



A Ciência e os caminhos do desenvolvimento

Isolamento de proteínas alergênicas de *Ricinus communis* (mamona) e treinamento para manipulação de camundongos

Igor Siqueira de Oliveira, Débora Mothé de Campos Mesquita, Olga Lima Tavares Machado,

A mamona (*Ricinus communis*), apresenta potencial econômico, devido a utilização do óleo das suas sementes para diversas aplicações industriais. As sementes e pólen dessa oleaginosa, contém proteínas alergênicas, da classe das albuminas 2S, denominadas Ric c 1 e a Ric c 3. Estes alérgenos, apresentam reação cruzada com alérgenos provenientes de outras fontes alimentares como o milho, glúten e também da soja. O contato leva a sensibilização do indivíduo, e a produção de IgE, e em um contato subsequente o processo da alergia é deflagrado. Os principais alérgenos de mamona, Ric c1 e Ric c3, apresentam dois resíduos de ácido glutâmico em cada epitopo ligante de IgE, e estão envolvidos na interação antígeno-anticorpo e deflagração da resposta alérgica. Foi demonstrado que o ácido glutâmico livre, também se liga aos sítios disponíveis de interação da IgE com o antígeno, assim bloqueando a interação antígeno e anticorpo. Este projeto, iniciado em janeiro de 2019, intitulado “Análise dos efeitos hepatotóxicos de aminoácidos, utilizados como bloqueadores de IgE em hepatócitos de camundongos” tem como objetivo, avaliar o comportamento de camundongos e os possíveis efeitos do uso do ácido glutâmico livre, e de compostos derivados do ácido glutâmico. Para o isolamento das proteínas alergênicas da semente, utilizamos as sementes descascadas, trituradas, prensadas, e colocadas em tampão fosfato pH 7,0 por 3 horas. O extrato resultante foi submetido à cromatografia de filtração em gel (Sephadex G-50) e eluído com TFA 0,1%. As proteínas de interesse, foram detectadas por leituras no espectrofotômetro em absorvância de 220 e 280 nm. Nos testes, foram utilizados os Camundongos BALB/c fêmeas, realizando testes comportamentais, como o “Sleep time”, afim de verificar a ação neurológica no tempo médio de sono. No teste de “rota-rod”, é avaliado interferência na função motora, coordenação e equilíbrio. Este projeto está aprovado pela comissão de ética animal (CEUA-UENF-Protocolo 297). Após a cromatografia de filtração em gel, três frações foram obtidas. Em análise, percebe-se que a fração F2 contém os principais alérgenos Ric c1 e Ric c3. Sendo assim, diversas etapas foram realizadas para acumular material. Para a manipulação com os animais, foram aprendidas algumas técnicas para a introdução dos compostos, tais como a gavagem, e a injeção intraperitoneal. As próximas etapas utilizamos camundongos de 9 semanas de idade, e serão imunizados com as albuminas 2S de *Ricinus communis*, após essa etapa de imunização, os animais receberão cinco tipos de compostos derivados do ácido glutâmico, todos diluídos em PBS e administrados pela via oral através de uma sonda orogástrica e propilenoglicol 30% em solução salina 0.9%. Os aminoácidos a serem testados, estarão em concentrações que irão variar entre 10 e 100 mg/Kg para cada animal. Nos animais, serão observadas as alterações físicas e/ou comportamentais, e ao final será coletado sangue por punção-cardíaca, e avaliado o perfil hepático. Certas enzimas hepáticas (lactato desidrogenase (LDH) e Fosfatase alcalina-ALP) presentes no soro, serão dosadas no Kit laboratorial de dosagem de enzimas. Análises morfológicas e histológicas dos tecidos do fígado e intestino serão realizadas para avaliar se houve efeitos danosos a esses órgãos.

Palavras-chave: Hepatotxicidade, Ácido glutâmico, alergia, Albumina 2S.

Instituição de fomento: CAPES, CNPq, FAPERJ, UENF