

# PROBIÓTICO LACTOBACILLUS RHAMNOSUS GG NO TRATAMENTO DA ENCEFALOPATIA HEPÁTICA EM RATOS INDUZIDA POR LIGADURA DE DUCTO BILIAR: EFEITOS SOBRE A NEUROINFLAMAÇÃO E AMÔNIA

Thayssa D. C. Escobar<sup>1</sup>, Renata Leke<sup>2</sup>, Thais Ortiz Hammes<sup>2</sup>, Fabíola Schons Meyer<sup>3</sup>, Eliane Wurdig Roesch<sup>4</sup>, Themis Reverbel da Silveira<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Biomedicina, UFRGS, <sup>2</sup>Laboratório Experimental de Hepatologia e Gastroenterologia, Centro de Pesquisa Experimental, HCPA, <sup>3</sup>Unidade de Experimentação Animal, Centro de Pesquisa Experimental, HCPA, <sup>4</sup>Serviço de Patologia Clínica, HCPA



## INTRODUÇÃO

A encefalopatia hepática (EH) é uma condição neuropsiquiátrica decorrente de doenças agudas ou crônicas do fígado <sup>1</sup>. Seus mecanismos fisiopatogênicos não estão totalmente esclarecidos, porém se aceita um importante papel da inflamação e da amônia na patofisiologia da EH <sup>2</sup>. Em estudo experimental em ratos submetidos ao modelo de ligadura de ducto biliar (LDB), observou-se o aumento dos níveis de citocinas inflamatórias séricas, tais como TNF- $\alpha$  e IL-6 <sup>3</sup>. Especulamos que a neuroinflamação na EH seja decorrente da ativação de receptores do tipo Toll 4 (TLR4), uma vez que, durante a cirrose, há o desequilíbrio da microbiota intestinal e translocação bacteriana. Assim, sugere-se o tratamento da EH com probióticos, pois estes micro-organismos podem atuar em benefício da saúde do hospedeiro através de imunomodulação, redução do pH intestinal e diminuição da translocação bacteriana <sup>4</sup>.

## OBJETIVO

Avaliar se a terapêutica com o probiótico *Lactobacillus rhamnosus GG* (LGG) atenua e/ou reverte a EH em ratos com cirrose biliar secundária, através da sua ação nas concentrações de amônia e neuroinflamação.

## MATERIAL E MÉTODOS

### 1. Desenho experimental

**Animais:** 32 ratos Wistar machos de 60 dias

**Grupos:** controle, controle LGG, LDB e LDB LGG

Cirurgia de ligação do ducto biliar comum (LDB) e sham operado

Após 2 semanas

Tratamento com probiótico LGG ( $2,5 \times 10^7$  UFC/dia) administrado por gavagem. Controles receberam apenas PBS 1%

Após 4 semanas

Coleta de cérebro para análises de expressão gênica de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e TLR4 no hipocampo e córtex.

Coleta de soro para análise bioquímica

**Análises:** Os resultados da expressão gênica foram calculados pelo método comparativo utilizando a equação  $2^{-\Delta\Delta Ct}$

**Análise estatística:** Os dados são apresentados como média  $\pm$  SEM. A análise estatística para os dados de expressão gênica foram realizados por ANOVA seguidos de post hoc Tukey. Para todos os parâmetros o  $p < 0,05$  foi considerado significativo

**Considerações éticas:** Todos os procedimentos realizados durante os experimentos foram realizados de acordo com a legislação vigente no Brasil (Lei 11.794, de 08 de outubro de 2008), como também a resolução Normativa 04/97 do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Aprovado pelo GPPG/HCPA sob o número 100470.

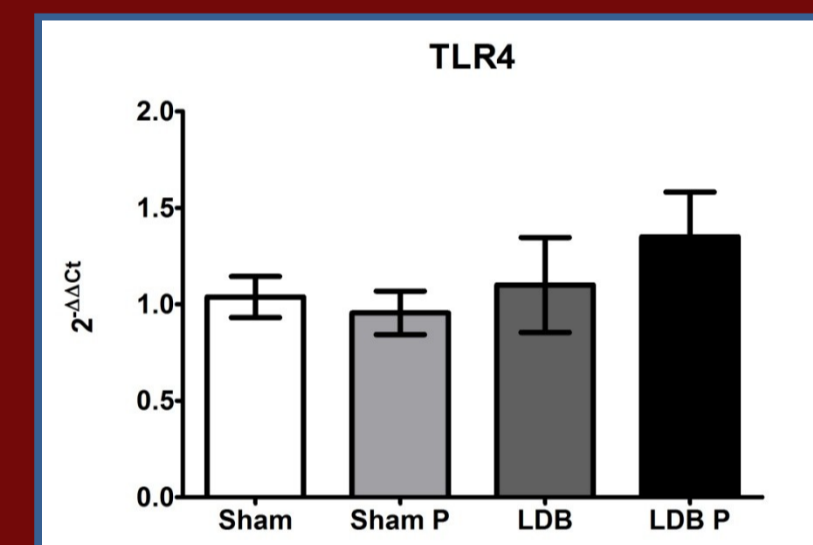
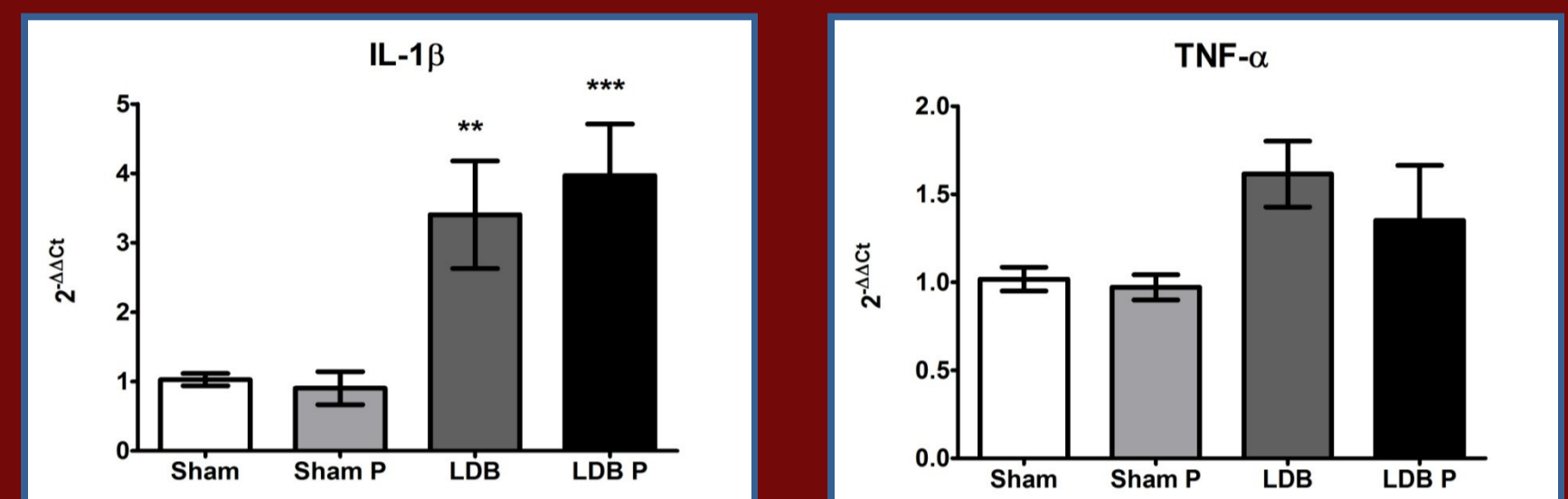
## CONCLUSÃO

No presente trabalho, foi observado que durante a EH há a ativação da inflamação no SNC e aumento de amônia plasmática, parâmetros que não foram atenuados pelo tratamento com LGG. Também, se demonstrou que a expressão gênica de TLR4 não foi diferente entre os grupos. Isto indica que possivelmente a neuroinflamação, nesta etapa da doença, não esteja ocorrendo pela ativação deste receptor por endotoxinas. Entretanto, não se descarta a ativação do TLR4 em momento mais precoce da EH. Para elucidar estas perguntas é necessário a realização de novos experimentos buscando entender os mecanismos desencadeadores da inflamação.

