

Estímulo secundário nas vias aéreas como fator modulador da inflamação pulmonar ocasionada pelo trauma esplâncnico

Aluno: Alexandre Learth Soares

Orientador: Prof. Dr. Wothan Tavares de Lima,

Laboratório de Farmacologia das Vias Áreas e Endócrina, Depto. Farmacologia, ICB-US

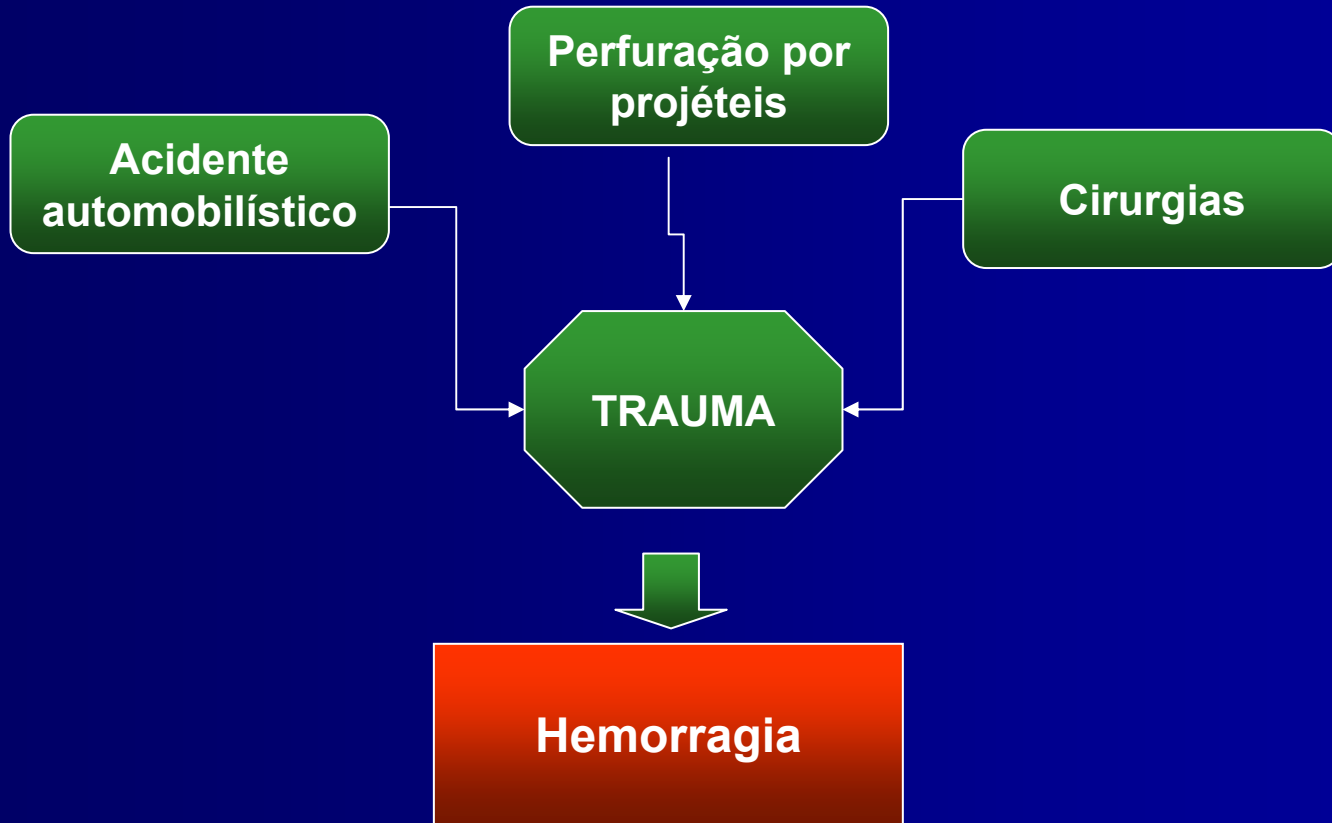
Colaboradores: Prof. Dr. Bernardo Boris Vargafitig, Depto. Farmacologia

