

TÍTULO: Avaliação do efeito neuroprotector de extratos digeridos de pequenos frutos

LOCAL: Laboratório da Biologia da Doença e do Stresse, no ITQB.

ORIENTADORES: Cláudia Nunes dos Santos e Lucélia Tavares

INTRODUÇÃO:

A neurodegeneração é um processo multifactorial, que inclui um conjunto complexo de reacções oxidativas que levam à morte neuronal. Presentemente, em vez de um único fármaco, estas doenças requerem um cocktail de fármacos com propriedades plurifarmacológicas como terapia. Não obstante, esta estratégia não é suficiente para impedir ou atrasar a neurodegeneração. Urge então encontrar novas estratégias terapêuticas que possam ajudar na prevenção e/ou retardamento da neurodegeneração.

Estudos epidemiológicos têm mostrado uma associação consistentemente entre o consumo de frutas e legumes e a redução do risco de determinadas doenças, tais como doenças neurodegenerativas, cardiovasculares e cancro. Os alimentos e ingredientes alimentares, em particular, os componentes classificados quimicamente como polifenóis, têm sido descritos como tendo um efeito benéfico nestas patologias e em particular como potenciais agentes neuroprotectores. Portanto, a avaliação destes compostos naturais, em modelos celulares de neurodegeneração, poderá contribuir para a identificação de potenciais compostos bioactivos e dos mecanismos moleculares pelos quais a nossa dieta pode exercer um efeito potencialmente protector contra as doenças neurodegenerativas.

O presente plano de trabalho insere-se num projecto que visa estudar e caracterizar os mecanismos celulares e bioquímicos subjacentes ao modo de acção de alguns extractos digeridos de pequenos frutos (ex. framboesa) num modelo celular de neurodegeneração. Os frutos foram previamente submetidos a um processo de digestão *in vitro* para mimetizar o processo de digestão alimentar que ocorre no tracto gastrointestinal. Diversos parâmetros tais como a viabilidade celular e apoptose, a produção de ROS e os teores de tióis totais serão avaliados nas células, aquando da pré-incubação das células com extractos vegetais.

PLANO DE TRABALHO:

O material biológico usado neste estudo é a linha celular SK-N-MC proveniente de um neuroblastoma humano e o modelo de neurodegeneração usado resulta da imposição de stresse oxidativo nesta mesma linha celular.

O trabalho proposto é realizado no âmbito do projecto intitulado EUBerry, com referência FP7-KBBE-2010-4- 265942 e envolverá as seguintes fases:

Fase 1 – Avaliação dos efeitos citoprotectores da pré-incubação das fracções obtidas, após a digestão de pequenos frutos (ex framboesa), nas células sujeitas a stress oxidativo (modelo de neurodegeneração) nos parâmetros de viabilidade celular.

Fase 2 – Avaliação da actividade antioxidante intracelular por monitorização da produção de ROS por fluorimetria usando diacetato de dichlorodihidrofluoresceína (H₂DCFDA).

Fase 3 – Análise das alterações provocadas no estado redox das células avaliando os tióis totais (GSH e GSSG) e a oxidação das proteínas.

Fase 4 – De acordo com resultados na fase 3 será avaliada a pertinência de estudar em particular o efeito no metabolismo do glutatono recorrendo a moléculas que interferem neste sistema antioxidante (butionina sulfoxamina para inibir a síntese de GSH, carmustina para bloquear a reciclagem no citosol do GSH ou ácido etacrínico para depletar a 'pool' de GSH da mitocondria).

Fase 5 – O envolvimento de efectores chaves na apoptose serão também avaliados como as caspases-3 e -7.

COLABORAÇÕES PREVISTAS:

A realização deste trabalho prevê colaborações, já em curso, com o grupo do James Hutton Institute (Prof. Derek Stewart) , Dundee, UK.

CONTACTOS: Cláudia Nunes dos Santos (csantos@itqb.unl.pt, 21 446 96 51)
Lucélia Tavares (ltavares@itqb.unl.pt, 21 446 96 53)

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