

PAPEL DO RECEPTOR TOLL-LIKE 4 NO EFEITO DAS TOXINAS DO CLOSTRIDIODES DIFFICILE EM CÉLULAS GLIAIS ENTÉRICAS

XV Encontro de Pesquisa e Pós-Graduação

Matheus Brandao dos Santos Lopes, Maria Lucianny Lima Barbosa, Conceição da Silva Martins, Gerly Anne de Castro Brito

O *Clostridioides difficile*, um bacilo Gram positivo anaeróbico, é um dos maiores causadores de diarreia nosocomial associada ao uso de antibióticos. As citotoxinas A e B produzidas e excretadas por este micro-organismo estão associadas ao dano intestinal causado por esse organismo. Os mecanismos de reconhecimento dos fatores de virulência *C. difficile* pelo hospedeiro ainda não estão completamente esclarecidos, e o conhecimento de tais mecanismos é importante para o desenvolvimento de futuros alvos terapêuticos para a infecção. Os receptores Toll-Like (TLRs) são moléculas de superfície que desempenham um papel primordial na defesa do hospedeiro e parecem estar envolvidos no reconhecimento do bacilo estudado. Nesse contexto, o objetivo do presente estudo é avaliar o papel do receptor TLR 4 na resposta de células gliais entéricas *in vitro* às toxinas A e B do *C. difficile*. Para isso, um dos experimentos realizados foi o PCR quantitativo em tempo real (qPCR) que por sua vez avalia quantitativamente o RNA e a expressão gênica. Como metodologia Linhagens de CGEs (6×10^5 células/poço) foram cultivadas em placas de 6 poços e tratadas com TcdA ou TcdB. Após a incubação, o RNA total foi extraído com um RNeasy Plus Mini Kit (Qiagen, Hilden, Alemanha) usando QIAcube (Qiagen). O RNA foi quantificado com o uso de um Nanodrop e avaliado com por meio das métricas de pureza pela relação de ácidos nucléicos/proteínas (260/280) e ácidos nucléicos/outros contaminantes (260/230). Posteriormente, o RNA passou pela transcrição reversa usando um Kit High Capacity cDNA Reverse Transcription (xxxx) de acordo com o protocolo do fabricante. A amplificação de qPCR de TLR4 e gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase (GAPDH) em amostras de células foi realizada em um aparelho StepOne com as seguintes condições: 40 ciclos de 95°C por 10 minutos, 95 °C por 1 minuto e 60°C por 1 minuto, 72 °C 1 minuto, 72 °C 4 minutos e 72,3 °C por 1 minuto. A expressão gênica foi calculada pelo método de Livak & Schmittg

Palavras-chave: glia. *Clostridioides difficile*. PCR. toxinas.