Prof. Dr. Momtchilo Russo, Depto. Imunologia

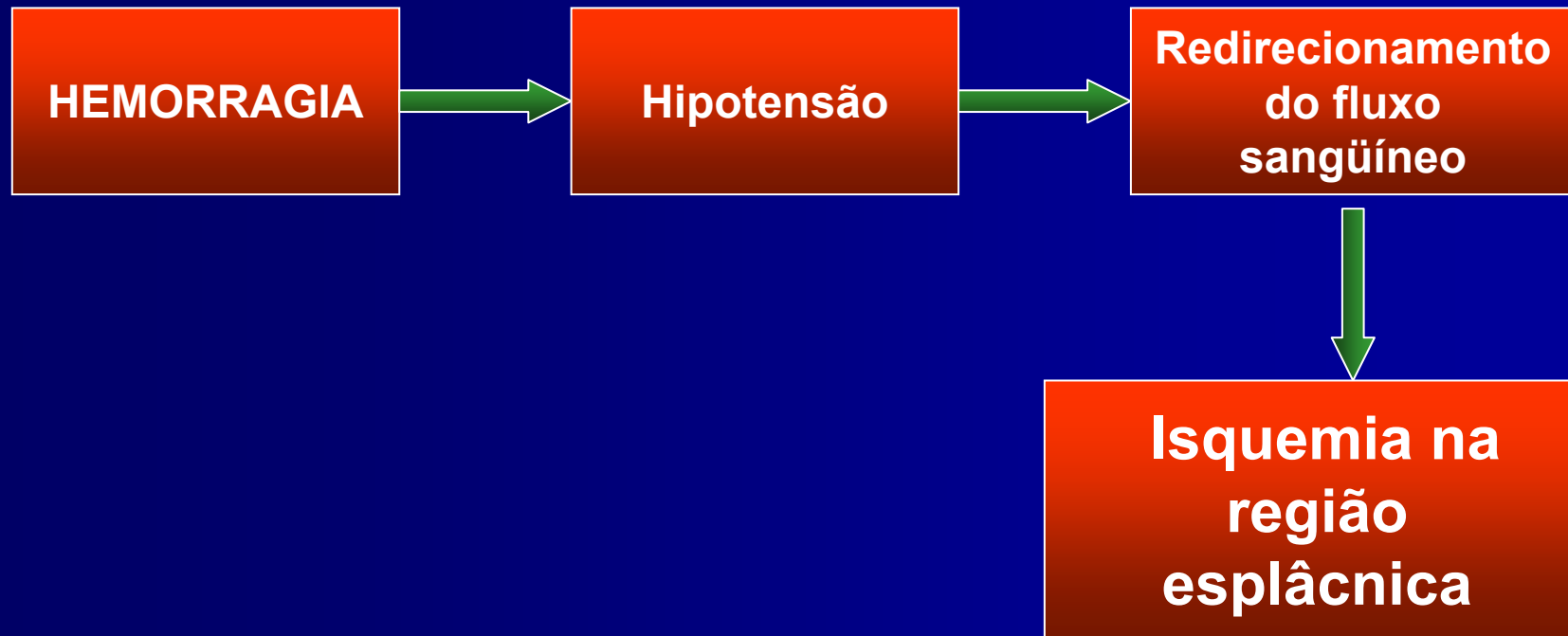
Trauma

- O Trauma é a terceira causa de mortes na população
- Primeira causa de mortes na faixa etária próxima aos quarenta anos

