

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

**Instituto de Ciências Biológicas**

**Programa de Pós-Graduação em Patologia**

Leonardo Gonçalves Guimarães de Castro

**EFEITO DO TELMISARTAN NA ENCEFALOPATIA HEPÁTICA EXPERIMENTAL**

BELO HORIZONTE

2024

Leonardo Gonçalves Guimarães de Castro

**EFEITO DO TELMISARTAN NA ENCEFALOPATIA HEPÁTICA  
EXPERIMENTAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Patologia Geral da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para à obtenção do título de Mestre em Patologia Investigativa.

Orientadora: Dra. Milene Alvarenga Rachid

Coorientadora: Dra. Aline Silva de Miranda

BELO HORIZONTE

2024

043 Castro, Leonardo Gonçalves Guimarães de.  
Efeito do telmisartan na encefalopatia hepática experimental [manuscrito] /Leonardo  
Gonçalves Guimarães de Castro. – 2024.  
78 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Milene Alvarenga Rachid. Coorientador:Aline Silva de Miranda.  
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de  
Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Patologia.

1. Patologia. 2. Encefalopatia Hepática. 3. Telmisartan. 4. Sistema  
Renina-Angiotensina. I. Rachid, Milene Alvarenga. II. Universidade Federal de Minas  
Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.

CDU: 616



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
PATOLOGIA DA UFMG

## FOLHA DE APROVAÇÃO

**“EFEITO DO TELMISARTAN NA ENCEFALOPATIA HEPÁTICA EXPERIMENTAL”**

**LEONARDO GONÇALVES GUIMARÃES DE CASTRO**

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de **Pós-Graduação em Patologia**, como requisito para obtenção do grau de **Mestre em PATOLOGIA**, área de concentração **PATOLOGIA INVESTIGATIVA**.

Aprovada em 31 de janeiro, pela banca constituída pelos membros:

**Profa. Dra. Eliana Cristina De Brito Toscano,**  
**UFJF Profa. Dra. Natalia Katley Oliveira,**  
**CAPI - ICB/UFMG**  
**Profa. Dra. Milene Alvarenga Rachid, ICB/UFMG – ORIENTADORA**

**Belo Horizonte, 31 de janeiro de**

**2024.**



Documento assinado eletronicamente por **Milene Alvarenga Rachid, Servidor(a)**, em 31/01/2024, às 17:25, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Natalia Katley Oliveira, Técnica de Laboratório**, em 02/02/2024, às 11:35, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Eliana Cristina de Brito Toscano, Usuário Externo**, em 05/02/2024, às 19:27, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufmg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **2971109** e o código CRC **43542E06**.

## **Agradecimentos**

Manifesto minha profunda gratidão a Deus pela oportunidade concedida, à minha família pelo constante apoio e à minha orientadora, Milene Alvarenga Rachid, pelas valiosas contribuições neste capítulo da minha trajetória acadêmica. Agradeço também aos colegas do Laboratório de Patologia Celular e Molecular do Departamento de Patologia Geral e do Laboratório Conceição Machado do Departamento de Morfologia pela colaboração e apoio oferecidos ao longo desta jornada.

## **Epígrafe**

"Se consegui enxergar mais longe,  
foi porque me apoiei sobre os ombros de gigantes"

- Isaac Newton, do século XVII

## RESUMO

A encefalopatia hepática (EH) do tipo A é uma síndrome neuropsiquiátrica decorrente da falência hepática aguda (FHA). A origem desse quadro está associada ao acúmulo periférico de amônia e ao desencadeamento de inflamação, originando-se tanto no fígado, de forma periférica, quanto localmente no cérebro. Sabe-se que os eixos clássico e alternativo do sistema renina-angiotensina (SRA) modulam a inflamação e influenciam na resposta imunológica, contudo um desequilíbrio entre esses eixos tem sido demonstrado em diferentes modelos experimentais de doenças que se assemelham a condições cerebrovasculares, neuropsiquiátricas e neurodegenerativas. Recentemente, nosso grupo de pesquisa descreveu um aumento na concentração da enzima conversora de angiotensina (ECA) e uma redução na concentração da Angiotensina 1-7 (Ang 1-7), associadas ao aumento da inflamação no sistema nervoso central (SNC) durante a EH aguda experimental. Neste sentido, utilizamos camundongos da linhagem C57BL/6, fêmeas, para investigar o efeito do telmisartan (Tel), um antagonista do receptor AT1 da angiotensina II (Ang-II), em um modelo de EH induzida por tioacetamida (TAA). Os camundongos (n=40) foram distribuídos randomicamente em quatro grupos distintos: Grupo TAA; Grupo salina; Grupo TAA+Tel; e Grupo Tel. Os animais foram tratados com 10mg/kg de Tel ou salina seis horas após a administração da TAA ou salina e o tratamento foi mantido a cada 12 horas ao longo de um período de três dias. Observamos que a administração de TAA resultou em redução da atividade locomotora dos camundongos 24 horas após a indução da EH. No entanto, o tratamento com telmisartan atenuou este efeito. Além disso, enquanto os animais expostos à TAA apresentaram extensas áreas necrose hepatocelular, aqueles tratados com telmisartan não relevaram esse parâmetro ao terceiro dia após a indução da EH por TAA, indicando um potencial efeito hepatoprotetor. Nesse contexto, propomos que o tratamento com telmisartan promoveu melhora dos déficits locomotores e das lesões hepáticas em camundongos expostos à administração única de 600 mg/kg de TAA.

**Palavras-chave:** Encefalopatia hepática aguda; Telmisartan; Sistema Renina-Angiotensina

## ABSTRACT

Type A hepatic encephalopathy (HE) is a neuropsychiatric syndrome resulting from acute liver failure. The origin of this condition is associated with the peripheral accumulation of ammonia and the triggering of neuroinflammation, originating both locally and peripherally. The classic and alternative pathways of the renin-angiotensin system (RAS) modulate inflammation and influence the immune response; however, an imbalance between these pathways has been demonstrated in different experimental models of cerebrovascular diseases. Recently, our research group detected an upregulation of angiotensin-converting enzyme (ACE) and a downregulation of angiotensin 1-7 (Ang 1-7), associated with increased inflammation in the central nervous system during an HE experiments. In this context, we used female C57BL/6 mice to investigate the effect of telmisartan, an antagonist of the angiotensin II (Ang-II) AT1 receptor, in a TAA-induced HE model. Mice (n=40) were randomly distributed into four distinct groups: TAA group, saline group; TAA+Telmi group; and Telmi group. The animals were treated with 10mg/kg of telmisartan or saline 6 hours after TAA or saline administration, and the treatment was maintained every 12 hours over a period of three days. We observed that TAA administration resulted in a reduction in the locomotor activity 24 hours after the induction of HE. However, treatment with telmisartan attenuated this effect. Moreover, while animals exposed to TAA showed extensive areas of hepatocellular necrosis, those treated with telmisartan did not reveal this parameter on the third day after the induction of HE by TAA, indicating potential hepatoprotection effect. In this context, we propose that treatment with telmisartan promoted improvement in locomotor deficits and hepatic lesions in mice exposed to a single administration of 600 mg/kg of TAA.

**Keywords:** Acute hepatic encephalopathy; Telmisartan; Renin-Angiotensin System.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Diagrama esquemático do metabolismo hepático da amônia .....	23
Figura 2. Diagrama esquemático do quadro de encefalopatia hepática.....	24
Figura 3. Diagrama esquemático do processo de falência hepática .....	27
Figura 4. Diagrama esquemático da sinergia entre a hiperamonemia e a neuroinflamação .....	31
Figura 5. Diagrama esquemático da expressão componentes dos eixos clássico e alternativo do SRA .....	32
Figura 6. Diagrama esquemático da cascata de reações dos componentes do sistema renina-angiotensina no SNC.....	35
Figura 7. Representação esquemática do bloqueio do receptor AT1 pelo telmisartan e da sinalização mediada pelo receptor PPARg .....	42
Figura 8. Delineamento Experimental .....	41
Figura 9. Análise do Peso Corporal .....	46
Figura 10. Avaliação da Sobrevida.....	49
Figura 11. Avaliação da Atividade Locomotora Através do Teste de Campo Aberto.....	48
Figura 12. Avaliação da Força Muscular e Atividade Neuromuscular Através do Teste de Força de Preensão Manual das Patas Dianteiras e Traseiras.....	49
Figura 13. Análise das Concentrações das Transaminases AST (Aspartato Aminotransferase) e ALT (Alanina Aminotransferase) .....	50
Figura 14. Análise Histopatológica de Seções do fígado Coradas com Hematoxilina e Eosina (H&E) .....	51
Figura 15. Escore de Graduação Histopatológica de Amostras de Fígado de Camundongos TAA Tratados e Não tratados com Telmisartan.....	52

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Diretrizes atualizadas da Associação Americana para o Estudo das Doenças do Fígado (Adaptado de Vilstrup 2014) .....	19
--	----

## LISTA DE SIGLAS

- EH - Encefalopatia Hepática
- GLS - Glutaminase
- SRA - Sistema Renina-Angiotensina
- ECA - Enzima Conversora de Angiotensina
- Ang II - Angiotensina II
- AT1R - Receptor Tipo 1 de Angiotensina II
- ECA2 - Enzima Conversora de Angiotensina 2
- Ang-(1-7) - Angiotensina-(1-7)
- Receptor MAS
- PPAR- $\gamma$  - PPAR-gama
- NH<sub>3</sub> - Amônia
- Glu - Glutamato
- GABA - Ácido Gama Aminobutírico
- AASLD - Estudo das Doenças do Fígado (American Association for the Study of Liver Diseases)
- EASL - Associação Europeia para o Estudo do Fígado (European Association for the Study of the Liver)
- PIC - Pressão Intracraniana
- EHM - Encefalopatia Hepática Mínima
- ISHEN - Sociedade Internacional de Encefalopatia Hepática e Metabolismo de Nitrogênio
- IHA - Insuficiência Hepática Aguda
- IHC - Insuficiência Hepática Crônica
- TIPS - Derivação Portossistêmica Intra-Hepática Transjugular
- ALT - Alanina Aminotransferase
- AST - Aspartato Aminotransferase
- L-PAG - Glutaminase Ativada por Fosfato
- GDH - Glutamato Desidrogenase Mitocondrial
- CPS I - Carbamoil Fosfato Sintase I
- HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> - Hidrogenocarbonato
- BHE - Barreira Hematoencefálica

- GS - Glutamina Sintase
- SIRS - Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica
- PaCO<sub>2</sub> - Dióxido de Carbono no Sangue Arterial
- BCAT - Aminoácidos de Cadeia Ramificada
- NO - Óxido Nítrico
- DAMPs - Padrões Moleculares Associados a Danos (Damage-Associated Molecular Patterns)
- PAMPs - Padrões Moleculares Associados a Patógenos (Pathogen-Associated Molecular Patterns)
- LDB - Ligadura do Ducto Biliar
- GABAérgica - Relacionado ao GABA
- EAAT1 - Proteína Transportadora de Glutamato
- TRPC1 - Potencial Transitório Canônico 1
- GLAST RNA - Transportador de Glutamato/Aspartato
- GLT-1 - Transportador de Glutamato-1
- NMDA - N-Metil-D-Aspartato
- AMPA -  $\alpha$ -Amino-3-Hidroxi-5-Metil-4-Isoxazolpropiónico
- Receptores Kainato - Receptores de Ácido Caínico
- VGCCs - Canais de Cálcio Dependentes de Voltagem
- ROCCs - Canais Operados por Receptores
- PIP2 - Fosfatidilinositol 4,5-Bifosfato
- IP3 - Inositol Trifosfato
- DAG - Diacilglicerol
- PKC - Proteína Quinase C
- NF- $\kappa$ B - Fator Nuclear Kappa B
- AP-1 - Proteína Ativadora-1
- CREB - Proteína de Ligação Responsiva ao AMPc
- STATs - Proteínas Transdutoras de Sinais e Ativadoras da Transcrição
- DA - Doença de Alzheimer
- Trk - Tirosina Quinase Dependente de Neurotrofina
- NGF - Fator de Crescimento Nervoso
- TrkA - Receptor Tirosina Quinase TrkA

- BDNF - Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro
- GDNF - Fator de Crescimento Glial
- LIF - Fator Neurotrófico Derivado do Fígado

## Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	16
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1 Definição e Classificação da Encefalopatia Hepática .....	17
2.2 Epidemiologia da encefalopatia hepática.....	19
2.3 Modelo Experimental de Encefalopatia Hepática Aguda Induzida por Tioacetamida .....	21
2.4 O Papel do Fígado na Desintoxicação da Amônia.....	22
2.5 Mecanismos fisiopatológicos.....	23
2.6 Sistema Renina-Angiotensina (SRA).....	31
2.7 Tratamentos farmacológicos atuais.....	36
2.8 Telmisartan .....	37
3. OBJETIVO GERAL E OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	39
3.1 Objetivo geral .....	39
3.2 Objetivos específicos .....	39
4. METODOLOGIA.....	41
4.1 Substâncias Farmacológicas e Químicas.....	41
4.2 Animais .....	41
4.3 Grupos e delineamento experimental.....	41
4.4 Indução da encefalopatia hepática .....	42
4.5 Tratamento com o telmisartan .....	43
4.6 Avaliação clínica e dos parâmetros comportamentais.....	43
4.6.1. Avaliação da atividade locomotora por meio do teste de campo aberto.....	44
4.6.2 Teste de força de tração muscular para medição e avaliação neuromuscular .....	44
4.7 Eutanásia e coleta das amostras .....	44
4.8 Análise histopatológica do encéfalo e do fígado.....	45
4.9 Dosagem sérica da alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) .....	45
5 RESULTADOS .....	46
5.1 Peso corporal .....	46
5.2 Curva de sobrevivência.....	47
5.3. Teste de campo aberto .....	48

5.3.1. Alterações induzidas por TAA na atividade locomotora de camundongos e o efeito protetor do telmisartan .....	48
5.4 Teste de força de preensão manual .....	49
5.4.1 Atividade neuromuscular das patas traseiras e estabilidade, e força geral utilizando o teste de força de preensão manual durante a execução do movimento .....	49
5.5 Concentração sérica das enzimas transaminases .....	50
5.5.1 Efeitos de Telmisartan na aspartato transaminase sérica (AST) e alanina transaminase (ALT) 72 horas p.i.....	50
6.1 Histopatologia e escore histopatológico do fígado.....	51
6.1.1 Telmisartan atenuou o dano hepatocelular nos animais expostos à tioacetamida	51
6.1.2 Telmisartan promoveu redução do escore histopatológico para necrose hepatocelular nos animais expostos à tioacetamida.....	53
7.1. Histopatologia do encéfalo .....	53
8 Discussão.....	54
9 Conclusão .....	58
10 Referências .....	59

## 1. INTRODUÇÃO

A insuficiência hepática aguda (IHA) é uma condição clínica grave com alta morbimortalidade que afeta pacientes em todo o mundo (DEVARBHAVI *et al.*, 2023). Um dos principais desafios enfrentados por esses pacientes são as síndromes subjacentes, incluindo a encefalopatia hepática (EH) do Tipo A (BUTTERWORTH *et al.*, 2015). Essa forma de EH é caracterizada por sintomas cognitivos, falta de coordenação motora e, em estágios avançados, pode resultar em edema cerebral, aumento da hipertensão intracraniana (HI), herniação cerebral (HC) tardia e aumentar o risco de coma e óbito (AASLD/EASL 2014; VILSTRUP 2014).

O tratamento da EH deve se concentrar em melhorar também os mecanismos fisiopatológicos subjacentes. Isso envolve o manejo do edema cerebral citotóxico, a redução da neuroinflamação exacerbada e a atenuação do estresse osmótico, oxidativo e nitrosativo. Essas intervenções são fundamentais para prevenir a progressão da hipertensão intracraniana (HI) e o deslocamento das estruturas cerebrais, que podem levar a danos irreversíveis e aumentar a mortalidade dos pacientes (SHAWCROSS *et al.*, 2005; YOU *et al.*, 2017; KORNERUP *et al.*, 2019). Vale ressaltar que o único tratamento definitivo para a IHA é o transplante hepático, mas a disponibilidade de órgãos é limitada, resultando em uma extensa fila de espera (FARKAS *et al.*, 2014).

Diversas vias têm sido alvo de modulação em modelos experimentais de EH, incluindo a inibição da glutaminase (GLS), a redução da inflamação e a mitigação do estresse osmótico, nitrosativo e oxidativo (LIMA *et al.*, 2019; LIERE *et al.*, 2017; ROGER *et al.*, 2015). Notavelmente, um estudo recente conduzido por Oliveira *et al.* (2022) revelou um desequilíbrio na via clássica do sistema renina-angiotensina (SRA), envolvendo a enzima conversora de angiotensina (ECA)/Angiotensina II (Ang II)/Receptor tipo 1 de angiotensina II (AT1R), e na via alternativa, incluindo a enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2)/Angiotensina-(1-7) (Ang-(1-7))/Receptor MAS, em um modelo experimental de EH aguda induzida por TAA. Especificamente, observou-se um aumento nos níveis da ECA e uma redução na concentração de Ang-(1-7). O SRA desempenha um papel crucial na regulação das funções cognitivas, estresse, resposta imune cerebral, plasticidade sináptica e equilíbrio entre excitação e inibição neuronal (JACKSON *et al.*, 2018). No entanto, uma ampla gama de estudos tem demonstrado o efeito prejudicial da hiperatividade da via clássica em diferentes modelos experimentais que

mimetizam condições de doenças neurológicas (ABIODUN *et al.*, 2020; GIRONACCI *et al.*, 2018; MASCOLO *et al.*, 2017).

O telmisartan, um antagonista do receptor AT1R da Ang II, tem sido objeto de crescente interesse devido ao seu potencial terapêutico em diferentes doenças de caráter neurológico. Entre os bloqueadores dos receptores da Ang II, o telmisartan tem se destacado como o mais potente e eficaz em atravessar a barreira hematoencefálica (BHE). O telmisartan não apenas bloqueia o receptor AT1R, mas também exibe propriedades de ativação do receptor PPAR-gama (PPAR- $\gamma$ ), o que desempenha um papel importante na regulação do metabolismo lipídico e inflamação (BALAJI *et al.*, 2015; VILLAPOL *et al.*, 2015). Estudos prévios indicaram que o telmisartan pode atenuar a neuroinflamação, reduzir o estresse oxidativo, modular a expressão de citocinas pró-inflamatórias e melhorar a função cognitiva em modelos experimentais relacionados à amiloidopatia, tauopatia, agregação de alfa-sinucleína, expressão anômala de huntingtina e desregulação da neurotransmissão (BINÁRIO *et al.*, 2023; RASHEED *et al.*, 2022; DURON *et al.*, 2010). Além do mais, o telmisartan já é um medicamento aprovado e bem estudado para outras condições, e seu reposicionamento para tratar doenças neurodegenerativas pode reduzir consideravelmente o tempo e os custos associados ao desenvolvimento de novos medicamentos. Neste contexto, considerando o desequilíbrio evidenciado entre os componentes do sistema RAS na EH aguda experimental, assim como em outros modelos experimentais doenças neurológicas, e a ausência de estudos com fármacos que modulam essa via na EH, postula-se que o telmisartan, ao bloquear o receptor AT1 e modular a sinalização mediada pelo receptor Pray-g, estabeleça um equilíbrio entre os eixos clássico e alternativo, atenuando os aspectos clínicos, microscópicos e bioquímicos observados na síndrome da EH aguda.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Definição e Classificação da Encefalopatia Hepática

A EH é caracterizada como uma síndrome neuropsiquiátrica que surge como uma complicação da IHA ou crônica, ou pela presença de desvios porto-sistêmicos congênitos ou adquiridos (AASLD/EASL 2014; VILSTRUP 2014). Essa síndrome desenvolve-se a partir de alterações induzidas pelo aumento de substâncias tóxicas que não são metabolizadas pelo fígado, como é o caso da amônia (NH<sub>3</sub>). Na EH, são descritas variações na concentração de

neurotransmissores-chave, como glutamato (Glu) e ácido gama aminobutírico (GABA), que desempenham, respectivamente, papéis excitatórios e inibitórios no sistema nervoso. Além disso, observa-se edema cerebral e uma resposta neuroinflamatória exacerbada, com aumento de citocinas pró-inflamatórias e estresse osmótico/oxidativo/nitrosativo (HÄUSSINGER *et al.*, 2022; WEISS *et al.*, 2018).

De acordo com as diretrizes atualizadas da Associação Americana para o Estudo das Doenças do Fígado (AASLD) e a Associação Europeia para o Estudo do Fígado (EASL) a EH deve ser classificada em quatro eixos principais: (i) a etiologia, (ii) a gravidade, (iii) o curso temporal da doença e (iv) a existência de fatores precipitantes. Começando com a etiologia, a EH é categorizada em três tipos principais. O Tipo A ocorre em pacientes com IHA resultante de necrose maciça do fígado, originada por causas como hepatites virais, toxicidade de acetaminofeno ou exposição a substâncias hepatotóxicas. O Tipo B se desenvolve em pacientes com derivação portossistêmica extra-hepática devido a uma comunicação anormal entre os sistemas venosos portal e sistêmico. O Tipo C da EH resulta de cirrose hepática, frequentemente associada ao etilismo crônico, apresentando uma ampla gama de sintomas que afetam substancialmente a qualidade de vida dos pacientes. As manifestações clínicas dos Tipos B e C são semelhantes, enquanto o Tipo A possui características distintas e associadas a um risco elevado de aumento da pressão intracraniana (PIC) e HC. As manifestações clínicas englobam uma variedade de alterações neuropsiquiátricas que variam desde ausência de sintomas até déficits cognitivos graves e coma. Prosseguindo com a avaliação da gravidade, a EH é minuciosamente categorizada em graus, variando de 0 a 4. A EH de grau 0 ou encefalopatia hepática mínima (EHM) é marcado pela ausência de sintomas discerníveis no comportamento e personalidade, sem a necessidade de testes psicométricos. A EH de grau I manifesta-se por modificações no comportamento e ritmo sono-vigília, podendo incluir sonolência acentuada e episódios de euforia. A EH de grau II apresenta sintomas semelhantes ao estágio anterior, porém com maior predominância de sonolência e ocorrência de tremor adejante ou asterixis. A EH de grau III caracteriza-se por um padrão de sono prolongado, com confusão mental evidente, fala arrastada e asterixis. E a EH de Grau IV é marcado por coma, ausência de resposta ou apenas resposta a estímulos dolorosos, com movimentos involuntários ausentes. Além disso, a EH pode ser classificada como Discreta ou Evidente, seguindo as diretrizes da Sociedade Internacional de Encefalopatia Hepática e Metabolismo de Nitrogênio (ISHEN). Em relação ao curso temporal da EH, há três categorias principais. A EH Episódica descreve a condição em que o

paciente alterna entre períodos de função cerebral normal e episódios de EH. A EH Recorrente é caracterizada por surtos regulares de EH, com intervalos de até 6 meses. A EH Persistente apresenta um padrão constante de alterações comportamentais em graus variados. Quanto aos fatores desencadeantes, a EH Espontânea denota episódios sem causa óbvia, enquanto a EH Precipitada refere-se a episódios desencadeados por fatores específicos, como infecções do trato urinário, sangramento gastrointestinal, desequilíbrios eletrolíticos, toxicidade de medicamentos, conforme apresentado na (Tabela 1).

**Tabela 1-** Diretrizes atualizadas da Associação Americana para o Estudo das Doenças do Fígado (Adaptado de Vilstrup 2014).

<b>Etiologia</b>	<b>Severidade</b>		<b>Curso temporal</b>	<b>Fator precipitante</b>
Tipo A	<b>CHW</b>	<b>ISHEN</b>	Episódica	Espontânea
	EHM (Grau 0)	Discreta		
Tipo B	Grau I	Evidente	Recorrente	Precipitada
	Grau II			
Tipo C	Grau III		Persistente	
	Grau IV			

**Legenda:** CHW: Critérios de West Haven. EHM: Encefalopatia Hepática Mínima. ISHEN: Sociedade Internacional para a Encefalopatia Hepática e Metabolismo do Nitrogênio.

## 2.2 Epidemiologia da Encefalopatia Hepática

A ausência de estudos epidemiológicos diretos para cada classificação de EH tem levado à utilização da origem etiológica como uma medida epidemiológica para essa síndrome. É importante destacar que a EH é um sinal cardinal da IHA, tornando-se um indicador interessante para avaliar a epidemiologia dessa condição (DEVARBHAVI *et al.*, 2023; AGRAWAL *et al.*, 2019; LIU *et al.*, 2019). A IHA apresenta uma incidência baixa, afetando aproximadamente 2.000 indivíduos anualmente nos Estados Unidos e na Europa. No entanto, apesar de sua baixa frequência, essa condição representa uma emergência clínica devido à sua rápida progressão para EH do tipo A (BERNAL *et al.*, 2013; STEPANOVA *et al.*, 2012). A EH do tipo A, por sua vez, causa edema cerebral, aumento da PIC e HC tardia, muitas vezes culminando em desfechos fatais para os pacientes afetados (LOGGINI *et al.*, 2019). A origem dessa condição

clínica possui uma natureza diversa, sendo as causas mais comuns a hepatite viral em países em desenvolvimento, como Índia, África e Ásia Central, e a hepatite induzida por medicamentos em países desenvolvidos, como Estados Unidos, Canadá e Alemanha (DEVARBHAVI *et al.*, 2023; AGRAWAL *et al.*, 2019; LIU *et al.*, 2019). Estudos recentes realizados no Brasil revelaram que aproximadamente 6% dos casos de transplante hepático no país são atribuídos à IHA. Além disso, entre as várias causas de IHA, a IHA induzida por drogas emergiu como o principal fator (BITTENCOURT *et al.*, 2016; SANTOS *et al.*, 2021). A lesão hepática de forma previsível e dose dependente pode estar associada a uma progressão rápida, mas felizmente tem uma chance alta de sobrevida espontânea em comparação com a IHA relacionada à lesão hepática induzida por drogas (LHID) idiossincrática (CHAYANUPATKUL *et al.*, 2019). Até agora, entendemos que a IHA, especialmente quando se manifesta como EH do tipo A, a qual será o foco do presente estudo, apresenta características epidemiológicas significativas, exercendo um grande impacto na qualidade de vida dos afetados. Apesar das variações fisiopatológicas entre os tipos de EH, a pesquisa e a compreensão dos mecanismos subjacentes da EH do tipo A e das abordagens terapêuticas têm contribuído para uma melhor compreensão global dessa condição, possibilitando uma tomada de decisão mais eficaz para todas as suas formas de manifestações.

