

HERMES VIEIRA BARBEIRO

Avaliação temporal da regulação do tônus vascular e da produção de superóxido induzido por purinas em aorta isolada de ratos Wistar endotoxêmicos

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Fisiopatologia Experimental da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Fisiopatologia Experimental

Orientador: Dr. Francisco Garcia Soriano

São Paulo
2005

Aos meus verdadeiros e eternos Mestres: Quito e Dinha, que são, em minha vida, muito mais do que Francisco e Maria a me ensinarem a ser o que sou.

Augustinho, Baixinha, Cy, Gui, Heldão, Heldinho, Le, Lídia, Maricota, Mi, Nê, Preta, Zé e Zé os quais sempre demonstram, com seus exemplos, como diferenciar o certo do errado.

Davi, Daniel, Danúbio, Eunice, Jú, Mara e Tucão,
causa e efeito de bons ensinamentos de vida.

Às duas preciosidades que o Grande Arquiteto do Universo colocou em minha vida: Carolina e Denise. Meus grandes amores que me mostram, a cada dia, a deliciosa alegria de viver.

Agradecimentos

Ao Dr. Irineu Tadeu Velasco e ao Dr. Heraldo Possolo de Souza pela acolhida e oportunidade da realização desta Tese no LIM 51.

Ao meu sábio orientador Dr. Francisco Garcia Soriano que se mostrou um verdadeiro mestre no desafio de me orientar. A possibilidade de aprender com sua dedicação, simplicidade e cumplicidade é enobrecedora e sou eternamente grato por tudo isso.

Aos amigos do Departamento de Farmacologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, pelo carinho e ensinamento essencial em minha formação.

Aos amigos Fátima, Geraldo, Kelli, Suely e Vera, pela alegria, amizade e companheirismo.

Aos companheiros pós graduandos do LIM 51.

Aos amigos que colaboraram direta ou indiretamente para a realização desta Tese.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas

Resumo

Summary

INTRODUÇÃO	1
Importância biológica da célula endotelial	2
Óxido Nítrico e Nitrato	4
Óxido Nítrico e stress oxidativo	4
Óxido Nítrico e COX2.....	7
Célula endotelial e purinas.....	8
Importância biológica dos receptores purinérgicos	9
Classificação dos receptores purinérgicos	10
Receptores P2 no vaso sanguíneo.....	11
Choque séptico / LPS	12
Receptores <i>TOLL</i>	14
TLR2.....	15
TLR4	16
Comportamento e LPS	17
Lesão de múltiplos órgãos e sistemas	18
OBJETIVOS	21
MATERIAIS E MÉTODOS	22
Animais/Anestesia:	23
Indução de endotoxemia:	23
Grupo Endotoxêmico:	23
Grupo Controle:.....	24
Tempo de estudo:	24
Comportamento:	24
Histologia pulmonar:	25
Hematoxilina e Eosina:.....	26
Imunohistoquímica para COX-2:	26
Coloração específica para Colágeno Total:	27
Quantificação de expressão gênica para TLR4, TLR2 e iNOS	28
Extração de RNA	28
Amplificação de iNOS, TLR2 e TLR4 por RT PCR	29
Quantificação de Superóxido:	31
Quantificação de nitrato	32
Reatividade vascular da aorta:	33
Análise estatística:	33
Resultados	36
Caracterização do modelo experimental de endotoxemia:	36
Alterações pulmonares decorrentes da endotoxemia:	37
Histologia	39
Hematoxilina e Eosina	40
Colágeno total	41
COX-2	43
Expressão gênica de iNOS, TLR2 e TLR4 no pulmão	45

Alterações na aorta torácica decorrentes da endotoxemia	46
Expressão gênica de iNOS, TLR2 e TLR4 na aorta isolada.....	47
Quantificação de superóxido e modulação pelo ATP:.....	48
Participação da Cicloxigenase e Óxido Nítrico na quantificação de superóxido em aortas isoladas	49
Quantificação de Nitrato:	Erro! Indicador não definido.
Reatividade Vascular:.....	51
Modulação purinérgica na resposta a agentes vasoativos conhecidos:.....	51
ATP e ADP 8, 16 e 24 horas após indução de endotoxemia:	53
Participação da via da COX e NO no relaxamento promovido pelo ATP e ADP:	55
<i>Discussão</i>.....	58
Endotélio	64
LPS e quadro clínico:	58
Perda de peso, ciclo circadiano e mortalidade.....	58
Pulmão e aorta	60
COX2.....	60
Expressão de mRNA para iNOS, TLR2 e TLR4 em pulmão e aorta	61
Superóxido.....	63
Purinérgicos e reatividade vascular	65
<i>Conclusões</i>	71
<i>Referências bibliográficas</i>.....	73

Lista de abreviaturas

Ach	Acetilcolina
ADP	Difosfato de adenosina
ATP	Trifosfato de adenosina
BSA	Soro de albumina bovina
CD14	Proteína de membrana ancorada ao glycosyl-phosphatidylinositol
COX	Cicloxigenase
COX1	Cicloxigenase constitutiva
COX2	Cicloxigenase induzível
DNA	Ácido desoxiribonucleico
ECAM	Molécula de adesão da célula endotelial
EDHF	Fator hiperpolarizante derivado do endotélio
EDRF	Fator relaxante derivado do endotélio
eNOS	Óxido nítrico sintase endotelial
ERO	Espécie reativa de oxigênio
FMOS	Falência de múltiplos órgãos e sistemas
GTP	Trifosfato de guanidina
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
HE	Hematoxilina e eosina
ICAM	Molécula de adesão intercelular
IL	Interleucina
iNOS	Óxido nítrico sintase induzível
KCl	Cloreto de potássio
K _m	Constante de Michaelis-Menten

LBP	Proteína ligante de LPS
LPS	Lipopolissacarídeo
LNAME	N ^ω -nitro-L-arginina metil éster
MD2	Proteína acessória extra celular
MODS	Síndrome da disfunção múltipla de órgãos
MOF	Falência múltipla de órgãos
rmRNA	Ácido reboxiribonucleico mensageiro
NAD	Nicotinamida adenina dinucleotídeo - oxidada
NADH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo - reduzida
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
NANC	Não aderenérgico não colinérgico
NE	Noradrenalina
NFKB	Fator de transcrição nuclear B
nNOS	Óxido nítrico sintase neuronal
NO	Óxido nítrico
NOS	Óxido nítrico sintase
O ₂ ⁻	Ânion superóxido
ONOO ⁻	Peroxinitrito
P1	Receptor purinérgico do tipo 1
P2	Receptor purinérgico do tipo 2
PAMP	Padrões moleculares associados ao patógeno
PARP	Poli (ADP-ribose) polimerase
PBS	Tampão fosfato salina
PCR	Reação em cadeia polimerase
PGE ₂	Prostaglandina E ₂

Gracias por visitar este Libro Electrónico

Puedes leer la versión completa de este libro electrónico en diferentes formatos:

- HTML(Gratis / Disponible a todos los usuarios)
- PDF / TXT(Disponible a miembros V.I.P. Los miembros con una membresía básica pueden acceder hasta 5 libros electrónicos en formato PDF/TXT durante el mes.)
- Epub y Mobipocket (Exclusivos para miembros V.I.P.)

Para descargar este libro completo, tan solo seleccione el formato deseado, abajo:

