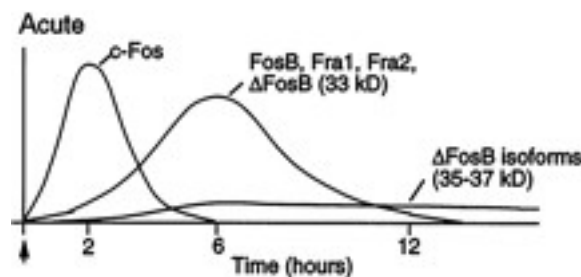


## Resumo sobre a pesquisa da proteína DeltaFosB pela UNIFESP

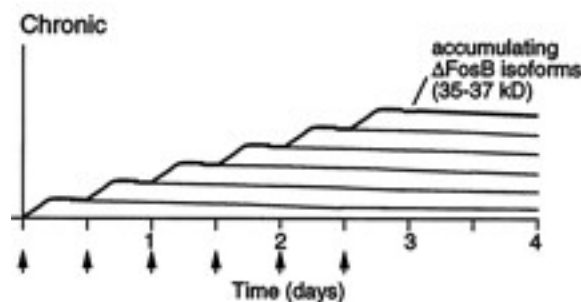
A DeltaFosB é uma proteína da família Fos. A família Fos é constituída por quatro proteínas: c-Fos, FosB, Fra1, Fra2 e DeltaFosB, esta última se apresenta tanto na forma normal quanto na isoforma. Esta família, juntamente com a família Jun, estão relacionadas com adaptações comportamentais, químicas e elétricas conhecidas como plasticidade neuronal (Hiro et al, 1998).

A família Fos é produzida no interior do neurônio a partir de vários estímulos crônicos, como indução de crises por eletrovulsão (epilepsia) e o tratamento de drogas psicotrópicas. Existem evidências que a indução aguda das proteínas Fos e Jun causa dessensibilização do indivíduo, levando-o a se comportar de forma inesperada em situações extremas (Winston et al, 1990; Hope et al, 1992; Pennypacker et al, 1995).

A síntese proteica da família Fos se inicia no núcleo após o estímulo. Passando pela fase de transporte, a proteína é sintetizada no citoplasma, aonde se acumula nos primeiros momentos até o ápice da produção. A metabolização de cada uma delas ocorre em tempos diferentes como pode ser visto na figura abaixo:



Como pode ser visto, a DeltaFosB isoforma leva mais tempo para ser metabolizada. Quando estes estímulos se tornam crônicos, a concentração da DeltaFosB isoforma aumenta muito devido à demora na sua metabolização conforme pode ser visto na figura abaixo:



Este acúmulo suprime a produção das demais proteínas desta família devido a um mecanismo de equilíbrio interno da célula. Desta forma, o neurônio fica saturado de DeltaFosB isoforma por um longo período de tempo. Por consequência, há um aumento da plasticidade neuronal neste período fazendo com que o indivíduo crie dependência da experiência que vivenciou durante os estímulos, como é o caso de dependência de drogas.

Os pesquisadores do Laboratório de Neurofisiologia da UNIFESP acreditam que a chave para tratar dependentes químicos é encontrar uma forma de inibir a produção de DeltaFosB isoforma. Espera-se que esta inibição equilibre a produção das demais proteínas. Por isso, precisam medir a quantidade de neurônios saturados de DeltaFosB isoforma em todas as áreas do cérebro de três grupos de animais:

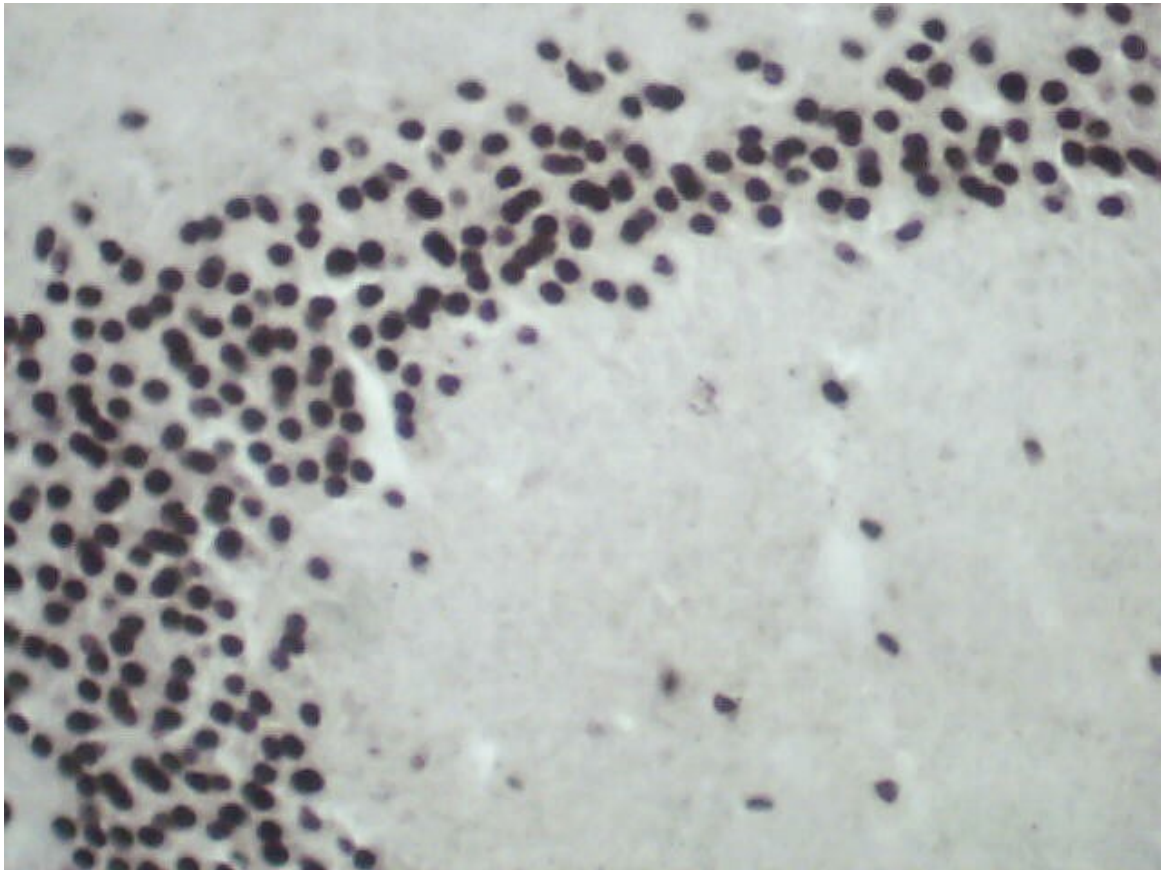
1. Et\_Low: com estímulos agudos;
2. Et\_High: com estímulos crônicos;

3. Salina: com tratamento de salina;

Para marcar os neurônios afetados pela saturação de DeltaFosB, eles utilizam a imunohistoquímica por peroxidase com perfusão do tecido cerebral e segue basicamente o seguinte processo:

1. O tecido é congelado em nitrogênio líquido para armazenamento;
2. No momento da análise, o bloco histológico é fatiado pelo criostato em 32 $\mu$ m;
3. O anticorpo primário para DeltaFosB é incubado por duas horas;
4. A lâmina é lavada para que excesso de anticorpos, aqueles que não se ligaram à proteína, sejam retirados;
5. O anticorpo secundário, que possui uma molécula de biotina, é incubado por duas horas e se liga ao primário;
6. A lâmina é lavada novamente para que o excesso de anticorpos, aqueles que não se ligaram ao primário, sejam retirados;
7. É adicionado uma substância de peroxidase que reage com a biotina do anticorpo secundário causando oxidação da região de interesse;
8. A lâmina é lavada novamente para retirar o excesso de peroxidase.

A seguinte imagem mostra o resultado de uma área de uma lâmina após este processo:



O maior volume de citoplasma se encontra próximo ao centro do neurônio pois os dendritos e os axônios são finos em comparação ao corpo. Por este motivo, a marcação não revela os dendritos. Isso resulta numa marcação semi-circular aonde a maior concentração de DeltaFosB está próxima ao centro do neurônio.

O pesquisador não conta todas as marcações da lâmina. Existem aquelas que estão em um plano diferente e por isso se apresentam desfocadas ou com intensidade atenuada.