

# MICROVESÍCULAS DE *Helicobacter pylori* E O DESENVOLVIMENTO DA DOENÇA DE ALZHEIMER E EPILEPSIA. Neurociencias

Julye Zambrano; Dr. Matheus Grahl

## Instituição de Ensino

Biomedicina, Uniritter, julyezambranodl@gmail.com

### Introdução

Estudos apontam que pessoas com doença de Alzheimer (DA) tem 10 vezes mais propensão a ter crises epiléticas do que controles saudáveis. Por outro lado, pessoas com epilepsia possuem 2 vezes mais chances de desenvolver demência (Dejakaisaya et al., 2021). A DA é uma enfermidade caracterizada pela demência, déficit de memória, alterações comportamentais, incapacidade de realizar atividades diárias, convulsões espontâneas e epilepsia (Dejakaisaya et al., 2021; Philipson et al., 2010).

A DA é caracterizada por alterações em células da glia, presença de placas senis e emaranhados neurofibrilares no tecido cerebral. As placas são constituídas por depósitos de  $\beta$ -amiloide e os emaranhados são formados por deposição de proteína Tau hiperfosforilada (Tau-p) (Selkoe, 2001). A DA também consiste em processos fisiopatológicos que levam a perda neuronal e sináptica como astrocitose reativa, desregulação glutamatérgica, proliferação da micróglia, aumento da atividade pró-inflamatória mediada por interleucinas, como IL-1 $\beta$ , IL-6 e TNF- $\alpha$  (Albaret et al., 2020).

### Objetivos

O presente projeto visa caracterizar, a nível molecular, a neurotoxicidade causada por microvesículas de *H. pylori* em mecanismos associados as enfermidades da doença de Alzheimer e epilepsia.

### Metodologia

I. Cultivo de *Helicobacter pylori* e caracterização de EV's.

Para o cultivo, será utilizada a linhagem NCTC 11637 de *H. pylori*, seguindo o protocolo de Parker et al., 2010. Para o cultivo são utilizadas placas de Agar Sangue (5% sheep blood) a 37°C sob condições microaeróbicas. Após crescimento as bactérias serão removidas por duas centrifugações (12.000 g, 15 min, 4°C), e para recuperar as EV's, os sobrenadantes finais serão submetidos à cromatografia de exclusão molecular em uma coluna Superdex S200 HR 26/60 (WEI et al., 2022).

Após a obtenção de material rico em EV's, a caracterização será feita de acordo com Parker et al., 2010. Após a quantificação proteica das EV's por Bradford, uma suspensão em PBS, será analisada em NanoSight NS300 (NanoSight) (GALL et al., 2020). Por fim será feita uma avaliação por microscopia eletrônica de transmissão (MET). Na MET é possível observar a morfologia das EV's.

II. Modelos celulares

Para ensaios com linhagens celulares, as células ficarão em contato por diferentes períodos e concentrações de Hp-EV's, para posteriores análises. Os modelos celulares utilizados serão as células BV-2 de micróglia murina, células SH-SY5Y de neuroblastoma humano. As linhagens celulares serão mantidas a 37 °C com 5% de CO<sub>2</sub>, em meio DMEM (Thermo Fischer Scientific, Grand Island, NY, USA) suplementado com 10% de soro fetal bovino (HyClone™, GE Healthcare Life 91 Sciences, Logan, UT, EUA), 0,1% de penicilina/streptamicina (Thermo Fisher Scientific, Grand Island, NY, EUA) (GRAHL et al., 2021).

II. Dosagem de marcadores inflamatórios por ELISA.

Após incubação das culturas celulares com EV's, o sobrenadante das células será analisado por ELISA para medir alterações na produção de agentes pró-inflamatórios: IL 1- $\beta$ , IL 6 e TNF- $\alpha$  e para as citocinas anti-inflamatórias: IL 4 e IL 10. O protocolo será seguido de acordo com as instruções do fabricante.

### Perspectivas

Esperamos observar efeitos neurotóxicos análogos para estas estruturas. Por meio da exposição de culturas de células derivadas do SNC a Hp-EV's, esperamos observar alterações na quantidade e localização de transportadores, canais iônicos e receptores de membrana. Para corroborar possíveis alterações na quantidade transportadores, canais iônicos e receptores de membrana. Esperamos observar evidências de neuroinflamação nas culturas celulares tratadas com Hp-EV's, tal como aumento de citocinas e rompimento de junções celulares.

### Bibliografia

Apoio Financeiro: CAPES, CNPq, FAPERGS e FAPERJ

