submetidos a lesão isquêmica aguda após ligação da artéria femoral, com uma maior regulação negativa em ratos diabéticos em comparação com ratos controlo não diabéticos. Por outra parte, a expressão de *Pla2g16* não se encontra alterada em ratos que apresentam resistência à insulina induzida por dieta ou inibição farmacológica do recetor de insulina, nem na perna normal de ratos diabéticos, em comparação com os ratos controlo, sugerindo que a resistência à insulina é provavelmente o resultado, e não a causa, da diminuição dos níveis de expressão de *PLA2G16* em pacientes com DAP. Futuramente, será necessário investigar os mecanismos que medeiam a regulação da transcrição do gene *PLA2G16* no músculo esquelético².

²Determinadas sequências presentes no nosso genoma, as quais identificamos como genes, codificam proteínas específicas, mas nem todas se expressam ao mesmo tempo nem em igual intensidade. Estas sequências de ADN devem, portanto, ser transcritas a ARN mensageiro, o qual levará a mensagem que posteriormente será traduzida a uma proteína específica, como a AdPLA. A transcrição dos genes, é um processo bastante regulado, e podem estar envolvidos diversos fatores. Neste caso, ainda desconhecemos quais são aqueles fatores que estão envolvidos na regulação da expressão de *PLA2G16* no músculo.

Antagonista do recetor da insulina

o antagonista S961 é um inibidor que impede a interação da insulina com o seu recetor, causando uma resistência à ação da insulina

Ligação da artéria femoral procedimento cirúrgico realizado com a intenção de bloquear a circulação sanguínea neste vaso em específico, causando uma situação de isquemia no membro inferior respetivo, neste caso numa das pernas do rato

Referências Bibliográficas

1. Pande RL, Park M-A, Perlstein TS, Desai AS, Doyle J, Navarrete N, Copeland-Halperin RS, Redline W, Di Carli MF, Creager MA. Impaired skeletal muscle glucose uptake by [18F]fluorodeoxyglucose-positron emission tomography in patients with peripheral artery disease and intermittent claudication. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011 Jan;31(1):190–6
2. Pande RL, Perlstein TS, Beckman JA, Creager MA. Association of insulin resistance and inflammation with peripheral arterial disease: the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999 to 2004. *Circulation.* 2008 Jul 1;118(1):33–41
3. Befroy DE, Petersen KF, Dufour S, Mason GF, de Graaf RA, Rothman DL, Shulman GI. Impaired mitochondrial substrate oxidation in muscle of insulin-resistant offspring of type 2 diabetic patients. *Diabetes.* 2007 May;56(5):1376–81
4. Duncan RE, Sarkadi-Nagy E, Jaworski K, Ahmadian M, Sul HS. Identification and functional characterization of adipose-specific phospholipase A2 (AdPLA). *J Biol Chem.* 2008 Sep 12;283(37):25428–36

Artigo original

Parmer C, **De Sousa-Coelho AL**, Cheng HS, Daher G, Burkart A, Dreyfuss JM, Pan H, Prenner JC, Keilson JM, Pande R, Henkin S, Feinberg MW, Patti ME, Creager MA. *Skeletal muscle expression of adipose-specific phospholipase in peripheral artery disease.* *Vasc Med.* (2020) 27;25(5):401–10. <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1358863X20947467>

Biografia dos Autores

Ana Luísa De Sousa Coelho é Farmacêutica (Universidade de Coimbra 1999), Mestre em Biotecnologia Molecular (Universidade de Barcelona, 2007) e Doutora em Biomedicina (Universidade de Barcelona, 2012). Após 3 anos em Boston (Joslin Diabetes Center, Harvard Medical School), onde investiga mecanismos moleculares de resistência à insulina no músculo esquelético e novos alvos terapêuticos para a diabetes, regressa a Faro em 2016 para integrar a **Área Departamental de Farmácia da Escola Superior de Saúde da Universidade do Algarve (ESSUAlg)**. Atualmente leciona Biotecnologia do Fármaco, Toxicologia Farmacêutica, Bioquímica Clínica, e Biologia Molecular aos alunos da Licenciatura em Farmácia, e colabora noutras unidades curriculares da UAlg. Atualmente é **investigadora no Algarve Biomedical Center Research Institute (ABC-RI)**, onde reparte os seus interesses científicos entre metabolismo, cancro, diabetes, obesidade, e envelhecimento.

Ligações internet relacionadas com a investigadora

<https://abcmedicalg.pt/pt/abc-ri>

<https://ess.ualg.pt/centro-de-estudos-e-desenvolvimento-em-saude>

Ligação internet relacionada com o curso onde a autora leciona

<https://ess.ualg.pt/curso/1520>

Os nossos revisores

As revisoras **Carolina Coelho**, **Joana Mendes**, **Joana Passos**, **Maria Brito** e **Mariana Ribeiro** são do 12º3, uma turma de ciências e tecnologias da **Escola secundária Tomás Cabreira**, que receberam este artigo através da **Professora de português Cristina Cantinho**.

“Gostámos muito de receber a oportunidade de rever artigos que no futuro podemos vir a escrever.”

