



**Universidade:  
presente!**

**UFRGS**  
PROPEAQ



**XXXI SIC**

21. 25. OUTUBRO • CAMPUS DO VALE

<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2019: SIC - XXXI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2019
<b>Local</b>	Campus do Vale - UFRGS
<b>Título</b>	Análises Morfológicas e Moleculares de Embriões de Galinha Expostos ao Vírus Zika
<b>Autor</b>	SOPHIA MARTINS SIMON DE MATOS
<b>Orientador</b>	LUCAS ROSA FRAGA

## Análises Morfológicas e Moleculares de Embriões de Galinha Expostos ao Vírus Zika

Autora: Sophia Martins Simon de Matos

Orientador: Lucas Rosa Fraga

Instituição de Origem: Universidade Federal do Rio Grande do Sul

O vírus Zika (ZIKV), nos últimos anos, tem sido foco de inúmeras pesquisas, que visam entender e elucidar seus mecanismos não só como patógeno humano, mas também como teratogêno, ou seja, agente ambiental capaz de causar anomalias congênitas, neste caso, a Síndrome Congênita do ZIKV (SCZ). Essa síndrome é caracterizada por um padrão de malformações que podem ou não ocorrer em bebês que foram expostos ao vírus durante o período gestacional, tais como microcefalia e problemas no desenvolvimento ocular. Um modelo relevante para o estudo dos mecanismos causais da SCZ é o embrião de galinha (*Gallus gallus*); apesar de pouco difundido é extensivamente utilizado em estudos de teratogênese experimental e biologia do desenvolvimento, além de muito vantajoso em diversos aspectos logísticos e financeiros. Este modelo possui também grande similaridade molecular, celular e morfológica com embriões humanos. Sendo assim, o principal objetivo deste trabalho foi estabelecer um modelo animal de SCZ utilizando embriões de galinha como modelo experimental para que possamos posteriormente investigar os mecanismos teratogênicos do ZIKV. Para tanto, utilizamos a linhagem asiática do ZIKV, obtido de uma amostra humana e cultivado em células Vero em condições usuais de cultivo. Ovos fertilizados de *Gallus gallus* foram obtidos da cooperativa Languiru e mantidos em temperatura de manutenção (4°C) até o uso. Para que os embriões atingissem o estágio de desenvolvimento adequado para os experimentos, esses foram incubados por 37°C e umidade de 60% por tempo determinado por Hamburguer and Hamilton (1951). Para esses experimentos utilizamos embriões em estágio (St HH) - 10-12, que apresentam claramente as vesículas que formarão o encéfalo e os olhos. Os embriões foram expostos através de uma janela na casca do ovo e 50µl de vírus ou de meio de cultura foram aplicados sobre ele. Após o tratamento os ovos foram fechados com fita adesiva e novamente levados à incubadora até a necessidade de observação ou finalização dos experimentos. Inicialmente, uma primeira fase de experimentos com um *screening* de diferentes titulações virais ( $3 \times 10^3$ ,  $3 \times 10^4$  e  $3 \times 10^5$ ;  $n > 5$  por grupo) foi conduzido para verificar a quantidade que levaria ao aparecimento de malformações, mas que apresentaria menor taxa de mortalidade. Os embriões foram avaliados no quarto dia após infecção, quando o desenvolvimento do encéfalo fica mais evidente. Nesse dia, os ovos foram novamente abertos e foram avaliados o fenótipo e a mortalidade. Além disso, amostras de RNA foram extraídas para confirmar e quantificar a presença viral na amostra através de PCR em tempo real (qPCR). A partir deste experimento, em que a carga viral mais adequada foi definida, uma segunda fase de experimentos foi conduzida. Nessa foi realizado um acompanhamento de fenótipos e carga viral diariamente por sete dias para que se pudesse avaliar o momento com maior infecção viral. Encontramos, na primeira fase que embriões expostos à titulação de  $3 \times 10^4$  apresentavam fenótipos mais evidentes (microcefalia, anomalias de desenvolvimento mesencefálico, atraso no desenvolvimento, malformações faciais, cardíacas) e ausência de mortalidade. Na titulação menor havia mais indivíduos com fenótipo normal e na titulação maior havia malformações, porém, uma alta taxa de mortalidade. Na segunda fase de experimentos, pudemos confirmar os fenótipos já observados e notamos através das análises de qPCR que o quarto dia após a infecção apresenta um pico de replicação viral. Pode-se concluir até o momento, que o embrião de galinha é um bom modelo que possibilitou a realização rápida, eficiente e custo reduzido dos experimentos, que a titulação  $3 \times 10^4$  é a adequada para seguir os futuros experimentos e que o quarto dia após a infecção apresenta fenótipos mais evidentes e maior replicação viral. Há a perspectiva de avaliar outros fenótipos, dentre eles a função cardíaca dos embriões e também conduzir análises moleculares.