## RESULTADOS

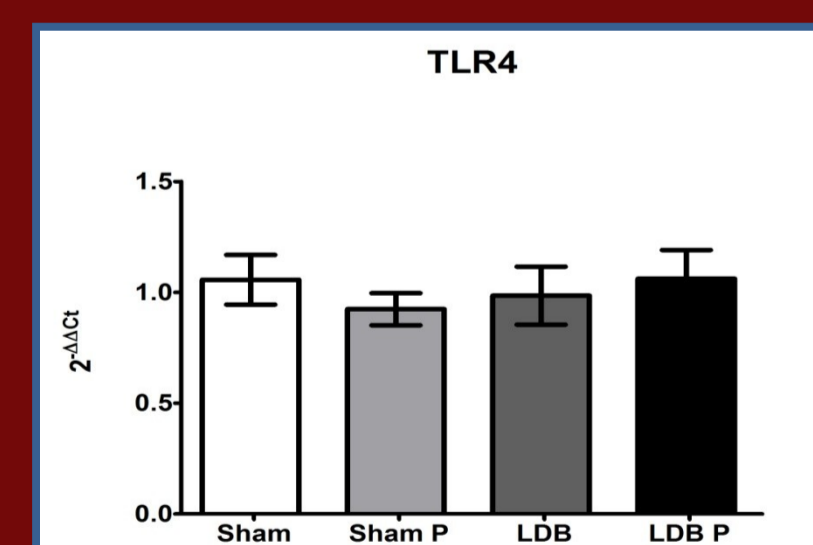
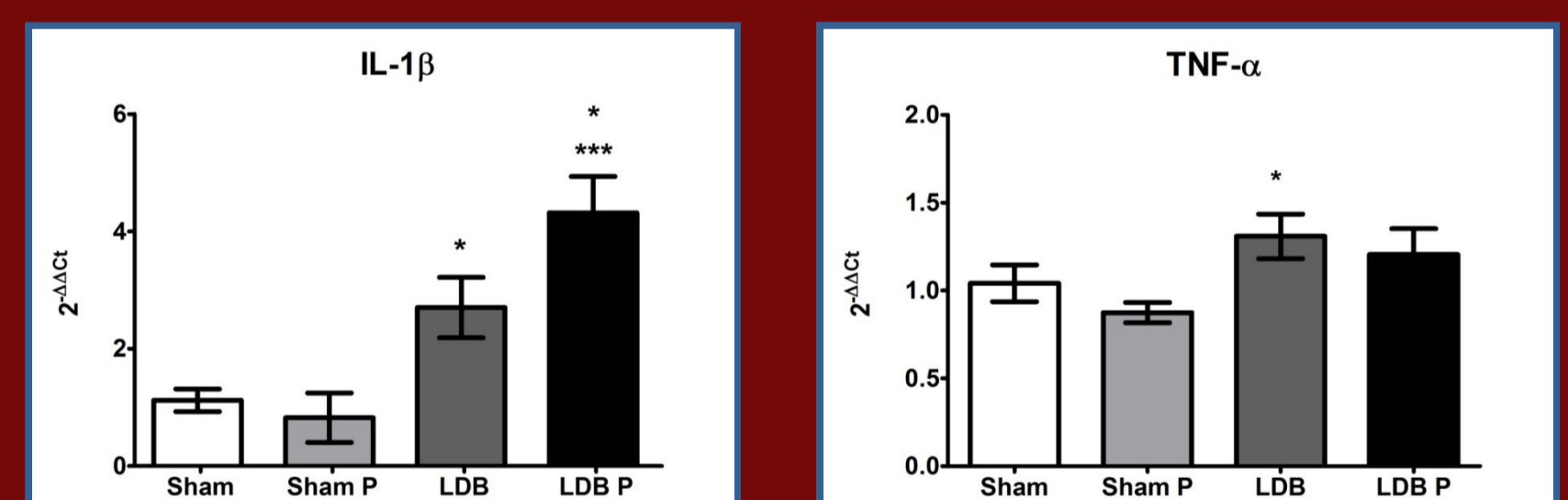
### 1. Expressão gênica