A EH do tipo C é uma condição que resulta em disfunção cerebral e é principalmente causada pela insuficiência hepática crônica (IHC) e pela cirrose, conforme relatado pelos colaboradores do *GBD 2017 Cirrhosis*. Essa condição tem também um impacto significativo nas taxas mortalidade em todo o mundo, sendo um fator importante na morbimortalidade global (SEPANLOU *et al.*, 2020). Nos estágios iniciais, a cirrose é compensada. No entanto, quando a cirrose compensada progride para descompensação, é tipicamente marcada pela ocorrência inicial de certas complicações, incluindo ascite, sangramento de varizes esofágicas, EH e níveis elevados de bilirrubina (FLEMING *et al.*, 2010). Aproximadamente 80% dos indivíduos diagnosticados com IHC apresentam uma variante mais branda da EH, conhecida como EHM. A EHM é um importante preditor do desenvolvimento de EH e só pode ser identificada por meio de testes psicométricos ou neurofisiológicos (BAJAJ *et al.*, 2008; BAJAJ *et al.*, 2011). Em pacientes com doença hepática crônica, a prevalência da EHM é observada em uma faixa ampla, situando-se entre 20% e 80%. Já em casos de cirrose descompensada, essa prevalência é estimada em aproximadamente 16% a 21%. Após a realização do procedimento de derivação portossistêmica intra-hepática transjugular (TIPS), a ocorrência de EHM pode ser identificada

em cerca de 10% a 50% dos casos (MOHAMED *et al.*, 2020). No estudo realizado por TAPPER *et al.* (2019), foi realizada uma análise com base em uma amostra aleatória que representava 20% dos indivíduos inscritos no programa *Medicare* dos Estados Unidos. Nessa pesquisa, foi observada uma incidência de 11,6 casos de EH do tipo C por 100 pacientes-ano. A EH pode causar uma série de sintomas cognitivos, emocionais e físicos que afetam profundamente a qualidade de vida dos pacientes. O declínio cognitivo dificulta a execução de tarefas que exigem atenção, resolução de problemas e coordenação, comprometendo a capacidade de dirigir e trabalhar (JASMOHAN *et al.*, 2020). Além disso, o transtorno de personalidade também causa angústia generalizada, ansiedade e sofrimento nos cuidadores, especialmente nos membros da família (HANSEN *et al.*, 2021). A EH afeta a qualidade de vida, dependendo das estratégias de manejo clínico, da prioridade de transplante de fígado e a da sobrevida do paciente, resultando em um maior impacto no sistema de saúde (MONTAGNESE *et al.*, 2019).

### **2.3 Modelo Experimental de Encefalopatia Hepática Aguda Induzida por Tioacetamida**

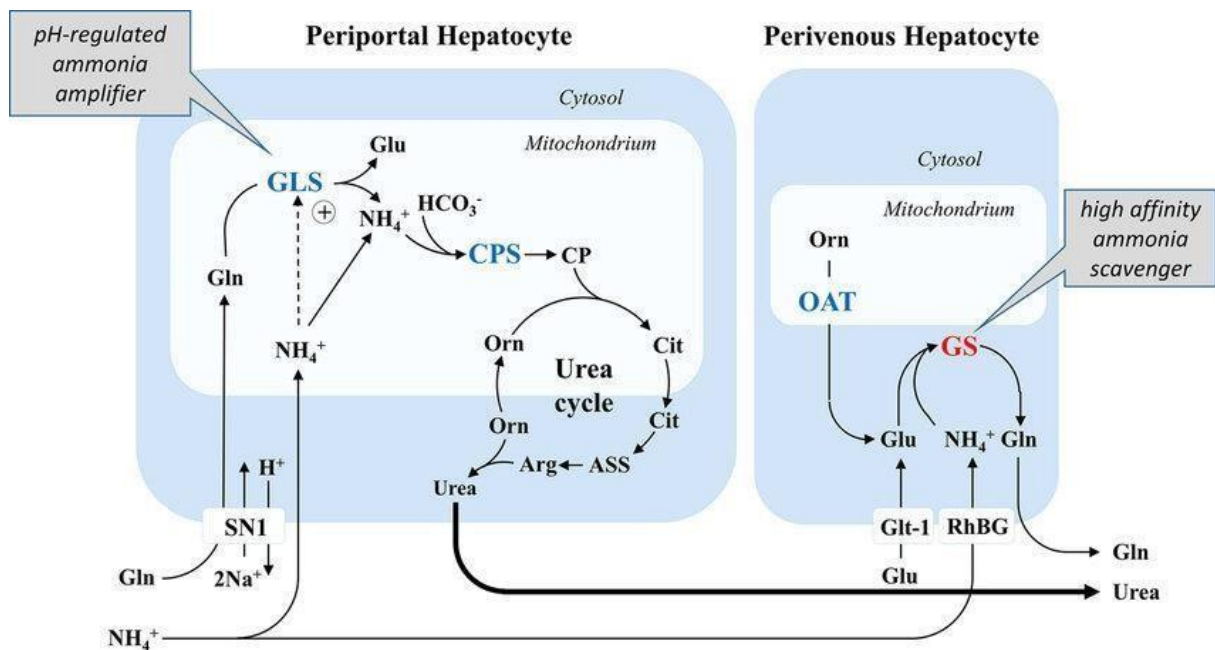
A lesão hepática aguda causada por agentes hepatotóxicos é marcada por danos imediatos ao fígado, podendo se manifestar de diversas maneiras, incluindo hepatite, necrose, colestase e IHA, sendo esta última frequentemente associada à EH (LOSSER *et al.*, 1996). Neste contexto, diferentes agentes infecciosos, medicamentos e substâncias químicas hepatotóxicas têm sido utilizados em modelos experimentais de lesão hepática aguda para investigar os mecanismos fisiopatológicos adjacentes a essas alterações (NEVZOROVA *et al.*, 2020). Entre esses agentes, a TAA se destaca por sua potente hepatotoxicidade. Após metabolização no fígado, a TAA gera tioacetamida-S-óxido, que é convertida em tioacetamida S-dióxido, desencadeando um desequilíbrio entre a produção de radicais livres e antioxidantes pelo fígado. Essa substância não apenas causa danos diretos ao fígado, mas também tem efeitos indiretos sobre o SNC, resultando em sintomas cognitivas e comportamentais característicos da síndrome da EH (Hajovsky *et al.*, 2012). Diante dessas considerações, nosso grupo de pesquisa desenvolveu um modelo de EH em camundongos C57BL/6, administrando uma única dose intraperitoneal de 600mg/kg de TAA. Neste modelo, observamos diferentes graus de necrose, inflamação e degeneração hepatocelular caracterizando a lesão hepática aguda, enquanto a EH se manifesta por alterações na atividade locomotora, comportamental e nos reflexos sensoriais (MIRANDA *et al.*, 2010). Além disso, detectamos um aumento nos níveis de citocinas pró-

inflamatórias, como (TNF, IL-1 $\beta$ , CXCL1, CCL2, CCL3 e CCL5), no córtex pré-frontal (FALEIROS *et al.*, 2014). Também observamos um aumento nos níveis de ECA e uma redução nos níveis de Ang-(1-7) no córtex pré-frontal e no hipocampo (OLIVEIRA *et al.*, 2022). Esses achados foram corroborados por CHENG *et al.* (2021) em camundongos da linhagem BALB/c, submetidos à mesma dose intraperitoneal de TAA. Neste modelo, também foram observados graus variados de necrose, inflamação e degeneração hepatocelular, com um aumento de AST, ALT e bilirrubina. Além disso, foi evidenciado comprometimento da função cognitiva, acompanhado de ativação astrocitária no hipocampo, aumento nas concentrações de TNF e IL-6, assim como nos receptores de GABA no córtex cerebral (CHENG *et al.*, 2021). É importante destacar que, embora o modelo de EH induzida por TAA seja amplamente adotado pela boa reprodução das alterações observadas na EH, também existem outros modelos utilizados para estudar essa condição. Por exemplo, em modelos de EH aguda induzida em camundongos C57BL/6 por azoximetano, as alterações hepáticas são caracterizadas por necrose extensa, hemorragia intra-hepática e inflamação infiltrativa (HORI *et al.*, 2011). Além disso, observa-se uma hiperexpressão de CX3CR1 em micróglias e um aumento na expressão de citocinas como TNF, IL-6 e CCL2 no córtex (MCMILLIN *et al.*, 2016). Por outro lado, em modelos de lesão hepática aguda induzida por acetaminofeno, as alterações cerebrais ainda não foram completamente caracterizadas. Embora se observe necrose centrolobular, hepatócitos balonizados e vacuolização citoplasmática de hepatócitos, acompanhadas de congestão sinusoidal (FOUAD *et al.*, 2012).

#### **2.4 O Papel do Fígado na Desintoxicação da Amônia**

O fígado localiza-se predominantemente no hipocôndrio direito e é o maior órgão sólido do corpo humano. É também um dos órgãos mais complexos, contendo um conjunto de enzimas responsáveis por gerar reações de redução, incluindo ALT, AST, Glutaminase ativada por fosfato (L-PAG) e glutamato desidrogenase mitocondrial (GDH) (YANG *et al.*, 2021). Durante a digestão, as proteínas ingeridas são quebradas no intestino por bactérias intestinais e enzimas da mucosa, liberando NH<sub>3</sub> no intestino. A NH<sub>3</sub> entra na circulação portal e é direcionada até o fígado, onde é convertida em ureia pelo ciclo da ureia nos hepatócitos periportais (CASPARY *et al.*, 1992). Nos hepatócitos periportais, o Glu é desaminado pela enzima GDH, liberando NH<sub>3</sub>, que é, então, ionizada pela adição de um próton (H<sup>+</sup>), formando

o íon amônio. Esse processo é catalisado pela enzima carbamoil fosfato sintase I (CPSI) e sua coenzima N-acetilglutamato, que associa o hidrogenocarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) com o amônio, utilizando ATP para formar o composto orgânico carbamoil-fosfato que é convertido em citrulina, sendo metabolizada em arginina e, posteriormente, em ureia (SPANAKI *et al.*, 2012; CORVI *et al.*, 2001). Além disso, a  $\text{NH}_3$  que escapa da metabolização nos hepatócitos periportais pode ser metabolizada por uma pequena população de hepatócitos perivenosos que contém a enzima glutamina sintase (GS), sendo convertida em glutamina processada e excretada como  $\text{NH}_4$  nos rins (JUNGERMANN *et al.*, 1989) (Figura 1).

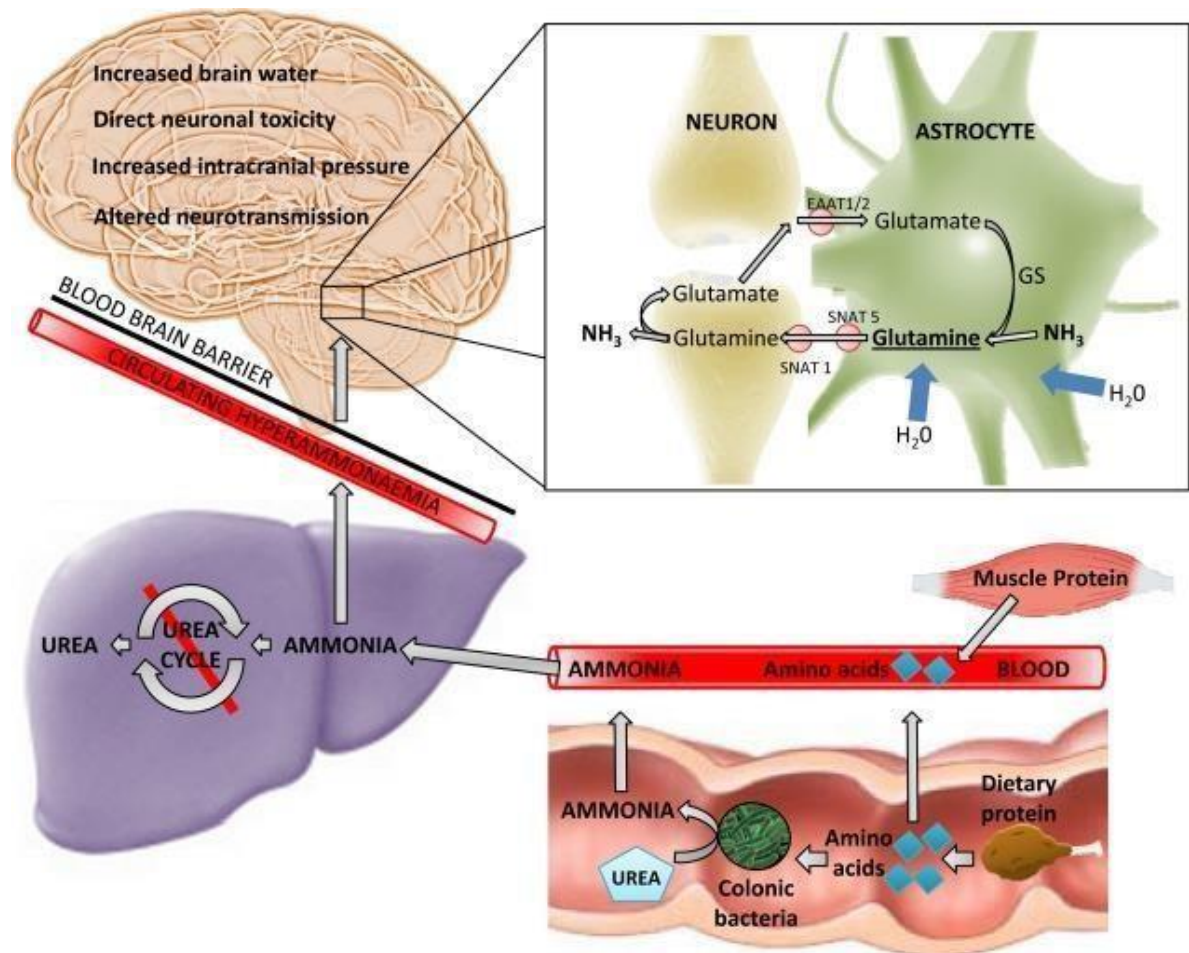


**Figura 1.** Diagrama esquemático do metabolismo hepático da amônia destacando os processos de síntese de ureia e glutamina (Adaptado de FRIEG *et al.*, 2021).

## 2.5 Mecanismos fisiopatológicos

Os níveis séricos de  $\text{NH}_3$  são determinados pelo equilíbrio entre a absorção exógena através da alimentação, a síntese endógena de  $\text{NH}_4$  em ureia pelas vias hepáticas, a capacidade de metabolização por outros órgãos e o processo de excreção (SPANAKI *et al.*, 2012). No entanto, a perturbação desse equilíbrio deflúente à síndrome da IHA pode causar a desregulação da homeostase do metabolismo da  $\text{NH}_3$ , afetando sua metabolização inter-órgãos periféricos, acréscimo nos níveis séricos e, conseqüentemente, a passagem através da barreira hematoencefálica (BHE), em direção ao cérebro. Isso, por sua vez, faz com que os astrócitos

desempenhem um papel excessivo na sua neutralização (VAQUERO *et al.*, 2003). Os astrócitos, células predominantes no encéfalo, desempenham múltiplas funções essenciais para a manutenção da homeostase, dentre as quais se destaca a regulação dos níveis de  $\text{NH}_3$ . Esse processo engloba a conversão de  $\text{NH}_3$  e glutamato em glutamina ( $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_3/\text{Gln}$ ), que é catalisado pela enzima glutamina sintetase (GS) (NEWSHOLME *et al.*, 2002). A Gln é um L- $\alpha$ -aminoácido, com característica mais hidrofílica, que atua como uma forma não tóxica de transporte da  $\text{NH}_3$  entre o SNC e os compartimentos periféricos (COOPER., 1987). Contudo, na síndrome da EH do tipo A, que resulta em um de contexto hiperamonemia, o aumento de Gln pode levar ao estresse osmótico/hiperosmolaridade, resultando em influxo de água para os astrócitos e consequentemente edema astrocitário exacerbado (JAEGER *et al.*, 2019; ZIELIŃSKA *et al.*, 2013; LEMBERG *et al.*, 2009).



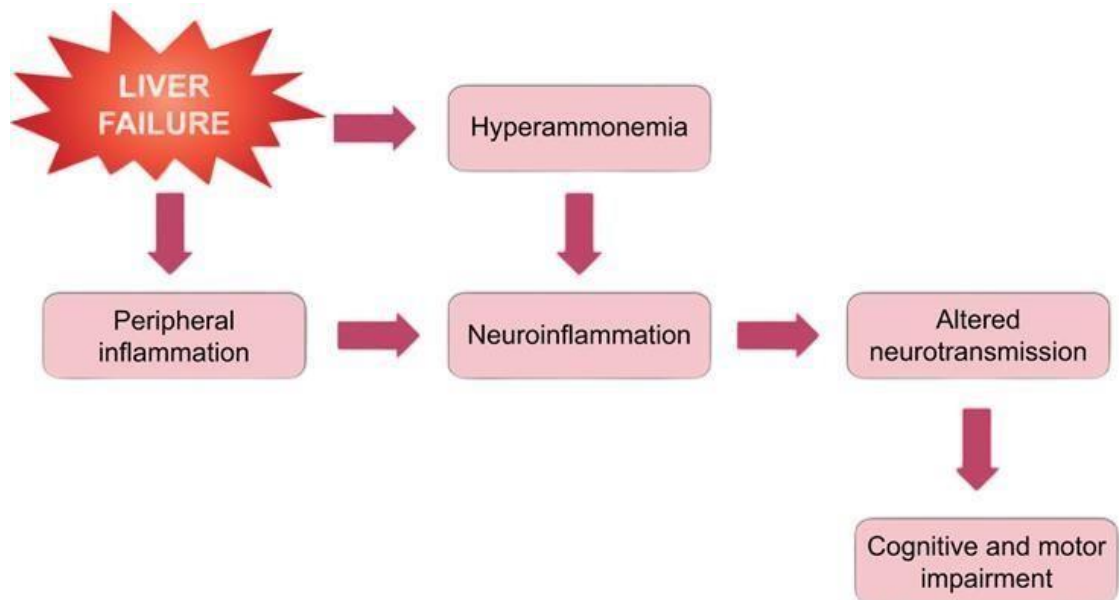
**Figura 2.** Diagrama esquemático do quadro de encefalopatia hepática, originado da falência hepática e da consequente interrupção da metabolização da amônia em ureia no fígado. Esse processo resulta em um aumento nos níveis séricos de amônia, desencadeando um comprometimento no metabolismo interorgânico peri-hepático e uma conversão excessiva de amônia e glutamato em glutamina pelos astrócitos, culminando em alterações cerebrais (Adaptado de Tranah TRANAH *et al.*, 2015).

O dano hepático desencadeia a liberação de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias, criando um gradiente quimiotático que estimula as células apresentadoras de antígenos. Esse processo, por sua vez, desencadeia a ativação de outros mediadores inflamatórios, contribuindo para o desenvolvimento da Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica (SIRS) (SCHMIDT *et al.*, 2006; RONALDO *et al.*, 2000). Em resposta ao estresse, as glândulas adrenais liberam catecolaminas, no entanto, diante da necrose hepática maciça, o fígado não consegue produzir enzimas suficientes para metabolizar as catecolaminas, o que resulta em um aumento de seus níveis no sangue. Logo, a retenção de catecolaminas leva a vasoconstrição periférica e aumento da pressão arterial devido à ativação do sistema nervoso simpático. Esse cenário, provoca um aumento do fluxo sanguíneo rico em NH<sub>3</sub> para o cérebro, com o objetivo de compensar a diminuição da entrega de oxigênio e nutrientes ao cérebro devido à função hepática comprometida (KRAUNS *et al.*, 1985; SWAIN *et al.*, 2000; RANDLE *et al.*, 2008). Além disso, a BHE contém um transportador específico denominado Transportador de Aminoácidos de Cadeia Ramificada (BCAT), o qual apresenta similaridades estruturais com a NH<sub>3</sub>. Com base nessas similaridades, foi proposta a hipótese do "cavalo de Troia" na EH, em que esses transportadores atuam como facilitadores da entrada de amônia no cérebro durante quadros de IH (HARGREAVESH *et al.*, 1988; ROMA *et al.*, 2014).

A autorregulação dinâmica do fluxo sanguíneo cerebral é um fenômeno que modifica o diâmetro dos vasos permitindo que a pressão arterial sistêmica e a pressão intracraniana estejam dentro dos limites de normalidade (HARPER *et al.*, 1966). Estudos sugerem que tanto pacientes quanto modelos experimentais com EH aguda demonstram um desequilíbrio na autorregulação dinâmica em resposta às variações na pressão parcial de dióxido de carbono (PaCO<sub>2</sub>), especialmente durante episódios de hipercapnia. Isso pode contribuir para a vasodilatação dos vasos sanguíneos cerebrais, culminando em edema cerebral (Larsen *et al.*, 1996). Além disso, foi observada uma associação entre o aumento da concentração arterial de NH<sub>3</sub> e aumento da captação cerebral de NH<sub>3</sub> em estudos clínicos e experimentais de HE. Esta relação sugere que o aumento da concentração arterial de NH<sub>3</sub> leva a um aumento da captação cerebral de NH<sub>3</sub>, e conseqüentemente, a um aumento do fluxo sanguíneo cerebral com desbalanceamento deste sistema regulador (BESSMAN *et al.*, 1995; STRAUSS *et al.*, 1977; STRAUSS *et al.*, 2000; SARISHVILI *et al.*, 2007; DETHLOFF *et al.*, 2008). Além disso, o aumento da captação de NH<sub>3</sub> no cérebro leva a um aumento na produção de óxido nítrico (NO) nos tecidos cerebrais.

O NO é um vasodilatador liberado pelas células endoteliais da vasculatura cerebral em resposta aos níveis aumentados de amônia, permitindo um aumento do fluxo sanguíneo (SCHLIESS *et al.*, 2001). Acredita-se que esse aumento do fluxo sanguíneo seja devido a uma combinação de fatores, incluindo, aumento dos níveis de amônia, aumento dos níveis de citocinas inflamatórias e outros mediadores, aumento da vasoconstrição periférica e da produção de óxido nítrico em resposta a captação de amônia (SCHLIESS *et al.*, 2001; DETHLOFF *et al.*, 2008). O aumento no fluxo sanguíneo cerebral resulta em um aumento da pressão intracraniana (PIC). Vale ressaltar que o crânio adulto é rígido e inextensível e que seu volume é constante (MATYS *et al.*, 2022; RAJIV *et al.*, 2004). Assim, o aumento da PIC aplicado pelo aumento do fluxo sanguíneo cerebral, propicia o efeito de massa ao empurrar as estruturas intracranianas, podendo culminar em morte por HC tardia. A HC é compreendida como o pior prognóstico da EH devido à lesão progressiva do tronco cerebral. Na HE, o aumento da pressão lateral na região supratentorial pode levar à herniação transtentorial (uncal) (RIVEROS *et al.*, 2019; MENESES *et al.*, 2016). Esta herniação ocorre quando parte do lobo temporal passa pela borda livre do tentório, comprimindo o mesencéfalo. Isso pode levar a um estado de coma progressivo, devido às alterações nas vias retículo corticais que desencadeiam a ativação cerebral. Além disso, a compressão do nervo oculomotor causa dilatação pupilar homolateral, causando anisocoria unilateral, com a pupila tornando-se arreativa à luz. Este quadro clínico, com estado de coma e midríase reativa, é um sinal grave, que comumente evolui para morte encefálica (MENESES *et al.*, 2016; HARRISON *et al.*, 1984). Estudos apontam que pacientes com EH aguda que desenvolveram HC apresentaram níveis significativamente mais elevados de amônia plasmática do que aqueles que não apresentaram HC (CLEMMESSEN *et al.*, 1999). Além disso, foi observada uma correlação entre os sinais clínicos de edema e os achados da necropsia de herniação uncal em pacientes com sinais clínicos de edema e aumento da hipertensão intracraniana (CANALESE *et al.*, 1982). A herniação uncal e a herniação tonsilar são achados comuns na macroscopia *post-mortem* de pacientes e modelos experimentais com EH aguda (WIJDICKS *et al.*, 2022; BERNAL *et al.*, 2016). Em condição de herniação tonsilar, a porção inferior da medula é comprimida, resultando no deslocamento das tonsilas cerebelares em direção ao forame magno do osso occipital. Esse deslocamento pode levar à morte súbita, pois causa parada respiratória por compressão do centro respiratório na medula (RIVEROS *et al.*, 2019; MENESES *et al.*, 2016). Além da hiperamonemia, a neuroinflamação desempenha importante papel na disfunção astrocitária, microglial e neuronal secundária à EH. Essa

neuroinflamação pode resultar tanto de respostas localizadas no cérebro quanto de inflamação sistêmica causada por lesão hepática e necrose submaciça resultante (LIMA *et al.*, 2019). O desenvolvimento dessa resposta inflamatória envolve a formação de um gradiente quimiotático que inclui a produção e liberação de citocinas, como (TNF, IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-12) e quimiocinas, como (CXCL-I, CCL2, CCL3, CCL5 e CX3CL1) (JIANG *et al.*, 2009; JIANG *et al.*, 2009; BÉMEUR *et al.*, 2010; FALEIROS *et al.*, 2014; MCMILLIN *et al.*, 2016). Esses compostos atuam sinergicamente com a hiperamonemia para estimular as vias bioquímicas que levam à neuroinflamação (BERNAL *et al.*, 2007; TRANAH *et al.*, 2013) (Figura 3).



