

ENCEFALOPATIA HEPÁTICA EM RATOS COM CIRROSE BILIAR SECUNDÁRIA: EFEITO DO TRATAMENTO COM O PROBIÓTICO *LACTOBACILLUS RHAMNOSUS* GG

Thayssa D. C. Escobar¹, Renata Leke^{1,2}, Luiz F. Forgiarini¹, Diogo L. de Oliveira³, Djuli M. Hermes¹, Fabíola Schons Meyer⁴, Carolina R. Hartmann⁵, Themis Reverbel da Silveira^{1,2}

¹ Laboratório de Hepatologia e Gastroenterologia Experimental, Centro de Pesquisa Experimental, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil, ² Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil, ³ Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil, ⁴ Unidade de Experimentação Animal, Centro de Pesquisa Experimental, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil. ⁵ Departamento de Patologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil.

INTRODUÇÃO

A encefalopatia hepática (EH) é uma condição neuropsiquiátrica decorrente de doenças agudas ou crônicas do fígado, e de hipertensão portal desacompanhada de hepatopatias (Ferenci et al., Hepatology 2002). Seus mecanismos fisiopatogênicos não estão totalmente esclarecidos, porém se aceita um importante papel da inflamação na patofisiologia da EH (Blei, Journal of Hepatology, 2004). Os probióticos são microorganismos que, quando administrados em concentrações adequadas, conferem efeitos benéficos para a saúde do hospedeiro. Acredita-se que agem através de: imunomodulação, redução do pH intestinal e diminuição da translocação bacteriana (Denipote et al., Arquivos de Gastroenterologia, 2010; Liu et al., Hepatology, 2004).

OBJETIVO

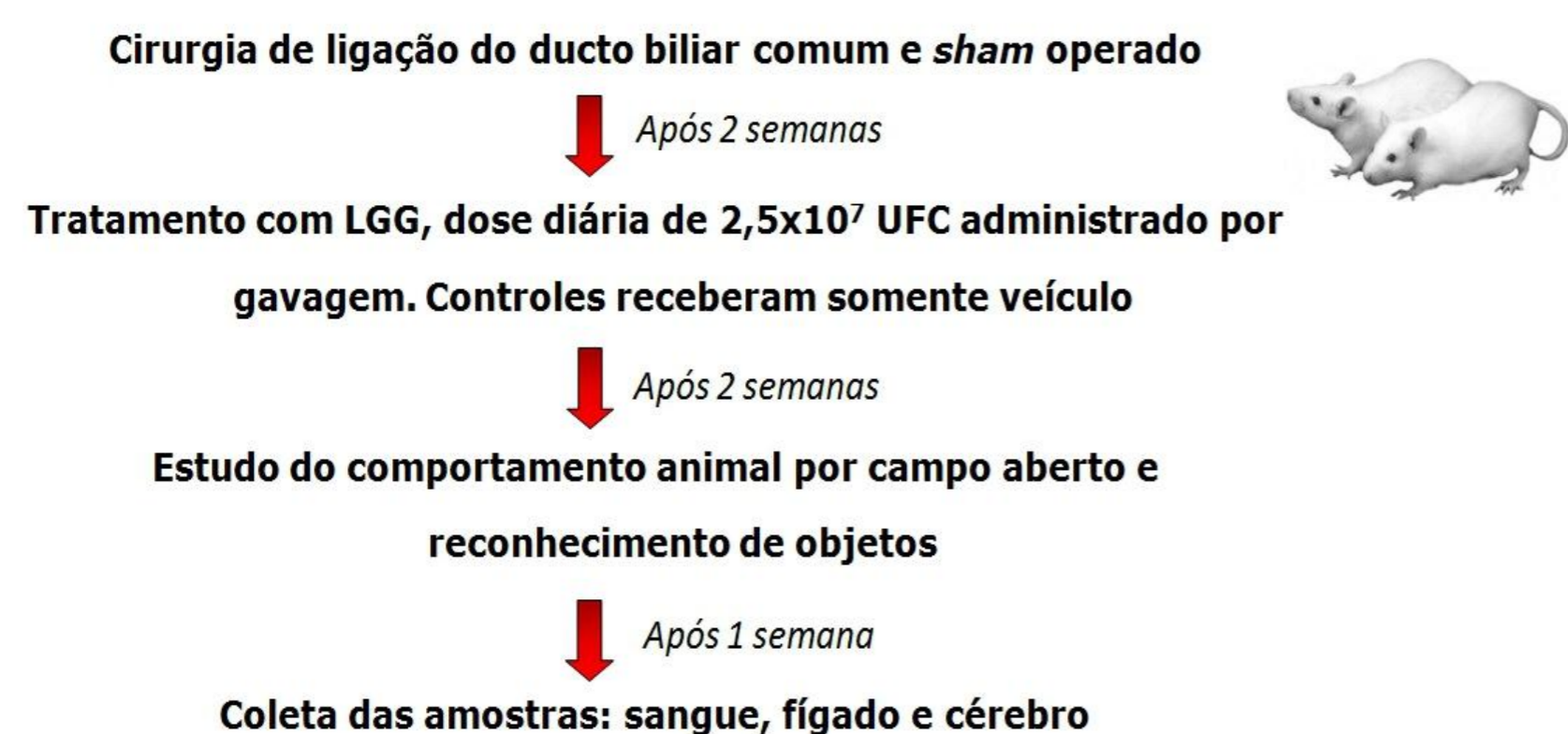
Avaliar se a terapêutica com o probiótico *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) atenua e/ou reverte a EH em ratos com cirrose biliar secundária.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Desenho experimental

