



Evento	Salão UFRGS 2020: FEIRA DE INOVAÇÃO TECNOLÓGICA DA UFRGS - FINOVA
Ano	2020
Local	Virtual
Título	Desenvolvimento e caracterização de moléculas probióticas na proteção do sistema nervoso central frente ao modelo de ativação imune materna
Autores	HENRIQUE MAUTONE GOMES ALEXANDRE KLEBER SILVEIRA
Orientador	JOSE CLAUDIO FONSECA MOREIRA

RELATÓRIO

ATIVIDADES DO ALUNO DE INICIAÇÃO TECNOLÓGICA E INOVAÇÃO 2019-2020

[máximo duas páginas]

TÍTULO DO PROJETO Desenvolvimento e caracterização de de moléculas probióticas na proteção do sistema nervoso central frente ao modelo de ativação imune materna.

Orientador: José Cláudio Fonseca Moreira

Aluno: Henrique Mautone Gomes

Período integral das atividades: 01 / 08 /2019 a 31 / 07 /2020

RELATÓRIO DE ATIVIDADES

Introdução:

A causa no aumento da incidência de doenças inflamatórias do intestino ainda não são claras , mas provavelmente está relacionada a maior incidência de doenças autoimunes, assim como à mudanças nos hábitos alimentares associada à vida moderna. Mesmo que as causas desse tipo de doenças permaneçam desconhecidas, é possível observar uma forte correlação com a microbiota intestinal. Bactérias probióticas exercem uma função essencial na regulação do ecossistema intestinal, na competição com bactérias patogênicas e através de moléculas sinalizadoras. Hoje acredita-se que muita desta sinalização ocorra ainda dentro do útero, quando moléculas sinalizadoras produzidas no intestino da mãe, modulas o desenvolvimento neurológico e o sistema imune do feto. Portanto o objetivo deste projeto foi : produzir, purificar e caracterizar um extrato liofilizado rico em exopolissacarídeos derivados de bactérias probióticas, com possível potencial protetor contra síndrome da super ativação do sistema imune em gestantes (MIA).

Atividades realizadas:

1.Preparação e Extração dos EPS :O extrato rico em EPSs foi preparado à partir de fermentação seletiva em meio líquido. Brevemente, serão inoculadas 10 UFC/mL de uma cepa probiótica isolada (*Lactobacillus plantarum*) no meio de cultivo MRS (De Man, Rogosa and Shape Agar, SigmaTM). O lactobacilo foi cultivado por 72h, à temperatura de 37 oC de maneira estática, previamente descritos por Ismail e Nampoothiri (2010). A purificação do extrato foi feita utilizando o meio rico em EPS através de centrifugações e precipitação com etanol, como descrito por Girija et al. (2007).

2.Caracterização do extrato de EPS: Fizemos a caracterização do extrato rico em exopolissacarídeos através de análises de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). O Extrato apresentou baixas concentrações de EPS o que nos fez pensar no uso do próprio meio de cultivo dos lactobacilos após centrifugação e filtragem. Portanto passamos a utilizar o sobrenadante do meio de cultivo e os EPS purificados . A caracterização completa ainda esta em andamento , mas pudemos ver que obtivemos uma mistura de vários exopolissacarídeos.

3. Caracterizar o papel protetor do Exopolissacarídeos pela avaliação de um possível papel protetor contra o desbalanço redox no sistema nervoso central dos filhotes decorrente da neuroinflamação induzida por MIA.:

Para o presente projeto foram utilizadas 48 ratas Wistar prenhas, com idade de 90 dias e peso entre 200-250g, evitando um número ímpar de animais nos grupos, visto que as ratas foram mantidas em grupos de 3 animais por caixa. Estas mesmas fêmeas foram alocadas em 4 grupos experimentais, as quais receberão, por gavagem (volume máximo de 1mL), os seguintes tratamentos: . **Grupo Controle:** Injeção de Salina intraperitoneal (NaCl 0.9%) no D15 e Administração de Salina (NaCl 0.9%) via gavagem a partir do D15. **Grupo LPS:** Injeção de LPS 50µg/kg intraperitoneal no D15. Administração de Salina (NaCl 0.9%) via gavagem a partir do D15. **Grupo LPS + EPS:** Injeção de LPS 50µg/kg intraperitoneal no D15 da gestação. Administração de EPS 200mg/kg via gavagem a partir do D15. **Grupo EPS:** Injeção de Salina intraperitoneal (NaCl 0.9%) no D58 e Administração de EPS 200mg/kg via gavagem a partir do D15. Após o desmame os filhotes foram usados nos testes comportamentais, 12 filhotes/grupo experimental foram utilizados para a realização da bateria redox, 12 filhotes/grupo foram utilizados para obter amostras de immunoblotting

Objetivos atingidos:

Atualmente temos um probiótico parcialmente caracterizado e com atividade comprovada contra MIA , acreditamos que o método de obtenção após alguns ajustes possa ser patenteado e que depois de testes possa ser utilizado comercialmente em humanos. Acreditamos que a proposição de um método de obtenção de um probiótico de interesse comercial atenda as características de aplicação social e econômica uma vez que MIA é um quadro com sérias consequências ao desenvolvimento neurológico do feto. O uso de nossa mistura na gestação parece indicar que poderá ser uma nova estratégia terapêutica na prevenção de distúrbios neurológicos do feto e na manutenção do correto neurodesenvolvimento, uma vez que observamos uma atenuação na fragilização da barreira intestinal e na barreira hematoencefálica. Portanto vemos um forte apelo econômico e social deste projeto.

Resultados obtidos:

Nossos resultados ainda que preliminares sugerem que tanto o probiótico purificado ,como o meio clarificado tem propriedades protetoras na manutenção da correta permeabilidade tanto do intestino como da barreira hematoencefálica (avaliações por western blot e administração de corantes) . Os parâmetros inflamatórios do sistema nervoso central também foram atenuados e os testes comportamentais apesar de não totalmente conclusivos sugerem um melhor neurodesenvolvimento dos filhotes das mães tratadas (testes de reconhecimento de cheiro da ninhada e abertura de olhos), infelizmente o n experimental teria de ser ampliado para que pudéssemos ter uma diferença estatística significativa.

Conclusão:

Tomando nossos resultados em conjunto acreditamos que com um pouco mais de tempo e investimento poderemos em breve propor um produto que atenda a essa demanda de proteção do neurodesenvolvimento do feto durante a gestação. Esse produto seria uma mistura de EPSs obtidos do cultivo melhorado de cepas diversas de lactobacilos , um probiótico de fácil aceitação e comercialização.