Trauma

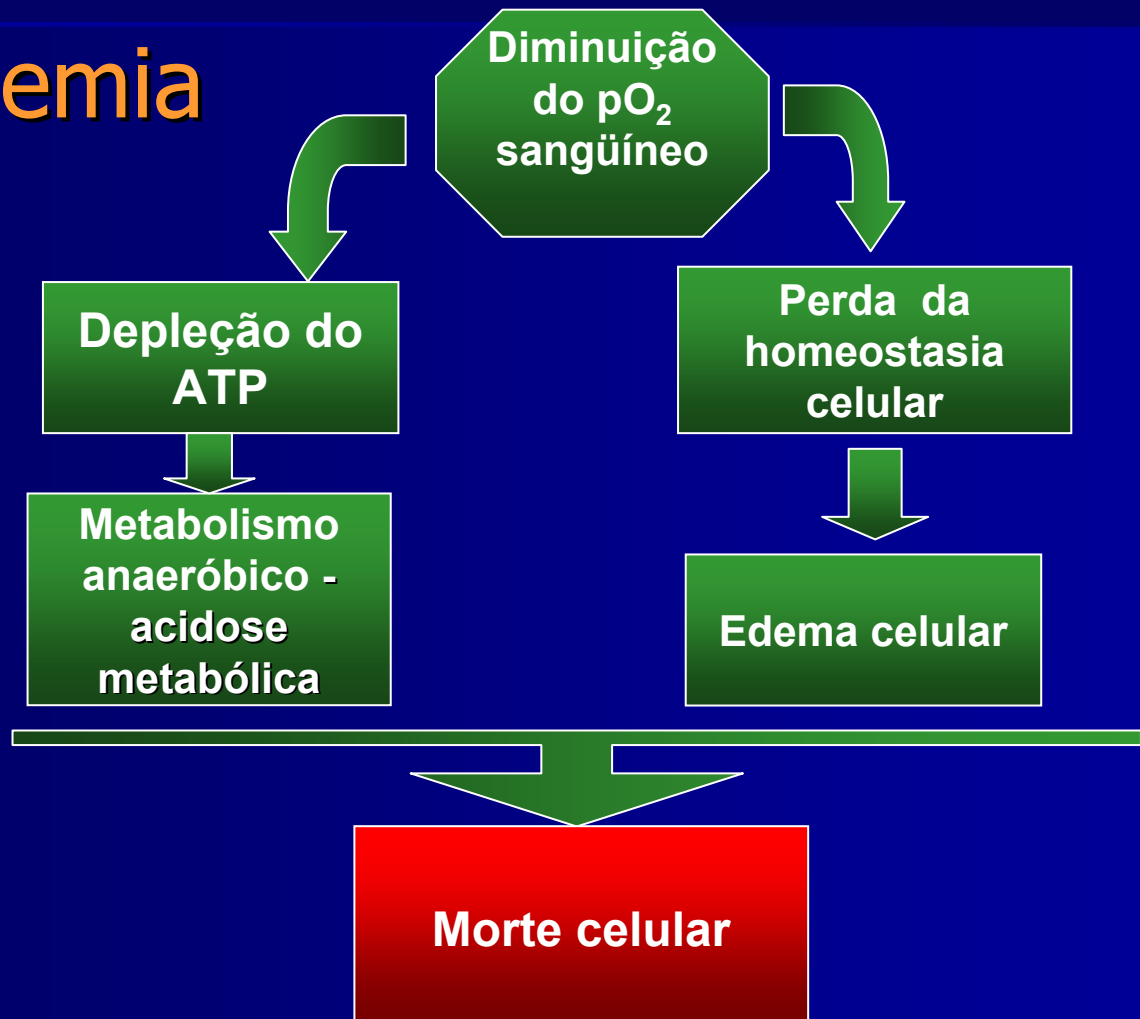


Choque hemorrágico



Isquemia e reperfusão(I/R)

■ A isquemia

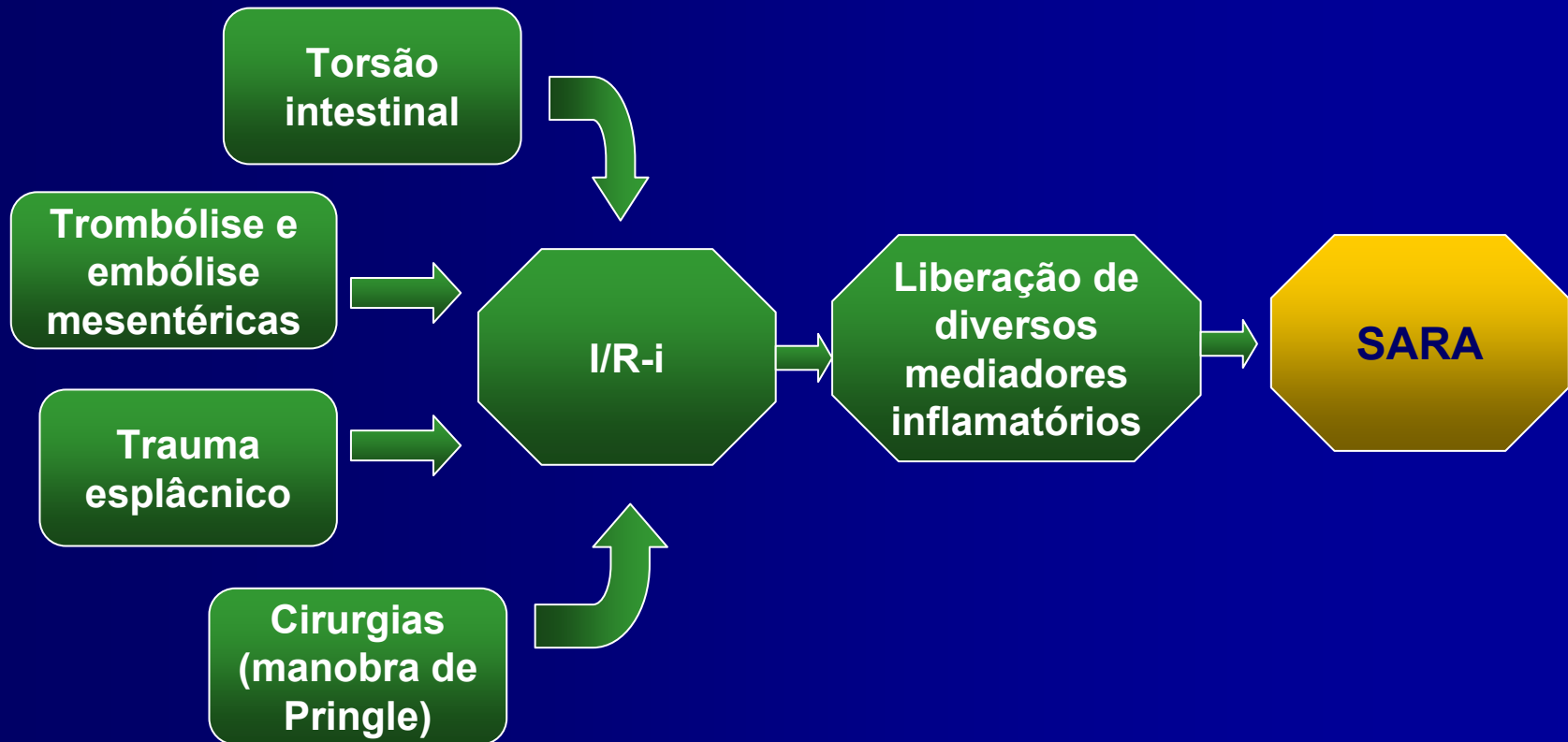


Isquemia e reperfusão(I/R)