**Figura 3.** Diagrama esquemático do processo de falência hepática. A falência hepática induz à hiperamonemia e à inflamação periférica. Esses eventos, por sua vez, contribuem para a neuroinflamação, a qual desencadeia alterações na neurotransmissão, resultando em sintomas cognitivos e/ou motores característicos da encefalopatia hepática. (Adaptado de CABRERA-PASTOR. *et al.*, 2019).

A natureza do sinal que conecta a falência hepática à neuroinflamação e, consequentemente, aos sintomas clínicos observados na síndrome de EH ainda não é completamente compreendida. Por outro lado, existem evidências que sugerem que mecanismos pró-inflamatórios sistêmicos podem iniciar o processo de sinalização por meio de quatro vias principais: (1) ativação dos neurônios aferentes do nervo vago (QUAN *et al.*, 2007), (2) sinalização por meio dos órgãos circunventriculares (CVOs) (SHULYATNIKOVA *et al.*, 2022), (3) sinalização por meio das células endoteliais cerebrais (CECs) (JAYAKUMAR *et al.*, 2012) e (4) interação entre resposta imune periférica e do SNC (GIANNONI *et al.*, 2020). O nervo vago emerge da fenda posterior lateral do bulbo, na forma de filamentos radiculares, e

deixa o crânio através do forame jugular, passando pelo pescoço, tórax, até chegar ao abdômen (JAYAPRAKASH *et al.*, 2022). Devido à sua ampla distribuição por todo o corpo, o nervo vago possui 10 ramos, incluindo o ramo hepático. O ramo hepático é derivado do nervo vago aferente esquerdo e forma o plexo hepático, que inerva o fígado e pode ser ativado através de receptores de citocinas expressos nas terminações nervosas vagais por citocinas pró-inflamatórias liberadas durante respostas imunes periféricas (HOSOI *et al.*, 2002). A vagotomia subdiafragmática bloqueia a indução de IL-1  $\beta$  e mRNA no tecido cerebral de camundongos em resposta ao LPS periférico (LAYE *et al.*, 1995). Além disso, inibe a febre e as respostas de fase aguda após administração periférica de LPS, IL-1 $\beta$  e TNF (MICHAEL *et al.*, 1998). Interessantemente, ZHANG *et al.*, (2021) demonstraram que camundongos machos C57BL/6 cirróticos submetidos à vagotomia hepática apresentaram níveis aumentados de BDNF no cérebro, indicando um possível mecanismo de proteção. Por outro lado, também já foi demonstrado que a vagotomia hepática pode exacerbar a inflamação hepática, pelo aumento dos níveis de TNF, IL-12 e CCL2 (MCP-1) em camundongos com esteatose hepática não alcoólica (EHNA) induzida por dieta (NISHIO *et al.*, 2017).

Com relação ao papel das células endoteliais do SNC na neuroinflamação secundária à EH, a BHE é um ponto crucial. A BHE seleciona a passagem de certas moléculas e íons, devido à intensa união intracelular e à alta resistência elétrica dos capilares cerebrais. Os capilares estão intimamente associados com projeções astrocitárias, estabelecendo um limite glial bem definido (GUPTA *et al.*, 2019). Sabe-se que as células endoteliais possuem receptores e transportadores que as tornam sensíveis a estímulos inflamatórios, como TNF e IL-1 $\beta$  (SHAO *et al.*, 2020). Em pacientes com EH, esses marcadores inflamatórios estão elevados na circulação periférica devido ao aumento do número de células imunes ativadas circulantes, indicando seu potencial impacto na sinalização cerebral (CABRERA-PASTOR *et al.*, 2019). O estudo realizado por Jayakumar *et al.* (2012) demonstrou que células endoteliais tratadas com as citocinas IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  e expostas a astrócitos em meio condicionado resultaram em edema astrocitário. Outro estudo conduzido pelo mesmo grupo demonstrou que essas citocinas induzem aumento da expressão do receptor toll-like 4 em células endoteliais cerebrais de ratos Fisher cultivadas (JAYAKUMAR *et al.*, 2014). A ativação da cascata de sinalização intracelular após a estimulação dos receptores toll-like pode induzir a produção de segundos mensageiros, como prostaglandinas e óxido nítrico, nas células endoteliais. Esses mediadores podem ser liberados no cérebro, resultando em alterações cerebrais (TIWARI *et al.*, 2021).

A inflamação periférica está frequentemente relacionada ao aumento do número de células imunes ativadas circulantes. Essas células imunes têm a capacidade de atravessar a BHE e aderir às células endoteliais cerebrais ativadas (SCHAEFER *et al.*, 2022). CHARLOTTE *et al.*, (2017) demonstraram aumento no número de monócitos circulantes produtores de TNF $\alpha$  e monócitos interagindo com CECs em camundongos C57BL/6 machos induzidos a inflamação hepática pela ligadura do ducto biliar (LDB). Outro estudo conduzido pelo mesmo grupo demonstrou que o bloqueio da selectina P em camundongos BDL preveniu a interação entre monócitos e CECs e regulou a excitabilidade neural (CHARLOTTE *et al.*, 2013).

O aumento da permeabilidade da BHE permite também a entrada de moléculas tóxicas, mediadores inflamatórios, células de defesa e agentes microbianos periféricos, e está associada a respostas inflamatórias e imunológicas que podem desencadear múltiplas vias de neurodegeneração (GALEIA *et al.*, 2021). Um estudo envolvendo a infusão de corante azul de tripan revelou evidências de quebra extensa da BHE começando no coma de grau III em ratos com EH induzida por galactosamina (DIXIT *et al.*, 1990). CLAEYS *et al.*, (2021) demonstraram que a inflamação periférica também pode desempenhar um papel na integridade da BHE na EH. Em ratos com ALF, há uma ruptura inicial da BHE, levando a edema vasogênico em algumas áreas do cérebro, como o cerebelo.

A ação sinérgica da hiperamonemia e da neuroinflamação leva a alterações na neurotransmissão, resultando em alterações cerebrais, tais como déficit cognitivo, comprometimento motor e da coordenação (DE FRANÇA *et al.*, 2020; HAMDANI *et al.*, 2021; POPEK *et al.*, 2022). Vários receptores e neurotransmissores são alterados na EH aguda em regiões específicas do cérebro, como o córtex frontal, hipocampo, estriado e cerebelo, e provavelmente estão relacionados ao estágio da EH (MICHALAK *et al.*, 1996; MCARDLE *et al.*, 1996; TORRES *et al.*, 2021). Os sistemas neurotransmissores glutamatérgico e GABAérgico são frequentemente identificados como alterados na EH. Além disso, outros sistemas neurotransmissores, como glicinérgico, serotoninérgico, colinérgico, dopaminérgico e noradrenergico também estão envolvidos, embora os mecanismos não estejam completamente esclarecidos (YURDAYDIN *et al.*, 1990; MICHALAK *et al.*, 2003; SONG *et al.*, 2018).

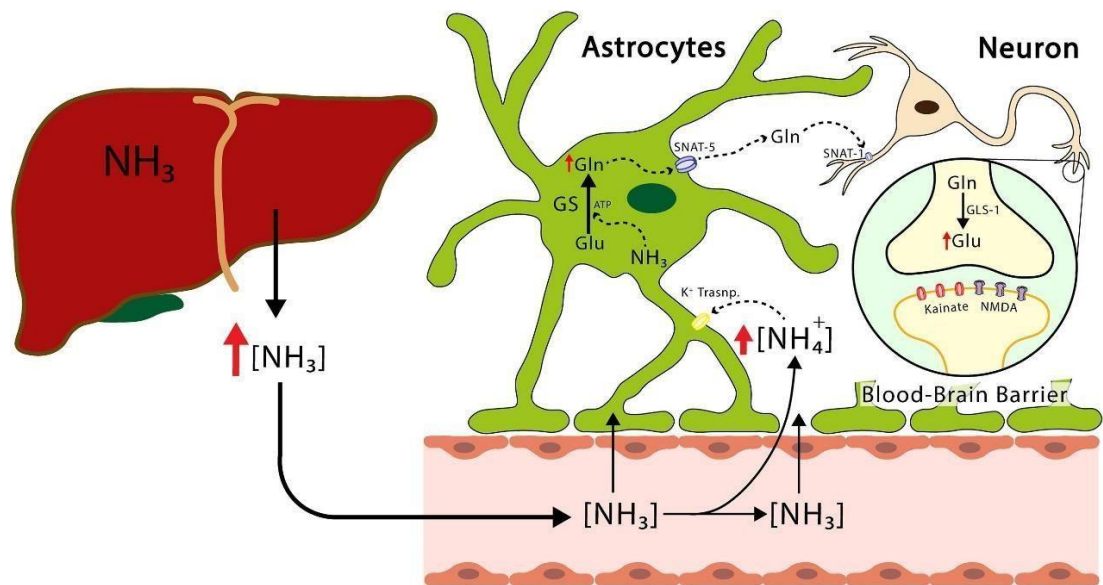
Sabe-se que níveis elevados de Glu na fenda sináptica podem resultar em ativação excessiva de receptores glutamatérgicos, particularmente receptores NMDA, levando a danos neuronais (FELIPO *et al.*, 2013). Em modelo de EH utilizando ratos, o Glu cerebral aumentou de duas a quatro vezes no córtex frontal em relação aos níveis normais (MICHALAK *et al.*,

1996). Também observaram-se níveis elevados de Glu extracelular no hipocampo (MCARDLE *et al.*, 1996). Além disso, nosso grupo demonstrou um aumento significativo na liberação de Glu nos terminais nervosos isolados do córtex cerebral de camundongos com EH induzido por TAA (MIRANDA *et al.*, 2010).

Os transportadores de Glu no SNC, o transportador de glutamato-1 (GLT-1), transportador de aspartato-glutamato (GLAST/EAAT1) e o transportador de glutamato (GLT/EAAT2) localizam-se nas células astrocíticas e desempenham um papel fundamental na regulação do glutamato sináptico. Esses transportadores são responsáveis por remover/reciclar o Glu em excesso da fenda sináptica, evitando a hiperestimulação dos receptores de Glu e a excitotoxicidade neuronal (HARADA *et al.*, 1998). No entanto, estudos recentes revelam que a regulação adequada desses transportadores pode ser comprometida na EH experimental devido a níveis excessivos de amônia (NORENBERG *et al.*, 1997; THUMBURU *et al.*, 2013; TORRES *et al.*, 2021). Além disso, Chan *et al.*, (2000) demonstram que a amônia tem um efeito inibitório na expressão da proteína transportadora de glutamato (EAAT1) e no mRNA do EAAT1 em culturas de astrócitos de ratos expostos a 5 mM de cloreto de amônio (CHAN *et al.*, 2003). O tratamento com 3 mM de amônia aumenta a expressão dos canais do potencial transitório canônico 1 (TRPC1) e a liberação de cálcio intracelular em astrócitos de camundongos cultivados, sendo inibido pelo antagonista Canrenona (LIANG *et al.*, 2014). Além disso, especula-se que o excesso de cálcio intracelular induzido pela NH<sub>3</sub> possa contribuir para a oxidação do RNA, resultando na produção de espécies oxidantes de RNA, como 185-mRNA e o RNA do transportador de glutamato/aspartato (GLAST RNA) (GÖRG *et al.*, 2008). A hiperativação dos receptores N-metil-D- aspartato (NMDA),  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico (AMPA) e receptores de ácido kaínico (kainato) induzida pelo excesso de Glu extracelular promove um influxo excessivo de cálcio intracelular através da ativação de vias de sinalização dependentes de cálcio, como o complexo cálcio-calmodulina, a ativação de canais de cálcio dependentes de voltagem (VGCCs) e os canais operados por receptores (ROCCs). Isso leva à produção de espécies reativas de oxigênio, disfunção mitocondrial, ativação de proteases e consequente comprometimento neuronal (LOMBARDI *et al.*, 1994; MICHALAK *et al.*, 1997; HERMENEGILDO *et al.* 2000).

Esse excesso de Glu também pode ser convertido em neurotransmissor GABA pela enzima glutamato descarboxilase, dessensibilizando seus respectivos receptores GABA A, GABA B e GABA C. Os agonistas inversos parciais dos sítios benzodiazepínicos, nos

receptores GABA-A, Ro 15-4513 e Ro 15-350, tiveram um efeito significativo no grau clínico de EH aguda em ratos Wistar induzidos experimentalmente (BOSMAN *et al.*, 1991). Além disso, os bloqueadores do receptor GABA (bicuculline), do receptor de benzodiazepina (Ro 15-1788) e dos canais de cloreto (isopropilbiciclogosfato) induziram uma diminuição transitória na gravidade clínica da EH em coelhos *New Zealand white* submetidos à EH aguda (BASSETT *et al.*, 1987). A estimulação excessiva dos receptores GABA pode levar à sedação, comprometimento da cognição e relaxamento muscular. Também pode resultar em ansiedade, distúrbios do humor e depressão respiratória.

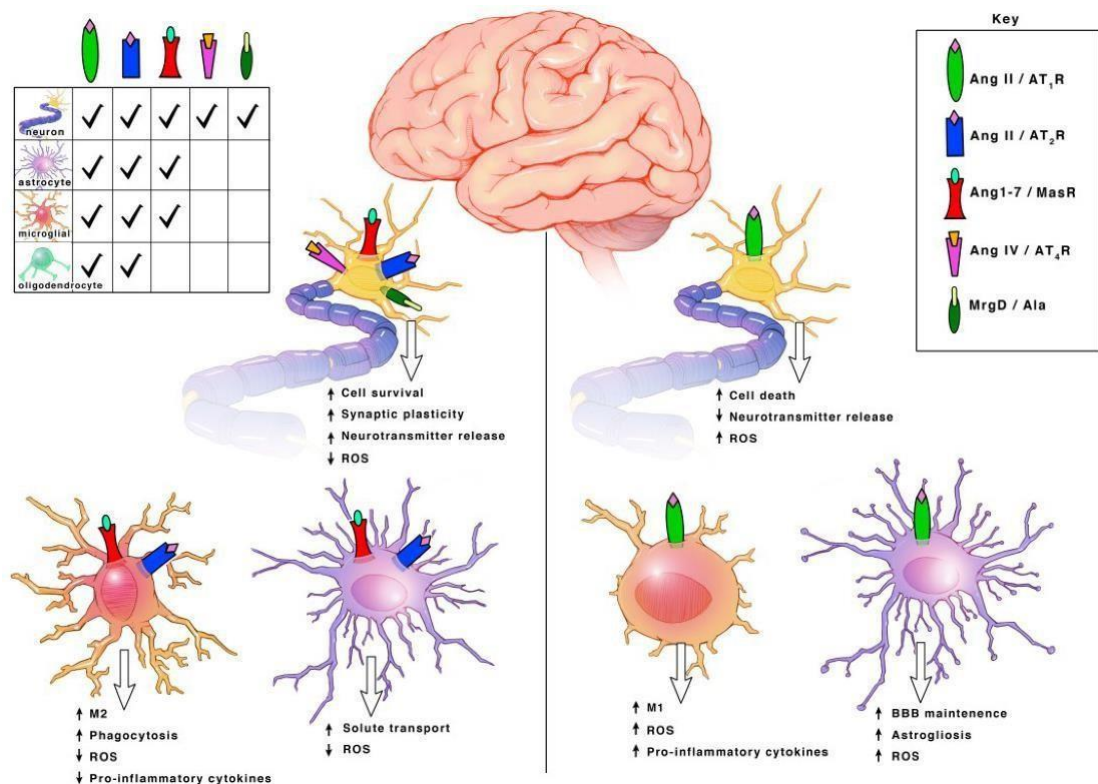


**Figura 4.** Esquema ilustrativo da sinergia entre a hiperamonemia e a neuroinflamação, que resulta em alterações na neurotransmissão. Estas alterações, por sua vez, desencadeiam modificações cerebrais, como déficits cognitivos e comprometimento motor e de coordenação, em quadros de encefalopatia hepática (Adaptado de LIMÓN *et al.*, 2021).

## 2.6 Sistema Renina-Angiotensina (SRA)

O SRA é um conjunto peptídico-enzimático envolvido no processo de vasoconstrição, que regula o volume de líquidos extracelulares e pressão arterial, objetivando assim, uma homeostase circulatória (SPARKS *et al.*, 2014). Este sistema influencia amplamente as funções cardiovasculares, cerebrais e renais por meio de múltiplos mediadores, receptores e mecanismos de sinalização intracelular (SANTOS *et al.*, 2018). O eixo clássico do SRA é constituído pela ECA, ANG II e seu receptor do tipo 1 e 2 (AT1R e AT2R), sendo que a maioria dos efeitos exercidos por Ang II, ocorre via receptor do tipo 1 (GIRONACCI *et al.*, 2018). A fisiologia do eixo clássico de SRA inicia-se com a renina, que é uma enzima proteolítica

encontrada nos tecidos ou circulação sob a forma ativa, ou inativa (pró-renina). A concentração da renina circulante está relacionada com a velocidade na formação de Ang II. Sua forma ativa é capaz de clivar o angiotensinogênio para a formação de angiotensina I, que na sequência é clivada pela ECA para a síntese de Ang II, que é o peptídeo mais ativo e efetor do sistema SRA (MCKINLEY *et al.*, 2003; PAUL *et al.*, 2006). Sabe-se que os receptores AT1R e Mas são expressos por neurônios, astrócitos e microglia em diferentes áreas do encéfalo, incluindo o córtex e o hipocampo (LENKEI *et al.*, 1997).



**Figura 5.** Diagrama esquemático dos componentes dos eixos clássico e alternativo do SRA. É possível observar que os receptores AT1 relacionados à via clássica estão expressos em neurônios, astrócitos, microglia e oligodendrócitos, ao passo que os receptores MASr estão presentes em neurônios, astrócitos e microglia (Adaptado de JACKSON *et al.*, 2018).

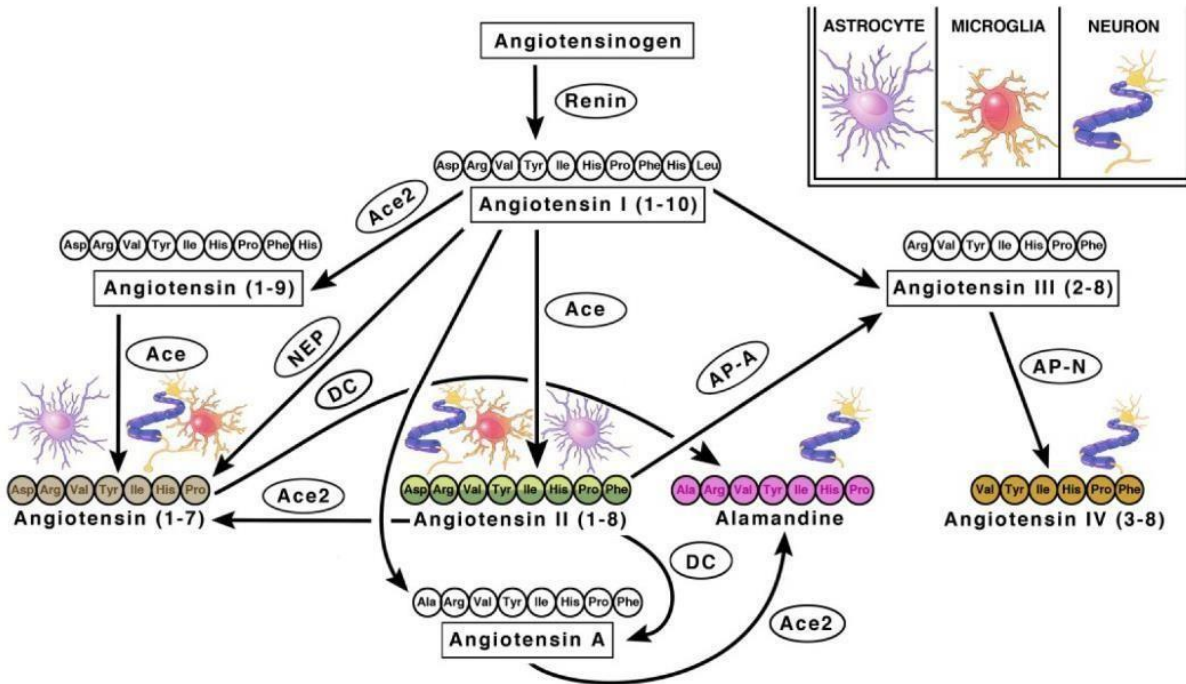
Estudos clínicos e experimentais sugerem que a via clássica do SRA (ACE/Ang II/AT1R) induz a neuroinflamação exacerbada em diferentes doenças neurológicas. O receptor AT1R é um tipo de receptor acoplado à proteína G que, quando ativado, desencadeia a ativação da enzima fosfolipase C. Essa enzima, uma vez ativada, catalisa a hidrólise do fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PIP2) em dois importantes mensageiros secundários: inositol trifosfato (IP3) e diacilglicerol (DAG) (EXTON *et al.*, 1987; MARRERO *et al.*, 1996; DANIELS *et al.*, 2005; ZAIKA *et al.*, 2006). O IP3 é responsável pela liberação de cálcio intracelular, enquanto o

DAG, com o aumento do cálcio intracelular, atua como um ativador da proteína quinase C (PKC) (DIXON *et al.*, 1994; HUANG *et al.*, 1989). A ativação da PKC, por sua vez, desencadeia a ativação de vias de sinalização, como fator nuclear kappa B (NFkB), proteína ativadora-1 (AP1), proteína de ligação responsiva ao AMPc (CREB), proteínas transdutoras de sinais e ativadoras da transcrição (STATS) e NADPH oxidase. Esses eventos têm um papel significativo na transdução de sinais intracelulares e na regulação de várias respostas celulares (AKTAN *et al.*, 2004; BUFFO *et al.*, 2010; XIAO *et al.*, 2013). No entanto, a hiperativação neuronal de Ang II e ACE tem sido associada ao aumento da morte celular e neurodegeneração desencadeadas por processos inflamatórios em diferentes doenças neurológicas (SAAVEDRA *et al.*, 2012). A ação de Ang II via receptor AT1R pode ativar a produção de espécies reativas de oxigênio em células da glia e neurônios dopaminérgicos (RODRIGUEZ-PALLARES *et al.*, 2012). Em estudos realizados com modelos animais, o losartan demonstrou resultados promissores na modulação do estresse oxidativo através da regulação da enzima NADPH oxidase, que inclui a subunidade p67phox, em camundongos C57BL/6 com mutações relacionadas à doença de Alzheimer (ONGALI *et al.*, 2014). Em um estudo conduzido por TIAN *et al.* (2019), células PC12 induzidas por A $\beta$ 1-42 foram utilizadas como modelos *in vitro* de amiloidopatia. Foi observada que a ang II desencadeou a apoptose, evidenciada pelo aumento da atividade da caspase-3. Além disso, nosso grupo de pesquisa avaliou a interação entre o SRA e o óxido nítrico na fase aguda da infecção por *T. cruzi* em ratos. Os animais infectados e tratados com L-NAME, um inibidor da enzima NO sintase apresentaram maior parasitemia, parasitismo cerebral e neuroinflamação associados à redução dos níveis teciduais de ACE2 (RACHID *et al.*, 2019). Estudos recentes desenvolvidos pela nossa equipe também têm demonstrado aumento dos níveis da ACE e redução dos níveis Ang-(1-7) no córtex pré-frontal de camundongos com EH, indicando a participação dos eixos clássico e alternativo do SRA na patogênese da síndrome (OLIVEIRA *et al.*, 2022). Por outro lado, a cascata do eixo alternativo do SRA começa com a conversão de Ang II em Ang- (1-7) por ACE2 (Santos *et al.*, 2018). Ang- (1-7) se liga ao receptor Mas, resultando em respostas neuroprotetoras, antiapoptóticas e antiinflamatórias (JIANG *et al.*, 2012; ROCHA *et al.*, 2018). A administração intracerebral da (Ang-(1-7) na substância negra de ratos com agregação de alfa-sinucleína mitigou o processo apoptótico das células dopaminérgicas e reduzir os níveis da proteína  $\alpha$ -sinucleína (KANGUSSU *et al.*, 2022). Em um estudo realizado com um modelo de ratos Wistar fêmeas com amiloidopatia induzida por injeção de D-galactose, a administração do ativador de

ACE2, diminazeno, resultou em regulação positiva da via de sinalização PI3K/Akt/Thr308/Ser473. Essa via desempenha um papel crucial na fosforilação das vias de sinalização mTOR/GSK-3/Bad/FOXO, que estão envolvidas no crescimento, sobrevivência e proliferação celular (KAMEL *et al.*, 2018). Os efeitos benéficos da infusão intraventricular de Ang- (1-7) também foram demonstrados em ratos com isquemia cerebral permanente. Ang 1-7 melhorou os déficits neurológicos, reduziu o volume do infarto e de citocinas pró-inflamatórias no encéfalo (JIANG *et al.*, 2012). Outro possível mecanismo de neuroproteção induzido pela redução da atividade da via clássica e aumento da expressão dos componentes da via alternativa do SRA está associado à elevação dos níveis dos fatores neurotróficos (FOUDA *et al.*, 2017; ISHRAT *et al.*, 2015). As neurotrofinas são uma classe de fatores neurotróficos fundamentais no desenvolvimento, crescimento, sobrevivência e neuroplasticidade. São proteínas básicas pequenas, com uma massa molecular de cerca de 13kDa e pH entre 9 e 10 que se ligam com alta afinidade aos receptores da família de tirosina quinase dependente de neurotrofina (Trk) (DECHANT *et al.*, 2003). Entre essas neurotrofinas, destaca-se o fator de crescimento nervoso (NGF), que se liga ao receptor tirosina quinase TrkA; o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), que se liga aos receptores TrkB e TrkC; o fator de crescimento glial (GDNF), que se liga ao receptor GFR $\alpha$ 1; e o fator neurotrófico derivado do fígado (LIF), que se liga ao receptor LIFR $\beta$  (SKAPER *et al.*, 2012). Quando as neurotrofinas se ligam aos seus receptores de tirosina quinase, desencadeiam a ativação da cascata de sinalização intracelular (SCHLESSINGER *et al.*, 1992). Alterações na expressão ou no funcionamento dessas moléculas podem levar a distúrbios no desenvolvimento neuronal, bem como alterações neuroplásticas e morte neuronal. Essas alterações estão frequentemente associadas a doenças neurodegenerativas, caracterizadas por um declínio progressivo na função cognitiva e motora devido à perda neuronal (LEVY *et al.*, 2018). Além disso, a modificação de vias específicas do cérebro pode afetar a regulação de neurotrofinas. Um estudo realizado por Oliveira *et al.* (2022) demonstrou que a diminuição do peptídeo Ang-(1-7) no cérebro esteve associada a uma redução nos níveis de NGF no córtex pré-frontal de camundongos machos da linhagem C57BL/6 induzidos a HE aguda com uma dose única i.p de TAA. Além disso, estudos sugerem que há uma tendência de aumento nos níveis de fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) no hipocampo e no córtex pré-frontal. Essa resposta pode ser explicada como um mecanismo compensatório desencadeado pelo aumento da razão entre a ang II e o Ang-(1-7). Interessantemente, foi demonstrado que Candesartan, um antagonista de AT1R, promoveu aumento da neuroplasticidade e da

concentração de BDNF no cérebro de ratos submetidos a isquemia e reperfusão (ISHRAT *et al.*, 2015). A desregulação dos eixos clássico e alternativo do SRA no SNC também foi observada durante a infecção por SARS-CoV-2. Este vírus promoveu redução da expressão da via alternativa (Angio 1–7/MAS) e potencializou a expressão dos componentes da via clássica (ECA/Angio II/AT1R). Acredita-se que um dos mecanismos envolvidos com as alterações no SNC por SARS-COV-2 seja a regulação negativa da expressão de ACE2 ligada à proteína *spike* da glicoproteína viral. Além disso, sabe-se que infecção por SARS-CoV-2 em camundongos promoveu redução da expressão de ACE2 e aumento dos níveis de ang II no SNC. Esses efeitos podem resultar em hipoperfusão devido à vasoconstrição e disfunção endotelial, bem como lesão vascular devido à inflamação e oxidação excessiva (NAJJAR *et al.*, 2020).

