

# O efeito da hiperamonemia sobre o conteúdo e secreção de S100B *in vitro* e *in vivo*

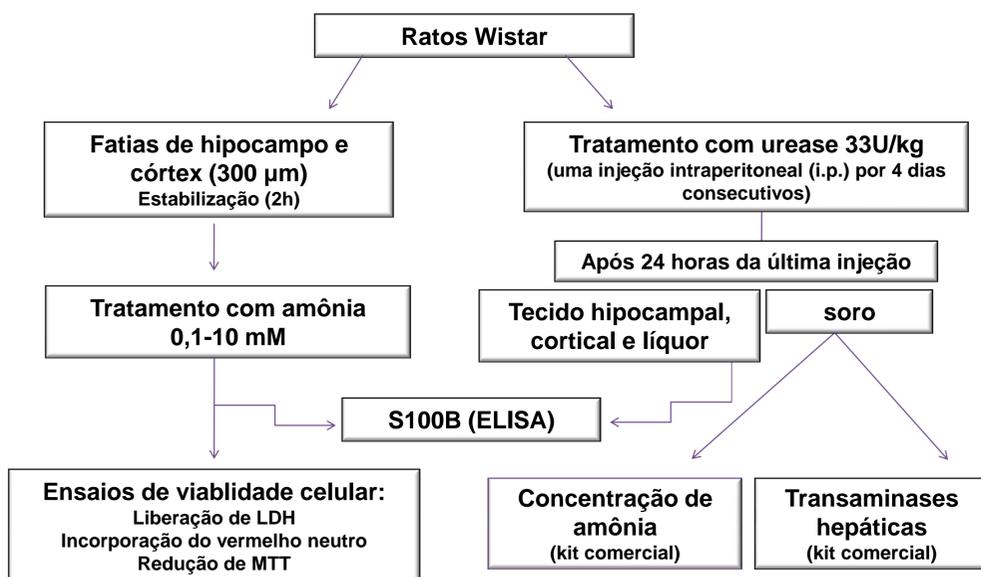
Jessica Taday <sup>1</sup>, Marina Concli Leite <sup>2</sup>



## INTRODUÇÃO

O aumento da proteína S100B no soro tem sido relacionado com doenças neurodegenerativas, como a Encefalopatia Hepática (EH)<sup>1</sup>. Os pacientes com EH apresentam alterações neuropsiquiátricas que são causadas por prejuízos moleculares e fisiológicos no SNC em consequência de um aumento nos níveis de amônia<sup>2</sup>. A hiperamonemia é provocada principalmente por uma disfunção hepática causada pela intoxicação deste órgão, como no caso de uma cirrose ou mesmo hepatite. Tendo em vista que a S100B tem sido usada como marcadora de dano cerebral e, ainda pouco foi visto sobre seu envolvimento na doença de EH, este trabalho objetiva avaliar em um modelo *in vitro* de fatias hipocampais e de córtex cerebral, assim como em um modelo *in vivo*, o efeito da amônia sobre a secreção e imunoconteúdo da S100B.

## MATERIAL E MÉTODOS



## RESULTADOS

### Efeito da amônia sobre a secreção de S100B em fatias cerebrais

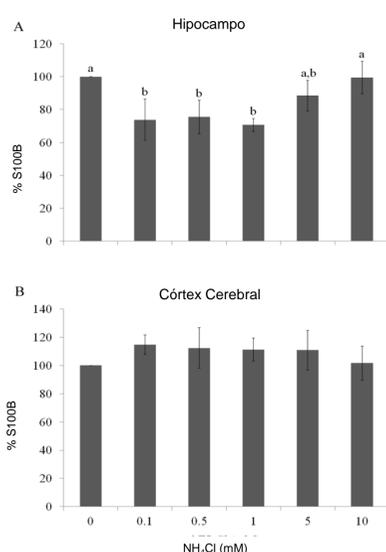


Figura 1: Amônia foi adicionada ao meio de incubação nas concentrações de 0,1-10 mM. O meio foi coletado após 1 h de tratamento. Os valores estão representados como porcentagem do controle. Cada valor é a média ( $\pm$  erro padrão) de 5 experimentos independentes realizados em triplicata. \* indica  $p < 0,05$ . (ANOVA de uma via seguido de teste de Duncan).

### Efeito da amônia na viabilidade e integridade celular

	Controle	NH <sub>4</sub> Cl 10mM
LDH (U.I.)	38.2 $\pm$ 7.8	32.4 $\pm$ 5.0
MTT (absorbância)	0.263 $\pm$ 0.01	0.264 $\pm$ 0.02
NR (absorbância)	0.224 $\pm$ 0.04	0.226 $\pm$ 0.05

Tabela 1: Amônia foi adicionada no meio de incubação na concentração de 10 mM durante 1 h. MTT ou VN foram incubados após 30 min de tratamento e o conteúdo extracelular foi coletado após 1 hora para avaliação da atividade da LDH. Cada valor é a média ( $\pm$  erro padrão) de 5 experimentos independentes realizados em triplicata. \* indica  $p < 0,05$  (Teste T).

### Urease induz hiperamonemia

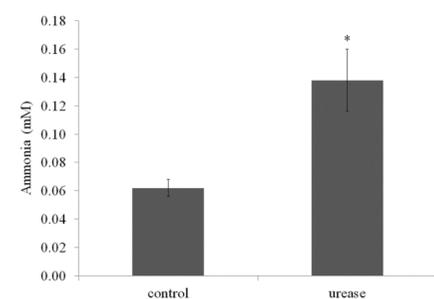


Figura 2: Ratos foram injetados diariamente (i.p.) com urease (33U/Kg) durante 4 dias. Amostras de sangue foram coletadas por punção intracardiaca 24 h após a última injeção e os níveis de amônia foram medidos por kit comercial. Cada valor é a média ( $\pm$  erro padrão) de 5 experimentos independentes realizados em triplicata. \* indica  $p < 0,05$  (Teste T).

### Efeito da hiperamonemia sobre o conteúdo de S100B no tecido hipocampal e cortical, no soro e líquido

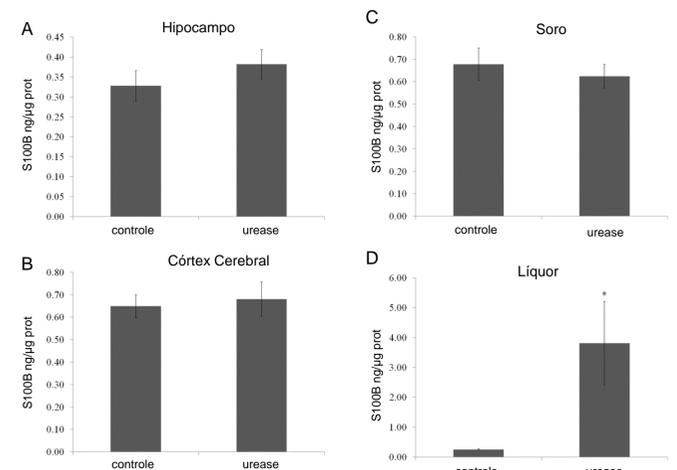


Figura 3: Ratos foram injetados diariamente (i.p.) com urease (33U/Kg) durante 4 dias. Após 24 h da última injeção os ratos foram mortos por decapitação: o hipocampo (A) e córtex (B) foram dissecados. Amostras de sangue foram coletadas por punção intracardiaca (C) e o líquido cerebrospinal por punção magna (D). S100B foi medida por ELISA. Cada valor é a média ( $\pm$  erro padrão) de 5 experimentos independentes realizados em triplicata. \* indica  $p < 0,05$  (Teste T).

### Injeção i.p. de urease não induziu disfunção hepática

	Controle	Urease
TGO	164.2 $\pm$ 11.1	167.5 $\pm$ 12.1
TGP	98.3 $\pm$ 4.8	93.4 $\pm$ 8.5

Tabela 2: Ratos foram injetados diariamente (i.p.) com urease (33U/Kg) durante 4 dias. Amostras de sangue foram coletadas por punção intracardiaca 24 h após a última injeção e a atividade das enzimas transaminase glutâmica oxalacética (TGO) e transaminase glutâmica pirúvica (TGP) foi medida por um kit comercial. Cada valor é a média ( $\pm$  erro padrão) de 5 experimentos independentes realizados em triplicata. \* indica  $p < 0,05$  (Teste T).

## DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

-Este trabalho avaliou pela primeira vez a secreção da proteína S100B em um modelo *ex vivo* de fatias cerebrais de rato sob uma exposição direta de amônia. Observou-se uma redução no conteúdo extracelular de S100B nas concentrações mais baixas de amônia testadas no hipocampo, porém não no córtex. Conclui-se que há uma variação regional específica na secreção desta proteína no hipocampo e córtex, mostrando que existe uma ação e regulação da S100B diferenciada em cada região;

-O tratamento com amônia não comprometeu a integridade celular nas fatias cerebrais;

-Com relação ao experimento *in vivo* a injeção i.p. de urease induziu um aumento de duas vezes ( $0,138 \pm 0,022$ ) na concentração de amônia em comparação com os ratos do grupo controle ( $0,062 \pm 0,002$ ). A atividade das transaminases hepáticas não estão alteradas neste modelo indicando que os efeitos nos parâmetros testados são exclusivos de uma hiperamonemia e não de um dano hepático;

-Apesar de não ter sido observada alteração no conteúdo intracelular da proteína S100B em hipocampo e córtex, assim como na concentração desta proteína do soro dos animais submetidos a hiperamonemia, observou-se um aumento significativo na concentração de S100B no líquido desses animais. Isso indica que, provavelmente, existem outras áreas mais sensíveis aos efeitos da amônia, não analisadas neste trabalho, que podem contribuir para o aumento de S100B no líquido observado nesse modelo.

Apoio Financeiro: CNPq, FAPERGS e INCT