Animais: 32 ratos Wistar machos de 60 dias

Grupos: controle, controle LGG, LDB e LDB LGG



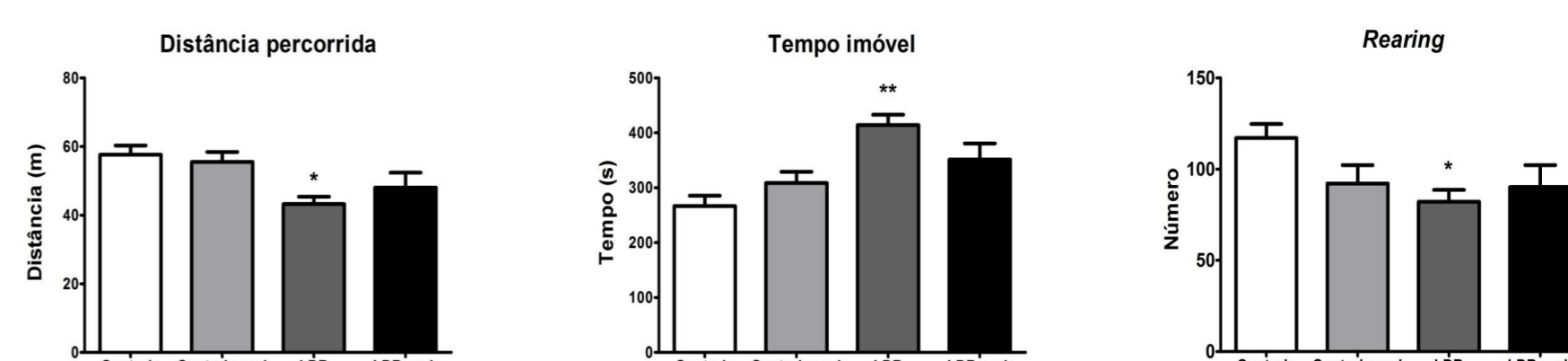
Análise histológica do fígado: O fígado dos ratos foram processados para a obtenção de fatias de 5µ que foram posteriormente processadas para as técnicas de coloração de Hematoxilina-eosina (HE) e picrosírius.

Análise estatística: Os dados são apresentados como média ± SEM. A análise estatística para os dados de campo aberto e parâmetros bioquímicos foram realizados por ANOVA seguidos de post hoc Tukey. Os dados de reconhecimento de objetos foram analisados por teste t de Student. Para todos os parâmetros o p < 0,05 foi considerado significativo.