A angiotensina IV (Ang IV), é um peptídeo derivado da ang II por meio da ação da ECA2. A Ang IV atua principalmente no receptor AT4R e possui propriedades antiapoptóticas, anti-inflamatórias e vasodilatadoras. Além disso, desempenha um papel crucial em uma variedade de funções cerebrais, como a regulação da pressão arterial, o aprendizado e a memória, o controle do apetite e a modulação do estresse oxidativo. Assim, a Ang IV desempenha uma função significativa na fisiologia do organismo, estando envolvida em várias funções cerebrais essenciais (NEHME *et al.*, 2019). Foi observado que o composto denominado divalinal, que bloqueia seletivamente o receptor AT4R, teve um efeito negativo nos benefícios proporcionados pelo losartan em relação à função cognitiva, memória, neuroinflamação e função cerebrovascular em um modelo de camundongos C57BL/6 com mutações relacionadas à doença de Alzheimer (Royea *et al.*, 2017).



**Figura 6.** Diagrama esquemático da cascata de reações dos componentes do sistema renina-angiotensina no SNC (adaptado de JACKSON, AC *et al.*, 2018).

## 2.7 Tratamentos farmacológicos atuais

O tratamento atual da EH é considerado paliativo, o que se concentra em aliviar os sintomas e melhorar a qualidade de vida do paciente, em vez de curar a condição subjacente do fígado (ROGAL *et al.*, 2022). As estratégias de controle da hiperamonemia visam tanto a redução da produção quanto o aumento da sua remoção do corpo. A AASLD e a EASL recomendam o uso do dissacarídeo não absorvível lactulose como terapia de primeira linha no tratamento de episódios de EH evidente (AASLD/EASL 2014; VILSTRUP 2014). A administração de lactulose, de 30 a 45 ml, ocorre de duas a quatro vezes ao dia, e visa alcançar de duas a três evacuações diárias. Durante esse processo, as bactérias no cólon metabolizam a lactulose, resultando na produção de ácido láctico, o que reduz o pH. Essa acidificação favorece a conversão de  $\text{NH}_3$  em amônio  $\text{NH}_4$ , sendo que este último não pode ser absorvido pelo intestino e é eliminado, contribuindo assim para a redução dos níveis de amônia no organismo. (HUDSON *et al.*, 2019). Um tratamento alternativo utilizado é a rifaximina, um antibiótico recomendado para reduzir o risco de recorrência da EH em adultos. Sua ação visa reduzir a carga bacteriana no intestino, levando à diminuição da produção de amônia pela microbiota intestinal (JESUDIAN *et al.*, 2020). Além da rifaximina, outros antibióticos, como o

metronidazol e a neomicina, também podem ser utilizados no tratamento da EH, visando reduzir a produção de amônia pelos microorganismos intestinais (SØRENSEN *et al.*, 2020).

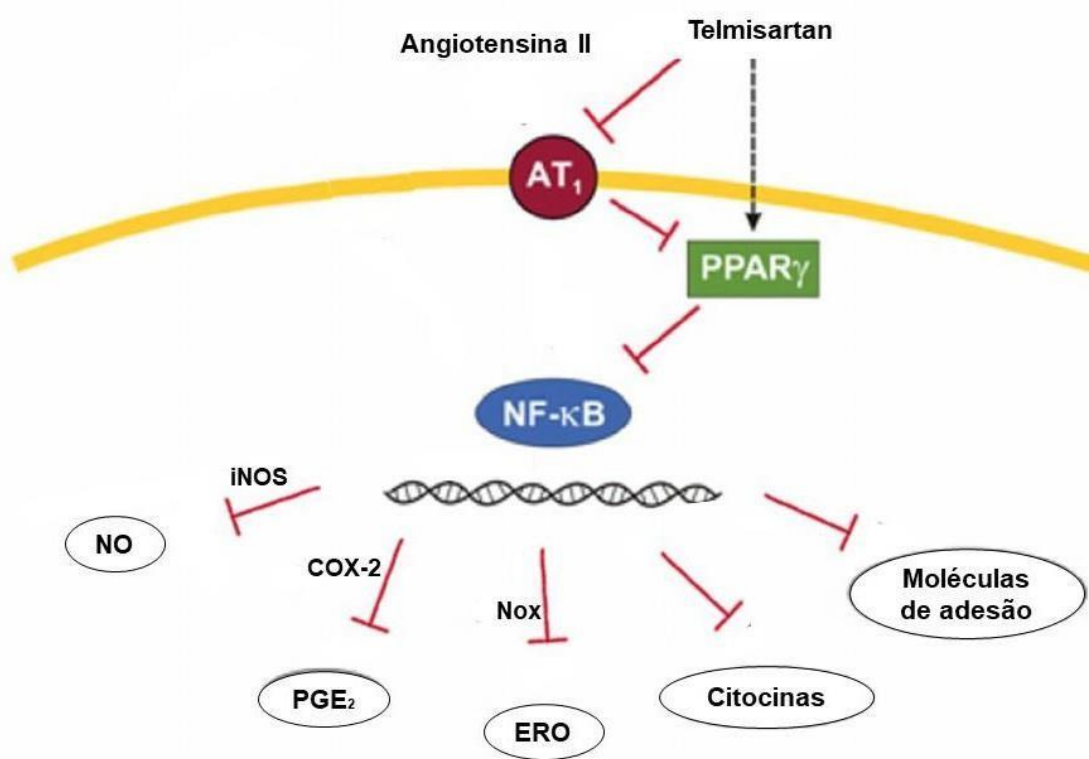
Além dessas opções terapêuticas, outras estratégias visam reduzir a produção e absorção de amônia no intestino. Isso inclui o uso de L-ornitina L-aspartato (LOLA) e aminoácidos de cadeia ramificada (BCAA). O LOLA tem sido utilizado para estimular a síntese de ureia no fígado, facilitando assim na remoção de NH<sub>3</sub>. Os BCAAs, por sua vez, podem favorecer a eliminação de amônia ao promoverem o aumento da síntese de glutamina nos músculos, a qual captura a amônia para ser transportada ao fígado (HIGUERA-DE-LA-TIJERA *et al.*, 2023).

A neuroinflamação na EH, associada à disfunção da BHE, à ativação da micróglia e à liberação de citocinas pró-inflamatórias, acelera o progresso para o estado de coma e eventual óbito, resultando em uma alta taxa de morbimortalidade, característica do quadro de EH do tipo A (SHAWCROSS *et al.*, 2005; YOU *et al.*, 2017; KORNERUP *et al.*, 2019). A falta de um tratamento específico aprovado para lidar diretamente com essa neuroinflamação destaca a urgência de uma compreensão abrangente dos mecanismos subjacentes e da necessidade de desenvolver abordagens eficazes e seguras para o seu manejo. Isso pode contribuir para a reversão do quadro de EH, proporcionando tempo para o transplante hepático, que atualmente é a única abordagem efetiva para o tratamento da IHA (FALLAHZADEH *et al.*, 2022).

## 2.8 Telmisartan

O telmisartan é um antagonista não peptídico de alta afinidade para o receptor 1 da ang II e é derivado do benzimidazol, integrando assim o grupo dos bloqueadores dos receptores de AngII (BRAs), também conhecidos como sartans. Além de inibir os efeitos da angiotensina II, o telmisartan atua como agonista parcial do receptor PPAR- $\gamma$ . Assim, os sartans exercem potencial efeito redutor de estresse celular, inflamação e gliose em condições relacionadas a doenças cerebrovasculares, neurodegenerativas e neuropsiquiátricas (LABANDEIRA *et al.*, 2014; COSARDERELIOGLU *et al.*, 2020; ABABEI *et al.*, 2023). Em ensaios *in vitro* e em modelos pré-clínicos demonstram que o telmisartan modula a hiperativação do receptor AT1, mediada pela AngII em células gliais. Esses eventos resultam em respostas anti-inflamatórias, atenuando processos como a deposição de beta-amiloide e a hiperfosforilação da proteína tau, os quais estão associados à neurodegeneração na doença de Alzheimer (TORIKA *et al.*, 2017). Além disso, o telmisartan exerce sua influência na hiperativação do receptor AT1 em células

gliais e neurônios dopaminérgicos, estabelecendo um equilíbrio nos níveis de dopamina e contribuindo para a restauração da função cognitiva (GARCIA *et al.*, 2014). O telmisartan, ao ativar o receptor PPAR-gamma, demonstrou efeitos benéficos em modelo de estresse crônico, reduzindo comportamentos do tipo depressivo e revertendo a diminuição de PPAR-gamma e serotonina (5-HTT) no hipocampo (CHENG *et al.*, 2017). A combinação do bloqueio do receptor AT1r e a ativação do receptor PPAR-gama também foi associada à diminuição dos efeitos neurotóxicos de Glu e melhora da função motora e memória em camundongos com lesão traumática (WANG J. *et al.*, 2014; VILLAPOL *et al.*, 2012). Além disso, a regulação positiva da Ang II também tem sido associada ao aumento da morte hepatocelular e inflamação exacerbada desencadeada por processos inflamatórios em diferentes modelos experimentais de doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA), doença hepática alcoólica (DHA), isquemia-reperfusão hepática e hepatotoxicidade aguda induzida por drogas em ratos e camundongos (FOUAD *et al.*, 2012; FOUAD *et al.*, 2012; ATAWIA *et al.*, 2017; ABDELHAMID *et al.*, 2021). O telmisartan apresenta efeitos benéficos na hipertensão portal causada pela cirrose em ratos, resultando na diminuição da pressão no sistema portal, supressão da inflamação e redução da fibrose no fígado (ZHENG *et al.*, 2022). Em camundongos submetidos a uma dieta rica em gordura, o telmisartan demonstrou eficácia na redução dos distúrbios associados à DHGNA e na promoção de efeitos anti-inflamatórios no fígado (BORÉM *et al.*, 2022). Esses estudos não apenas destacam a potente capacidade do telmisartan de bloquear o receptor AT1 da Ang II e ativar o receptor PPAR-gama, mas também evidenciam sua habilidade de atravessar a BHE (LABANDEIRA *et al.*, 2014; COSARDERELIOGLU *et al.*, 2020; ABABEI *et al.*, 2023). Além disso, visto que o telmisartan já é um medicamento aprovado e amplamente estudado para outras condições médicas, o reposicionamento torna-se uma estratégia interessante para diminuir tanto o tempo quanto os custos relacionados ao desenvolvimento de novos medicamentos na EH e em outras doenças que envolvam esses componentes (WANG J. *et al.*, 2014; VILLAPOL *et al.*, 2012).



**Figura 7:** Representação esquemática do bloqueio do receptor AT1 pelo telmisartan e da sinalização mediada pelo receptor PPARg (Adaptado de Saavedra *et al.*, 2012)

### 3. OBJETIVO GERAL E OBJETIVOS ESPECÍFICOS

#### 3.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito do tratamento com telmisartan nos parâmetros comportamentais, alterações patológicas e bioquímicas em camundongos submetidos à EH aguda induzida por tioacetamida (TAA).

#### 3.2 Objetivos específicos

Nos camundongos submetidos EH não tratados e tratados com telmisartan:

3.2.1 Avaliar as alterações clínicas, como peso corporal e aparência geral, consumo de água e ração, e taxa de sobrevivência ao longo do período de estudo.

3.2.2 Caracterizar a atividade locomotora por meio de teste de campo aberto e a força neuromuscular e estabilidade, e força geral por meio de teste de força de preensão manual;

3.2.3 Analisar as alterações histopatológicas nas diferentes regiões do encéfalo e no fígado para avaliar possíveis alterações morfológicas, como degeneração, inflamação e necrose.

## 4. METODOLOGIA

### 4.1 Substâncias Farmacológicas e Químicas

O telmisartan (Micardis/Tel) e a tioacetamida ( $\text{CH}_3\text{CSNH}_2/\text{TAA}$ ) foram adquiridos das empresas Sigma-Aldrich, sediadas em St. Louis, MO, e Sigma-Aldrich Co., localizada em St. Louis, EUA, respectivamente. As soluções utilizadas foram preparadas de acordo com protocolos previamente estabelecidos pelo nosso grupo de pesquisa (MIRANDA *et al.*, 2010). O telmisartan foi solubilizado em propilenoglicol (PEG), enquanto a TAA foi dissolvida em solução salina. Ambas as substâncias foram preparadas diariamente, em doses específicas.

### 4.2 Animais

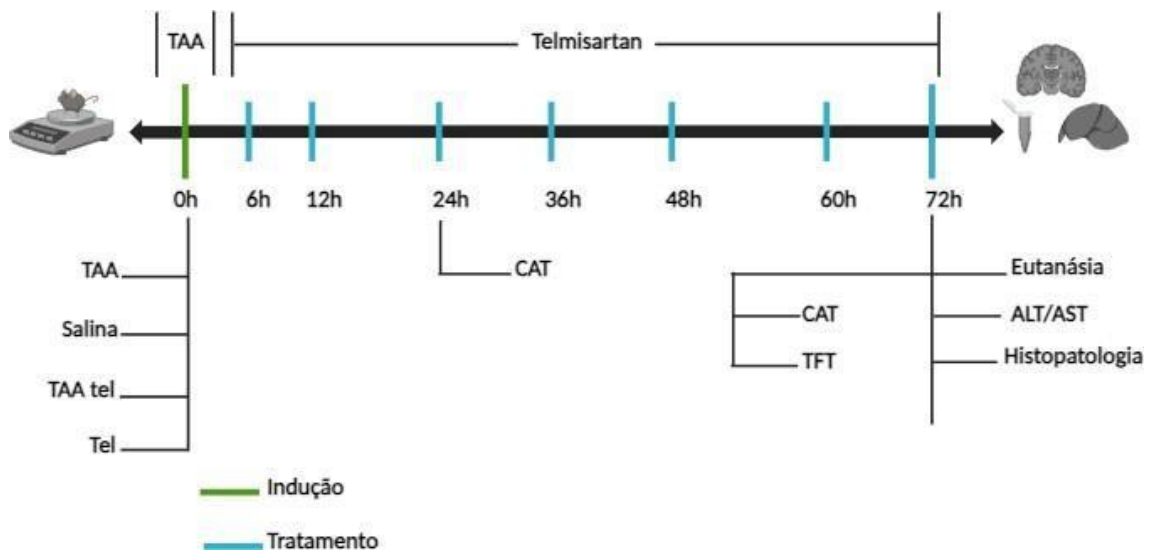
No âmbito deste estudo, foram utilizados camundongos da linhagem C57BL/6, fêmeas, entre 10 e 12 semanas. Esses animais foram obtidos junto ao Centro de Bioterismo (CEBIO) no Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Os camundongos foram acondicionados em gaiolas coletivas, tendo à disposição água e ração *ad libitum*, sob condições controladas de temperatura e luminosidade (ciclo claro/escuro de 12/12 horas). Os procedimentos experimentais foram conduzidos em conformidade com as diretrizes éticas estabelecidas pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFMG, sob o protocolo de número 341/2018.

### 4.3 Grupos e delineamento experimental

O presente estudo empregou a formação de quatro grupos distintos, cada um composto por 10 camundongos ( $n=10$ ), distribuídos da seguinte forma:

- O grupo (Controle + Salina) recebeu uma única dose intraperitoneal de solução salina, seguida por tratamento via gavagem com 10 mg/kg da mesma solução.
- O grupo (TAA) foi submetido a uma única dose intraperitoneal de 600 mg/kg de TAA induzindo a EH, seguida por tratamento via gavagem com 10 mg/kg da solução salina.
- O grupo (Controle + Tel) recebeu uma única dose intraperitoneal de uma solução salina, seguida por tratamento via gavagem com 10 mg/kg de telmisartan.

- O grupo (TAA + Tel) foi submetido a uma única dose intraperitoneal de 600 mg/kg de TAA induzindo a EH, seguida por tratamento via gavagem com 10 mg/kg de telmisartan.
- Em todos os grupos, o tratamento com telmisartan ou salina via gavagem teve início 6 horas após a administração da dose única intraperitoneal da TAA, ou salina, e foi mantido a cada 12 horas ao longo de um período de três dias, de acordo com o protocolo predefinido.



**Figura 8.** Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais: Controle Salina, Controle Tel, TAA e TAA Tel. O peso dos animais foi registrado diariamente ao longo de um período de três dias. O teste de campo aberto (CAT) foi conduzido 24 e 72 horas após a administração intraperitoneal (i.p.) de TAA ou Salina. O teste de força de tração muscular (TFT) foi realizado 72 horas após a administração i.p. de TAA ou Salina. A eutanásia foi realizada por sobredose da combinação de xilazina a 10 mg/kg e cetamina a 100 mg/kg. Amostras de soro, fígado e encéfalo foram coletadas 72 horas após a administração e tratamento.

#### 4.4 Indução da encefalopatia hepática

A EH foi induzida por meio da administração intraperitoneal de uma dose única de 600 mg/kg de tioacetamida (TAA), adquirida da Sigma - Aldrich® (St Louis, MO, EUA), conforme previamente estabelecido pelo nosso grupo (MIRANDA *et al.*, 2010). Os animais controles também receberam solução salina pela mesma via de administração. Todos os volumes injetados foram calculados com base no peso dos animais. Para prevenir hipoglicemia e

desidratação, todos os animais receberam uma injeção de 500mL de solução salina 0,9% com glicose 5% no momento da administração de TAA.

#### **4.5 Tratamento com o telmisartan**

Foi realizado o bloqueio farmacológico em animais induzidos à EH por gavagem, utilizando 10mg/kg telmisartan adquirido da Sigma-Aldrich® (St. Louis, MO, EUA). A administração do telmisartan seguiu protocolo previamente estabelecido pelo nosso grupo de pesquisa. Os animais controles também receberam telmisartan pela mesma via de administração. As doses foram ajustadas com base na média de peso corporal dos animais. O tratamento teve início 6 horas após a administração i.p. de TAA ou salina. Tanto os animais induzidos quanto os não induzidos à EH, receberam diariamente uma dose de 10mg/kg de telmisartan ou salina. O tratamento foi mantido a cada 12 horas ao longo de um período de três dias após a indução. A escolha do momento de início do tratamento foi baseada na necessidade de avaliar a fase aguda da lesão, considerando que o prejuízo na atividade locomotora é identificado até 24 horas após a indução.

#### **4.6 Avaliação clínica e dos parâmetros comportamentais**

Os animais tiveram seu estado clínico observado diariamente e foram pesados em balança Precision PR 3000 diariamente. Um e três dias após a administração intraperitoneal da TAA ou salina, tanto os animais tratados quanto os não tratados com telmisartan foram submetidos a testes comportamentais. Os parâmetros comportamentais foram avaliados por meio dos testes de campo aberto e força de tração muscular. Previamente aos testes, os animais foram conduzidos ao local do experimento para minimizar os efeitos da transferência sobre o resultado dos testes. Os aparelhos foram devidamente limpos após a avaliação de cada animal, para evitar a influência de odores durante o teste (TAKAHASHI *et al.*, 2006). Um sistema de captação de imagem foi utilizado para registrar o comportamento dos animais, com o intuito de aprimorar a avaliação dos parâmetros investigados. Para a captura e análise dos comportamentos, foi utilizado o software de captura e rastreamento de imagens EthoVision XT (Noldus Information Technology, Leesburg, VA, USA).

#### **4.6.1. Avaliação da atividade locomotora por meio do teste de campo aberto**

O teste de campo aberto foi utilizado para avaliar a atividade locomotora dos animais, sendo realizado 24 e 72 horas após a administração i.p. da TAA ou salina seguido de tratamento com o telmisartan, ou salina. O aparelho *PhenoTyper*® foi utilizado, o qual consiste em uma caixa com base quadrada branca e paredes transparentes de acrílico. As paredes externas da caixa foram revestidas com papel Kraft para evitar interferências com o meio externo. Os camundongos foram posicionados individualmente no centro da arena e puderam se movimentar de forma livre e espontânea durante o período de 30 minutos. O experimento foi conduzido em uma sala vazia e silenciosa, onde após cada sessão de exploração, a arena era cuidadosamente higienizada com álcool 70% e papel toalha para evitar a interferência de odores (HALL & BALACHEY 1932; TAKAHASHI *et al.*, 2006).

#### **4.6.2 Teste de força de tração muscular para medição e avaliação neuromuscular**

O teste de força de tração muscular é utilizado para avaliar a atividade neuromuscular em roedores, como ratos e camundongos, e foi realizado 72 horas após a administração i.p. da TAA ou salina seguido de tratamento com o telmisartan, ou salina. O equipamento EFF 305 Grip Strength Meter utilizado é dotado de um sensor de força com capacidade de até 5 kg de tração, acoplado a uma grade de aço inoxidável. O animal é posicionado de forma que seus membros anteriores toquem a grade, enquanto o experimentador segura-o pela cauda e puxa-o em sua direção. Dessa forma, o sensor é capaz de medir a força exercida pelo animal ao se agarrar na grade. O equipamento é montado em uma plataforma de alumínio anodizado, com pés antiderrapantes, e possui um controle eletrônico com um *display* que exibe informações relevantes. Na primeira linha do *display*, é apresentado o valor congelado da força máxima alcançada pelo animal. Na segunda linha, é exibido o valor dinâmico da medição de força durante o teste. E, na terceira linha, é mostrado o valor da média das amostragens realizadas. A força foi medida em triplicata e corrigida pela aceleração devida à gravidade ( $g = 9,8 \text{ m/s}^2$ ).

#### **4.7 Eutanásia e coleta das amostras**

Para eutanásia, os animais foram submetidos à anestesia intraperitoneal (i.p.) com uma sobredose da combinação de xilazina a 10 mg/kg e cetamina a 100 mg/kg, administrando-se 0,3 mL de anestésico para cada 10g de massa corporal do animal. Posteriormente, realizou-se a necropsia para posterior avaliação dos parâmetros histológicos. Para avaliar a atividade das aminotransferases ALT (alanina aminotransferase) e AST (aspartato aminotransferase), procedeu-se à transecção da veia cava inferior, seguida de uma aspiração cuidadosa do sangue utilizando uma pipeta de Pasteur. O sangue coletado para a dosagem das aminotransferases foi então armazenado em refrigeração a -70°C.

#### **4.8 Análise histopatológica do encéfalo e do fígado**

Amostras de fragmentos do encéfalo e do fígado foram fixadas em uma solução de formol tamponado a 10% para preservação. Em seguida, passaram por processo rotineiro para obtenção de seções de 4µm de espessura. As lâminas preparadas foram submetidas à técnica de coloração com hematoxilina-eosina (H&E). Para a análise detalhada das lâminas, um microscópio óptico modelo BX41 da Olympus foi utilizado. As imagens obtidas foram registradas utilizando uma câmera Moticam 2500 da Motic e, em seguida, processadas por meio do software Motic Image Plus 2.0ML. As lesões foram categorizadas com base em sua intensidade, sendo classificadas como ausentes (0), leves (I), moderadas (II) e intensas (III). As lesões avaliadas incluíram degeneração hidrópica, infiltração de células inflamatórias e necrose. As lâminas contendo as seções de interesse foram escaneadas e posteriormente avaliadas de forma descritiva utilizando o software Case Viewer 2.4®.

#### **4.9 Dosagem sérica de alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST).**

A determinação sérica das enzimas aminotransferases ALT e AST é amplamente empregada como uma importante ferramenta para avaliar a função hepática, devido à sua localização intracelular presente no citoplasma de hepatócitos. Em situações de lesão hepática, essas enzimas são liberadas no sangue em níveis elevados, o que permite a detecção precoce e rápida de danos ao fígado (SENIOR, 2012). O sangue total foi coletado e a separação do soro foi feita por centrifugação a 10.000 rpm por 10 minutos em temperatura ambiente. As enzimas

transaminases ALT e AST foram dosadas no soro dos camundongos, para avaliar o índice de lesão hepatocelular, utilizando os kits Transaminase ALT Cinética (K035, Bioclin) e Transaminase AST Cinética (K034, Bioclin) de acordo com as instruções do fabricante. As leituras foram realizadas no comprimento de onda de 490 nm na leitora de ELISA HIPO MPP-96.