#### Córtex



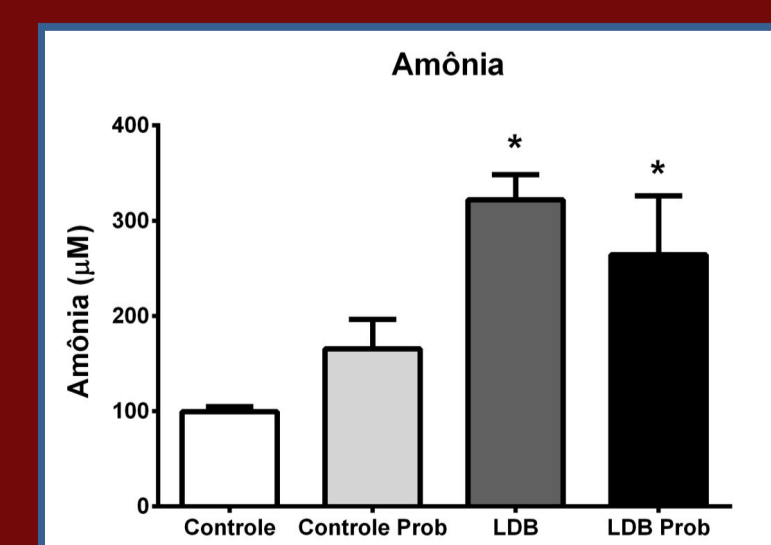
**Expressão gênica no córtex.** Os cérebros dos ratos controle (N=8), controle LGG (N=8), LDB (N=7) e LDB LGG (N=6) foram analisados quanto à expressão gênica de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e TLR4. \*\*  $P < 0,01$  quando comparado aos controles. \*\*\*  $p < 0,001$  quando comparado aos controles.

#### Hipocampo



**Expressão gênica no hipocampo.** Os cérebros dos ratos controle (N=8), controle LGG (N=8), LDB (N=7) e LDB LGG (N=6) foram analisados quanto à expressão gênica de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e TLR4. \*  $p < 0,05$  quando comparado aos controles. \*\*\*  $p < 0,001$  quando comparado aos controles.

### 2. Amônia



**Concentração sérica de amônia.** O soro dos ratos controle (N=8), controle LGG (N=8), LDB (N=7) e LDB LGG (N=6) foram analisados para determinação de diferentes parâmetros de função hepática. \*  $p < 0,05$  quando comparado com os controles.

## APOIO FINANCEIRO:

FIPE – HCPA  
FAPERGS  
CNPq

## BIBLIOGRAFIA:

1. Ferenci P et al., *Hepatic encephalopathy--definition, nomenclature, diagnosis, and quantification: final report of the working party at the 11th World Congresses of Gastroenterology, Vienna, 1998. Hepatology.* 2002.
2. Blei AT. *Infection, inflammation and hepatic encephalopathy, synergism redefined. J Hepatol.* 2004.
3. Jover R et al., *Brain edema and inflammatory activation in bile duct ligated rats with diet-induced hyperammonemia: A model of hepatic encephalopathy in cirrhosis. Hepatology.* 2006.
4. Denipote FG et al., *Probiotics and prebiotics in primary care for colon cancer. Arq Gastroenterol.* 2010.