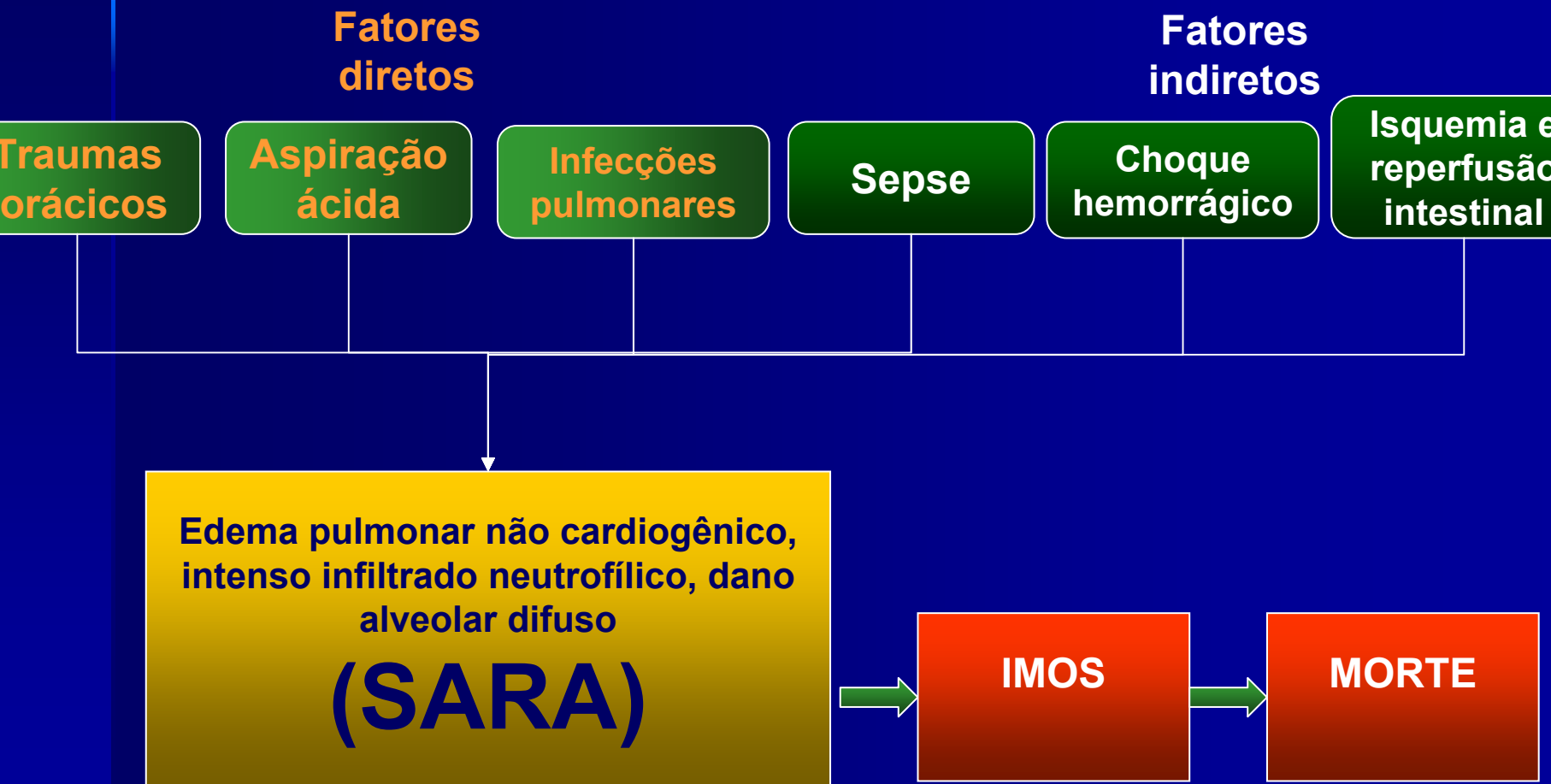
■ Reperfusão:

- Benéfica para o tecido isquêmico (restaura suprimento energético e remove metabólitos tóxicos)
- contribui para o dano celular principalmente pela geração de radicais livres : $O_2 + \text{hipoxantina} \xrightarrow{\text{xantina oxidase}} \text{xantina} + \text{radicais livres}$
- Tecidos apresentam diferentes sensibilidades a lesão da (I/R)
- A I/R gera uma resposta inflamatória, com conseqüente lesão local e em órgãos distantes.

Isquemia e reperfusão intestinal (I/R-i)



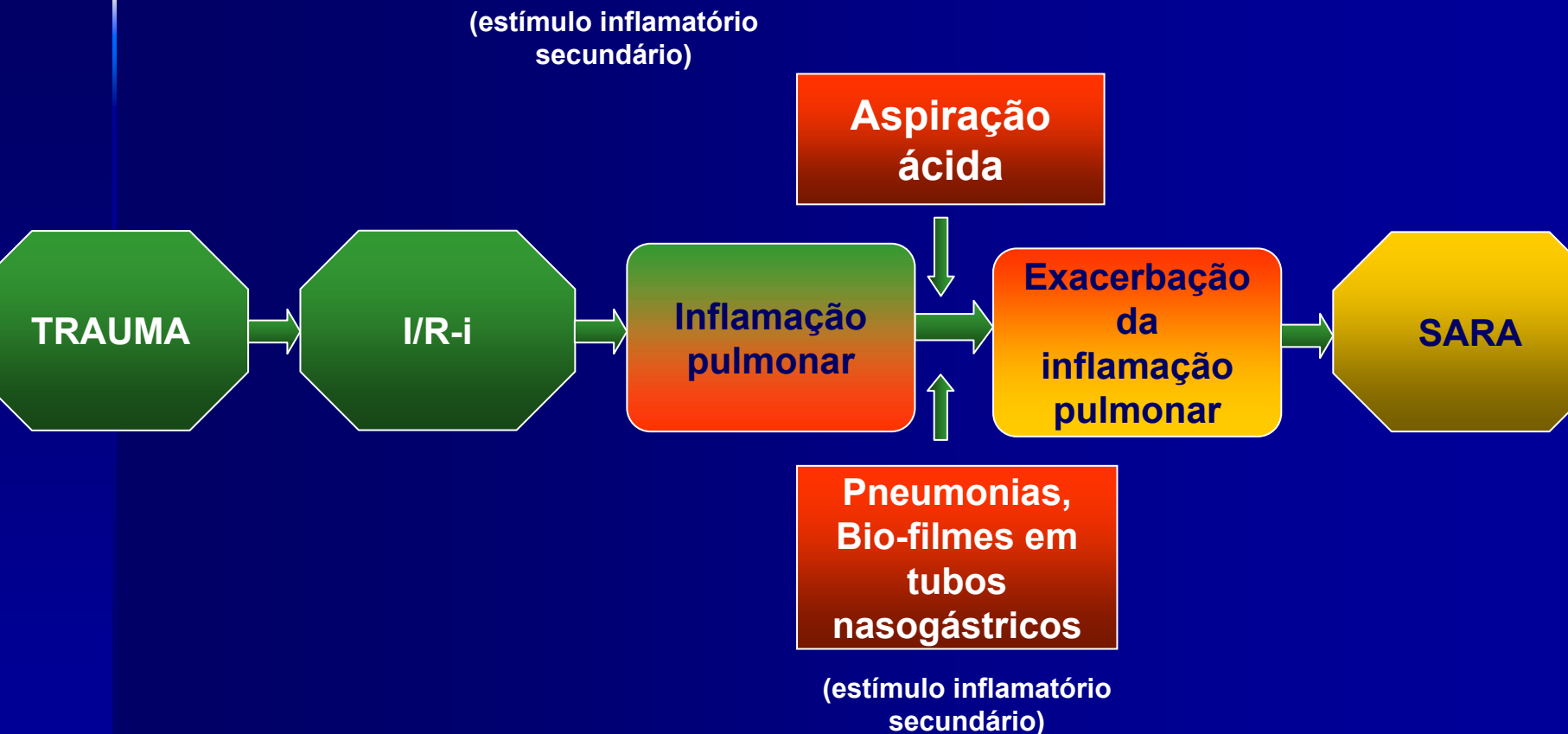
A síndrome da agústia respiratória aguda (SARA)



A síndrome da agústia respiratória aguda (SARA)

- 200.000 casos/ ano nos EUA. 31% de mortalidade→80.000 mortes/ano. Estima-se que no mundo todo o número de mortes exceda meio milhão/ano
- Pode evoluir insuficiência múltipla de órgãos (IMOS) e morte

A agressão secundária como relevante fator modulador de lesão pulmonar



Objetivos

- Desenvolver e padronizar um modelo de isquemia e reperfusão intestinal em camundongos
- Padronizar o modelo de agressão secundária pulmonar
- Avaliar farmacologicamente os mecanismos moduladores da inflamação e reatividade pulmonar no modelo de agressão secundária

Materiais e métodos

Animais

- Camundongos BALB/c fornecidos pelo biotério do Departamento de Imunologia do ICB/USP

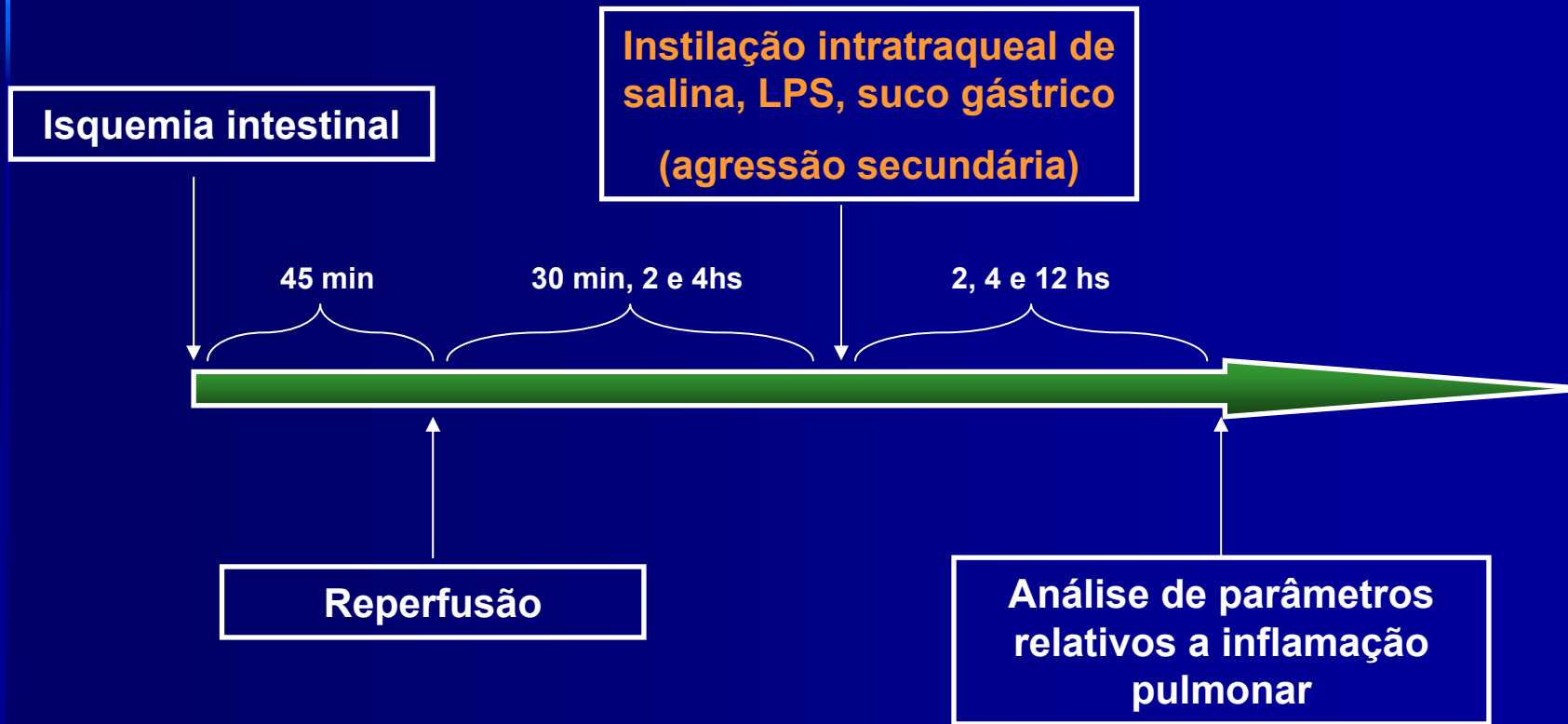
Indução da I/R-i

- Animais serão anestesiados com 0,20 ml de cloridrato de quetamina (5%) e xilazina (1%).
- Pinçamento da artéria mesentérica superior por 45 minutos
- 30 min, 2 e 4 horas de reperfusão

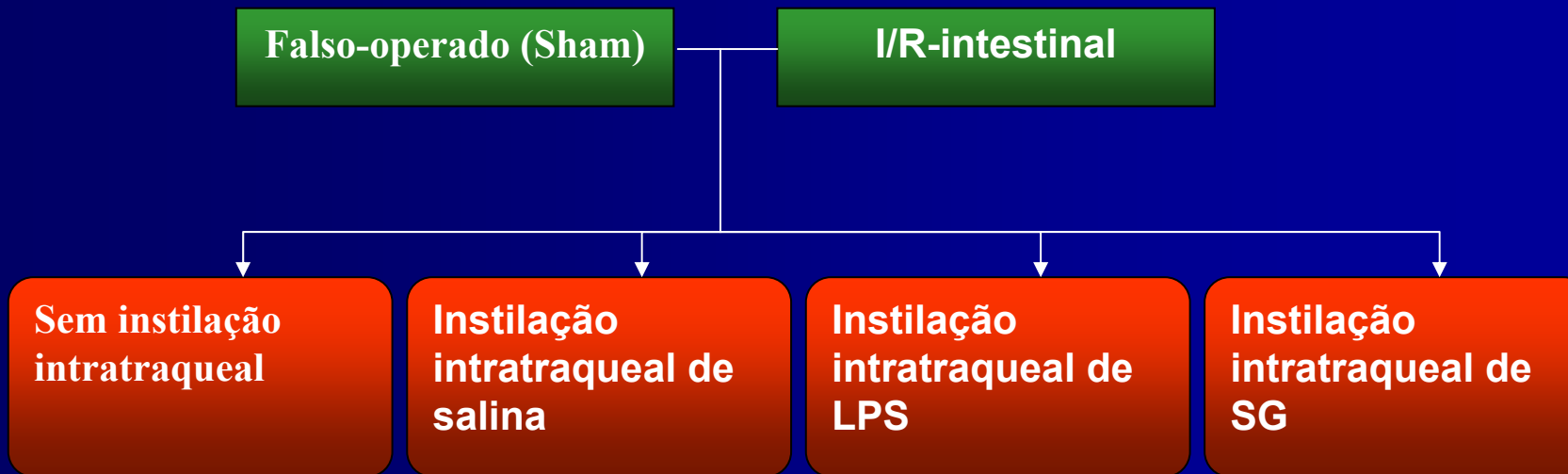
Agressão secundária

- Após 30 min, 2 e 4 hs de reperfusão, exposição da traquéia do animal e instilação 100 μ l de salina, LPS (*Salmonella abortus*, 50 μ g/ml) ou suco gástrico
- O suco gástrico será obtido de animais doadores, segundo metodologia de Sertié *et al* (2000)

Agressão secundária



Delineamento experimental



Caracterização do modelo murino de inflamação pulmonar por I/R-i

Módulo 1

I/R-intestinal

Avaliação do edema pulmonar

Avaliação da inflamação pulmonar

Albumina no LBA

Peso seco/
peso úmido

Permeabilidade e vascular

MPO pulmonar

Quantificação de células no LBA

Caracterização do modelo murino de dupla agressão pulmonar

Módulo 2

I/R-intestinal

Sem
instilação
intratraqueal

Instilação
intratraqueal
de salina

Instilação
intratraqueal
de LPS

Instilação
intratraqueal
de SG

Avaliação do
edema
pulmonar

Albumina
no LBA

Peso seco/
peso
úmido

Permeabilidade
vascular

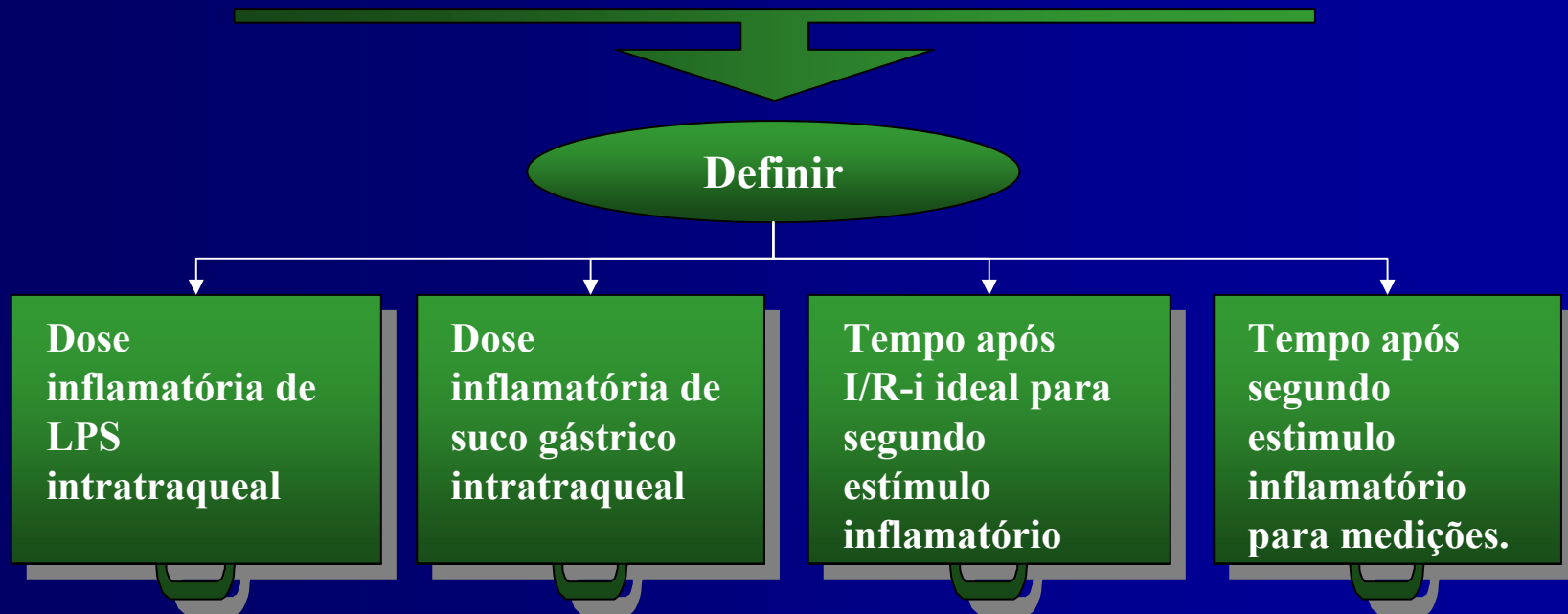
Avaliação da
inflamação
pulmonar

MPO
pulmonar

Quantificação
de células no
LBA

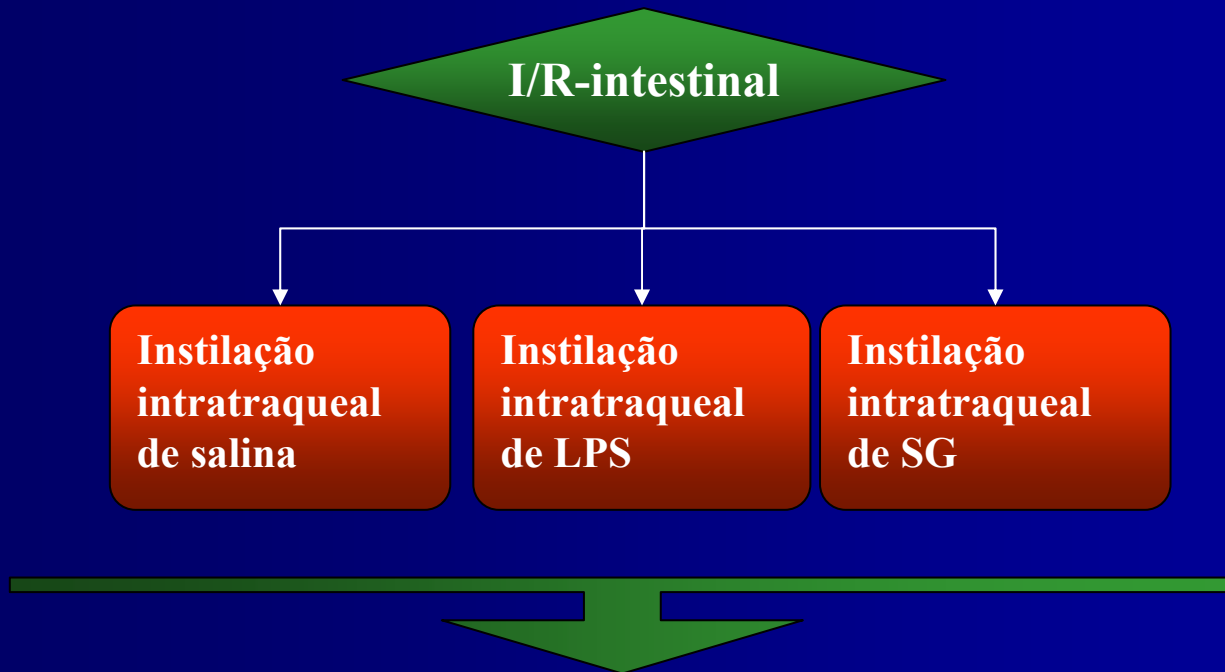
Caracterização do modelo murino de dupla agressão pulmonar

Módulo 2



Estudo dos mecanismos de interação dos estímulos inflamatórios

Módulo 3



Estudo dos mecanismos de interação dos estímulos inflamatórios

Módulo 3

Avaliação da atividade funcional das células inflamatórias

Quantificação de citocinas e eicosanóides em alíquotas do LBA

Quantificação de citocinas, eicosanóides, NO, H₂O₂ e em cultura de células do LBA e em cultura parênquima pulmonar.

Estudo in vitro da reatividade pulmonar

Perfusão bronco-pulmonar (curva dose-resposta a metacolina)

Perfusão intra-pulmonar (curva dose-resposta a fenilefrina)

Interferência farmacológica

Tratamento com antagonistas e inibidores da mediadores inflamatórios envolvidos com as alterações pulmonares desencadeadas

Respostas a serem obtidas

- Há sinergismo entre a I/R-i e a instilação de LPS ou SG na inflamação e lesão pulmonar?
- Em que grau o sinergismo entre a I/R-i e a instilação de LPS ou SG gera dano pulmonar?
- Qual a relação temporal entre os estímulos e seus efeitos inflamatórios?
- Quais mediadores inflamatórios estão envolvidos no sinergismo inflamatório entre os dois estímulos?

Considerações finais