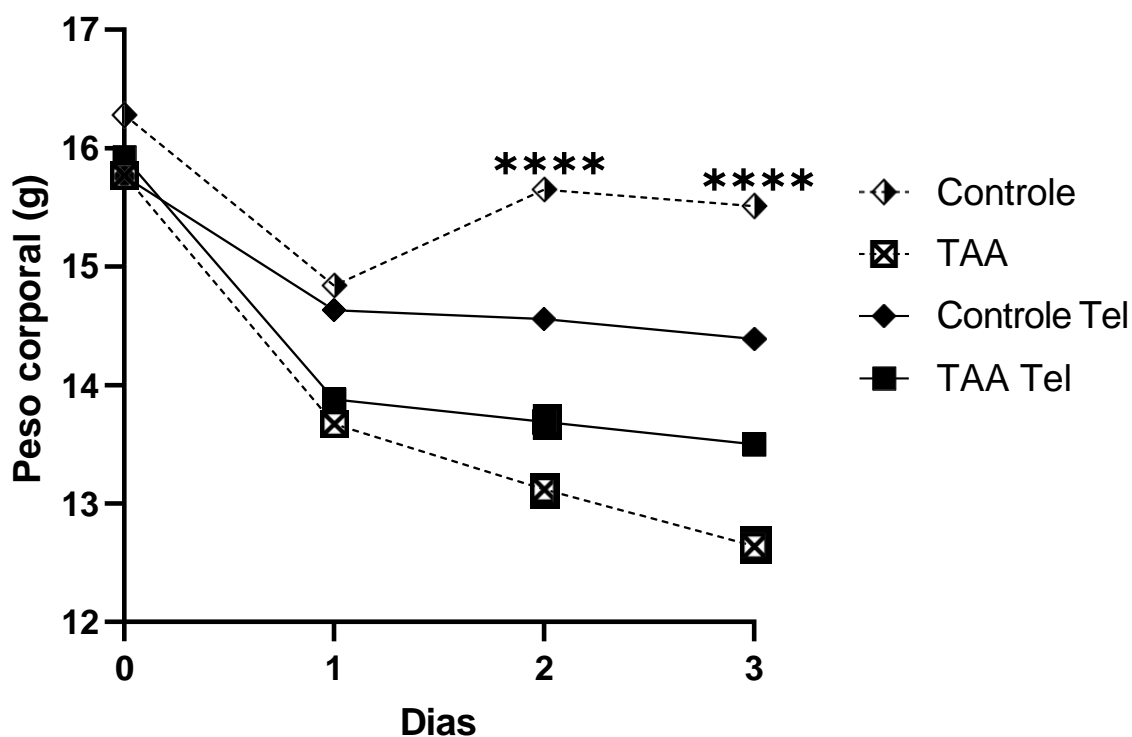
#### **4.10 Análise estatística**

Todos os dados foram testados quanto à normalidade por meio do teste de *Kolmorov-Smirnov*. A análise estatística foi realizada pelo teste de Análise de Variância *Two-Way ANOVA*, seguido pelo teste de comparação múltipla de *Tukey*. O teste *t* de *Student* foi empregado para avaliar o escore histopatológico. Todas as análises foram realizadas usando o *Software GraphPad Prism 9* (GraphPad Software, LaJolla, San Diego, CA, EUA). Os resultados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (SEM). A significância estatística assumida para todos os valores foi de 5% ( $p < 0,05$ ) em testes bicaudais.

## **5 RESULTADOS**

### **5.1 Peso corporal**

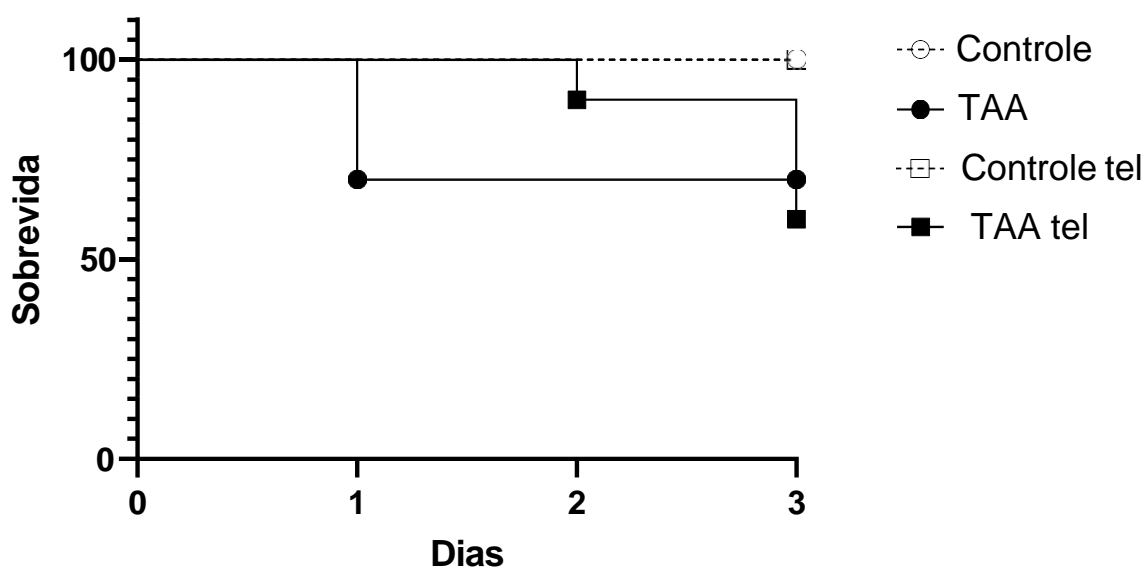
Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas no peso corporal 24 horas após a administração da TAA ou salina entre grupos avaliados. Os animais do grupo TAA exibiram perda de peso significativa entre 48 e 72 horas p.i., em comparação com o grupo controle. Entretanto, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os animais expostos a TAA que foram tratados com o telmisartan e aqueles expostos apenas à TAA nos intervalos de tempo avaliados. Isso sugere que o tratamento com telmisartan não resultou em benefícios clínicos no peso corporal durante os períodos avaliados. (Figura 9).



**Figura 9.** Avaliação do peso corporal. Os animais foram distribuídos em quatro grupos experimentais: Controle Salina (N=8), Controle Tel (N=8), TAA (N=10), e TAA Tel (N=10). Ao longo de um período de três dias, procedeu-se a avaliação diária de parâmetros clínicos para a análise do peso corporal. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas no peso corporal entre todos os grupos avaliados 24 horas após a indução da TAA ou salina. Nos períodos subsequentes, de 48 e 72 horas, também não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos TAA Tel e Controle Tel, mantendo-se essa tendência entre os grupos TAA e TAA Tel. Entretanto, uma diferença significativa no peso corporal foi notada entre o grupo Controle e o grupo TAA, tanto 48 horas (\*\*\*\* $p < 0,0001$ ) quanto 72 horas (\*\*\*\* $p < 0,0001$ ) após a indução. A análise estatística foi realizada pelo teste de Análise de Variância Two-Way, seguido pelo teste de comparação múltipla de Tukey com nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ).

## 5.2 Curva de sobrevida

A análise de sobrevida foi realizada em camundongos fêmeas da linhagem C57BL/6, envolvendo tanto os animais expostos a TAA quanto os animais controle, tanto nos grupos tratados com telmisartan quanto nos grupos não tratados. Os resultados demonstraram uma sobrevida média semelhante em todos os grupos avaliados durante o seguimento de três dias (Figura 10).



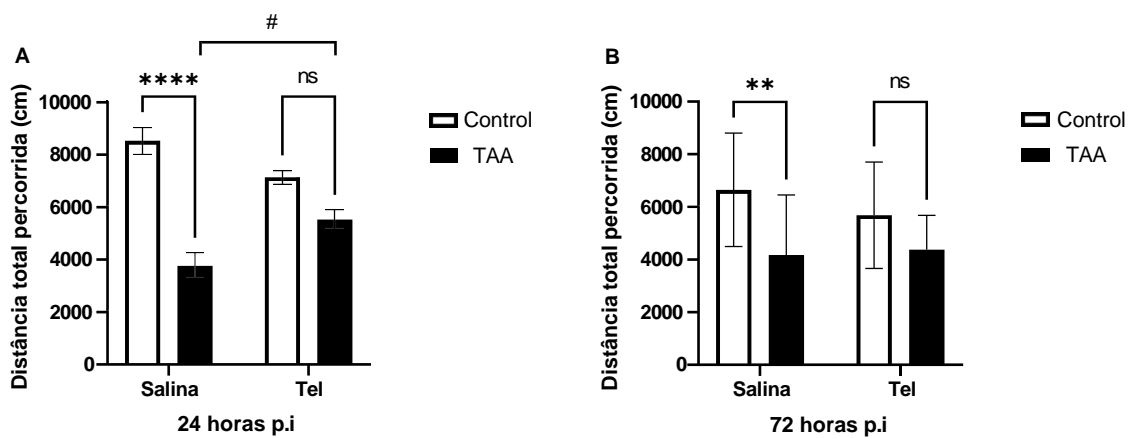
**Figura 10.** Avaliação da sobrevivência em dias foi acompanhado nos quatro grupos experimentais: Controle Salina (N=8), Controle Tel (N=8), TAA (N=10), e TAA Tel (N=10). Todos os grupos avaliados apresentam sobrevivência média semelhante durante o seguimento de três dias ( $p=0,0809$ ), 72 horas após a administração da i.p. e tratamento por gavagem. A curva de sobrevivência foi analisada pelo teste Log Rank Survival.

### 5.3. Teste de campo aberto

#### 5.3.1. Alterações induzidas por TAA na atividade locomotora de camundongos e o efeito protetor do telmisartan

O teste de campo aberto foi realizado 24 e 72 horas para avaliar o efeito do telmisartan, na atividade locomotora em camundongos que receberam uma dose intraperitoneal de 600 mg/kg de TAA, induzindo EH. No grupo de camundongos fêmeas expostos a TAA ( $n=20$ ), foi observada uma redução significativa da atividade locomotora 24 horas p.i. ( $****p<0,0001$ ) em comparação com os animais controles ( $n=18$ ) (A). No entanto, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos que receberam TAA tratados com telmisartan ( $n=20$ ) e os controles tratados com telmisartan ( $n=18$ ) 24 horas p.i. Além disso, os animais TAA tratados com telmisartan apresentaram atividade locomotora significativamente maior ( $p<0,05$ ) que os animais TAA não tratados. Esses resultados indicam que a exposição a TAA causou déficit locomotor nos camundongos após 24 horas da indução, mas esse efeito foi atenuado pelo tratamento com telmisartan (Figura 11) (A).

A análise das distâncias totais percorridas demonstrou que, 72 horas após a indução, o grupo TAA (n=20) apresentou redução significativa da atividade locomotora (\*\*p<0,005) em comparação com o grupo controle (n=18). Os animais do grupo TAA tratado com telmisartan (n=13) apresentaram distâncias percorridas similares aos animais controles tratados com telmisartan (n=18). Além disso, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas na atividade locomotora entre os animais expostos à TAA e os animais expostos à TAA e tratados com telmisartan (Figura 11) (B).

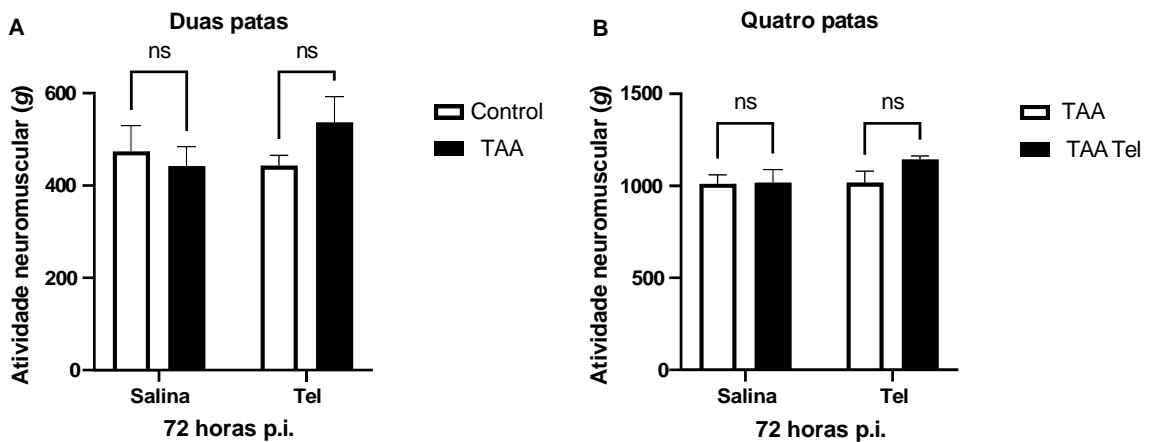


**Figura 11.** Os animais foram distribuídos em quatro grupos experimentais e avaliados por meio do teste em campo aberto. Sua movimentação livre em uma arena foi filmada por 10 minutos e analisada pelo software *EthoVision XT®*. Os animais expostos a TAA (n=20) apresentaram redução significativa (\*\*\*\*p<0,0001) da atividade locomotora 24 horas após a indução, quando comparados com os animais controles (n=18). Não houve diferença estatisticamente entre os animais expostos a TAA tratados com telmisartan (n=13) e animais tratados com telmisartan (n=18), 24 horas p.i. Os animais TAA tratados com telmisartan apresentaram atividade locomotora significativamente maior (p<0,05) que os animais TAA não tratados. A análise das distâncias totais percorridas demonstrou que, 72 horas após a indução, o grupo TAA (n=20) apresentou redução significativa da atividade locomotora (\*\*p<0,005) em comparação com o grupo controle (n=18). Os animais do grupo TAA tratado com telmisartan (n=13) apresentaram distâncias percorridas similares aos animais controles tratados com telmisartan (n=18). Os resultados foram apresentados como média ± erro padrão da média (SEM). A análise estatística foi realizada pelo teste de Análise de Variância Two-Way, seguido pelo teste de comparação múltipla de Tukey com nível de significância de 5% (p<0,05).

## 5.4 Teste de força de preensão manual

### 5.4.1 Atividade neuromuscular das patas traseiras e estabilidade, e força geral utilizando o teste de força de preensão manual durante a execução do movimento

Os camundongos C57BL/6 fêmeas dos diferentes grupos experimentais não apresentaram alterações na atividade neuromuscular das patas traseiras e estabilidade (A) e na atividade neuromuscular de força geral (B) durante a execução dos movimentos, 74 horas p.i. e tratamento (Figura 12).

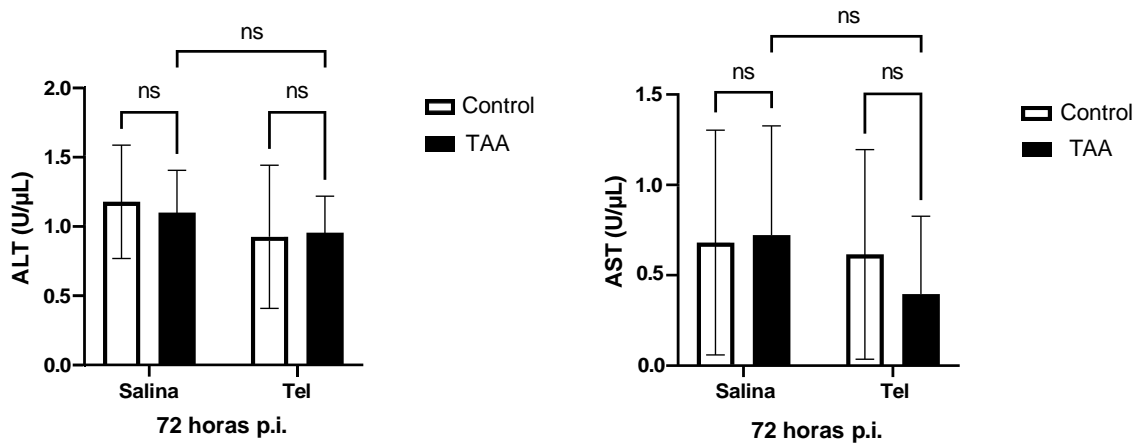


**Figura 12.** Os animais foram distribuídos em quatro grupos experimentais: Controle Salina (N=8), Controle Tel (N=8), TAA (N=10), e TAA Tel (N=10). Posteriormente foram avaliados por meio do teste de força de preensão manual. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas na atividade neuromuscular das patas traseiras e estabilidade durante a execução do movimento, 72 horas após a administração da i.p. e tratamento por gavagem (A). Além, disso, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas na atividade neuromuscular de força geral utilizado as patas dianteiras e traseiras durante a execução do movimento durante a execução do movimento, 72 horas após a administração da i.p. e tratamento por gavagem (B). A força foi medida e corrigida pela aceleração devida à gravidade ( $g = 9,8 \text{ m/s}^2$ ). Os resultados foram apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média (SEM). A análise estatística foi realizada pelo teste de Análise de Variância Two-Way, seguido pelo teste de comparação múltipla de Tukey com nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ).

## 5.5 Concentração sérica das enzimas transaminases

### 5.5.1 Efeitos de telmisartan na aspartato transaminase sérica (AST) e alanina transaminase (ALT) 72 horas p.i.

A concentração sérica das enzimas transaminases AST e ALT não apresentou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos que receberam tratamento com telmisartan e aqueles que não foram tratados, tanto nos grupos expostos a TAA quanto nos grupos controle. Os resultados revelam uma similaridade na concentração enzimática entre os grupos induzidos à EH e os grupos controles, observada 72 horas após a indução (Figura 13).

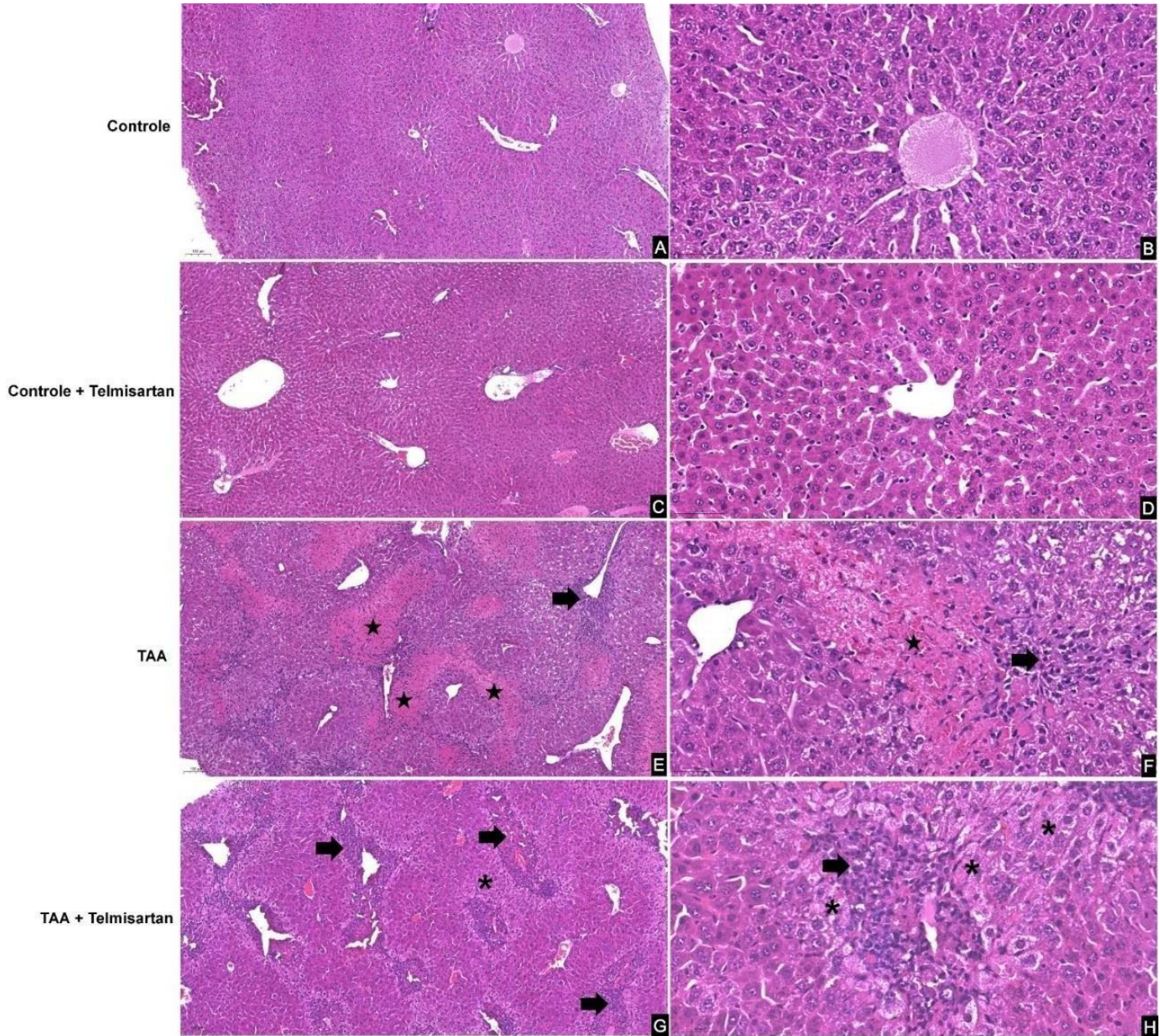


**Figura 13:** A concentração nos níveis séricos das enzimas transaminases AST e ALT foi mensurada em quatro grupos experimentais: Controle Salina (N=8), Controle Tel (N=8), TAA (N=10), e TAA Tel (N=10). Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas nos níveis da concentração sérica das enzimas transaminases AST e ALT em todos os grupos analisados, 72 horas após a administração i.p. e tratamento por gavagem. Os resultados foram apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média (SEM). A análise estatística foi realizada pelo teste de Análise de Variância Two-Way, seguido pelo teste de comparação múltipla de Tukey com nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ).

## 6.1 Histopatologia e escore histopatológico do fígado

### 6.1.1 Telmisartan atenuou o dano hepatocelular nos animais expostos à tioacetamida

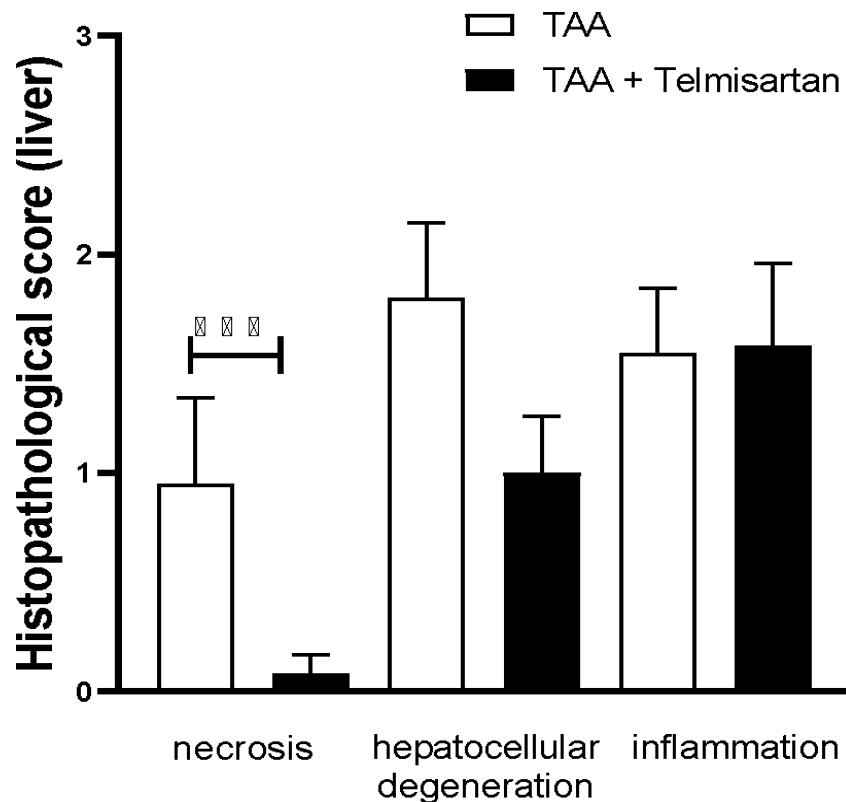
Não foram observadas alterações histopatológicas nos animais controles não tratados (Fig. 7 A-B) e tratados com telmisartan (Fig. 7 C-D). A TAA induziu danos hepáticos intensos com necrose centrolobular circundada por infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear, composto por linfócitos e macrófagos, e áreas de degeneração hidrópica (Fig. 7 E-F). Os animais expostos a TAA tratados com telmisartan apresentaram focos inflamatórios compostos por linfócitos e macrófagos delimitadas por áreas de degeneração hidrópica (Fig, 7 G-H).



**Figura 14.** Imagens histopatológicas de seções do fígado coradas com H&E. Controle não tratado (A-B), controle tratado com telmisartan (C-D), TAA não tratado (E-F), TAA tratado com telmisartan (G-H), 72 horas após a indução com tiocetamida (TAA). Animais controles não tratado (A-B) e tratado com telmisartan (C-D) não apresentaram alterações histopatológicas. O grupo TAA não tratado apresentou necrose centrolobular (estrelas) circundada por infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear, composto por linfócitos e macrófagos (setas) e áreas de degeneração hidrópica (E-F). Os animais expostos a TAA tratados com telmisartan apresentaram e focos inflamatórios compostos por linfócitos e macrófagos (setas) delimitadas por áreas de degeneração hidrópica (asteriscos).

### 6.1.2 Telmisartan promoveu redução do escore histopatológico para necrose hepatocelular nos animais expostos à tioacetamida

A análise do escore histopatológico demonstrou que o telmisartan promoveu uma redução significativa do escore de necrose ( $p < 0,005$ ), em comparação com o grupo TAA não tratado. Graus semelhantes de degeneração hepatocelular e inflamação foram observados em ambos os grupos (Fig. 8).



