

Éricka Lorena de Sales e Souza

EFEITO PROBIÓTICO DA BACTÉRIA *Escherichia coli* LINHAGEM NISSLE 1917 EM MODELO MURINO DE COLITE ULCERATIVA INDUZIDA POR SULFATO DE SÓDIO DEXTRANO (DSS)

Belo Horizonte/MG

2013

Éricka Lorena de Sales e Souza

EFEITO PROBIÓTICO DA BACTÉRIA *Escherichia coli* LINHAGEM NISSLE 1917 EM MODELO MURINO DE COLITE ULCERATIVA INDUZIDA POR SULFATO DE SÓDIO DEXTRANO (DSS)

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Microbiologia.

Orientador:

Prof. Dr. Flaviano dos Santos Martins
(Departamento de Microbiologia/ICB/UFMG)

Co-Orientadores:

Prof. Dr. Jacques Robert Nicoli
(Departamento de Microbiologia/ICB/UFMG)

Dra. Angélica Thomaz Vieira
(Departamento de Biologia Geral)

Belo Horizonte/MG

2013

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ser estrutura inabalável em minha vida;

Aos meus pais, por seu exemplo e abdicação em favor de meus sonhos;

Aos meus irmãos e familiares, pelo apoio e paciência;

Aos meus amigos, pelo incentivo e interesse;

Aos meus mestres, por doarem um pouco de si na construção do meu saber (em especial a MSc. Letícia Braga, docente do Centro Universitário UNA);

Ao meu orientador, Flaviano dos Santos Martins, por seus ensinamentos, disponibilidade e interesse;

Aos meus co-orientadores, Jacques Robert Nicoli e Angélica Thomas Vieira, por sua contribuição e disponibilidade;

À profa. Dra. Sílvia Beleza, por sua disponibilidade em conceder o parecer deste trabalho;

Aos colaboradores, pela ajuda essencial e tempo disponibilizado para este trabalho;

Ao Prof. Dr. Mauro Martins Teixeira e Dra. Maria José Neves, pela estrutura oferecida em seus laboratórios para que este trabalho fosse desenvolvido;

À profa. Dra. Rosa Maria Esteve Arantes, por sua colaboração na realização das análises histológicas e correções;

À Dra. Christiane Teixeira Cartelle, por sua ajuda na realização de procedimentos histológicos e correções;

À Dra. Luciana Mara Costa Moreira, pela ajuda essencial na realização da análise de estresse oxidativo, por seu companheirismo e amizade;

Aos professores do programa de pós graduação, por contribuírem na formação do meu conhecimento;

Às agências de fomento Capes, CNPq e FAPEMIG pelo auxílio financeiro;

À amiga Fabiana Tiago, por seus ensinamentos básicos no início dessa difícil, porém gratificante carreira;

À amiga Ariane Martins, por sua confiança inicial, amizade e companheirismo;

Ao Samir Elian, pela ajuda, companheirismo e parceria durante todo o trabalho desenvolvido no mestrado;

À amiga Laís Mascarenhas, por sua disponibilidade e ajuda essenciais no início do trabalho;

Aos amigos do LEFM, pelo apoio, amizade e auxílio durante todo o mestrado.

RESUMO

As doenças inflamatórias intestinais (IBD) são processos inflamatórios crônicos que acometem o intestino de indivíduos susceptíveis. Uma de suas principais formas, a colite ulcerativa (UC), restringe-se à mucosa colônica e apresenta como principais sinais clínicos perda de peso, sangramento retal e diarreia. Tais manifestações clínicas apresentam períodos de remissões e recidivas, não existindo cura. A atenção atualmente para o tratamento da UC está voltada para os probióticos, dentre os quais a *Escherichia coli* Nissle 1917 (EcN) merece grande destaque por apresentar efeitos comparáveis ao da droga de escolha no tratamento da UC branda ou moderada, a mesalazina. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito probiótico da EcN em modelo murino de UC induzida por sulfato de sódio dextrano (DSS). Para isso, utilizamos fêmeas de camundongos BALB/c, com indução de colite (solução de DSS 3,5%) durante sete dias. Observou-se uma melhora significativa do grupo tratado, em comparação ao não tratado com o probiótico, em relação aos sinais clínicos da doença. O estado inflamatório gerado foi significativamente reduzido, com diminuição no recrutamento de neutrófilos e eosinófilos para o foco de inflamação, sem, entretanto, observar alteração nos níveis de macrófagos. A permeabilidade intestinal, que está tipicamente aumentada durante o acometimento das IBD, mostrou uma tendência a redução após o tratamento com a EcN. Na análise histológica referente a preservação do epitélio intestinal, o efeito benéfico do probiótico pode ser observado em 67% do *n* amostrado (*n* 2 em 3). Nenhuma diferença foi observada nas taxas de espécies reativas de oxigênio produzidas no modelo de DSS após o tratamento com o probiótico. As análises permitiram concluir que o probiótico EcN possui efeito benéfico em modelo agudo de UC, entretanto mais análises são necessárias a fim de se investigar os mecanismos pelos quais tal efeito é desempenhado.

Palavras-chave: Doenças Inflamatórias Intestinais (IBD), Colite Ulcerativa (UC), Sulfato de Sódio Dextrano (DSS), Probiótico, *Escherichia coli* linhagem Nissle 1917 (EcN).

ABSTRACT

The inflammatory bowel diseases (IBD) are chronic inflammatory processes that affect the gut of susceptible individuals. One of its main forms, ulcerative colitis (UC), is restricted to the colonic mucosa and is characterized clinically by weight loss, rectal bleeding and diarrhea. Such manifestations present periods of remissions and relapses, and there is no cure. The attention now to the treatment of UC is facing probiotics, among which *Escherichia coli* Nissle 1917 (EcN) deserves great prominence by presenting comparable effects to the drug of choice in the treatment of mild to moderate UC, mesalazine. The aim of this study was to evaluate the effect of the EcN probiotic in a murine model of UC induced by Dextran Sulfate Sodium (DSS). For this, we used female BALB/c mice with induced colitis (3.5% DSS solution) for 7 days. There was a significant improvement between the groups treated and not treated with the probiotic in clinical signs of disease. The inflammatory state generated was significantly reduced, with a decrease in the recruitment of neutrophils and eosinophils to the focus of inflammation, without, however, observed changes in the levels of macrophages. The intestinal permeability, which is typically increased during the onset of IBD, tended to a reduction after treatment with EcN. Histological analysis regarding the preservation of the intestinal epithelium, the beneficial effect of the probiotic can be observed in 67% of the samples (n 2 in 3). No difference was observed in the rates of reactive oxygen species produced in DSS model after the treatment with the probiotic. The analysis showed that the probiotic EcN model has beneficial effect in acute UC, however further analysis are necessary in order to investigate the mechanisms by which this effect is realized.

Keywords: Inflammatory Bowel Diseases (IBD), Ulcerative Colitis (UC), Dextran Sulfate Sodium (DSS), Probiotic, *Escherichia coli* strain Nissle 1917 (EcN).