**TÍTULO: Pesquisa de polifenóis com potencial neuroprotector no modelo da levedura**

**LOCAL: Disease & Stress Biology Laboratory,** I.T.Q.B.

**INÍCIO:** Setembro de 2011

**ORIENTADORES:** Cláudia Nunes dos Santos e Diana Macedo

**INTRODUÇÃO:**

Os polifenóis são substâncias de origem vegetal que têm vindo a ser referidas como tendo substancial actividade neuroprotectora. Estes compostos, anteriormente considerados apenas como antioxidantes, são capazes de activar diversos mecanismos celulares de acção. Para além de captadores de radicais livres são quelantes de ferro, activadores de genes de sobrevivência, de vias de sinalização e reguladores do funcionamento da mitocôndria.

As doenças neurodenegenativas são multifactoriais e actualmente não existe nenhuma terapia eficaz contra a progressiva morte neuronal característica destas patologias. Urge encontrar novas estratégias terapêuticas, que possam prevenir e/ou atrasar a neurodegeneração.

Estudos efectuados no Disease & Stress Biology Lab revelaram que fracções enriquecidas em polifenóis obtidas a partir de folhas e frutos de plantas endémicas portuguesas apresentam elevado potencial neuroprotector, aumentando a viabilidade em condições de stresse oxidativo e de toxicidade induzida pela agregação da αSyn, duas características da doença de Parkinson. O objectivo desta proposta é estudar o efeito de polifenóis destas plantas,após mimetizado um processo digestivo,num modelo de degeneração induzido pelo peróxido de hidrogénio em quatro estirpes mutantes de *S. cerevisiae* (BY4741 WT, BY4741 *∆yap1*, BY4741 *∆sod1* e AD1-8) com diferente sensibilidade ao stress oxidativo.

Extractos obtidos a partir das folhas e frutos das plantas selecionadas, assim como de framboesa e *Ginkgo biloba* (espécies reconhecidas pela sua capacidade neuroprotectora, utilizadas como controlos positivos) serão submetidos a um processo de digestão *in vitro*, de forma a mimetizar o metabolismo ao nível do tracto gastro-intestinal. Por este processo é obtida uma fracção disponível ao soro que simula o que atinge a superfície da barreira hematoencefálica.

A propriedade antioxidante das fracções de polifenóis digeridas (FPD) será determinada *in vitro* e os efeitos intracelulares destas fracções serão avaliados pela alteração da cinética de crescimento e posteriormente confirmados pela análise da viabilidade celular.

**PLANO DE TRABALHO:**

 O trabalho proposto é realizado no âmbito do projecto intitulado “Polifenóis como agentes protectores em modelos celulares de alfa-sinucleinopatias, em particular na doença de Parkinson”, com referência PTDC/BIA-BCM/111617/2009 e envolverá as seguintes fases:

Fase 1 – Caracterização das fracções de polifenóis digeridas (FPD): contéudo total em fenóis pelo método Folin-Ciocalteau e capacidade antioxidante pelo método fluorimétrico ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), que mede a capacidade que as fracções têm de captar radicais peroxilo.

Fase 2 – Determinação da gama de concentrações não tóxica das FPD nas diferentes estirpes de levedura. A cinética de crescimento será avaliada e a viabilidade será determinada por um método fluorimétrico, baseado na conversão de resazurina em resorufina pela células viáveis.

Fase 3 – Avaliação biológica da capacidade protectora das FPD num modelo de degeneração induzido pela exposição das diferentes estirpes de *S. cerevisiae* a peróxido de hidrogénio. A cinética de crescimento assim como a viabilidade por *phenotypic growth assays* serão analisadas.

Fase 4 – Quantificação do nível intracelular de espécies reactivas de oxigénio no modelo de degeneração celular quando as leveduras são tratadas, ou não, com FPD, através da utilização do fluoróforo H2DCFDA.

**Colaborações previstas:** O projecto de trabalho proposto prevê colaboração, já me curso,com a Unidade de Neurociências Celular e Molecular, do Instituto de Medicina Molecular.

**CONTACTOS:** Cláudia Nunes dos Santos (csantos@itqb.unl.pt, 214469651) e Diana Macedo (dmacedo@itqb.unl.pt, 214469653).

Mais informações em http://www.itqb.unl.pt/labs/disease-and-stress-biology