**Figura 15.** Escore de graduação histopatológica de amostras de fígado de camundongos TAA não tratados e tratados com telmisartan. Os escores para necrose, degeneração e inflamação hepática são determinados com base no grau de dano hepatocelular, com 0 indicando nenhuma alteração histológica e três indicando o dano mais grave. Os fígados dos animais tratados com telmisartan demonstraram necrose menos intensa em comparação com os animais TAA não tratados. Os dados representam a média  $\pm$  SEM ( $n = 6$  por grupo). \*\*\*  $p < 0,005$  TAA não tratado versus TAA tratado com telmisartan.

### 7.1. Histopatologia do encéfalo

As análises histológicas das seções do encéfalo, coradas em hematoxilina e eosina, revelaram uma arquitetura cerebral e cerebelar preservada nos grupos estudados. No grupo controle, tanto

tratado quanto não tratado com o telmisartan, observou-se uma organização neuronal adequada, evidenciando uma estrutura morfológica íntegra. Tanto nos grupos expostos a TAA quanto nos grupos expostos a TAA tratados com o telmisartan, a distribuição celular e a integridade neuronal foram mantidas.

## 8. DISCUSSÃO

A EH embora seja uma condição rara, é notoriamente caracterizada por sua rápida progressão e alta taxa de mortalidade (STEPANOVA *et al.*, 2012; HIRODE *et al.*, 2019). A crescente compreensão científica tem destacado a importância da interação sinérgica entre a hiperamonemia e a neuroinflamação como fatores cruciais que desencadeiam mudanças significativas na neurotransmissão glutamatérgica e GABAérgica (MICHALAK *et al.*, 1996; MCARDLE *et al.*, 1996; TORRES *et al.*, 2021). Essas alterações neuroquímicas desempenham um papel central no desenvolvimento de distúrbios cerebrais abrangentes, como déficits cognitivos, bem como comprometimentos das habilidades motoras e de coordenação (DE FRANÇA *et al.*, 2020; HAMDANI *et al.*, 2021; POPEK *et al.*, 2022).

Em um estudo recente conduzido por Oliveira *et al.* (2022), nosso grupo descreveu um desequilíbrio na regulação de peptídeos nos eixos clássico e alternativo do SRA em camundongos de EH aguda induzida por TAA. Este estudo revelou um aumento na concentração da ECA no córtex pré-frontal dos animais. Concomitantemente, foi observado uma redução nos níveis de Angiotensina 1-7, tanto no córtex pré-frontal quanto no hipocampo. Considerando o papel fundamental do SRA na modulação da inflamação e na resposta imune, este desequilíbrio pode estar intimamente relacionado à neuroinflamação exarcebada, um fenômeno comum observado em diferentes modelos experimentais de EH (MIRANDA *et al.*, 2010; OLIVEIRA *et al.*, 2022). Diante desses achados, nosso estudo se propôs avaliar o impacto do tratamento com telmisartan, um antagonista do receptor AT1 da Ang-II, em camundongos submetidos à EH induzida por TAA, abordando aspectos clínicos e alterações patológicas, como parte desta complexa interação.

A administração de TAA comprometeu a condição física dos animais induzidos à EH, e apesar dos animais submetidos a EH tratados com o telmisartan não terem exibido perda de peso em comparação com seus controles respectivos, o tratamento com telmisartan não proporcionou benefícios clínicos nos períodos estudados, nem influenciou a sobrevivência dos

animais. No que tange à avaliação da atividade locomotora, realizada por meio do teste de campo aberto, o presente trabalho demonstrou, pela primeira vez, que o telmisartan tem o potencial de atenuar a redução na atividade locomotora observada 24 horas após a indução da EH em camundongos C57BL/6 fêmeas, decorrente da administração de uma única dose intraperitoneal de 600mg/kg TAA. Estes achados ganham uma importância particular, considerando que o prejuízo na atividade locomotora é consistentemente observado como um marcador precoce em modelos experimentais de EH aguda (MIRANDA *et al.*, 2010; FALEIROS *et al.*, 2014; CITTOLIN-SANTOS *et al.*, 2019). Além do contexto da EH, o telmisartan mostrou-se promissor no tratamento de doenças neurodegenerativas como Parkinson, Alzheimer e Huntington. Sua eficácia origina-se da capacidade de inibir o receptor AT1R e ativar o receptor PPAR- $\gamma$ , estabelecendo um equilíbrio na regulação da neuroinflamação, um fator chave na progressão dessas doenças. Em um estudo no modelo de doença de Parkinson, camundongos C57BL/6J que receberam 10 mg/kg de telmisartan uma hora antes da exposição à 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP) durante dois dias consecutivos exibiram uma recuperação no prejuízo locomotor, uma diminuição na expressão da proteína  $\alpha$ -sinucleína ( $\alpha$ -SYN) e um aumento nos fatores neurotróficos BDNF e GDNF (SATHIYA *et al.*, 2013). Em um estudo com a doença de Huntington, ratos Wistar tratados com 10 mg/kg de telmisartan, tanto antes quanto após a indução com ácido 3-nitropropiónico (3-NP), apresentaram melhora nos distúrbios motores e uma redução nas citocinas pró-inflamatórias TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  no encéfalo, relacionadas à patogênese da doença (RASSHEED *et al.*, 2022). Consecutivamente, em um estudo com modelos de Alzheimer, camundongos ddY que receberam pré-tratamento com 0,35 mg/kg telmisartan durante um período de 14 dias precedentes à indução da doença por meio da injeção intracerebroventricular do peptídeo Beta-Amilóide 1-40 (A $\beta$ 1-40) exibiram redução na expressão de citocinas inflamatórias cerebrais, indicando um uso potencial na modulação da resposta inflamatória associada à doença (TSUKUDA *et al.*, 2009). A ECA é responsável por converter a Ang I em Ang II. Quando a Ang II se liga ao seu receptor AT1R, ocorrem alterações intracelulares que desencadeiam a expressão de citocinas de perfil pró-inflamatórias, como TNF, IL-1 $\beta$  e IL-6 em células endoteliais e micróglia (GARRIDO-GIL *et al.*, 2017). Em contrapartida, a Ang-1-7 tem papel crucial na modulação desses efeitos pró-inflamatórios associados à via clássica do SRA. Em culturas de micróglia derivadas do hipotálamo, a exposição à pró-renina seguida do tratamento com um análogo da Ang-1-7 resultou em uma diminuição nos níveis de mRNA de citocinas

pró-inflamatórias, tais como IL-1 $\beta$  e TNF $\alpha$ , enquanto aumentou a expressão de mRNA da citocina anti-inflamatória IL-10. Esses resultados apontam para um efeito neuromodulador dos componentes da via alternativa nas respostas inflamatórias mediadas por micróglia (LIU *et al.*, 2015).

Na fase aguda da EH, pela primeira vez, os achados do teste de força de preensão manual não indicaram prejuízo na atividade neuromuscular, estabilidade ou força geral nos diferentes grupos avaliados. Esses resultados sugerem que, apesar do impacto do TAA sobre a locomoção, a habilidade de gerar força muscular e a função neuromuscular se mantêm inalteradas em nosso modelo de EH aguda. Em contraste com nossas descobertas, estudos anteriores que utilizaram modelos de EH crônica, induzida por cirurgia de ligadura do ducto biliar, demonstraram prejuízos na força muscular após 43 dias da indução (HAKEMI *et al.*, 2023). De maneira similar, um modelo de EH crônica induzida por timidina e desoxiuridina também revelou danos na força muscular após um ano da indução (DIAZ *et al.*, 2014).

Estudos clínicos e experimentais sugerem que via clássica do SRA (ACE/Ang II/AT1R) também induz a hepatite em diferentes doenças hepáticas. A ação de Ang II via receptor AT1 é capaz de ativar a produção prostaglandinas, citocinas pró-inflamatórias, bem como de espécies reativas de oxigênio em células endoteliais hepáticas, células estreladas hepáticas, células de kupffer e macrófagos derivados de monócitos (BATALLERB *et al.*, 2003; KANNO *et al.*, 2005; MORRIS *et al.*, 2013). A regulação positiva da Ang II tem sido associada ao aumento da morte hepatocelular e inflamação exacerbada desencadeadas por processos inflamatórios em diferentes modelos experimentais de doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA), doença hepática alcoólica (DHA), isquemia-reperfusão hepática (IR) e hepatotoxicidade aguda induzida por drogas em ratos e camundongos (FOUAD *et al.*, 2012; FOUAD *et al.*, 2012; ATAWIA *et al.*, 2017; ABDELHAMID *et al.*, 2021). Em estudos com camundongos, a lesão hepática aguda induzida por TAA é caracterizada por extensas áreas de necrose hemorrágica (MIRANDA *et al.*, 2010). Observa-se também a presença degeneração hidrópica (FALEIROS *et al.*, 2014). Paralelamente, há um aumento nas concentrações dos marcadores hepáticos AST e ALT, bem como alterações na função hepática evidenciada pelos níveis de bilirrubina (CHENG *et al.*, 2021). Em modelos de lesão hepática aguda causada por acetaminofeno, são evidentes a necrose centrolobular, degeneração baloniforme, vacuolização citoplasmática e congestão dos sinusoides hepáticos. Nota-se também um aumento de Ang II, NF- $\kappa$ B, TNF- $\alpha$  e iNOS no tecido hepático (FOUAD *et al.*, 2012). Quando a lesão hepática

aguda é induzida por arsênico, as lesões incluem degeneração baloniforme, vacuolização citoplasmática e áreas focais de necrose coagulativa nos hepatócitos (FOUAD *et al.*, 2012). Nos modelos induzidos por azoximetano, observam-se lesões hepáticas, como necrose maciça, hemorragia intra-hepática e infiltrado inflamatório. Além disso, observam-se alterações nos níveis de AST e bilirrubina (HORI *et al.*, 2011).

Nossos resultados indicam que o telmisartan exerce efeito hepatoprotetor na EH induzida por TAA. As análises histopatológicas realizadas em animais tratados com telmisartan após a exposição a TAA não revelaram evidências de necrose hepatocelular. O bloqueio do receptor AT1R pelo telmisartan regula negativamente a modulação de processos inflamatórios e de proliferação celular, reduzindo a resposta inflamatória e o crescimento celular anormal (VILLAPOL *et al.*, 2015). Além disso, o telmisartan age como um agonista parcial do receptor PPAR- $\gamma$ , que, ao ligar-se a esse receptor, regula a expressão de genes anti-inflamatórios e suprime genes pró-inflamatórios. Isso culmina em uma resposta anti-inflamatória e pode explicar, em parte, os benefícios observados do telmisartan na mitigação das alterações hepáticas pela TAA (SALMANI *et al.*, 2020; QUAN *et al.*, 2023). Em um modelo experimental com camundongos, o telmisartan mostrou reduzir a expressão de TNF- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B e iNOS em lesões hepáticas agudas induzidas por acetaminofeno, revertendo as alterações histopatológicas e diminuindo os níveis de Ang II nos tecidos. (FOUAD *et al.*, 2012). Em um estudo correlato que investigou a lesão hepática aguda induzida por arsênico em camundongos, observou-se que o telmisartan igualmente diminuiu a expressão de Ang II, iNOS, TNF- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B e COX-2 no fígado, atenuando a necrose hepática (FOUAD *et al.*, 2012). Ratos com lesão hepática aguda causada por tetracloreto de carbono (CCl<sub>4</sub>) também mostraram melhora nos marcadores de lesão hepática e função hepática após o tratamento com telmisartan (ATAWIA *et al.*, 2016). Além disso, O bloqueio do receptor AT1 da AngII, associado à regulação da sinalização mediada pelo receptor PPAR- $\gamma$  por meio do telmisartan, demonstrou efeitos benéficos na lesão de isquemia-reperfusão. O telmisartan promoveu um aumento na expressão do PPAR- $\gamma$ , inibindo a via TLR4/NF- $\kappa$ B, atenuando a necrose hepática causada pela isquemia-reperfusão (MORSY *et al.*, 2022). O telmisartan demonstrou benefícios em casos de lesão de isquemia-reperfusão, onde aumentou a expressão do PPAR- $\gamma$  e inibiu a via TLR4/NF- $\kappa$ B, atenuando a lesão causada pela isquemia-reperfusão.

A avaliação dos níveis séricos de AST e ALT após 72 horas não revelou diferenças significativas entre os grupos, indicando que a administração de 10mg/kg de telmisartan com 6

e a cada 12 horas não teve efeitos adversos na função hepática durante esse período. Em um estudo anterior, observamos um padrão semelhante em nosso modelo de lesão hepática aguda induzida por TAA, onde a dosagem da enzima transaminase ALT também não apresentou alterações (LIMA *et al.*, 2019). Embora amplamente utilizadas para identificar lesões agudas, essas enzimas têm uma meia-vida curta, podendo não se manter elevadas nos níveis séricos em estágios mais tardios da lesão (MORILES *et al.*, 2002). Em estudo envolvendo camundongos submetidos a lesão hepática aguda por nitrato de chumbo, verificou-se que o aumento persistiu por dois dias para ALT e três dias para AST, sugerindo que a duração da elevação dessas enzimas pode variar em resposta a diferentes agentes lesivos (O'BRIEN *et al.* 2002).

### **Conclusão**

Nossos dados sugerem que o tratamento com telmisartan na dose de 10 mg/kg, administrado 6 horas, seguido de 12 horas ao longo de um período de 72 horas após a indução da lesão hepática aguda por tioacetamida, promoveu melhora dos déficits locomotores e das lesões hepáticas em camundongos.

## Referências

1. A.R. Jayakumar, X.Y. Tong, J. Ospel, M.D. Norenberg, Role of cerebral endothelial cells in the astrocyte swelling and brain edema associated with acute hepatic encephalopathy, *Neuroscience*, Volume 218, 2012, Pages 305-316, ISSN 0306-4522, <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.05.006>
2. Borém, L.M.A., Freitas, D.F., Machado, A.S. *et al.* Angiotensin II type 1 receptor (AT1) blockade by Telmisartan attenuates hepatic steatosis in high-fat fed mice reducing Resistin, TRL4, and Myd88 expression. *Egypt Liver Journal* 12, 55 (2022). <https://doi.org/10.1186/s43066-022-00216-w>
3. Lei Zheng, Zhifeng Zhao, Jiayun Lin, Hongjie Li, Guangbo Wu, Xiaoliang Qi, Xiaolou Lou, Yongyang Bao, Haizhong Huo, Meng Luo, Telmisartan relieves liver fibrosis and portal hypertension by improving vascular remodeling and sinusoidal dysfunction, *European Journal of Pharmacology*, Volume 915, 2022, 174713, ISSN 0014-2999, <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2021.174713>.
4. Ababei, D.-C.; Bild, V.; Macadan, I.; Vasincu, A.; Rusu, R.-N.; Blaj, M.; Stanciu, G.D.; Lefter, R.-M.; Bild, W. Therapeutic Implications of Renin–Angiotensin System Modulators in Alzheimer’s Dementia. *Pharmaceutics* 2023, 15, 2290. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15092290>
5. Nofar Torika, Keren Asraf, Hagit Cohen, Sigal Fleisher-Berkovich, Intranasal telmisartan ameliorates brain pathology in five familial Alzheimer’s disease mice, *Brain, Behavior, and Immunity*, Volume 64, 2017, Pages 80-90, ISSN 0889-1591, <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2017.04.001>.
6. Li, Y., Cheng, KC., Liu, KF. *et al.* Telmisartan Activates PPAR $\delta$  to Improve Symptoms of Unpredictable Chronic Mild Stress-Induced Depression in Mice. *Sci Rep* 7, 14021 (2017). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-14265-4>
7. Labandeira-García JL, Garrido-Gil P, Rodríguez-Pallares J, Valenzuela R, Borrajo A, Rodríguez-Perez AI. Brain renin-angiotensin system and dopaminergic cell vulnerability. *Front Neuroanat.* 2014 Jul 8;8:67. doi: 10.3389/fnana.2014.00067. PMID: 25071471; PMCID: PMC4086395.
8. Cosarderelioglu C, Nidadavolu LS, George CJ, Oh ES, Bennett DA, Walston JD, Abadir PM. Brain Renin-Angiotensin System at the Intersect of Physical and Cognitive Frailty. *Front Neurosci.* 2020 Sep 30;14:586314. doi: 10.3389/fnins.2020.586314. PMID: 33117127; PMCID: PMC7561440.
9. AMA Style Jackson L, Eldahshan W, Fagan SC, Ergul A. Within the Brain: The Renin Angiotensin System. *International Journal of Molecular Sciences.* 2018; 19(3):876. <https://doi.org/10.3390/ijms19030876>

10. Saavedra, Juan M. "Angiotensin II AT1 receptor blockers as treatments for inflammatory brain disorders." *Clinical science* 123.10 (2012): 567-590. <https://doi.org/10.1042/CS20120078>
11. A.R. Jayakumar, X.Y. Tong, J. Ospel, M.D. Norenberg, Role of cerebral endothelial cells in the astrocyte swelling and brain edema associated with acute hepatic encephalopathy, *Neuroscience*, Volume 218, 2012, Pages 305-316, ISSN 0306-4522, <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.05.006>
12. Abdel Rasheed NO, Ibrahim WW. Telmisartan neuroprotective effects in 3-nitropropionic acid Huntington's disease model in rats: Cross talk between PPAR- $\gamma$  and PI3K/Akt/GSK-3 $\beta$  pathway. *Life Sci.* 2022 May 15;297:120480. doi: 10.1016/j.lfs.2022.120480. Epub 2022 Mar 10. PMID: 35278421.
13. Abdelhamid, Amir Mohamed, et al. "Telmisartan alleviates alcohol-induced liver injury by activation of PPAR- $\gamma$ /Nrf-2 crosstalk in mice." *International Immunopharmacology* 99 (2021): 107963.
  1. Agrawal, A., Singh, S., Kolhapure, S. *et al.* Increasing Burden of Hepatitis A in Adolescents and Adults and the Need for Long-Term Protection: A Review from the Indian Subcontinent. *Infect Dis Ther* 8, 483–497 (2019). <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2021.107963>
14. Akhrass, Philippe R., and Samy I. McFarlane. "Telmisartan and cardioprotection." *Vascular health and risk management* (2011): 677-683.
15. AKTAN, Fugen. iNOS-mediated nitric oxide production and its regulation. **Life sciences**, v. 75, n. 6, p. 639-653, 2004.
16. Atawia, Reem T., et al. "Telmisartan ameliorates carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity in rats." *Environmental toxicology* 32.2 (2017): 359-370.
17. Bajaj JS, Duarte-Rojo A, Xie JJ, Acharya C, Wade JB, Robles C, Thacker LR, Flud C, Fagan A, Garcia-Saenz-de-Sicilia M, White MB, Kelly M, Nguyen V, Gavis EA, Vargas HE. Minimal Hepatic Encephalopathy and Mild Cognitive Impairment Worsen Quality of Life in Elderly Patients With Cirrhosis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2020 Dec;18(13):3008-3016.e2. doi: 10.1016/j.cgh.2020.03.033. Epub 2020 Mar 20. PMID: 32205222; PMCID: PMC7502426. DOI: 10.1016/j.cgh.2020.03.033
18. Bajaj JS, Wade JB, Gibson DP, Heuman DM, Thacker LR, Sterling RK, Stravitz RT, Luketic V, Fuchs M, White MB, Bell DE, Gilles H, Morton K, Noble N, Puri P, Sanyal AJ. The multi-dimensional burden of cirrhosis and hepatic encephalopathy on patients and caregivers. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 1646- 1653 [PMID: 21556040 DOI: 10.1038/ajg.2011.157]
19. Bajaj JS. Management options for minimal hepatic encephalopathy. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2008; 2: 785-790 [PMID: 19090738 DOI: 10.1586/17474124.2.6.785]

20. Bassett, M. L., Mullen, K. D., Skolnick, P., & Jones, E. A. (1987). Amelioration of hepatic encephalopathy by pharmacologic antagonism of the GABAA-benzodiazepine receptor complex in a rabbit model of fulminant hepatic failure. *Gastroenterology*, 93(5), 1069–1077. doi:10.1016/0016-5085(87)90571-3
21. Beatriz Garcia-Diaz, Caterina Garone, Emanuele Barca, Hamed Mojahed, Purification Gutierrez, Giuseppe Pizzorno, Kurenai Tanji, Fernando Arias-Mendoza, Caterina M. Quinzii, Michio Hirano, Deoxynucleoside stress exacerbates the phenotype of a mouse model of mitochondrial neurogastrointestinal encephalopathy, *Brain*, Volume 137, Issue 5, May 2014, Pages 1337–1349, <https://doi.org/10.1093/brain/awu068>
22. Bernal W, Hall C, Karvellas CJ, Auzinger G, Sizer E, Wendon J (2007) Arterial ammonia and clinical risk factors for encephalopathy and intracranial hypertension in acute liver failure. *Hepatology* 46(6):1844–1852
23. Bernal W, Wendon J. Insuficiência Hepática Aguda. *New Engl J Med*. 2013;2525.
24. Bosman, D. K., Van Den Buijs, C. A. C. G., De Haan, J. G., Maas, M. A. W., & Chamuleau, R. A. F. M. (1991). *The effects of benzodiazepine-receptor antagonists and partial inverse agonists on acute hepatic encephalopathy in the rat. Gastroenterology*, 101(3), 772–781. doi:10.1016/0016-5085(91)90538-v
25. Brice Ongali, Nektaria Nicolakakis, Xin-Kang Tong, Tahar Aboukassim, Panayiota Papadopoulou, Pedro Rosa-Neto, Clotilde Lecrux, Hans Imboden, Edith Hamel, Angiotensin II type 1 receptor blocker losartan prevents and rescues cerebrovascular, neuropathological and cognitive deficits in an Alzheimer's disease model, *Neurobiology of Disease*, Volume 68, 2014, Pages 126-136, ISSN 0969-9961, 10.1016/0016-5085(91)90538-v
26. BUFFO, Annalisa; ROLANDO, Chiara; CERUTI, Stefania. Astrocytes in the damaged brain: molecular and cellular insights into their reactive response and healing potential. *Biochemical pharmacology*, vol. 2, p. 77-89, 2010.
27. Butterworth RF. The concept of "the inflamed brain" in acute liver failure: mechanisms and new therapeutic opportunities. *Metab Brain Dis*. 2016 Dec;31(6):1283-1287. doi: 10.1007/s11011-015-9747-0. Epub 2015 Oct 20. PMID: 26481639.
28. Cabrera-Pastor, Andrea, et al. Peripheral inflammation induces neuroinflammation that alters neurotransmission and cognitive and motor function in hepatic encephalopathy: underlying mechanisms and therapeutic implications." *Acta Physiologica* 226.2 (2019): e13270.
29. Canalese J, Gimson AE, Davis C, Mellon PJ, Davis M, Williams R. Controlled trial of dexamethasone and mannitol for the cerebral oedema of fulminant hepatic failure. *Gut*. 1982 Jul;23(7):625-9. doi: 10.1136/gut.23.7.625. PMID: 6806155; PMCID: PMC1419771.
30. Charlotte D'Mello, Wagdi Almishri, Hongqun Liu, Mark Gordon Swain, Interactions Between Platelets and Inflammatory Monocytes Affect Sickness Behavior in Mice

- With Liver Inflammation, *Gastroenterology*, Volume 153, Issue 5, 2017, Pages 1416-1428.e2, ISSN 0016-5085, <https://doi.org/10.1007/s11011-015-9747-0>
31. Cheng, Long, et al. "Efeito da di-hidromiricetina na encefalopatia hepática associada à insuficiência hepática aguda em camundongos." *Biologia Farmacêutica* 59,1 (2021): 555-562.
  32. Cittolin-Santos, GF, et al. Behavioral, neurochemical and brain oscillation abnormalities in an experimental model of acute liver failure." *neuroscience* 401 (2019): 117-129.
  33. CLAEYS, Wouter et al. The neurogliovascular unit in hepatic encephalopathy. **JHEP Reports**, v. 3, n. 5, p. 100352, 2021.
  34. Clemmesen, J. O., Larsen, F. S., Kondrup, J., Hansen, B. A., & Ott, P. (1999). *Cerebral herniation in patients with acute E liver failure is correlated with arterial ammonia concentration. Hepatology*, 29(3), 648–653. doi:10.1002/hep.510290309 10.1002/hep.510290309
  35. D.D. You, G.S. Choi, J.M. Kim, C.H.D. Kwon, J.-W. Joh, S.-K. Lee, Long-term Outcomes for Liver Transplant Recipients in Terms of Hepatic Encephalopathy, *Transplantation Proceedings*, Volume 49, Issue 6, 2017, Pages 1425-1429, ISSN 0041-1345, <https://doi.org/10.1002/hep.510290309>
  36. DANIELS, Derek e cols. Papéis comportamentais divergentes das cascatas de sinalização intracelular do receptor de angiotensina. **Endocrinologia** , v. 146, n. 12, pág. 5552-5560, 2005.
  37. DE FRANÇA, Maria Eduarda Rocha; PEIXOTO, Cristina Alves. Via de sinalização cGMP na neuroinflamação e cognição da encefalopatia hepática. **International Immunopharmacology** , v. 79, p. 106082, 2020.
  38. Dechant, Georg e Harald Neumann. "Neurotrofinas." *Biologia Molecular e Celular da Neuroproteção no SNC* (2003): 303-334.
  39. Dethloff TJ, Knudsen GM, Larsen FS. Cerebral blood flow autoregulation in experimental liver failure. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2008 May;28(5):916-26. doi: 10.1038/sj.jcbfm.9600589. Epub 2007 Dec 5. PMID: 18059432.
  40. Devarbhavi H, Asrani SK, Arab JP, Nartey YA, Pose E, Kamath PS. Global burden of liver disease: 2023 update. *J Hepatol.* 2023 Aug;79(2):516-537. doi: 10.1016/j.jhep.2023.03.017. Epub 2023 Mar 27. PMID: 36990226. DOI: 10.1016/j.jhep.2023.03.017
  41. Dixit V, Chang TM. Edema cerebral e barreira hematoencefálica em ratos com insuficiência hepática fulminante induzida por galactosamina. Um modelo animal para avaliação dos sistemas de suporte do fígado. *Transações ASAIIO.* 1990 Jan-Mar;36(1):21-27. PMID: 2306387.

