

# EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO DE LPS SOBRE OS NÍVEIS DE TNF-ALFA, PROTEÍNA S100B E GFAP EM HIPOTÁLAMO DE RATOS WISTAR.

Roberta Viégas da Silva

## INTRODUÇÃO:

O lipopolissacarídeo (LPS) é uma endotoxina presente na parede celular de bactérias GRAM-negativas capaz de desencadear uma resposta inflamatória no organismo pelo aumento na produção de citocinas pró-inflamatórias, como TNF-alfa e interleucinas. A barreira hematoencefálica é uma estrutura que separa o sistema nervoso central da circulação periférica, limitando a passagem de células imunocompetentes, citocinas e anticorpos e o LPS pode prejudicar essa função. GFAP (proteína glial fibrilar ácida), um marcador específico de astrócitos e S100B (proteína ligante de cálcio), proteína expressa e secretada por astrócitos no sistema nervoso central, são parâmetros astrogliais e podem ter seu conteúdo alterado em doenças neurológicas.

## OBJETIVOS:

Padronizar um modelo de neuroinflamação através da administração intraperitoneal (ip) de LPS, realizando um acompanhamento temporal das possíveis condições neuroinflamatórias nos animais.

## RESULTADOS:

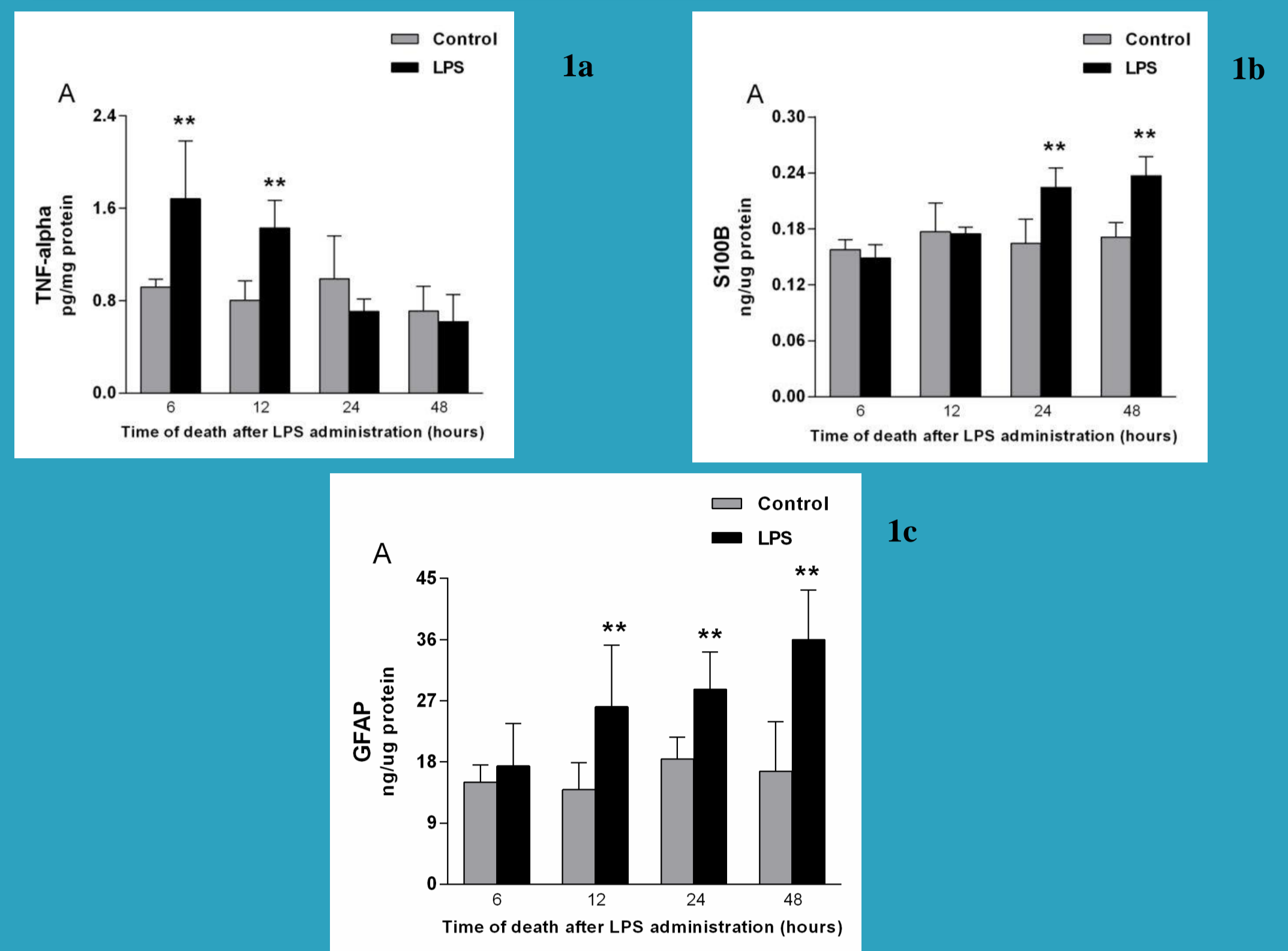


Fig.1: Efeito da administração ip de LPS em ratos de 8 dias de idade sobre o conteúdo de TNF-alfa (1a), S100B (1b) e GFAP (1c) em hipotálamo removido nos tempos de 6, 12, 24 ou 48 horas após as administrações. \*\* p<0,01 comparado ao grupo controle (teste t de Student). Os dados representam a média ± desvio padrão para 6 animais por grupo.

## METODOLOGIA:

### Tratamento agudo:

#### - Grupos:

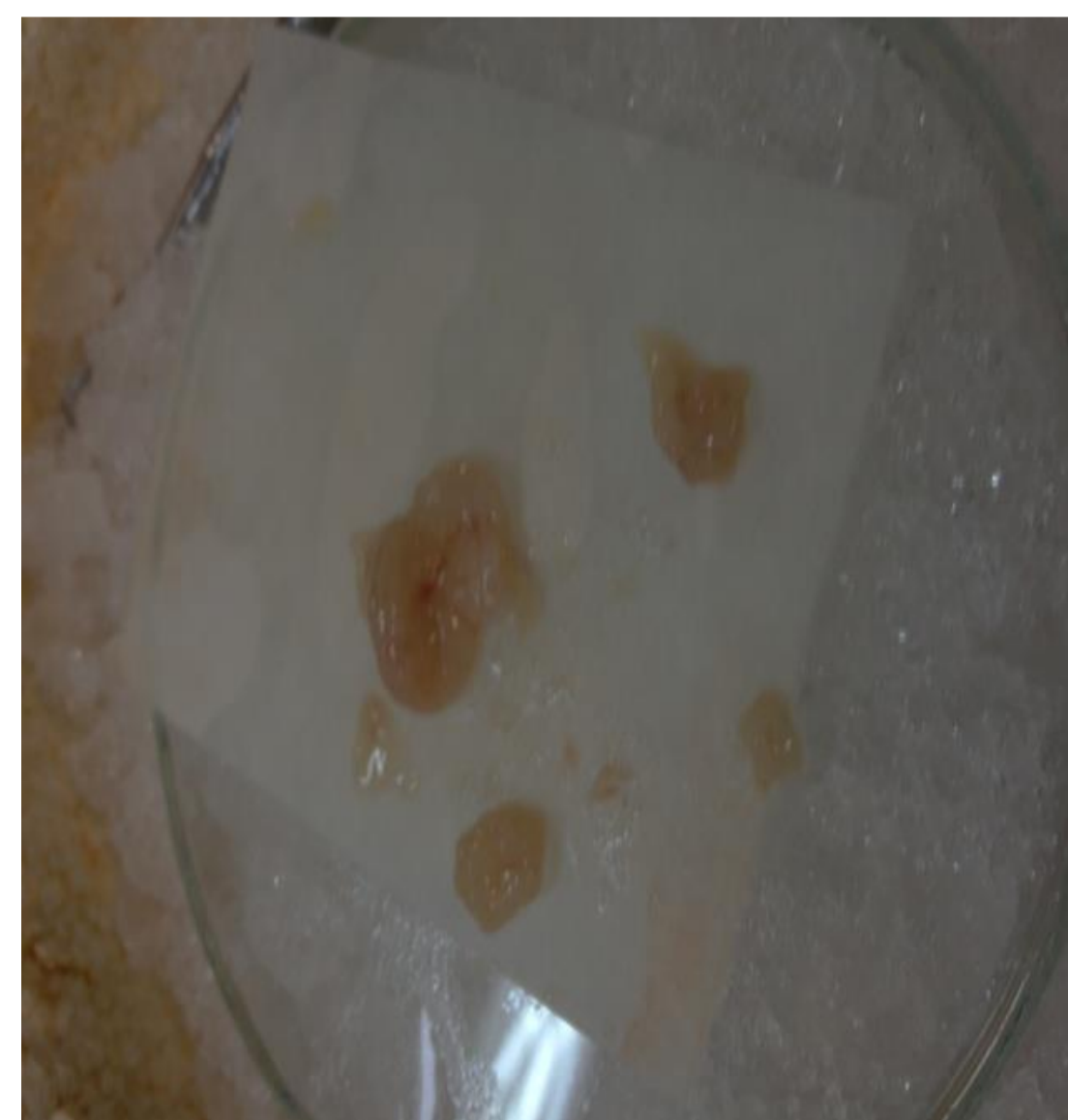
- Salina 0,85% – via ip
- LPS 1mg/Kg de peso – via ip

