

Estudo dos Efeitos do 17 β -Estradiol sobre a Microcirculação em Modelo de Morte Encefálica em Ratos Machos

ROBERTA FIGUEIREDO VIEIRA

Orientadora: Profa. Dra. Paulina Sannomiya

Coorientadora: Dra. Ana Cristina Breithaupt-Faloppa

Programa de Cirurgia Torácica e Cardiovascular

RESUMO

Vieira RF. *Estudo dos efeitos do 17 β -estradiol sobre a microcirculação em modelo de morte encefálica em ratos machos [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2018.*

Introdução: A morte encefálica (ME) associa-se à instabilidade hemodinâmica, disfunção microvascular e inflamação, comprometendo a viabilidade dos órgãos para o transplante. O hormônio 17 β -estradiol caracteriza-se por seus efeitos protetores vasculares e propriedades antiinflamatórias. **Objetivo:** Neste estudo investigou-se os efeitos do 17 β -estradiol, como modulador da microcirculação, em modelo de indução rápida de morte encefálica em ratos machos. **Métodos:** Ratos Wistar machos foram submetidos à indução rápida de morte encefálica através da insuflação intracraniana do cateter de Fogarty. Os animais foram randomizados em 3 grupos: ratos falso-operados, apenas trepanados (FO, n=11); ratos submetidos à ME (ME, n=11); ratos tratados com 17 β -estradiol (280 μ g/Kg, iv) 60 minutos após a indução da ME (E2, n=11). Os experimentos foram realizados decorridos 180 minutos após a ME. A perfusão e o fluxo sanguíneo na microcirculação mesentérica foram avaliados através das técnicas de microscopia intravital e fluxometria a laser. A expressão gênica relativa da sintase endotelial do óxido nítrico (eNOS) e da endotelina-1, no mesentério e pulmão, foi avaliada por técnica de PCR (polymerase chain reaction) em tempo real. A expressão proteica de eNOS, endotelina-1, P-selectina, molécula de adesão intercelular (ICAM)-1, molécula de adesão vascular (VCAM)-1 e molécula de adesão da plaqueta/célula endotelial (PECAM)-1 foi determinada por técnica de

imunohistoquímica. As alterações histopatológicas pulmonares foram analisadas por técnica histomorfométrica. A expressão da sintase induzível do óxido nítrico (iNOS) no pulmão foi determinada por técnica de imunohistoquímica. Citocinas, quimiocinas, corticosterona e 17β -estradiol foram quantificados por enzima-imunoensaio (ELISA). **Resultados:** O grupo ME apresentou redução da porcentagem de microvasos perfundidos ($<30\ \mu\text{m}$) no mesentério comparado ao grupo FO e ao grupo E2, decorridos 180 minutos ($p=0,0117$), sem alterações no fluxo sanguíneo mesentérico ($p=0,3692$). Houve aumento na expressão proteica ($p<0,0001$) e gênica ($p=0,0009$) de eNOS no mesentério no grupo E2. Não houve diferenças na expressão proteica e gênica da endotelina-1 entre os grupos. A expressão de ICAM-1 nos microvasos mesentéricos aumentou no grupo ME ($p<0,0001$) e a expressão de VCAM-1 foi reduzida no grupo E2 ($p=0,0008$). Não houve diferenças significativas na expressão de P-selectina entre os grupos ($p=0,0675$). As análises histopatológicas do pulmão demonstraram aumento do edema ($p<0,0001$) e hemorragia ($p<0,0001$) no grupo ME comparado aos grupos FO e E2, sem diferenças no número de células inflamatórias (células polimorfonucleares: $p=0,4033$; células linfomononucleares: $p=0,5003$). A expressão de iNOS no tecido pulmonar aumentou no grupo ME comparado aos grupos FO e E2 ($p<0,0001$). A expressão proteica de eNOS no pulmão diminuiu nos ratos ME e aumentou nos ratos E2 ($p=0,0002$). A expressão proteica de endotelina-1 no pulmão assim como a expressão gênica pulmonar de eNOS e endotelina-1 não diferiram entre os grupos. Com relação à expressão de moléculas de adesão na microcirculação pulmonar observou-se que os níveis de ICAM-1 não diferiram entre os grupos ($p=0,4550$); os níveis de VCAM-1 reduziram-se no grupo E2 ($p<0,0001$); níveis de PECAM-1 foram reduzidos nos ratos ME ($p=0,0037$). Observou-se aumento das concentrações séricas de TNF- α ($p=0,0004$) e redução de VEGF sérico ($p=0,0380$) nos ratos ME. Houve redução das concentrações séricas de CINC-1 ($p=0,0020$) e aumento de MCP-1 ($p=0,0094$) no grupo E2. **Conclusão:** O tratamento com o 17β -estradiol foi efetivo em restaurar a perfusão mesentérica e reduzir a lesão pulmonar associadas à morte encefálica. Sugere-se que o estradiol, como

modulador microcirculatório, possa contribuir para a preservação dos órgãos destinados ao transplante.

Descritores: morte encefálica; estradiol; microcirculação; mesentério; pulmão; inflamação; ratos Wistar