RESULTADOS

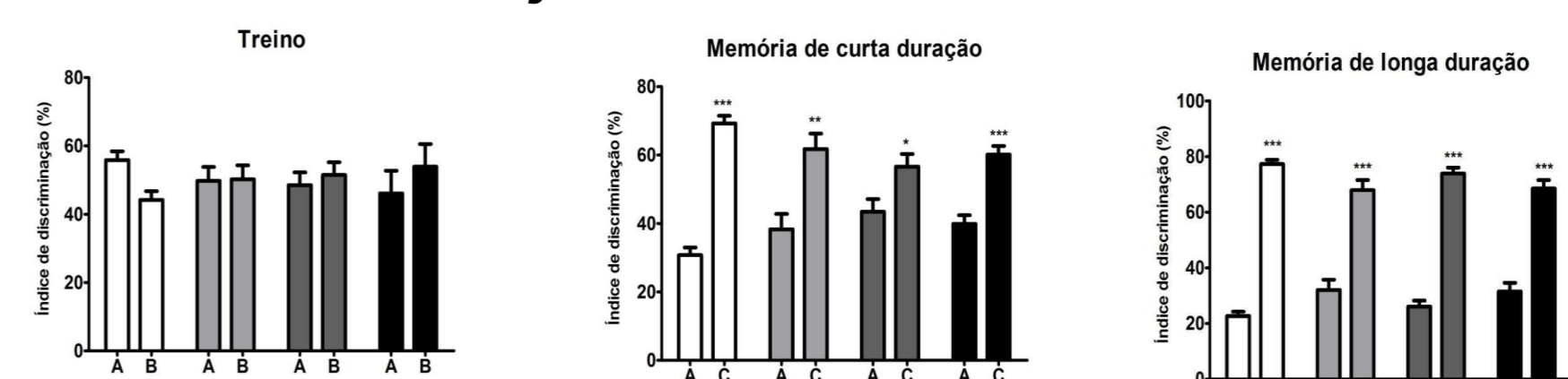
1. Comportamento animal

Campo aberto



Campo aberto. Os ratos controle (N=8), controle LGG (N=8), LDB (N=7) e LDB LGG (N=6) foram submetidos à tarefa de reconhecimento de objetos para verificação de campo aberto para análise do padrão de atividade locomotora e exploratória. ** p<0,01 e * p<0,05 quando comparado com os controles para os dados de distância percorrida e tempo imóvel. * p<0,05 quando comparado com o controle para os dados de rearing

Reconhecimento de objetos



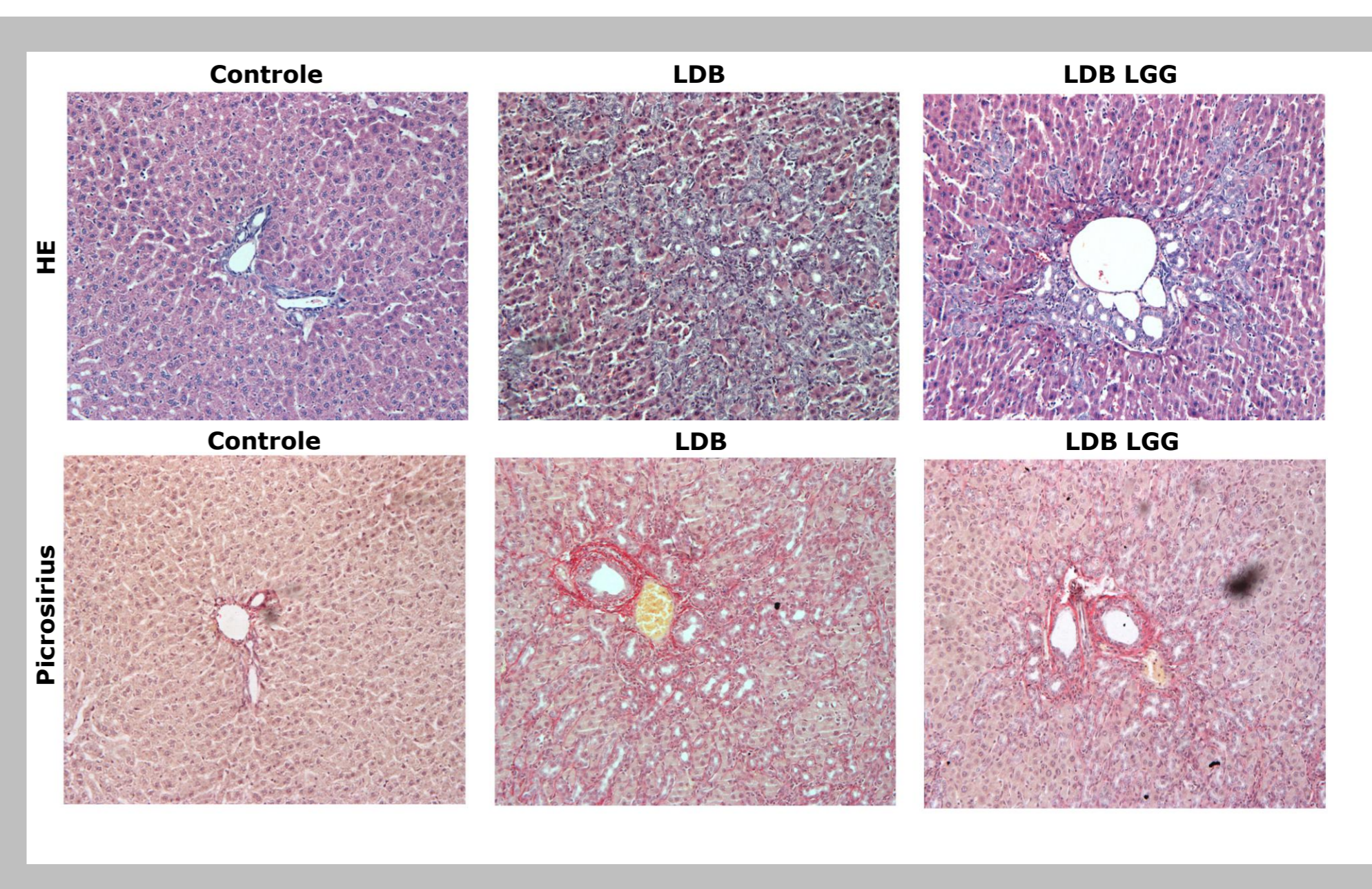
Reconhecimento de objetos. Os ratos controle (N=8), controle LGG (N=8), LDB (N=7) e LDB LGG (N=6) foram submetidos à tarefa de reconhecimento de objetos para verificação da memória de reconhecimento. *** p<0,001, ** p<0,01 e * p<0,05 quando comparado com o objeto familiar A.

2. Parâmetros bioquímicos

Parâmetros	Controle	Controle LGG	LDB	LDB LGG
Aspartato aminotransferase U/L	89,13+4,37	101,38+12,02	388,13+53,80*	523,00+83,14*
Bilirrubina total mg/dL	0,30+0,0	0,30+0,0	9,64+0,54***	10,54+0,64***
Fosfatase alcalina U/L	151,25+14,35	101,00+11,29	358,13+35,05***	375,50+47,57*
Albumina g/dL	3,94+0,03	3,88+ 0,05	3,38+0,16 *	3,78+0,17

Parâmetros bioquímicos de função hepática. 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< 0,001 quando comparado com os controles, * p< 0,05 quando comparado com os controles.

3. Análises histológicas do fígado



Fotos representativas das histologias dos fígados com as colorações de HE e picrosírius. Pela colocação de HE verificou-se uma grande proliferação de ductos biliares nos fígados dos ratos LDB. Os ratos LDB LGG também apresentaram proliferação de ductos biliares, porém em menor intensidade. Pela coloração de picrosírius observou-se a presença de grande quantidade de fibras de colágeno no parênquima do fígado dos ratos LDB, que não estava tão evidente nas histologias dos ratos LDB LGG.

CONCLUSÃO

Os ratos LDB LGG apresentaram uma reversão parcial da diminuição da distância percorrida e tempo imóvel na tarefa de campo aberto.

Os ratos LDB LGG apresentaram um melhor índice de discriminação para a memória de curta duração, quando comparados aos LDB.

Não foi observada diferença nos parâmetros bioquímicos entre os grupos LDB e LDB LGG. Somente albumina teve suas concentrações parcialmente recuperadas

As análises histológicas sugerem uma diminuição de proliferação de ductos biliares e depósito de fibras de colágenos para os ratos LDB tratados com LGG

Futuras análises do soro e cérebro para diferentes parâmetros inflamatórios e bioquímicos são importantes para melhor entendermos os resultados já obtidos e avaliar se o tratamento com o LGG atenuou ou reverteu a EH dos ratos LDB