



Lipopolissacarídeo aumenta a expressão gênica do TLR4, da fosfatase alcalina intestinal e do NF- κ B (ReLaP65) no jejuno de suínos em modelo experimental *ex vivo*

Antonio Diego Brandão Melo^{[a,b]*}, Hebert Silveira^[b], Cristiano Bortoluzzi^[b], Leandro Batista Costa^[a], Marcos H. Rostagno^[b,c]

^[a] Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), São José dos Pinhais, PR – Brasil

^[b] Animal Science Department, Purdue University, West Lafayette, IN – EUA

^[c] United States Department of Agriculture (USDA), West Lafayette, IN – EUA

* Endereço para correspondência: diegobmelo@hotmail.com

Resumo

O Lipopolissacarídeo (LPS) é o maior constituinte da membrana celular externa de bactérias gram-negativas, apresentando elevada toxicidade e podendo induzir inflamação e causar septicemia. O LPS é reconhecido por receptores Toll-Like 4 (TLR4), que, hiperativados, desencadeiam resposta inflamatória por ativação do fator de transcrição nuclear kappa-B (NF- κ B) e o envolvimento de diversos mediadores inflamatórios (IL-1, IL-6, IL-8, NO, TNF- α). A fosfatase alcalina intestinal (FAI) é uma isoenzima capaz de reduzir a toxicidade do LPS, desfosforilando o lipídio A, fração responsável pela toxicidade do LPS. Diante disso, objetivou-se avaliar a expressão gênica do TLR4, da FAI e do NF- κ B (ReLaP65) no jejuno de suínos, na presença de LPS, utilizando modelo experimental *ex vivo*. Cinco leitões desmamados foram abatidos e segmentos de 2 cm do jejuno de cada animal foram coletados, lavados com solução tamponante (PBS) e imersos por 15 minutos em uma solução contendo antibióticos. Cada animal representou uma unidade experimental, totalizando cinco repetições por tratamento. Posteriormente, os segmentos foram novamente lavados com PBS e distribuídos em tubos contendo o meio Dulbecco's Modified Eagle (DME) e os seguintes tratamentos: Controle (somente DME) e LPS (2 μ g/mL). As amostras foram incubadas a 37 °C durante o tempo de exposição (60 min). Em seguida, os tecidos foram lavados e estocados em trizol à -80 °C para subsequente extração de RNA, síntese de DNA e análise da expressão gênica do TLR4, da FAI e do NF- κ B (ReLaP65). A expressão gênica do TLR4, da FAI e do NF- κ B (ReLaP65) foi analisada por PCR em tempo real. As médias obtidas foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. O LPS promoveu aumento da expressão gênica do TLR4 (2,84 \pm 0,78 vezes maior que o controle), da FAI (7,79 \pm 1,84 vezes maior que o controle) e do NF- κ B (p65RelA) (11,66 \pm 1,65 vezes maior que o controle) ($p < 0,05$). A modulação do TLR4 e NF- κ B sugere a indução da inflamação por meio do reconhecimento do LPS pelo TLR4 e consequente ativação do NF- κ B.

O aumento da expressão da FAI indica que essa pode ser uma resposta do hospedeiro para redução de processos inflamatórios no intestino.

Palavras-chave: Enzima. Inflamação intestinal. PCR em tempo real.