42. DIXON, Bradley S. et al. Bradicinina e angiotensina II: ativação da proteína quinase C no músculo liso arterial. **American Journal of Physiology-Cell Physiology** , v. 266, n. 5, pág. C1406-C1420, 1994.
43. D'Mello C, Riazi K, Le T, Stevens KM, Wang A, McKay DM, Pittman QJ, Swain MG. P-selectin-mediated monocyte-cerebral endothelium adhesive interactions link peripheral organ inflammation to sickness behaviors. *J Neurosci*. 2013 Sep 11;33(37):14878-88. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1329-13.2013. PMID: 24027287; PMCID: PMC6705165
44. Dong, Victor, Rahul Nanchal e Constantine J. Karvellas. "Fisiopatologia da insuficiência hepática aguda." *Nutrição na Prática Clínica* 35.1 (2020): 24-29.
45. Du, Z., Lovly, C.M. Mechanisms of receptor tyrosine kinase activation in cancer. *Mol Cancer* 17, 58 (2018). <https://doi.org/10.1186/s12943-018-0782-4>
46. Duron E, Hanon O. Antihypertensive treatments, cognitive decline, and dementia. *J Alzheimers Dis*. 2010;20(3):903-14. doi: 10.3233/JAD-2010-091552. PMID: 20182022.
47. Exton, John H. "CÁLCIO E INOSITOL TRIFOSFATO." *Proteínas de ligação ao cálcio na saúde e na doença* . Academic Press, 1987. 137-145.
48. Faleiros BE, Miranda AS, Campos AC, Gomides LF, Kangussu LM, Guatimosim C, Camargos ER, Menezes GB, Rachid MA, Teixeira AL. Up-regulation of brain cytokines and chemokines mediates neurotoxicity in early acute liver failure by a mechanism independent of microglial activation. *Brain Res*. 2014;1578:49–59.
49. Faleiros, Bruno E., et al. "Up-regulation of brain cytokines and chemokines mediates neurotoxicity in early acute liver failure by a mechanism independent of microglial activation." *Brain research* 1578 (2014): 49-59.
50. Farkas S, Hackl C, Schlitt HJ. Overview of the indications and contraindications for liver transplantation. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2014 May 1;4(5):a015602. doi: 10.1101/cshperspect.a015602. PMID: 24789874; PMCID: PMC3996378.
51. Felipo, V. Encefalopatia hepática: efeitos da insuficiência hepática na função cerebral. *Nat Rev Neurosci* 14 , 851–858 (2013). <https://doi.org/10.1038/nrn3587>
52. Fleming KM, Aithal GP, Card TR, West J. The rate of decompensation and clinical progression of disease in people with cirrhosis: a cohort study. *Aliment Pharmacol Ther*. 2010 Dec;32(11-12):1343-50. doi: 10.1111/j.1365-2036.2010.04473.x. Epub 2010 Oct 4. PMID: 21050236.
53. Fouad, Amr A., Abdulruhman S. Al-Mulhim, and Iyad Jresat. "Telmisartan treatment attenuates arsenic-induced hepatotoxicity in mice." *Toxicology* 300.3 (2012): 149-157.
54. Fouad, Amr A., et al. "Therapeutic role of telmisartan against acetaminophen hepatotoxicity in mice." *European journal of pharmacology* 693.1-3 (2012): 64-71.

55. Fouada, Abdelrahman Y., et al. "Brain-derived neurotrophic factor knockdown blocks the angiogenic and protective effects of angiotensin modulation after experimental stroke." *Molecular neurobiology* 54 (2017): 661-670.
56. Frederick RT. Current concepts in the pathophysiology and management of hepatic encephalopathy. *Gastroenterol Hepatol (N Y)*. 2011 Apr;7(4):222-33. PMID: 21857820; PMCID: PMC3127024.
57. Galea, I. The blood–brain barrier in systemic infection and inflammation. *Cell Mol Immunol* 18, 2489–2501 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41423-021-00757-x>
58. Ganjalikhan-hakemi, Sepideh, et al. "Agmatine improves liver function, balance performance, and neuronal damage in a hepatic encephalopathy induced by bile duct ligation." *Brain and Behavior* (2023): e3124. <https://doi.org/10.1002/brb3.3124>
59. Garrido-Gil, P., Valenzuela, R., Villar-Cheda, B. et al. Expression of angiotensinogen and receptors for angiotensin and prorenin in the monkey and human substantia nigra: an intracellular renin–angiotensin system in the nigra. *Brain Struct Funct* 218, 373–388 (2013). <https://doi.org/10.1007/s00429-012-0402-9>
60. Genario Santos, Estela Regina Ramos Figueira, Luiz Augusto Carneiro D’Albuquerque, Paulo Bittencourt Lisboa, Marcio Dias de Almeida, Norma Arteiro Filgueira, Ilka Boin, Gilda Porta, Rita de Cássia Martins Alves da Silva, Cyntia Ferreira Gomes Viana, Luciana Costa Faria, Mario Reis Alvares-da-Silva, Adriano Claudio Pereira de Moraes, Daphne Benatti Goncalves Morsoletto, Liana Codes, Raymundo Paraná, Evaluation of drug-induced liver injury as etiology for acute liver failure in Brazil, *Annals of Hepatology*, Volume 23, 2021, 100310, ISSN 1665-2681, 100310, ISSN 1665-2681, <https://doi.org/10.1016/j.aohep.2021.100310>.
61. Görg B, Qvarthkhava N, Keitel V, Bidmon HJ, Selbach O, Schliess F, Häussinger D. Ammonia induces RNA oxidation in cultured astrocytes and brain in vivo. *Hepatology*. 2008 Aug;48(2):567-79. doi: 10.1002/hep.22345. PMID: 18506841.
62. HAJOVSKY, Heather et al. Metabolism and toxicity of thioacetamide and thioacetamide S-oxide in rat hepatocytes. *Chemical research in toxicology*, v. 25, n. 9, p. 1955-1963, 2012.
63. Hamdani EH, Poppek M, Frontczak-Baniewicz M, Utheim TP, Albrecht J, Zielińska M, Chaudhry FA. Perturbation of astroglial Slc38 glutamine transporters by NH<sub>4</sub><sup>+</sup> contributes to neurophysiologic manifestations in acute liver failure. *FASEB J*. 2021 Jul;35(7):e21588. doi: 10.1096/fj.202001712RR. PMID: 34169573.
64. Hansen L, Chang MF, Lee CS, Hiatt S, Firsick EJ, Dieckmann NF, Lyons KS. Physical and Mental Quality of Life in Patients With End-Stage Liver Disease and Their Informal Caregivers. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2021 Jan;19(1):155-161.e1. doi: 10.1016/j.cgh.2020.04.014.
65. HIGUERA-DE-LA-TIJERA, F. et al. Current vision on diagnosis and comprehensive care in hepatic encephalopathy. *Revista de Gastroenterología de México (English Edition)*, v. 88, n. 2, p. 155-174, 2023.

66. Harper AM. Autoregulation of cerebral blood flow: influence of the arterial blood pressure on the blood flow through the cerebral cortex. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1966 Oct;29(5):398-403. doi: 10.1136/jnnp.29.5.398. PMID: 5926462; PMCID: PMC496068.
67. Harshad Devarbhavi, Sumeet K. Asrani, Juan Pablo Arab, Yvonne Ayerki Nartey, Elisa Pose, Patrick S. Kamath, Global burden of liver disease: 2023 update, *Journal of Hepatology*, Volume 79, Issue 2, 2023, Pages 516-537, ISSN 0168-8278,
68. Häussinger, D., Dhiman, R.K., Felipo, V. et al. Hepatic encephalopathy. *Nat Rev Dis Primers* 8, 43 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41572-022-00366-6>
69. Helen Chan, Roger F Butterworth, Cell-selective effects of ammonia on glutamate transporter and receptor function in the mammalian brain, *Neurochemistry International*, Volume 43, Issues 4–5, 2003, Pages 525-532, ISSN 0197-0186, <https://doi.org/10.1136%2Fjnnp.29.5.398>
70. Hermenegildo, Carlos, Pilar Monfort, and Vicente Felipo. "Activation of N-methyl-D-aspartate receptors in rat brain in vivo following acute ammonia intoxication: characterization by in vivo brain microdialysis." *Hepatology* 31.3 (2000): 709-715.
71. Hirode G, Vittinghoff E, Wong RJ. Increasing Burden of Hepatic Encephalopathy Among Hospitalized Adults: An Analysis of the 2010-2014 National Inpatient Sample. *Dig Dis Sci*. 2019 Jun;64(6):1448-1457. doi: 10.1007/s10620-019-05576-9. Epub 2019 Mar 13. PMID: 30863953. DOI: 10.1007/s10620-019-05576-9
72. Hori T, Chen F, Baine AM, Gardner LB, Nguyen JH. Fulminant liver failure model with hepatic encephalopathy in the mouse. *Ann Gastroenterol*. 2011;24(4):294-306. PMID: 24713795; PMCID: PMC3959336.
73. Huang, Kuo-Ping. "The mechanism of protein kinase C activation." *Trends in neurosciences* 12.11 (1989): 425-432. DOI:[https://doi.org/10.1016/0166-2236\(89\)90091-X](https://doi.org/10.1016/0166-2236(89)90091-X)
74. Hudson, Mark, and Marcus Schuchmann. "Long-term management of hepatic encephalopathy with lactulose and/or rifaximin: a review of the evidence." *European journal of gastroenterology & hepatology* 31.4 (2019): 434.dsom
75. Ishrat, Tauheed, et al. "Low-dose candesartan enhances molecular mediators of neuroplasticity and subsequent functional recovery after ischemic stroke in rats." *Molecular neurobiology* 51 (2015): 1542-1553.
76. Ismael, Najlaa Saadi, and Fathel Abaas Al-hamamy. "Comparative Effects of Telmisartan versus Valsartan on serum Leptin level, in hypertensive type 2 diabetes mellitus patients." *Iraq J Pharm Vol* 14.1 (2014).
77. Jaeger V, DeMorrow S, McMillin M. The Direct Contribution of Astrocytes and Microglia to the Pathogenesis of Hepatic Encephalopathy. *J Clin Transl Hepatol*. 2019 Dec 28;7(4):352-361. doi: 10.14218/JCTH.2019.00025. Epub 2019 Nov 13. PMID: 31915605; PMCID: PMC6943208.

78. Jayakumar, Arumugam R. Tong, Xiao Y. Curtis, Kevin M. Ruiz-Cordero, Roberto. Abreu, Maria T. Norenberg, Michael D. Increased toll-like receptor 4 in cerebral endothelial cells contributes to the astrocyte swelling and brain edema in acute hepatic encephalopathy; *Journal of Neurochemistry*. J. Neurochem. VL - 128. IS - 6. SN - 0022-3042. <https://doi.org/10.1111/jnc.12516>
79. Jiang W, Desjardins P, Butterworth RF. Cerebral inflammation contributes to encephalopathy and brain edema in acute liver failure: protective effect of minocycline. *J Neurochem*. 2009;109:485–493.
80. JESUDIAN, Arun B. et al. Cost-effectiveness of rifaximin treatment in patients with hepatic encephalopathy. *Journal of Managed Care & Specialty Pharmacy*, v. 26, n. 6, p. 750-757, 2020.
81. Jiang W, Desjardins P, Butterworth RF. Direct evidence for central proinflammatory mechanisms in rats with experimental acute liver failure: protective effect of hypothermia. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2009;29:944–952.
82. Jiménez-Torres C, El-Kehdy H, Hernández-Kelly LC, Sokal E, Ortega A, Najimi M. Acute Liver Toxicity Modifies Protein Expression of Glutamate Transporters in Liver and Cerebellar Tissue. *Front Neurosci*. 2021 Jan 6;14:613225. doi: 10.3389/fnins.2020.613225. PMID: 33488353; PMCID: PMC7815688.
83. K M Hargreaves, W M Partridge, Neutral amino acid transport at the human blood-brain barrier., *Journal of Biological Chemistry*, Volume 263, Issue 36, 1988, Pages 19392-19397, ISSN 0021-9258, <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2012.02105.x>
84. Kamel AS, Abdelkader NF, Abd El-Rahman SS, Emara M, Zaki HF, Khattab MM. Stimulation of ACE2/ANG(1-7)/Mas Axis by Diminazene Ameliorates Alzheimer's Disease in the D-Galactose-Ovariectomized Rat Model: Role of PI3K/Akt Pathway. *Mol Neurobiol*. 2018 Oct;55(10):8188-8202. doi: 10.1007/s12035-018-0966-3. Epub 2018 Mar 7. PMID: 29516284. DOI: 10.1007/s12035-018-0966-3
85. Kangussu LM, Rocha NP, Valadão PAC, Machado TCG, Soares KB, Joviano-Santos JV, Latham LB, Colpo GD, Almeida-Santos AF, Furr Stimming E, Simões E Silva AC, Teixeira AL, Miranda AS, Guatimosim C. Renin-Angiotensin System in Huntington's Disease: Evidence from Animal Models and Human Patients. *Int J Mol Sci*. 2022 Jul 12;23(14):7686. doi: 10.3390/ijms23147686. PMID: 35887034; PMCID: PMC9316902.
86. Kornerup LS, Pflugrad H, Weissenborn K, Vilstrup H, Dam G. Cognitive impairment after liver transplantation: residual hepatic encephalopathy or posttransplant encephalopathy? *Hepat Med*. 2019 Mar 18;11:41-46. doi: 10.2147/HMER.S144667. PMID: 31040728; PMCID: PMC6456244.
87. Krauns P, Ruge W. Plasmakatecholaminspiegel bei Lebererkrankungen [Plasma catecholamine levels in liver disease]. *Z Gastroenterol*. 1985 Feb;23(2):64-73. German. PMID: 4060803.

88. Kuber B, Fadnavis M, Chatterjee B. Role of angiotensin receptor blockers in the context of Alzheimer's disease. *Fundam Clin Pharmacol*. 2023 Jun;37(3):429-445. doi: 10.1111/fcp.12872. Epub 2023 Jan 26. PMID: 36654189.
89. Larsen FS, Hansen BA, Pott F, Ejlersen E, Secher NH, Paulson OB, et al. Dissociated cerebral vasoparalysis in fulminant hepatic failure: a hypothesis of gradual cerebral hyperaemia. *J Hepatol* 1996; 24: 145-54.
90. Laye, S., Bluthe, R. M., Kent, S., Combe, C., Medina, C., Parnet, P., ... Dantzer, R. (1995). *Subdiaphragmatic vagotomy blocks induction of IL-1 beta mRNA in mice brain in response to peripheral LPS*. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 268(5), R1327–R1331. doi:10.1152/ajpregu.1995.268.5.r1327 10.1152/ajpregu.1995.268.5.r1327
91. Levy MJF, Boulle F, Steinbusch HW, van den Hove DLA, Kenis G, Lanfumey L. Neurotrophic factors and neuroplasticity pathways in the pathophysiology and treatment of depression. *Psychopharmacology (Berl)*. 2018 Aug;235(8):2195-2220. doi: 10.1007/s00213-018-4950-4.
92. Liang C, Du T, Zhou J, Verkhatsky A, Peng L. Ammonium increases Ca(2+) signalling and up-regulates expression of TRPC1 gene in astrocytes in primary cultures and in the in vivo brain. *Neurochem Res*. 2014 Nov;39(11):2127-35. doi: 10.1007/s11064-014-1406-z. Epub 2014 Aug 12. PMID: 25113123
93. Liere V, Sandhu G, DeMorrow S. Recent advances in hepatic encephalopathy. *F1000Res*. 2017 Sep 4;6:1637. doi: 10.12688/f1000research.11938.1. PMID: 29026534; PMCID: PMC5583742.
94. Lima LCD, Miranda AS, Ferreira RN, Rachid MA, Simões E Silva AC. Hepatic encephalopathy: Lessons from preclinical studies. *World J Hepatol*. 2019 Feb 27;11(2):173-185. doi: 10.4254/wjh.v11.i2.173. PMID: 30820267; PMCID: PMC6393717.
95. Liu, Meng, Peng Shi, and Colin Sumners. "Direct anti-inflammatory effects of angiotensin-(1–7) on microglia." *Journal of neurochemistry* 136.1 (2016): 163-171.
96. Liu, Q.; Liu, M.; Liu, J. Burden and Trends of Acute Viral Hepatitis in Asia from 1990 to 2019. *Viruses* **2022**, *14*, 1180. <https://doi.org/10.3390/v14061180>
97. Loggini, A., Martinez, R.C. & Kramer, C.L. Cerebral Herniation from Hyperammonemic Cerebral Edema: A Potentially Reversible Neurological Emergency. *Neurocrit Care* 30, 681–685 (2019). <https://doi.org/10.1007/s12028-018-0578-9>
98. Lombardi G, Mannaioni G, Leonardi P, Cherice G, Carla` V, Moroni F. Ammonium acetate inhibits ionotropic receptors and differentially affects metabotropic receptors for glutamate. *J Neural Transm* 1994;97: 187-196.
99. Losser, Marie-Reine, and Didier Payen. "Mechanisms of liver damage." *Seminars in liver disease*. Vol. 16. No. 04. © 1996 by Thieme Medical Publishers, Inc., 1996.

100. M J G Harrison, Chapter 15 - Coma, Editor(s): M.J.G. Harrison, Contemporary Neurology, Butterworth-Heinemann, 1984, Pages 102-109, ISBN 9780407003088, <https://doi.org/10.1016/B978-0-407-00308-8.50019-7>. MENESES, Murilo S. Neuroanatomia aplicada. 3. ed Rio de Janeiro: 2016, 35.
101. Mark G. Swain. Stress and hepatic inflammation. American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology 2000 279:6, G1135-G1138. <https://doi.org/10.1007/s12028-018-0578-9>
102. Marrero MB, Paxton WG, Schieffer B, Ling BN, Bernstein KE. Angiotensin II signalling events mediated by tyrosine phosphorylation. Cell Signal. 1996 Jan;8(1):21-6. doi: 10.1016/0898-6568(95)02016-0. PMID: 8777137.
103. Mascolo, A., Sessa, M., Scavone, C., De Angelis, A., Vitale, C., Berrino, L., ... Capuano, A. (2017). New and old roles of the peripheral and brain renin–angiotensin–aldosterone system (RAAS): Focus on cardiovascular and neurological diseases. International Journal of Cardiology, 227, 734–742. doi:10.1016/j.ijcard.2016.10.069 10.1016/j.ijcard.2016.10.069
104. McArdle P, Penning DH, Dexter F, Reynolds JD. Flumazenil does not affect the increase in rat hippocampal extracellular glutamate concentration produced during thioacetamide-induced hepatic encephalopathy. Metab Brain Dis. 1996 Dec;11(4):329-342. doi: 10.1007/BF02029494. PMID: 8979252.
105. McArdle P, Penning DH, Dexter F, Reynolds JD. Flumazenil does not affect the increase in rat hippocampal extracellular glutamate concentration produced during thioacetamide-induced hepatic encephalopathy. Metab Brain Dis. 1996 Dec;11(4):329-342. doi: 10.1007/BF02029494. PMID: 8979252.
106. McKinley MJ, Albiston AL, Allen AM, Mathai ML, May CN, McAllen RM, Oldfield BJ, Mendelsohn FA, Chai SY. The brain renin-angiotensin system: location and physiological roles. Int J Biochem Cell Biol. 2003 Jun;35(6):901-18. doi: 10.1016/s1357-2725(02)00306-0. PMID: 12676175.
107. McMillin M, Grant S, Frampton G, Andry S, Brown A, DeMorrow S. Fractalkine suppression during hepatic encephalopathy promotes neuroinflammation in mice. J Neuroinflammation. 2016 Aug 26;13(1):198. doi: 10.1186/s12974-016-0674-8. PMID: 27561705; PMCID: PMC5000400.
108. McMillin M, Grant S, Frampton G, Andry S, Brown A, DeMorrow S. Fractalkine suppression during hepatic encephalopathy promotes neuroinflammation in mice. *J Neuroinflammation*. 2016;13:198.
109. Michalak A, Butterworth RF. Selective loss of binding sites for the glutamate receptor ligands [3H]Kainate and (S)-[3H]fluorowillardiine in the brains of rats with acute liver failure. HEPATOLOGY 1997;25:631-635
110. Minjie Tian, Xingjian Lin, Liang Wu, Jie Lu, Yingdong Zhang, Jingping Shi, Angiotensin II triggers autophagy and apoptosis in PC12 cell line: An in vitro

- Alzheimer's disease model, *Brain Research*, Volume 1718, 2019, Pages 46-52, ISSN 0006-8993, <https://doi.org/10.1002/hep.510240425>
111. Miranda, A.S. De, Rodrigues, D.H., Vieira, L.B., Lima, C.X., Rachid, M.A., Vieira, P., Vidigal, T., Gomez, M.V., 2010. A thioacetamide-induced hepatic encephalopathy model in C57BL/6 mice A behavioral and neurochemical study 68, 597–602.
  112. Miranda, Aline Silva de, et al. "A thioacetamide-induced hepatic encephalopathy model in C57BL/6 mice: a behavioral and neurochemical study." *Arquivos de neuro-psiquiatria* 68 (2010): 597-602.
  113. Mohamed I. Elsaid, Vinod K. Rustgi, *Epidemiology of Hepatic Encephalopathy, Clinics in Liver Disease*, Volume 24, Issue 2, 2020, Pages 157-174, ISSN 1089-3261, ISBN 9780323683661, <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2019.05.002>
  114. Montagnese, S., Bajaj, J.S. Impact of Hepatic Encephalopathy in Cirrhosis on Quality-of-Life Issues. *Drugs* 79 (Suppl 1), 11–16 (2019). <https://doi.org/10.1007/s40265-018-1019-y>
  115. Najjar S, Najjar A, Chong DJ, Pramanik BK, Kirsch C, Kuzniecky RI, Pacia SV, Azhar S. Central nervous system complications associated with SARS-CoV-2 infection: integrative concepts of pathophysiology and case reports. *J Neuroinflammation*. 2020 6;17(1):231. doi: 10.1186/s12974-020-01896-0
  116. Naveen Jayaprakash, Weiguo Song, Viktor Toth, Avantika Vardhan, Todd Levy, Jacquelyn Tomasio, Khaled Qanud, Ibrahim Mughrabi, Yao-Chuan Chang, Moontahinaz Rob, Anna Daytz, Adam Abbas, Zeinab Nassrallah, Bruce T. Volpe, Kevin J. Tracey, Yousef Al-Abed, Timir Datta-Chaudhuri, Larry Miller, Mary F. Barbe, Sunhee C. Lee, Theodoros P. Zanos, Stavros Zanos, Organ- and function-specific anatomical organization of vagal fibers supports fascicular vagus nerve stimulation, *Brain Stimulation*, Volume 16, Issue 2, 2023, Pages 484-506, ISSN 1935-861X, <https://doi.org/10.1016/j.brs.2023.02.003>.
  117. Nehme A, Zouein FA, Zayeri ZD, Zibara K. An Update on the Tissue Renin Angiotensin System and Its Role in Physiology and Pathology. *J Cardiovasc Dev Dis*. 2019 Mar 29;6(2):14. doi: 10.3390/jcdd6020014. PMID: 30934934; PMCID: PMC6617132.
  118. Nevzorova, Yulia A., et al. "Animal models for liver disease—a practical approach for translational research." *Journal of hepatology* 73.2 (2020): 423-440.
  119. Newsholme, P., Procopio, J., Lima, M. M. R., Pithon-Curi, T. C., & Curi, R. (2003). *Glutamine and glutamate?their central role in cell metabolism and function. Cell Biochemistry and Function*, 21(1), 1–9. doi:10.1002/cbf.1003 10.1002/cbf.1003
  120. Ning Quan, William A. Banks, Brain-immune communication pathways, *Brain, Behavior, and Immunity*, Volume 21, Issue 6, 2007, Pages 727-735, ISSN 0889-1591, <https://doi.org/10.1016/j.cld.2020.01.001>

121. Nishio T, Taura K, Iwaisako K, Koyama Y, Tanabe K, Yamamoto G, Okuda Y, Ikeno Y, Yoshino K, Kasai Y, Okuno M, Seo S, Sakurai T, Asagiri M, Hatano E, Uemoto S. Hepatic vagus nerve regulates Kupffer cell activation via  $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine receptor in nonalcoholic steatohepatitis. *J Gastroenterol*. 2017 Aug;52(8):965-976. doi: 10.1007/s00535-016-1304-z. Epub 2017 Jan 2. PMID: 28044208.
122. Norenberg, M. D., Huo, Z., Neary, J. T., & Roig-Cantesano, A. (1997). *The glial glutamate transporter in hyperammonemia and hepatic encephalopathy: Relation to energy metabolism and glutamatergic neurotransmission*. *Glia*, 21(1), 124–133. doi:10.1002/(sici)1098-1136(199709)21:1<124::aid-glia14>3.0.co;2-u
123. O'BRIEN, P. J. et al. Advantages of glutamate dehydrogenase as a blood biomarker of acute hepatic injury in rats. *Laboratory animals*, v. 36, n. 3, p. 313-321, 2002.
124. Oliveira NK, de Brito Toscano EC, Silva Oliveira BD, Dias Lima LC, Simões E Silva AC, de Miranda AS, Teixeira AL, Rachid MA. Modified Levels of Renin Angiotensin Related Components in the Frontal Cortex and Hippocampus were Associated with Neuroinflammation and Lower Neuroprotective Effects of NGF During Acute Hepatic Encephalopathy in Mice. *Protein Pept Lett*. 2022;29(12):1042-1050. doi: 10.2174/0929866529666220825150025. PMID: 36028967.
125. Pathogenesis of Hepatic Encephalopathy in Acute Liver Failure. (2003). *Seminars in Liver Disease*, 23(3), 259–270. doi:10.1055/s-2003-4264410.1055/s-2003-42644
126. Paul M, Poyan Mehr A, Kreutz R. Physiology of local renin-angiotensin systems. *Physiol Rev*. 2006 Jul;86(3):747-803. doi: 10.1152/physrev.00036.2005. PMID: 16816138
127. Popek M, Bobula B, Orzeł-Gajowik K, Zielińska M. The Effect of TGF- $\beta 1$  Reduced Functionality on the Expression of Selected Synaptic Proteins and Electrophysiological Parameters: Implications of Changes Observed in Acute Hepatic Encephalopathy. *Int J Mol Sci*. 2022 Jan 19;23(3):1081. doi: 10.3390/ijms23031081. PMID: 35163004; PMCID: PMC8835518.
128. Prathab Balaji, S., Vijay Chand, C., Justin, A., & Ramanathan, M. (2015). *Telmisartan mediates anti-inflammatory and not cognitive function through PPAR- $\gamma$  agonism via SARM and MyD88 signaling*. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 137, 60–68. doi:10.1016/j.pbb.2015.08.007 10.1016/j.pbb.2015.08.007
129. Quan W, Xu CS, Li XC, Yang C, Lan T, Wang MY, Yu DH, Tang F, Wang ZF, Li ZQ. Telmisartan inhibits microglia-induced neurotoxic A1 astrocyte conversion via PPAR $\gamma$ -mediated NF- $\kappa B$ /p65 degradation. *Int Immunopharmacol*. 2023 Oct;123:110761. doi: 10.1016/j.intimp.2023.110761. Epub 2023 Aug 5. PMID: 37544025.
130. Rachid MA, da Silva Camargos ER, Marzano LAS, da Silva Oliveira B, Ferreira RN, Martinelli PM, Teixeira AL, Miranda AS, Simões E Silva AC. Effect of blockade of nitric oxide in heart tissue levels of Renin Angiotensin System components in acute

- experimental Chagas disease. *Life Sci.* 2019;219:336-342. doi: 10.1016/j.lfs.2019.01.033.
131. Rajiv Jalan, Steven W.M. Olde Damink, Peter C. Hayes, Nicolaas E.P. Deutz, Alistair Lee, Pathogenesis of intracranial hypertension in acute liver failure: inflammation, ammonia and cerebral blood flow, *Journal of Hepatology*, Volume 41, Issue 4, 2004, Pages 613-620, ISSN 0168-8278, <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2004.06.011>.
  132. Rama Rao KV, Norenberg MD. Glutamine in the pathogenesis of hepatic encephalopathy: the trojan horse hypothesis revisited. *Neurochem Res.* 2014;39(3):593-8. doi: 10.1007/s11064-012-0955-2. Epub 2013 Jan 1. PMID: 23277414; PMCID: PMC4737090.
  133. Randle LE, Sathish JG, Kitteringham NR, Macdonald I, Williams DP, Park BK. alpha(1)-Adrenoceptor antagonists prevent paracetamol-induced hepatotoxicity in mice. *Br J Pharmacol.* 2008 Feb;153(4):820-30. doi: 10.1038/sj.bjp.0707620. Epub 2007 Dec 10. PMID: 18071297; PMCID: PMC2259197.
  134. Rasheed, Nora O. Abdel, and Weam W. Ibrahim. "Telmisartan neuroprotective effects in 3-nitropropionic acid Huntington's disease model in rats: Cross talk between PPAR- $\gamma$  and PI3K/Akt/GSK-3 $\beta$  pathway." *Life Sciences* 297 (2022): 120480.
  135. Riveros Gilardi, B., Muñoz López, J. I., Hernández Villegas, A. C., Garay Mora, J. A., Rico Rodríguez, O. C., Chávez Appendini, R., ... Higuera Calleja, J. A. (2019). *Types of Cerebral Herniation and Their Imaging Features. RadioGraphics, 39(6), 1598–1610.* doi:10.1148/rg.201919001810.1148/rg.2019190018
  136. Rocha, N.P., Simoes e Silva, A.C., Prestes, T.R.R., Feracin, V., Machado, C.A., Ferreira, R.N., Teixeira, A.L., de Miranda, A.S., 2018. RAS in the Central Nervous System: Potential Role in Neuropsychiatric Disorders. *Curr. Med. Chem.* 25, 3333–3352.
  137. Rodriguez-Pallares J, Parga JA, Joglar B, Guerra MJ, Labandeira-Garcia JL. Mitochondrial ATP-sensitive potassium channels enhance angiotensin-induced oxidative damage and dopaminergic neuron degeneration. Relevance for aging-associated susceptibility to Parkinson's disease. *Age (Dordr).* 2012 Aug;34(4):863-80. doi: 10.1007/s11357-011-9284-7. Epub 2011 Jun 29. PMID: 21713375; PMCID: PMC3682060.
  138. Roger F. Butterworth, Pathogenesis of Hepatic Encephalopathy and Brain Edema in Acute Liver Failure, *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*, Volume 5, Supplement 1, 2015, Pages S96-S103, ISSN 0973-6883, <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707620>
  139. Rogal, Shari S., et al. "AASLD Practice Guidance: palliative care and symptom-based management in decompensated cirrhosis." *Hepatology* 76.3 (2022): 819-853
  140. Royea J, Zhang L, Tong XK, Hamel E. Angiotensin IV Receptors Mediate the Cognitive and Cerebrovascular Benefits of Losartan in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *J Neurosci.* 2017 May 31;37(22):5562-5573. doi:

- 10.1523/JNEUROSCI.0329-17.2017. Epub 2017 May 5. PMID: 28476949; PMCID: PMC6596535.
141. Sørensen, Caspar Godthaab, et al. "Metronidazole-induced encephalopathy: a systematic review." *Journal of neurology* 267 (2020): 1-13.
  142. S.P. Bessman, A.N. Bessman. The cerebral and peripheral uptake of ammonia in liver disease with an hypothesis for the mechanism of hepatic coma
  143. Salmani H, Hosseini M, Baghcheghi Y, Moradi-Marjaneh R, Mokhtari-Zaer A. Losartan modulates brain inflammation and improves mood disorders and memory impairment induced by innate immune activation: The role of PPAR- $\gamma$  activation. *Cytokine*. 2020 Jan;125:154860. doi: 10.1016/j.cyto.2019.154860. Epub 2019 Sep 28. PMID: 31574424.
  144. Sampaio TB, Savall AS, Gutierrez MEZ, Pinton S. Neurotrophic factors in Alzheimer's and Parkinson's diseases: implications for pathogenesis and therapy. *Neural Regen Res*. 2017 Apr;12(4):549-557. doi: 10.4103/1673-5374.205084.
  145. Santos, R.A.S., Sampaio, W.O., Alzamora, A.C., Motta-Santos, D., Alenina, N., Bader, M., CampagnoleSanto, M.J., 2018. The ACE2/Angiotensin-(1-7)/Mas axis of the renin-angiotensin system: Focus on Angiotensin-(1-7). *Physiol. Rev.* 98, 505–553. <https://doi.org/10.1152/physrev.00023.2016>
  146. Sarishvili AG, Nikuradze nA, Gurtskaia TE, Devdariani MI, Tsintsadze TG. [Autoregulation of cerebral blood flow in condition of experimental hepatic encephalopathy]. *Georgian Med News*. 2007 Apr;(145):73-6. Russian. PMID: 17525506.
  147. Sathiya, Sekar, et al. "Telmisartan attenuates MPTP induced dopaminergic degeneration and motor dysfunction through regulation of  $\alpha$ -synuclein and neurotrophic factors (BDNF and GDNF) expression in C57BL/6J mice." *Neuropharmacology* 73 (2013): 98-110.
  148. Schaefer A, Journaux M, Mourabit HE, Mouri S, Wendum D, Lasnier E, Couraud PO, Housset C, Thabut D, Rudler M, Weiss N. A systemic mechanism of increased transendothelial migration of leukocytes through the blood-brain barrier in hepatic encephalopathy. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2022 Mar;46(3):101801. doi: 10.1016/j.clinre.2021.101801. Epub 2021 Sep 11. PMID: 34517149.
  149. Sepanlou, S. G., Safiri, S., Bisignano, C., Ikuta, K. S., Merat, S., Saberifiroozi, M., ... Abdoli, A. (2020). *The global, regional, and national burden of cirrhosis by cause in 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. The Lancet Gastroenterology & Hepatology*. doi:10.1016/s2468-1253(19)30349-8.10.1016/s2468-1253(19)30349-8
  150. Shawcross D, Jalan R. Dispelling myths in the treatment of hepatic encephalopathy. *Lancet*. 2005 Jan 29-Feb 4;365(9457):431-3. doi: 10.1016/S0140-6736(05)17832-5. PMID: 15680459.

151. Shawcross DL. The changing face of hepatic encephalopathy: A projection for the next 5 years. *Clin Liver Dis.* 2016;8:156–159.
152. Shulyatnikova, T.; Tumanskyi, V.; Hayden, M.R. Reactive Microgliosis in Sepsis-Associated and Acute Hepatic Encephalopathies: An Ultrastructural Study. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 14455. <https://doi.org/10.3390/ijms232214455>
153. Skaper SD. The neurotrophin family of neurotrophic factors: an overview. *Methods Mol Biol.* 2012;846:1-12. doi: 10.1007/978-1-61779-536-7\_1. PMID: 22367796.
154. Song J, Sun H, Jing J, Carlos L, Chao L, Cash SS, Zhang R, Westover MB. A Mean Field Model of Acute Hepatic Encephalopathy. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc.* 2018 Jul;2018:2366-2369. doi: 10.1109/EMBC.2018.8512786. PMID: 30440882; PMCID: PMC7088433.
155. Spanaki, C., Plaitakis, A. The Role of Glutamate Dehydrogenase in Mammalian Ammonia Metabolism. *Neurotox Res* 21, 117–127 (2012). <https://doi.org/10.1007/s12640-011-9285-4>
156. Sparks MA, Crowley SD, Gurley SB, Mirotso M, Coffman TM. Classical Renin-Angiotensin system in kidney physiology. *Compr Physiol.* 2014 Jul;4(3):1201-28. doi: 10.1002/cphy.c130040. PMID: 24944035; PMCID: PMC4137912.
157. Stepanova M, Mishra A, Venkatesan C, Younossi ZM. In-hospital mortality and economic burden associated with hepatic encephalopathy in the United States from 2005 to 2009. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2012 Sep;10(9):1034-41.e1. doi: 10.1016/j.cgh.2012.05.016. Epub 2012 May 27. PMID: 22642955.
158. Strauss G, Hansen BA, Kirkegaard P, Rasmussen A, Hjortrup A, Larsen FS. Liver function, cerebral blood flow autoregulation, and hepatic encephalopathy in fulminant hepatic failure. *Hepatology.* 1997 Apr;25(4):837-9. doi: 10.1002/hep.510250409. PMID: 9096585.
159. Strauss GI, Hansen BA, Herzog T, Larsen FS. Cerebral autoregulation in patients with end-stage liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2000 Jul;12(7):767-71. doi: 10.1097/00042737-200012070-00009. PMID: 10929904.
160. Sumners, Colin, et al. "Protective arms of the renin–angiotensin-system in neurological disease." *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 40.8 (2013): 580-588.
161. Thapa, B.R., Walia, A. Liver function tests and their interpretation. *Indian J Pediatr* 74, 663–671 (2007). <https://doi.org/10.1007/s12098-007-0118-7>
162. The renin-angiotensin system depressor axis and brain disorders: a translational approach. *Clinical science.* <https://doi.org/10.1042/CS20180189>
163. Thumburu, K. K., Dhiman, R. K., Vasishta, R. K., Chakraborti, A., Butterworth, R. F., Beauchesne, E., ... Chawla, Y. (2013). *Expression of astrocytic genes coding for*

*proteins implicated in neural excitation and brain edema is altered after acute liver failure. Journal of Neurochemistry, 128(5), 617–627. doi:10.1111/jnc.12511*

164. Tiwari RK, Moin A, Rizvi SMD, Shahid SMA, Bajpai P. Modulating neuroinflammation in neurodegeneration-related dementia: can microglial toll-like receptors pull the plug? *Metab Brain Dis.* 2021 Jun;36(5):829-847. doi: 10.1007/s11011-021-00696-6. Epub 2021 Mar 11. PMID: 33704660.
165. Tomasz Matys, MD, PhD, FRCR Daniel J. Scoffings, MBBS, MRCP, FRCR Tarik F. Massoud, MD, PhD, FRCR. Anatomy of the Calvaria and Skull Base . VOLUME 32, ISSUE 3, P447-462, AUGUST 2022. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.nic.2022.04.011>.
166. Tranah, T.H., Vijay, G.K.M., Ryan, J.M. et al. Systemic inflammation and ammonia in hepatic encephalopathy. *Metab Brain Dis* 28, 1–5 (2013). <https://doi.org/10.1007/s11011-012-9370-2>
167. Tsukuda K, Mogi M, Iwanami J, Min LJ, Sakata A, Jing F, Iwai M, Horiuchi M. Cognitive deficit in amyloid-beta-injected mice was improved by pretreatment with a low dose of telmisartan partly because of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activation. *Hypertension.* 2009 Oct;54(4):782-7. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.136879. Epub 2009 Jul 27. PMID: 19635982.
168. Villapol S, Saavedra JM. Neuroprotective effects of angiotensin receptor blockers. *Am J Hypertens.* 2015 Mar;28(3):289-99. doi: 10.1093/ajh/hpu197. Epub 2014 Oct 31. PMID: 25362113.
169. Villapol S, Saavedra JM. Neuroprotective effects of angiotensin receptor blockers. *Am J Hypertens.* 2015 Mar;28(3):289-99. doi: 10.1093/ajh/hpu197. Epub 2014 Oct 31. PMID: 25362113.
170. Villapol, Sonia, et al. "Candesartan, an angiotensin II AT1-receptor blocker and PPAR- $\gamma$  agonist, reduces lesion volume and improves motor and memory function after traumatic brain injury in mice." *Neuropsychopharmacology* 37.13 (2012): 2817-2829.
171. Vilstrup H, Amodio P, Bajaj J, Cordoba J, Ferenci P, Mullen KD, Weissenborn K, Wong P. Hepatic encephalopathy in chronic liver disease: 2014 Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases and the European Association for the Study of the Liver. *Hepatology.* 2014 Aug;60(2):715-35. doi: 10.1002/hep.27210. Epub 2014 Jul 8. PMID: 25042402.
172. Vilstrup H, Amodio P, Bajaj J, Cordoba J, Ferenci P, Mullen KD, Weissenborn K, Wong P. Hepatic encephalopathy in chronic liver disease: 2014 Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases and the European Association for the Study of the Liver. *Hepatology.* 2014 Aug;60(2):715-35. doi: 10.1002/hep.27210. Epub 2014 Jul 8. PMID: 25042402.
173. W F Caspary, Physiology and pathophysiology of intestinal absorption, *The American Journal of Clinical Nutrition*, Volume 55, Issue 1, January 1992, Pages 299S–308S, 176.<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.18-06-02247.1998>

174. Wang, Juan, et al. "Telmisartan ameliorates glutamate-induced neurotoxicity: roles of AT1 receptor blockade and PPAR $\gamma$  activation." *Neuropharmacology* 79 (2014): 249-261.
175. Weiss, N., Jalan, R. & Thabut, D. Understanding hepatic encephalopathy. *Intensive Care Med* 44, 231–234 (2018). <https://doi.org/10.1007/s00134-017-4845-6>
176. Wijdicks, E.F.M. Brain Swelling in Acute Liver Failure: From an Autopsy “Artifact” to a Treatable Complication. *Neurocrit Care* (2022). <https://doi.org/10.1007/s12028-022-01445-y>
177. William Bernal, Nicholas Murphy, Sarah Brown, Tony Whitehouse, Peter Nissen Bjerring, John Hauerberg, Hans J. Frederiksen, Georg Auzinger, Julia Wendon, Fin Stolze Larsen, A multicentre randomized controlled trial of moderate hypothermia to prevent intracranial hypertension in acute liver failure, *Journal of Hepatology*, Volume 65, Issue 2, 2016, Pages 273-279, ISSN 0168-8278, <https://doi.org/10.1002/hep.27210>.
178. Wilma Friedman, Chapter 29 - Growth Factors, Editor(s): Scott T. Brady, George J. Siegel, R. Wayne Albers, Donald L. Price, *Basic Neurochemistry (Eighth Edition)*, Academic Press, 2012, Pages 546-557, ISBN 9780123749475, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374947-5.00029-8>.
179. Xiao, Liang, Karla KV Haack e Irving H. Zucker. "A angiotensina II regula a ECA e a ECA2 em neurônios por meio da proteína quinase ativada por mitogênio p38 e pela sinalização de quinase 1/2 regulada por sinal extracelular." *American Journal of Physiology-Cell Physiology* 304.11 (2013): C1073-C1079.
180. Yonatan Serlin, Ilan Shelef, Boris Knyazer, Alon Friedman, Anatomy and physiology of the blood–brain barrier, *Seminars in Cell & Developmental Biology*, Volume 38, 2015, Pages 2-6, ISSN 1084-9521, <https://doi.org/10.1016/j.semcd.2015.01.002>.
181. Yurdaydin, C., Hörtnagl, H., Steindl, P., Zimmermann, C., Pifl, C., Singer, E. A., ... Ferenci, P. (1990). *Increased serotonergic and noradrenergic activity in hepatic encephalopathy in rats with thioacetamide—induced acute liver failure. Hepatology*, 12(4), 695–700. doi:10.1002/hep.1840120413
182. Zaika, Oleg, et al. "A angiotensina II regula a excitabilidade neuronal através da modulação dependente de fosfatidilinositol 4, 5-bifosfato dos canais K<sup>+</sup> Kv7 (tipo M)". *O Jornal de fisiologia* 575.1 (2006): 49-67.
183. Zhang, Yuan, et al. "Hepatic branch vagotomy modulates the gut-liver-brain axis in murine cirrhosis." *Frontiers in Physiology* 12 (2021): 702646.
184. Zielińska, M., Popek, M. & Albrecht, J. Roles of Changes in Active Glutamine Transport in Brain Edema Development During Hepatic Encephalopathy: An Emerging Concept. *Neurochem Res* 39, 599–604 (2014). <https://doi.org/10.1007/s11064-013-1141-x>

185. Zimmermann C, Ferenci P, Pifl C, Yurdaydin C, Ebner J, Lassmann H *et al.* (1989). Hepatic encephalopathy in thioacetamide-induced acute liver failure in rats: characterization of an improved model and study of amino acid-ergic neurotransmission. *Hepatology* 9: 594–601.
186. Yang, L.L. (2021). Anatomy and Physiology of the Liver. In: Milan, Z., Goonasekera, C. (eds) *Anesthesia for Hepatico-Pancreatic-Biliary Surgery and Transplantation*. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-51331-3\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-030-51331-3_2)
187. Abiodun, O. A., & Ola, M. S. (2020). *Role of brain renin angiotensin system in neurodegeneration: An update. Saudi Journal of Biological Sciences*. doi:10.1016/j.sjbs.2020.01.02610.1016/j.sjbs.2020.01.026
188. Toma, D., Lazar, O., Bontas, E. (2020). Acute Liver Failure. In: Radu-Ionita, F., Pysopoulos, N., Jinga, M., Tintoiu, I., Sun, Z., Bontas, E. (eds) *Liver Diseases*. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-24432-3\\_32](https://doi.org/10.1007/978-3-030-24432-3_32)
189. Chayanupatkul, M., & Schiano, T. D. (2019). Acute Liver Failure Secondary to Drug-Induced Liver Injury. *Clinics in Liver Disease*. doi:10.1016/j.cld.2019.09.005
190. Gironacci, M. M., Vicario, A., Cerezo, G., & Silva, M. G. (2018). *The depressor axis of the renin–angiotensin system and brain disorders: a translational approach. Clinical Science, 132(10), 1021–1038*. doi:10.1042/cs20180189
191. Jackson, L., Eldahshan, W., Fagan, S., & Ergul, A. (2018). *Within the Brain: The Renin Angiotensin System. International Journal of Molecular Sciences, 19(3), 876*. doi:10.3390/ijms1903087610.3390/ijms19030876
192. Bittencourt, P. L., Farias, A. Q., & Couto, C. A. (2016). *Liver Transplantation in Brazil. Liver Transplantation, 22(9), 1254–1258*. doi:10.1002/lt.24487
193. Lemberg, A., & Alejandra Fernández, M. (2009). *Hepatic encephalopathy, ammonia, glutamate, glutamine and oxidative stress. Annals of Hepatology, 8(2), 95–102*. doi:10.1016/s1665-2681(19)31785-510.1016/s1665-2681(19)31785-5
194. Schmidt, L. E., & Larsen, F. S. (2006). *Prognostic implications of hyperlactatemia, multiple organ failure, and systemic inflammatory response syndrome in patients with acetaminophen-induced acute liver failure\*. Critical Care Medicine, 34(2), 337–343*. doi:10.1097/01.ccm.0000194724.70031.b610.1097/01.ccm.0000194724.70031.b6
195. Corvi, M. M., Soltys, C.-L. M., & Berthiaume, L. G. (2001). *Regulation of Mitochondrial Carbamoyl-phosphate Synthetase I Activity by Active Site Fatty Acylation. Journal of Biological Chemistry, 276(49), 45704–45712*. doi:10.1074/jbc.m102766200 10.1074/jbc.m102766200
196. Schliess, F., & Häussinger, D. (2001). *Hepatic encephalopathy and nitric oxide. Journal of Hepatology, 34(4), 610–612*. doi:10.1016/s0168-8278(01)00051-4 10.1016/s0168-8278(01)00051-4

197. Rolando, N. (2000). *The Systemic Inflammatory Response Syndrome in Acute Liver Failure*. *Hepatology*, 32(4), 734–739.  
doi:10.1053/jhep.2000.17687 10.1053/jhep.2000.17687
198. Michalak, A. (1996). *Neuroactive amino acids and glutamate (NMDA) receptors in frontal cortex of rats with experimental acute liver failure*. *Hepatology*, 24(4), 908–913.  
doi:10.1053/jhep.1996.v24.pm0008855196 10.1053/jhep.1996.v24.pm0008855196
199. Michalak, A. (1996). *Neuroactive amino acids and glutamate (NMDA) receptors in frontal cortex of rats with experimental acute liver failure*. *Hepatology*, 24(4), 908–913.  
doi:10.1053/jhep.1996.v24.pm0008855196 10.1053/jhep.1996.v24.pm0008855196
200. Michalak, A. (1996). *Neuroactive amino acids and glutamate (NMDA) receptors in frontal cortex of rats with experimental acute liver failure*. *Hepatology*, 24(4), 908–913. doi:10.1053/jhep.1996.v24.pm0008855196
201. Jungermann, K., & Katz, N. (1989). *Functional specialization of different hepatocyte populations*. *Physiological Reviews*, 69(3), 708–764.  
doi:10.1152/physrev.1989.69.3.708 10.1152/physrev.1989.69.3.708
202. Vagotomy Blocks the Induction of Interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) mRNA in the Brain of Rats in Response to Systemic IL-1 $\beta$  Michael K. Hansen, Ping Taishi, Zutang Chen, James M. Krueger *Journal of Neuroscience* 15 March 1998, 18 (6) 2247-2253; DOI: 10.1523/JNEUROSCI.18-06-02247.1998
203. Bémour C, Qu H, Desjardins P, Butterworth RF. IL-1 or TNF receptor gene deletion delays onset of encephalopathy and attenuates brain edema in experimental acute liver failure. *Neurochem Int*. 2010;56:213–215.
204. Functions of the two glutamate transporters GLAST and GLT-1 in the retina Takayuki Harada, Chikako Harada, Masahiko Watanabe, +7, and Kohichi Tanaka Authors Info & Affiliations April 14, 1998 95 (8) 4663-4666 <https://doi.org/10.1073/pnas.95.8.4663>
205. LENKEI, Z. et al. Expression of angiotensin type-1 (AT1) and type-2 (AT2) receptor mRNAs in the adult rat brain: a functional neuroanatomical review. **Frontiers in neuroendocrinology**, v. 18, n. 4, p. 383-439, 1997.
206. Saavedra JM. Angiotensin II AT(1) receptor blockers as treatments for inflammatory brain disorders. *Clin Sci (Lond)*. 2012 Nov;123(10):567-90. doi: 10.1042/CS20120078. PMID: 22827472; PMCID: PMC3501743.
207. Shao Y, Saredy J, Yang WY, Sun Y, Lu Y, Saaoud F, Drummer C 4th, Johnson C, Xu K, Jiang X, Wang H, Yang X. Vascular Endothelial Cells and Innate Immunity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2020 Jun;40(6):e138-e152. doi: 10.1161/ATVBAHA.120.314330. Epub 2020 May 27. PMID: 32459541; PMCID: PMC7263359.

208. Cooper AJL, Plum F. 1987. Biochemistry and physiology of brain ammonia. *Physiol Rev* 67: 440–519.
209. Jiang, T., Gao, L., Guo, J., Lu, J., Wang, Y., Zhang, Y., 2012. Suppressing inflammation by inhibiting the NF-IB pathway contributes to the neuroprotective effect of angiotensin-(1-7) in rats with permanent cerebral ischaemia. *Br. J. Pharmacol.* 167, 1520–1532. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2012.02105.x>
210. Jiang, T., Gao, L., Guo, J., Lu, J., Wang, Y., Zhang, Y., 2012. Suppressing inflammation by inhibiting the NF-IB pathway contributes to the neuroprotective effect of angiotensin-(1-7) in rats with permanent cerebral ischaemia. *Br. J. Pharmacol.* 167, 1520–1532. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2012.02105.x>
211. MORILES, Kevin E.; AZER, Samy A. Alanina amino transferase. 2020.
212. *Front. Aging Neurosci.*, 04 February 2020 Sec. Neuroinflammation and Neuropathy Volume 12 - 2020 | <https://doi.org/10.3389/fnagi.2020.00003>