#### - Administração no 8º dia de vida

#### - Decapitação ratos em 6, 12, 24 ou 48 horas após as injeções.



- 56 filhotes ratos Wistar.
- Hipotálamo removido.



-Hipotálamo dissecado.

- Hipotálamo homogeneizado tampão PBS, pH 7,4

- S100B (Leite et al., 2008)
- GFAP (Tramontina et al., 2007)

- Hipotálamo homogeneizado tampão lise e centrifugado 1000 g por 5 min.

- TNF-alfa ELISA, ebioscience.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

Leite MC, Galland F, Brolese G, Guerra MC, Bortolotto JW, Freitas R, et al. A simple, sensitive and widely applicable ELISA for S100B: methodological features of the measurement of this glial protein. *J Neurosci Methods* 2008;169:93–9.

Tramontina F, Leite MC, Cereser K, de Souza DF, Tramontina AC, Nardin P, Andreazza AC, Gottfried C, Kapczinski F, Gonçalves CA: Immunoassay for glial fibrillary acidic protein: antigen recognition is affected by its phosphorylation state. *J Neurosci Methods* 2007;162:282–286.

Qin L, Wu X, Block ML, Liu Y, Breese GR, Hong JS, Knapp DJ, Crews FT. Systemic LPS causes chronic neuroinflammation and progressive neurodegeneration. *Glia*. 2007 Apr 1;55(5):453–62.

Erridge C, Bennett-Guerrero E, Poxton IR. Structure and function of lipopolysaccharides. *Microbes Infect.*, 2002 Jul;4(8):837–51.

Stolp H B, Dziegielewska K M, Ek C J, Habgood M D, Lane M A, Potter A M, Saunders N R. Breakdown of the blood–brain barrier to proteins in white matter of the developing brain following systemic inflammation. *Cell Tissue Res* (2005) 320: 369–378.

Guerra MC, Tortorelli LS, Galland F, Da Ré C, Negri E, Engelke DS, Rodrigues L, Leite MC, Gonçalves CA. Lipopolysaccharide modulates astrocytic S100B secretion: a study in cerebrospinal fluid and astrocyte cultures from rats. *Journal of Neuroinflammation* 2011;8:128.

## CONCLUSÕES:

- ✓ ↑ citocina pró-inflamatória TNF-α no hipotálamo do grupo que recebeu LPS nos tempos de 6 e 12 horas, sendo que em 24 e 48 horas não houve diferença;
- ✓ ↑ secreção proteína S100B por astrócitos em resposta a sinais inflamatórios em 24 e 48 horas no grupo tratado com LPS, já 6 e 12 horas não mudaram em relação ao grupo controle;
- ✓ ↑ GFAP marcador de astrogliose, que ocorre em situações de injúria cerebral, em 12, 24 e 48 horas, mas não alterou em 6 horas;
- ✓ os resultados da dosagem dos parâmetros indicativos de inflamação, TNF-alfa, S100B e GFAP, sugerem que a dose utilizada de LPS via sistêmica de alguma forma induziu um processo inflamatório no SNC, viabilizando essa proposta para reproduzirmos um modelo de neuroinflamação nos animais.

APOIO:

