

Interação da atividade autonômica e resposta imunomoduladora na fase aguda do infarto do miocárdio experimental

JURACI APARECIDA ROCHA

Orientadora: Prof^a Dr^a Fernanda Marciano Consolim-Colombo

Programa de Cardiologia

Resumo

Rocha JA. Interação da atividade autonômica e resposta imunomoduladora na fase aguda do infarto do miocárdio experimental [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2013.

Introdução: A atuação do sistema nervoso parassimpático em células imunes é conhecida como “Via Anti-inflamatória Colinérgica”. Trabalhos prévios demonstraram que a estimulação vagal reduz a inflamação e melhora a sobrevida em modelos experimentais com sepse. Neste estudo avaliamos se o uso do anticolinesterásico piridostigmina: altera o número de linfócitos T (CD4+ e CD8+) convencionais (CD25+Foxp3-) e reguladores (CD25+Foxp3+) no sangue periférico, no baço e no miocárdio; modifica a concentração de citocinas (interleucina 1, interleucina 6, TNF α) no miocárdio; e influencia a função ventricular após infarto agudo do miocárdio experimental (IAM) em ratos. **Métodos:** Utilizamos ratos machos adultos da linhagem Wistar, com peso variando entre 200 e 250 g, divididos em 3 grupos de 20 animais cada: grupo controle (GC), grupo infartado sem tratamento (IC) e grupo infartado tratado com piridostigmina (IP). O infarto agudo do miocárdio (IAM) foi obtido com a técnica da ligadura da artéria coronária esquerda, e o grupo IP recebeu piridostigmina na dose de 40mg/kg/dia na água de beber, iniciada 4 dias antes do IAM. Todos os animais foram submetidos à canulação da artéria femoral no dia seguinte ao IAM para registro das curvas de pressão arterial, e posterior análise dos componentes da variabilidade da frequência cardíaca (VFC), domínio do tempo (SDNN e RMSSD) e da frequência (componentes LF e HF); o estudo ecocardiográfico foi realizado no segundo dia pós IAM. No terceiro dia pós

IAM, os ratos foram divididos em subgrupos de 10 animais, e sacrificados de forma específica para coleta de materiais: 500 µl de sangue periférico e baço fresco para realização da técnica de citometria de fluxo; ventrículo esquerdo para dosagem de citocinas pela técnica de ELISA; e ventrículo esquerdo para realização de imunohistoquímica. Foram usadas as técnicas padronizadas e de uso corrente nos laboratórios. Os resultados foram avaliados por análise de variância (ANOVA) multifatorial, usando o programa GraphPad Prism com teste post hoc de Tukey. **Resultados:** O grupo IC comparado ao grupo controle apresentou queda significativa da pressão arterial e aumento da frequência cardíaca. O grupo IP, comparado ao grupo IC, apresentou maior atividade vagal, caracterizada pela significativa redução da FC e aumento da VFC (SDNN, $9,2 \pm 1,5$ vs $5,2 \pm 0,5$, $p < 0,05$). Os parâmetros ecocardiográficos avaliados evidenciaram presença de área hipo/acinética e redução da fração de ejeção do ventrículo esquerdo nos grupos infartados, de igual magnitude. Com relação ao número de linfócitos T, verificamos que o grupo IC, comparado ao grupo controle, apresentou número significativamente menor de linfócitos reguladores (CD25+Foxp3+) no sangue periférico (CD4+: $63,5 \pm 1,4$ vs $70,6 \pm 3,2\%$, e CD8+: $68,3 \pm 1,9$ vs $76,1 \pm 2,8\%$). O grupo IP, comparado ao grupo IC, apresentou significativa redução do número de linfócitos T convencionais no sangue periférico (respectivamente, CD4+: $1,5 \pm 0,2$ vs $2,2 \pm 0,2\%$; CD8+: $1,1 \pm 0,1$ vs $1,8 \pm 0,9\%$), e no baço houve redução somente do tipo CD4+ (respectivamente, $1,4 \pm 0,2$ vs $2,2 \pm 0,2\%$), com aumento do tipo CD8+ (respectivamente, $1,2 \pm 0,1$ vs $0,7 \pm 0,1\%$). O grupo IP também apresentou significativo aumento de linfócitos reguladores (CD25+Foxp3+) no sangue periférico (respectivamente, CD4+: $76,5 \pm 2,9$ vs $63,5 \pm 1,4\%$; CD8+: $75,1 \pm 1,0$ vs $68,3 \pm 1,9\%$), e não apresentou diferenças significativas no número dessas células no baço. O grupo IC comparado ao grupo controle apresentou significativa marcação de anticorpos para CD4 e CD8 nas áreas infartada e peri-infarto por meio da análise de imunohistoquímica. O grupo IP comparado ao grupo IC, apresentou significativo aumento de CD4+ (respectivamente, $20,9 \pm 6,5$ vs $12,2 \pm 2,5$, $p < 0,05$) e de CD8+ (respectivamente, $17,9 \pm 2,8$ vs $5,8 \pm 1,1\%$, $p < 0,05$) na área infartada; observamos redução significativa na marcação de CD4+

(respectivamente, $6,0 \pm 1,2$ vs $12,5 \pm 4,8$) na área peri-infarto, sem alterações significativas na marcação de CD8+.

Conclusão: O tratamento com piridostigmina em ratos com IAM está associado a aumento da atividade vagal, aumento do número de linfócitos reguladores (CD25+Foxp3+) no sangue periférico e maior mobilização de células inflamatórias (CD4+ e CD8+) para a área infartada no miocárdio, com redução de CD4+ na área peri-infarto, no entanto sem mudança de CD8+ nesta região. A mudança do perfil inflamatório decorrente do aumento da atividade vagal na fase aguda do IAM, pode ser um possível mecanismo para explicar os benefícios detectados no remodelamento cardíaco após o IAM, em especial, na redução da área de lesão e na melhora da função ventricular, com uso de anticolinesterásicos.

Descritores: Infarto do Miocárdio; Estimulação nervo vago; Linfócitos-T; Neuroimunomodulação; Piridostigmina; Via Anti-inflamatória Colinérgica.